



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER**

**Domaine : SNV      Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

**Présenté par :**

***NEDJAR Sabah & LAOUADI Aicha***

***Thème***

**Pré-étude sur l'implication du microbiote intestinal dans le  
développement des maladies métaboliques chez les  
diabétiques obèses**

**Soutenu le:** 15/09/2022

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>LEKBAL Farouk</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>BOUHENNI Hamida</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>DJOUAHRA Djamila</i>	<i>BCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

**Année Universitaire : 2021/2022**

## *Remerciements*

*Au terme de ce travail, on tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.*

Nous désirons remercier tous les professeurs de l'université de Bouira, qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite de mes études universitaires.

Premièrement, nous voudrions adresser toute ma reconnaissance à la directrice de ce mémoire, Madame **BOUHENNI Hamida**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Deuxièmement, nous sommes infiniment sensibles à l'honneur que Madame **DJOUAHRA Djamila** nous faites en acceptant d'examiner notre travail. Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour votre bienveillance et votre simplicité avec lesquelles vous nous avez accueillis. Veuillez trouver ici, chère examinatrice, le témoignage de notre grande estime et de notre sincère reconnaissance.

Troisièmement, nous tenons à remercier avec plus grande gratitude Monsieur/Madame **LEKBAL Farouk** de l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous ne saurions comment remercier le laboratoire d'hygiène de wilaya de Bouira (Etablissement public de santé de proximité de Bouira) pour cette contribution qui nous a permis de mener à bien ce travail. Merci pour l'intérêt que vous portez à la recherche. Finalement, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire

# *Dédicace*

*Au premier lien, je tiens à remercier mon dieu pour cette réussite.*

*\*\* \*\* \**

*A mon père, mon ange gardien, qui sans lui je ne pouvais ni vivre ni  
arriver à ce que je sois.*

*\*\* \*\* \**

*A ma mère, la lumière de ma vie, pour son amour, soutien et patience.  
J'espère qu'un jour mon bon dieu me donnera l'occasion de les honore  
et de leurs rendre ce qu'ils méritent.*

*\*\* \*\* \**

*A ma sœur*

*\*\* \*\* \**

*A mon frère, ma joie et ma fierté, que dieu les gardes et les  
protèges.*

*\*\* \*\* \**

*A toutes mes amies*

*A toute ma famille.*

*NEDJAR Sabah*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail, comme preuve de respect, de gratitude et de reconnaissance :*

*À mes parents, qui sont constamment à mes côtés et plus particulièrement pendant les moments les plus pénibles de ma vie pour me soutenir, me conseiller et me combler de leur tendresse.*

*\*\* \*\**

*À mes sœurs, MOUNA et SAMIA*

*\*\* \*\**

*À toute ma famille*

*\*\* \*\**

*À tous mes amis*

*LAOUADIAïcha*

# Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	
<b>I. DEFINITIONS DU MICROBIOTE INTESTINAL</b>	<b>5</b>
<b>II. DISTRIBUTION MICROBIENNE LE LONG DU TRACTUS GASTRO-INTESTINAL HUMAIN</b>	<b>6</b>
<b>I. MICROBIOTE ET BARRIERE INTESTINALE</b>	<b>6</b>
<b>III. COMPOSITION DU MICROBIOTE INTESTINAL</b>	<b>7</b>
<b>IV. FACTEURS MAJEURS INFLUENÇANT LE MICROBIOTE INTESTINAL</b>	<b>9</b>
IV.1. REGIME ALIMENTAIRE	10
IV.2. PRISE DES ANTIBIOTIQUES	11
II.1. METABOLISME DES GLUCIDES	12
II.1. METABOLISME DES PROTEINES	13
IV.3. METABOLISME DES LIPIDES	13
IV.4. TECHNIQUES BASEES SUR LA CULTURE	15
IV.5. TECHNIQUES BASEES SUR LA BIOLOGIE MOLECULAIRE	15
<b>V. DYSFONCTION DE LA FLORE INTESTINALE</b>	<b>18</b>
III.1. DEFINITION DE LA DYSBIOSE	18
V.1. DYSBIOSE ET MALADIES METABOLIQUES	19
<b>VI. RECONSTRUCTION DE L'EQUILIBRE INTESTINALE</b>	<b>20</b>
<b>I. OBESITE CHEZ L'ADULTE</b>	<b>22</b>
I.1. DEFINITION	22
I.2. TYPES MORPHOLOGIQUES D'OBESITE	22
A. Obésité périphérique, générale ou gynoïde	23
B. Obésité centrale, abdominale ou androïde	23
I.3. QUELQUES METHODES DE MESURE DE LA GRAISSE TOTALE ET REGIONALE	23
I.4. EPIDEMIOLOGIE DE L'OBESITE CHEZ LES ADULTES	25
I.5. TISSU ADIPEUX ET REGULATION METABOLIQUE	27
I.6. DETERMINANTS ENVIRONNEMENTAUX DE L'OBESITE	28
I.7. OBESITE : FACTEUR DE RISQUE DE DIABETE DE TYPE 2	28
<b>II. DIABETE DE TYPE 2</b>	<b>30</b>
II.1. DEFINITION ET DIAGNOSTIC DU DIABETE DE TYPE 2	30
A- PRE-DIABETE	30
B- DIABETE DE TYPE 2	31
II.2. PREVALENCE DE DIABETE	31
II.3. EVOLUTION DU DIABETE DE TYPE 2 ET CELLULES BETA PANCREATIQUES	33
II.4. COMPLICATION DU DIABETE DE TYPE 2 ET SYNDROME METABOLIQUE	34
<b>III. SYNDROME METABOLIQUE</b>	<b>36</b>
III.1. DEFINITION ET DIAGNOSTIC DU SYNDROME METABOLIQUE	36

III.2. ÉPIDEMIOLOGIE DU SYNDROME METABOLIQUE .....	37
III.3. PHYSIOPATHOLOGIE DU SYNDROME METABOLIQUE ASSOCIE A L'OBESITE .....	38
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>40</b>
<b>VII. RELATION ENTRE L'OBESITE, LE DIABETE DE TYPE 2 ET LE SYNDROME METABOLIQUE</b>	<b>40</b>
<b>VIII. DYSBIOSE ET OBESITE.....</b>	<b>41</b>
VIII.1. MICROBIOTE INTESTINAL PRO-OBESITE ET ANTI-OBESITE.....	41
VIII.2. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'OBESITE LIEE AU DYSBIOSE .....	45
VIII.3. ROLES DES LPS ET DES SCFA DANS L'INSTALLATION DE L'OBESITE.....	46
<b>IX. DYSBIOSE ET DIABETE DE TYPE 2 .....</b>	<b>48</b>
IX.1. MICROBIOTE INTESTINAL ET HOMEOSTASIE GLYCEMIQUE .....	48
IX.2. MICROBIOTE INTESTINAL D'UNE PERSONNE SAINES VS. UNE PERSONNE DIABETIQUE.....	49
<b>X. DYSBIOSE ET SYNDROME METABOLIQUES.....</b>	<b>50</b>
X.1. MICROBIOTE INTESTINAL ET OBESITE ASSOCIEE AUX SYNDROME METABOLIQUE .....	50
X.2. DYSBIOSE ET MALADIES CARDIO-METABOLIQUES .....	52
<b>I. OBJECTIFS DE RECHERCHE.....</b>	<b>55</b>
I.1. OBJECTIF PRINCIPAL.....	55
I.2. OBJECTIFS SECONDAIRES .....	55
<b>II. TYPE ET LIEU D'ETUDE.....</b>	<b>55</b>
<b>III. POPULATION CIBLE .....</b>	<b>56</b>
<b>IV. RECRUTEMENT DES SUJETS.....</b>	<b>56</b>
IV.1. PRE-ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE.....	56
CRITERES D'INCLUSION .....	56
CRITERES D'EXCLUSION .....	56
IV.2. PRE-ETUDE MICROBIOLOGIQUE .....	56
GROUPES .....	57
CRITERES D'INCLUSION .....	57
CRITERES D'EXCLUSION .....	57
<b>V. CONSIDERATIONS ETHIQUES.....</b>	<b>57</b>
<b>VI. OUTILS DE LA PRE-ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE .....</b>	<b>57</b>
<b>VII. PRE-ETUDE MICROBIOLOGIQUE.....</b>	<b>58</b>
<b>VII.1. CONDITION DU PRELEVEMENT ET TRANSPORT DES ECHANTILLONS DES SELLES.....</b>	<b>58</b>
<b>VII.2. PREPARATION DES MILIEUX .....</b>	<b>59</b>
<b>VII.3. EXAMEN MICROSCOPIQUE ET MICROSCOPIQUE DES SELLES.....</b>	<b>61</b>
<b>EXAMENS.....</b>	<b>62</b>
<b>OBJECTIFS D'EXAMEN.....</b>	<b>62</b>
<b>OBSERVATION DIRECTE DES SELLES A L'ETAT FRAIS.....</b>	<b>62</b>
<b>1. RECHERCHER LES LEUCOCYTES FECAUX.....</b>	<b>62</b>
<b>2. REPERER DES SOUCHES PATHOGENES GRACE A LEUR MOBILITE PAR CILIATURE POLAIRE (<i>VIBRIO</i> ET DES <i>CAMPYLOBACTER</i>). .....</b>	<b>62</b>
<b>FROTTIS DES SELLES COLORE AU GRAM.....</b>	<b>62</b>
<b>VII.4. SOLUTION MERE ET DILUTIONS DECIMALES.....</b>	<b>63</b>

<b>VII.5. TECHNIQUES CLASSIQUES DE NUMERATION DE MICROORGANISMES.....</b>	<b>64</b>
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>92</b>
<b>REFERENCE ET BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>94</b>

## Liste des abréviations

- **AACE/ACE** : Association centrale américaine d'endocrinologues/Collège américain d'endocrinologie (*American association of clinical endocrinologists*)
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **AGL** : Acides Gras Libres (Free Fatty Acids)
- **AHA/NHLBI** : Association américaine de cardiologie/Institut national du cœur, du poumon (*American Association of Cardiology/National Heart Institute, Lung*)
- **ARNr 16S** : Acide ribonucléique
- **BAT** : Tissu adipeux brun
- **CD14** : Cluster de Différenciation 14
- **CVD** : CardioVascularDisease
- **DOB** : Diabétique obèse
- **DT2** : diabète sucré de type 2
- **F/B** : Firmicutes/Bacteroidetes
- **FID** : Fédération internationale de diabète (*International Diabetes Federation*)
- **GAJ** : Glycémie à jeun (*Fasting blood glucose*)
- **GLP-1** : Glucagon-like peptide-1
- **GPP** : Glycémie postprandiale (*Postprandial blood glucose*)
- **HbA1c** : Hémoglobine glyquée (*Glycated hemoglobin*)
- **HDL-c** : Cholestérol des lipoprotéines de haute densité (High density lipoprotein cholesterol)
- **HTA** : Hypertension artérielle (*Hypertension*)
- **IEC** : Intestinal Epithelial Cells
- **IMC** : Indice de masse corporelle (*Body mass index*)
- **IR** : Insulino-résistance ou Résistance à l'insuline (Insulin resistance)
- **ITG** : Intolérance au glucose (Glucose intolerance)
- **LDL-C** : Low-Density Lipoproteins-Cholesterol
- **LDL-c** : Cholestérol des lipoprotéines de faible densité (*Low density lipoprotein cholesterol*)
- **LPL** : Lipoprotéine lipase (*Lipoprotein lipase*)
- **LPS** : Lipopolysaccharide
- **MCV** : Maladies cardiovasculaires (Cardiovascular disease)
- **NCEP-ATPIII** : Programme national d'éducation du cholestérol-Essai III de traitements adultes (*National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Trial III*)
- **NF- $\kappa$ B** : Facteur nucléaire kappa B
- **NHANES** : (*National Health and Nutrition Examination Survey*)
- **NHBPEP** : Groupe de travail du programme national d'éducation sur l'hypertension artérielle sur les enfants et les adolescents (*National high blood pressure education program working group on children and adolescents*)
- **NHLBI/NIH** : Institut national du cœur, du poumon/Instituts américains de la santé (*National Heart Institute, Lung Institute/US Institutes of Health*)
- **NP** : Poids normal ou Normo-pondéraux (Normal weight or normal weight)
- **OB** : Obèse
- **OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economiques
- **OMS (WHO)** : Organisation mondiale de la santé (World Health Organization)
- **PAD** : Pression artérielle diastolique (*Diastolic blood pressure*)
- **PAS** : Pression artérielle systolique (*Systolic blood pressure*)

- **PCR** :PolymerasechainReaction
- **PCSK9** :ProproteinConvertaseSubtilisin/Kexin type 9
- **pH** : Potentiel hydrogène (*Potentialhydrogen*)
- **RTT** : Ratio tour de taille/taille (*Ratio waistcircumference*)
- **SCFAs** :*Short-Chain FattyAcids*(acide gras à chaîne courte)
- **SM** : Syndrome métabolique (Metabolic syndrome)
- **TA** : Tissu adipeux (*Adipose tissue*)
- **TAS** : Tissu adipeux sous-cutané (*Subcutaneous adipose tissue*)
- **TG** : Triglycérides
- **TJ** :*Tight Junction*
- **TLR 4** :*TollLikeReceptor 4*
- **TNF- $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale alpha (*Alpha tumornecrosis factor*)
- **TNF- $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale alpha
- **TT** : Tour de Taille
- **WAT** : Tissu adipeux blanc
- **WHF** : Fédération mondiale du cœur (*World heartfederation*)

## Liste des figures

Figure 1 : Microbiote dans les différents segments du tube digestif (Nicolas, 2016).....	6
Figure 2: Organisation schématique de la barrière intestinale (Nicolas, 2016).....	7
Figure 3 : Abondance bactérienne au niveau du genre et du phy-lum du microbiote fécal humain (8 phyla et des 30 genres les plus abondants) (Arumugam et al., 2011). ....	9
Figure 4 : Facteurs majeurs influençant le microbiote intestinale (Clarke et al., 2019). ....	10
Figure 5 : Voies de production des SCFA par le microbiote intestinal (Islam et al., 2022).....	12
Figure 6 : Méthodes d’analyses du microbiote intestinal (Er-Razine, 2019; Nicolas, 2016).....	15
Figure 7 : Illustration de l'homéostasie intestinale et de la dysbiose (Wang & Roy, 2017).....	18
Figure 8: Définitions de la dysbiose (Hooks & O’Malley, 2017). ....	19
Figure 9 : Microbes intestinaux sont liés aux troubles métaboliques (Cani et al., 2021).....	20
Figure 10 : Types morphologiques d’obésité et l'augmentation du risque face aux maladies (BOUHENNI, 2019)....	23
Figure 11 .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 12 : Obésité chez les adultes, 2015 ou année la plus proche (OCDE, 2017). ....	25
Figure 13 : Obésité dans quelques pays d’Afrique en 2010 (Diop et al., 2014).....	26
Figure 14: Rôles du tissu adipeux dans la régulation métabolique systémique (Fasshauer & Blüher, 2015). ....	27
Figure 15 : Déséquilibre de la balance énergétique et ses déterminants (Faucher & Poitou, 2016).....	28
Figure 16 : Perturbations métaboliques dans l’obésité (Tenenbaum et al., 2018).....	29
Figure 17 : Estimations et projections de la prévalence mondiale du diabète dans la tranche d’âge de 20 à 79 ans (en millions)(FID, 2019).....	32
Figure 18 : Événements pathologiques conduisant au diabète sucré de type 2 (Hörber et al., 2019). ....	33
Figure 19 : Altération des cellules bêta pancréatiques dans le diabète de type 2 (Tenenbaum et al., 2018).....	34
Figure 20 : Développement du syndrome métabolique et de ses complications (Srikanthan et al., 2016). ....	39
Figure 21 : Facteurs de risque déclenchant les problèmes métaboliques (Ortega et al., 2020).....	41
Figure 22 : Mécanisme d’action du microbiote intestinal pro et anti-obésité (Aloo & Oh, 2022).....	42
Figure 23 : Des changements dans le rapport (F/B) peuvent provoquer une obésité (Stojanov et al., 2020).....	43
Figure 24 : Distribution du phylum et diversité du microbiote intestinal chez les non obèses et les obèses. (Kasai et al., 2015).....	43
Figure 25 : Patho-mécanisme des troubles gastro-intestinaux (CD, RCH) et du cancer dans l'obésité (Islam et al., 2022).....	46
Figure 26 : Facteurs modulant la microbiote intestinal et interférant avec la glycémie (gérard & vidal, 2019).....	48
Figure 27 : Altération de la barrière muqueuse intestinale et la translocation du LPS (Fourrier et al., 2015). ....	49
Figure 28 : Diabète et dysfonctionnement de la flore intestinale (Ortega et al., 2020). ....	50
Figure 30 : Rôle du microbiote intestinal dans le développement de l'obésité et du DT2, y compris certains des mécanismes supposés contribuer aux altérations de l'état métabolique de l'hôte (Veza et al., 2020). ....	51
Figure 29 : Rapport F/B chez les sujets SMet le sujets contrôle (Kushugulova et al., 2018).....	51

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Absorption des SCFA et leurs rôles métabolismes (Islam et al., 2022).....	13
Tableau 2 : Techniques basées sur la biologie moléculaire (Er-Razine, 2019; Nicolas, 2016).....	16
Tableau 3 : Risques de morbidité associée à l'IMC chez l'adulte selon l'OMS (2000) .....	24
Tableau 4.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 5 : Insensibilité à l'insuline dans les trois tissus cibles (BOUHENNI, 2019).....	29
Tableau. 6 : Critères du diagnostic de pré-diabète (Goldenberg & Punthakee, 2013).....	30
Tableau 7 : Définitions du syndrome métabolique chez l'adulte (BOUHENNI, 2019). .....	37

# **Introduction générale**

## **Introduction générale**

L'obésité est une maladie chronique, complexe et multifactorielle représentant la cinquième cause de décès dans le monde et responsable de près de 3,4 millions de décès chaque année. Chez l'adulte, l'obésité se caractérise par une accumulation excessive de graisse et est définie de manière conventionnelle comme un indice de masse corporelle égal ou supérieur à 30 kg/m<sup>2</sup>. Des études épidémiologiques indiquent que plus de 2,1 milliards de personnes sont actuellement en surpoids ou obèses dans le monde. Si les tendances actuelles se poursuivent, les estimations montrent que 38% de la population adulte mondiale sera en surpoids et 20% seront obèses d'ici 2030. L'état obèse est associé à de multiples comorbidités sévères et complications (**Gérard & Vidal, 2019**).

De la même manière que l'obésité, la prévalence du diabète a augmenté énormément dans le monde et devient l'une des principales causes de décès dans de nombreux pays. L'Atlas du diabète de la Fédération internationale du diabète (FID), 8<sup>e</sup> édition, 2017 met en évidence des statistiques: quelque 425 millions de personnes dans le monde, soit 8,8 % des adultes de 20 à 79 ans, auraient Diabète. Si ces tendances se maintiennent, le nombre de personnes de 20 à 79 ans atteintes de diabète dans le monde atteindre 629 millions d'ici 2045. Le diabète sucré de type 2 (DT2) représente plus de 90 % des cas. Environ 5,0 millions de décès dans le monde étaient attribuables au diabète en 2017, ce qui équivalent à un décès toutes les 8 s (**FID, 2019**).

À l'instar de nombreux autres pays, l'Algérie enregistre ces dernières années une importante augmentation de la prévalence de l'obésité. En effet, 23,6 % et 57,1 % des Algériens présentent respectivement une obésité et un surpoids. L'augmentation parallèle de la fréquence du diabète de type 2 (10,5 %) et des facteurs de risque cardiovasculaire (15,1 % des individus ayant ≥ 3 facteurs de risque) sont les deux conséquences les plus défavorables de cette épidémie. Les études réalisées à l'échelle nationale, ne permettent pas de définir la prévalence et les facteurs de risques liés à cette pathologie. Elles permettent toutefois, de faire prendre conscience que le surpoids/obésité prend de l'ampleur et devient un véritable problème de santé publique (**BOUHENNI, 2019**).

Les études épidémiologiques ont établi que le diabète de type 2 (DT2) et l'obésité sont le résultat d'interactions complexes gène-environnement. Des preuves expérimentales et cliniques récentes suggèrent qu'un autre facteur endogène clé peut être considéré comme un régulateur critique du métabolisme de l'hôte : c'est le microbiote intestinal (**Gérard & Vidal, 2019**).

---

Le microbiote le plus grand et le plus diversifié est celui de tube digestif (**Qin et al., 2010**), on estime que jusqu'à 100 billions de micro-organismes résident dans notre corps et que l'ensemble de gènes de notre microbe intestinal est environ 150 fois plus grand que notre propre génome humain (**Gérard & Vidal, 2019**). Cette flore intestinale est également considérée comme un organe supplémentaire ; en vue de ses bactéries qui possèdent leurs propres moyens de communication avec l'ensemble de l'organisme. Aujourd'hui, nombreux documents ont révélé qu'en plus du rôle de la digestion des aliments, ce microbiote est constitué d'un écosystème complexe impliquant une relation symbiotique mutualiste avec son hôte et contribue à différentes pathologies humaines (**Yang et al., 2020**).

Généralement le microbiote des personnes atteintes de ces maladies est caractérisé par un déséquilibre entre les différentes populations bactériennes d'où le concept de dysbiose. Ces dernières années, la relation entre la modification de microbiote et les maladies métaboliques a fait l'objet des recherches intenses.

De nouvelles données suggèrent une association entre un microbiote intestinal dérégulé et l'obésité, les troubles du contrôle glycémique, et donc le DT2 physiopathologie (**Gérard & Vidal, 2019; Lv et al., 2019**). Cependant, le lancement des études plus approfondies sera nécessaire pour élucider le rôle exact du microbiote intestinal dans le développement des maladies liées au mode de vie telles que l'obésité et le diabète (**Kasai et al., 2015**).

L'obésité, le diabète, les maladies cardio-vasculaires et les cancers font des ravages sur toute la planète, d'innombrables perspectives de recherche s'amorcent de jour en jour à fin de mieux comprendre l'implication des bactéries de notre flore intestinale dans ces maladies du monde moderne, ces travaux permettent de mieux cerner la relation entre alimentation, microbiote intestinal et santé, ce qui va mener à de nouveaux régimes, de thérapies plus personnalisées, voire une médecine préventive (**Li et al., 2017**).

La génétique, la géographie, le mode de vie et l'alimentation sont considérés comme des facteurs modulant le microbiome intestinal (**Clarke et al., 2019**). Malgré la présence de toutes ces raisons, aucune étude n'a été réalisée à ce jour sur la population algérienne. Ce contexte nous a motivés pour nous lancer une pré-étude sur le dysbiose intestinale chez les patients atteint de l'obésité et/ou le diabète.

Dans ce cadre de recherche, l'objectif principal de cette pré-étude est d'étudier l'implication de dysfonctionnement intestinale humaine dans des maladies métaboliques : le diabète et/ou l'obésité.

---

Ce présent manuscrit est divisé en deux parties :

- La première partie représente la synthèse bibliographique. Cette partie inclut trois chapitres qui sont :

- ✓ Chapitre I : Présentation du microbiote intestinal ;
- ✓ Chapitre II : Maladies métaboliques et obésité ;
- ✓ Chapitre III : Dysfonctionnement de flore intestinale et maladies métaboliques.

- La deuxième partie est consacré pour la pratique effectuée. Cette partie est fragmentée en deux chapitres qui sont :

- ✓ Chapitre I : Matériel et méthodes ;
- ✓ Chapitre II : Résultats et discussion

**Partie synthèse  
bibliographique**

# **Chapitre I : Présentation du microbiote intestinal**

## **Introduction**

L'organisme humain est caractérisé par la présence de nombreuses populations microbiennes qui agissent sur sa santé, telles que le microbiote du tube digestif, de la bouche, des poumons, de la peau, des voies urinaires, et du vagin. Ce chapitre se concentre sur le microbiote intestinal.

Dans ce travail, nous ferons de même en n'abordant que l'ensemble des bactéries présentes au niveau de l'intestin humain, sous le terme microbiote intestinal.

## **I. Définitions du Microbiote intestinal**

À l'origine, le terme microbiote est destiné à décrire une communauté écologique de symbiotes, de commensaux et de microbes pathogènes vivant dans le corps humain. Le microbiote intestinal est le nom donné aux populations hétérogènes non pathogènes commensales qui colonisent notre tube digestif. Cette flore est un écosystème complexe et dynamique qui a coévolué avec son hôte (**R et al., 2018**) ; elle comprend l'ensemble des êtres unicellulaires hébergés dans le tube digestif, essentiellement les bactéries et, dans une moindre mesure, d'archées, de champignons et de virus (**Eckburg et al., 2005; Qin et al., 2010**).

Chez l'homme la microflore intestinale renferme environ 100 000 milliards des bactéries appartenant à plus de 400 espèces différentes. Cette importante population microbienne vit en symbiose avec son hôte et se nourrit de substrats végétaux et animaux issus de notre alimentation, ainsi que de substrats endogènes (mucines) propres à l'hôte. Chaque individu a une flore spécifique qui lui est propre et stable au cours du temps(**Qin et al., 2010**).

Le microbiote est reconnu comme un véritable « organe » fonctionnel en raison de son immense impact sur santé humaine. La grande majorité des microbes résident dans tractus intestinal influencent la physiologie de l'hôte en jouant des rôles fondamentalement importants dans la digestion, la nutrition, le système immunitaire régulation et métabolisme énergétique(**Gérard & Vidal, 2019; Luu, 2018**). Le micro-biome intestinal désigne l'ensemble des génomes des bactéries intestinales (Luu, 2018), il possède plus de 3 millions de gènes (**Qin et al., 2010**).

## II. Distribution microbienne le long du tractus gastro-intestinal humain

La localisation et l'organisation spatiale du microbiote intestinal ne sont pas homogènes le long du tube digestif (Clarke *et al.*, 2019). La concentration des bactéries dans le tube digestif augmente progressivement de l'estomac au côlon. Elle passe de  $10^1$ - $10^3$  bactéries par gramme de contenu intestinal dans l'estomac à  $10^{12}$ - $10^{14}$  bactéries par gramme de contenu intestinal dans le côlon. La quantité retrouvée dans le côlon est similaire à celle présente dans les fèces (figure 1).

L'estomac est un milieu très pauvre en bactéries (environ 100 bactéries par gramme de contenu stomacal) car son pH acide et la présence d'enzymes digestives ne sont pas favorables à la croissance bactérienne. Ensuite, la concentration en bactéries augmente le long du tractus 20 digestif pour être maximale dans le côlon (Nicolas, 2016). La plus forte densité de bactéries est présente dans le côlon ayant un pH moyen de 6,4 à 7 (Clarke *et al.*, 2019).

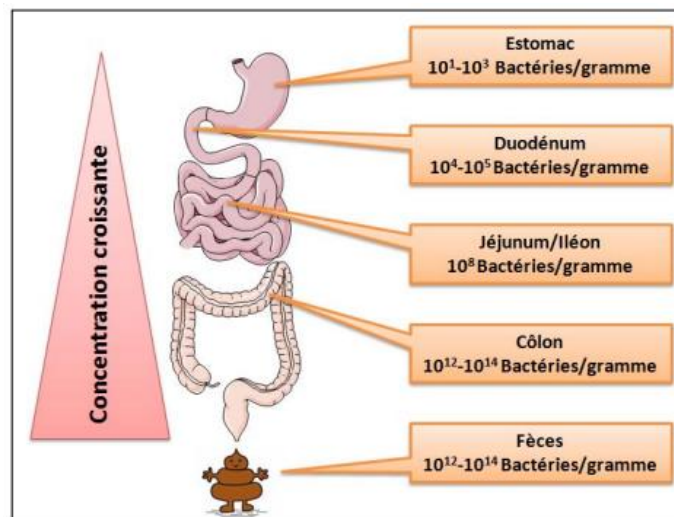
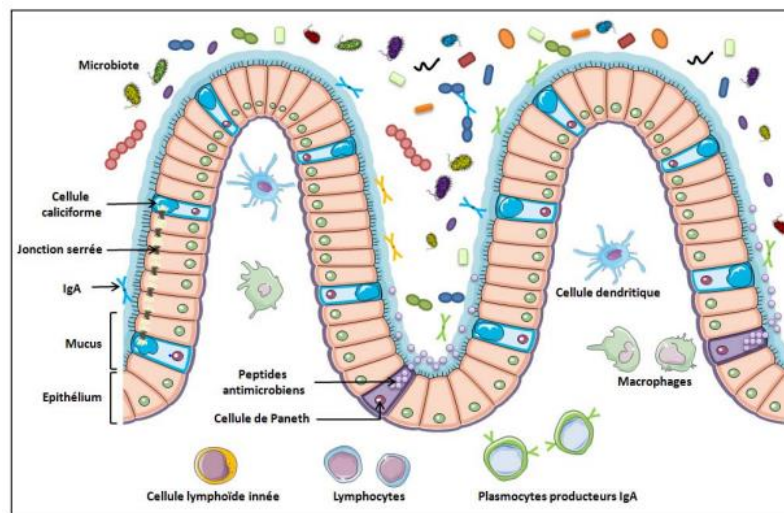


Figure 1 : Microbiote dans les différents segments du tube digestif (Nicolas, 2016).

## I. Microbiote et barrière intestinale

L'intestin constitue la plus grande surface d'échange entre l'organisme et le milieu extérieur. La paroi intestinale a donc un double rôle, d'une part permettre l'absorption des nutriments, d'autre part assurer une fonction de barrière en empêchant l'intrusion dans l'organisme de bactéries potentiellement pathogènes, de virus et de toxines. Cette barrière est constituée par plusieurs acteurs aux fonctions complémentaires. Premièrement, le mucus et l'épithélium intestinal ont un rôle de barrière physique séparant nettement les composés présents dans la

lumière de la muqueuse. Ensuite, les cellules épithéliales ont la capacité de sécréter des peptides antimicrobiens et donc d'ériger ce que l'on pourrait appeler une barrière chimique. Cette barrière permet la destruction des agents pathogènes avant leur entrée dans la muqueuse. Enfin, un important dispositif immunitaire constitué d'anticorps et de cellules aux propriétés phagocytaires et cytotoxiques est mis en place dans la muqueuse intestinale (figure 2).



**Figure 2:** Organisation schématique de la barrière intestinale (Nicolas, 2016).

### III. Composition du microbiote intestinal

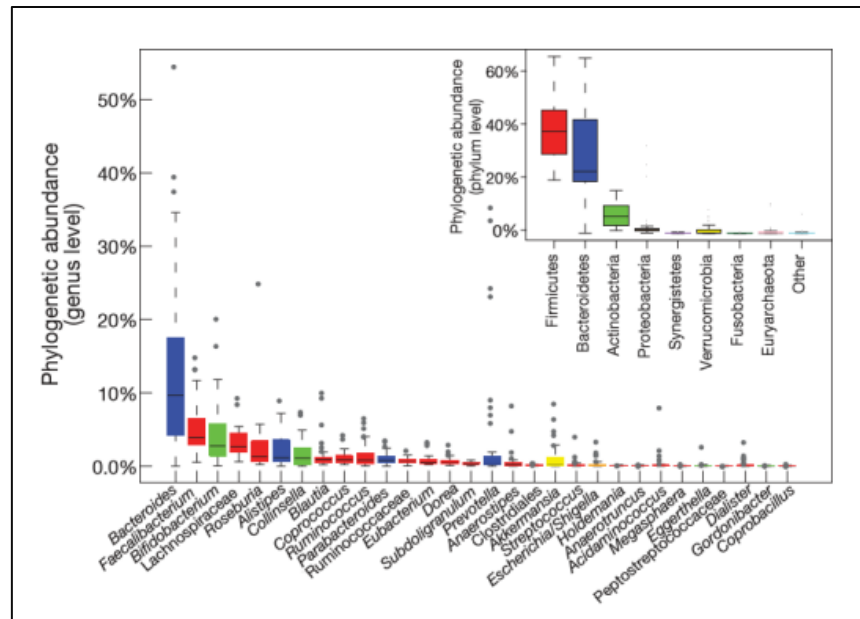
L'homme est parfois décrit comme un métagénome, il est composé de l'ensemble des gènes du génome humain d'une part et du microbiome bactérien d'autre part, le microbiome comporte 100 fois plus de gènes que le génome humain (Cani et al., 2021).

Chez un individu humain, le microbiote intestinal est composé de  $10^{14}$  bactéries et archées réparti en 1000 espèces bactériennes. De plus, le génome du microbiome dans l'intestin humain contiendrait au moins 150 fois le nombre de gènes humains et la biomasse de l'intestin le microbiote peut atteindre à 1,5 kg (Lv et al., 2019). Le microbiote intestinal est dominé principalement par deux phylums : les *firmicutes* et les *bacteroidetes* constituent plus de 90 % des espèces connues catégories phylogénétiques et dominent l'intestin sain microbiote (Cani et al., 2021; Gérard & Vidal, 2019), alors que les *actinobactéries*, les *protéobactéries* et *Verrucomicrobia* sont des constituants fréquents, mais généralement mineurs (Cani et al., 2021).

Les  $10^{14}$  bactéries sont principalement constituées de cinq phylums majeurs (figure 3) classés par ordre d'importance :

1. Les *Firmicutes* sont à Gram positif et jouent un rôle clé dans la nutrition et le métabolisme de l'hôte grâce à la synthèse SCFA. Par leurs produits métaboliques, les bactéries *Firmicutes* sont indirectement connectées avec d'autres tissus et organes et réguler la faim et la satiété (Stojanov et al., 2020).
2. Les *Bacteroidetes* sont Gram-négatif et associé à l'immunomodulation. Leurs composants, lipopolysaccharides et flagelline, interagissent avec les récepteurs cellulaires et renforcent les réactions immunitaires par la synthèse de cytokines (Stojanov et al., 2020).
3. Les *Actinobacteria* constituent le troisième phylum majoritaire, regroupant des espèces bactériennes Gram + à haut pourcentage en GC. Il ne représente qu'environ 3% des bactéries du microbiote. Les *Actinobacteria* comprennent en particulier le genre *Bifidobacterium*.
4. Les *Proteobacteria* contenant l'ordre des Entérobacterales qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité.
5. Les *Verrucomicrobia*

Le rapport *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) est largement reconnu comme ayant une influence importante sur le maintien d'une homéostasie intestinale normale. L'augmentation ou la diminution du rapport F/B est considérée comme une dysbiose, la première étant généralement observée avec l'obésité, et ce dernier avec la maladie inflammatoire de l'intestin (Stojanov et al., 2020).

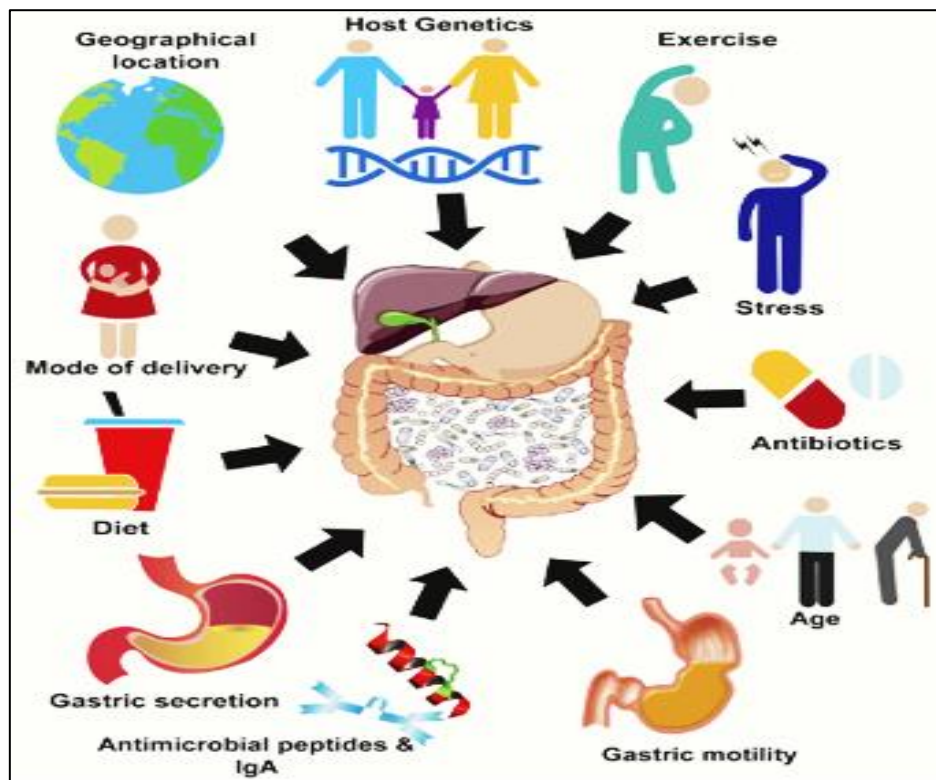


**Figure 3 :** Abondance bactérienne au niveau du genre et du phy-lum du microbiote fécal humain (8 phyla et des 30 genres les plus abondants) (Arumugam *et al.*, 2011).

#### **IV. Facteurs majeurs influençant le microbiote intestinal**

Les caractéristiques de composition du microbiome intestinal sont influencé par un certain nombre de facteurs, l'ensemencement initial et la trajectoire vers une diversité et une stabilité saines de type adulte étant déterminés par le mode de l'accouchement (césarienne vs par vagin) et les schémas d'alimentation précoce (allaitement au sein vs lait maternisé). La génétique de l'hôte joue également un rôle, tout comme la géographie lieu, alors que le stress tout au long de la vie peut être considéré comme une menace pour la diversité du microbiome intestinal. On pense également qu'un régime occidentalisé compromettent l'intégrité du microbiome intestinal, alors qu'un apport accru en fibres est associé à une diversité accrue. L'exercice pourrait également favoriser la stabilité d'un microbiome de santé, bien que le processus de vieillissement soit associé à une diversité de plus en plus restreinte, tout comme de nombreux états pathologiques et excessifs/ utilisation inappropriée d'antibiotiques (Clarke *et al.*, 2019).

Un certain nombre de facteurs intrinsèques également détermine la composition du microbiome intestinal, y compris les sécrétions gastriques, les immunoglobulines IgA et la production de peptides antimicrobiens, et la mobilité gastro-intestinale (Clarke *et al.*, 2019).



**Figure 4 :**Facteurs majeurs influençant le microbiote intestinale (Clarke *et al.*, 2019).

A l'âge adulte, la composition du microbiote intestinal est stable dans des conditions normales mais elle peut varier sous l'influence de certains facteurs exogènes (Gagliardi *et al.*, 2018), comme le régime alimentaire et les médicaments (Luu, 2018).

#### **IV.1. Régime alimentaire**

Le régime alimentaire est un sujet d'intérêt important en raison de son potentiel de modulation du microbiote intestinal de l'hôte. De nombreuses études *in vivo* et cliniques ont mis en évidence l'impact de la consommation de certains aliments sur la composition du microbiote intestinal (Luu, 2018). Par exemple, les régimes riches en graisses, les acides gras polyinsaturés et la viande ont été associés à une augmentation du risque de maladie intestinale. Ce risque de maladie intestinale inflammatoire pourrait être diminué en modulant la structure de la communauté du microbiote intestinal et/ou son métabolome avec un régime végétarien (Gagliardi *et al.*, 2018). Généralement, un régime alimentaire riche en fibres conduit à un microbiote plus diversifié et stabilisé (Frayssinhes, 2017).

Le profil du microbiote intestinal peut être modulé par la consommation des probiotiques (micro-organismes vivants bénéfiques pour la santé de l'hôte) et des prébiotiques (substrats qui entraînent des changements spécifiques dans le microbiote intestinal, conférant des avantages sur la santé de l'hôte). La modulation nutritionnelle du microbiote intestinal est une des stratégies préventifs ou thérapeutiques d'une maladie associée à la dysbiose intestinale (**Luu, 2018**).

#### **IV.2. Prise des antibiotiques**

L'antibiothérapie est une des grandes innovations dans les domaines de la médecine, de la santé publique et de l'agriculture. Un antibiotique est une substance qui permet l'empêchement de croissance et la destruction des bactéries présente dans le corps humain, y compris celles de la flore commensale.

Des études précliniques et cliniques ont constaté que les antibiotiques peuvent altérer la composition, la diversité, ainsi que les fonctions du microbiote intestinal humain, causant des désordres rapides et parfois persistants :

- Chez quatre adultes sains, la clindamycine (lincosamide) a provoqué une perte dramatique de la diversité et de la représentation de certaines espèces du genre *Bacteroides*, ainsi qu'une augmentation des souches résistantes aux antibiotiques, lorsqu'elle a été administrée pendant une semaine (150 mg, 4 fois/jour) (**Jernberg et al., 2007**).
- Les auteurs ont mis en évidence que le déséquilibre de la flore intestinale persistait six mois à deux ans après l'administration. Dans une autre étude, l'utilisation de la ciprofloxacine (quinolone administrée à 500 mg, 2 fois/jour) pendant dix jours a provoqué une réduction de la richesse en espèces et de l'abondance des genres *Faecalibacterium* et *Ruminococcus*, mais une augmentation du genre *Bacteroides* chez dix adultes sains (**Rashid et al., 2015**).

## **II. Fonctions métaboliques du microbiote intestinal**

Le microbiote abondant et diversifié de la tractus gastro-intestinal joue un rôle important dans la physiologie de l'hôte (**Lv et al., 2019**). Il effectue un nombre considérable de fonctions vitales, telles que la fermentation d'aliments autrement indigestes composés, synthèse des vitamines essentielles, métabolisme des toxines et cancérigènes, conversion du cholestérol et des acides biliaires, et régulation immunitaire. Le microbiote est donc une unité fonctionnelle qui effectue

plusieurs actions métaboliques, immunologiques et endocriniennes qui influencent la santé humaine (R et al., 2018).

L'activité métabolique du microbiote intestinal, correspondant à la capacité des espèces bactériennes à transformer les composés alimentaires en métabolites assimilables par l'hôte. Les substrats du processus de biotransformation du microbiote intestinal sont de deux origines : exogène (comme des carbohydrates, lipides, protéines alimentaire, des polyphénols végétaux, des composés xénobiotiques etc.) et endogène (par exemple des acides biliaires) (Luu, 2018).

## II.1. Métabolisme des glucides

Les glucides non digérés par les enzymes de notre tube digestif haut (fibres alimentaires, amidon résistant, lactose ayant échappé à notre lactase) sont métabolisés par certaines espèces bactériennes de notre microbiote qui fermentent principalement les glucides en acides gras à chaînes courtes (acétate, propionate et butyrate) par plusieurs voies métaboliques. L'acétate est produit à partir de l'acétyl-CoA (dérivé de la voie glycolytique) ou de la voie *Wood-Ljungdahl*, le butyrate est produit à partir de l'acétate et de l'acétyl-CoA, et le propionate est produit à partir du succinate et du lactate. Le butyrate et le propionate sont principalement produits à partir du métabolisme des glucides dans la glycolyse, mais peuvent également être produit à partir d'acides organiques et du métabolisme des acides aminés, alors que l'acétate est produit de l'acétyl-CoA (Islam et al., 2022).

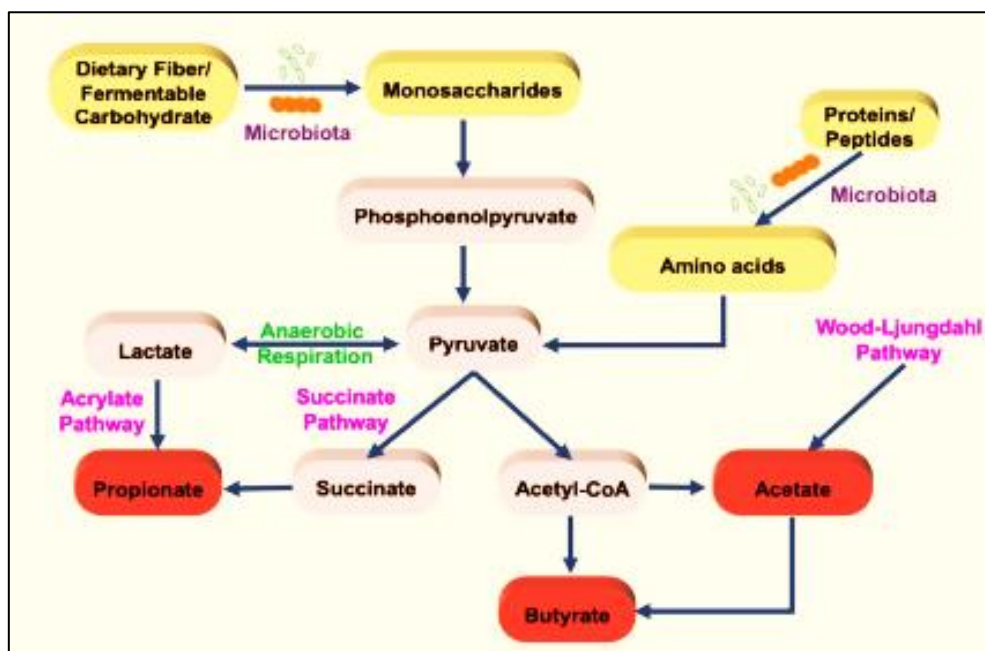


Figure 5 : Voies de production des SCFA par le microbiote intestinal (Islam et al., 2022).

Les principales bactéries productrices des SCFA dans l'intestin appartiennent aux *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* et *Verrucomicrobia* (Islam et al., 2022). Le tableau 01 expose les sites d'absorption des acides gras à chaîne courte et leurs fonctions dans l'énergie métabolisme.

**Tableau 1 :** Absorption des SCFA et leurs rôles métabolismes (Islam et al., 2022).

SCFA	Absorption	Site d'utilisation	Fonction
Butyrate	Colonocytes	Côlon	Différenciation et prolifération des colonocytes
Acetate	Côlon proximal	Fois	Régulation de l'appétit, du poids corporel, et la synthèse du cholestérol
Propionate	Colonocytes	Fois	Utilisé pour la gluconéogenèse, la lipogenèse et la synthèse des protéines

### **II.1. Métabolisme des protéines**

Le microbiote colique possède également une forte activité protéasique permettant l'hydrolyse des protéines en petits peptides puis en acides aminés. Ce processus fait intervenir des bactéries possédant des enzymes protéolytiques telles que les protéases (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*). Les peptides peuvent être directement métabolisés par certaines espèces bactériennes permettant la libération d'acides aminés libres qui seront utilisés par d'autres bactéries incapables d'assimiler ces peptides. Certaines bactéries utilisent les acides aminés comme source d'énergie principale et ne fermentent pas les glucides alors que d'autres utilisent les acides aminés uniquement comme sources d'azote. La voie réductrice de désamination est la voie la plus empruntée par les bactéries du microbiote colique pour la fermentation des acides aminés qui aboutit à la formation d'acides gras à chaîne courte (butyrate, acétate, propionate), d'ammoniac, ou encore de phénols, d'acides dicarboxyliques et d'acides gras ramifiés comme l'isobutyrate. L'ammoniac est également absorbé dans le côlon, il passe dans la circulation portale pour atteindre le foie où il est transformé en urée qui sera éliminée par voie urinaire. Il est une source majeure d'azote pour les bactéries du microbiote colique qui l'utilisent pour la synthèse d'acides aminés. Ainsi, la synthèse protéique bactérienne, stimulée par la fermentation des glucides, permet la diminution de la concentration d'ammoniac dans le côlon (Belaid, 2021).

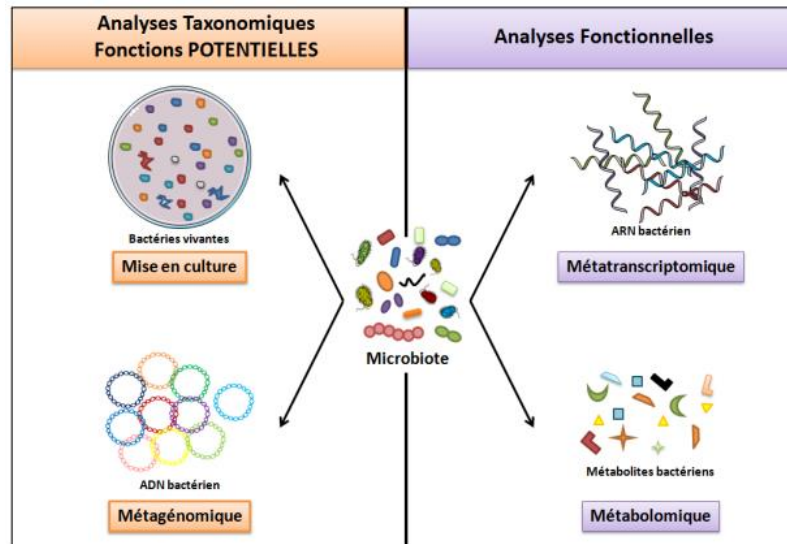
### **IV.3. Métabolisme des lipides**

Enfin, le microbiote joue aussi un rôle dans la régulation de l'élimination et du stockage des graisses. Les lipides de la lumière colique proviennent de trois origines : les lipides arrivant du tractus intestinal d'amont (lipides alimentaires non absorbés par l'intestin grêle), les lipides

provenant de la desquamation des colonocytes et les lipides bactériens. Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés dans le côlon par les bactéries du microbiote. Le cholestérol colique, qui provient pour la majorité de la bile (70%) et pour le reste de l'alimentation (20%) et de la desquamation des cellules épithéliales intestinales (10%), est transformé en coprostanol par le microbiote, avec une efficacité très variable d'un sujet à l'autre. Ce coprostanol n'est pas absorbé et est donc éliminé dans les fèces. Les acides biliaires sont un produit de transformation du cholestérol par le foie. Le cycle entéro-hépatique des acides biliaires permet à 95% de ces acides biliaires sécrétés dans la bile d'être réabsorbés dans l'iléon terminal par des transporteurs actifs spécifiques puis d'être retournés au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile. Seuls 5% des acides biliaires sécrétés dans la bile parviennent au côlon et y sont métabolisés par les bactéries du microbiote (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*) en acide biliaires secondaires. En effet, la déconjugaison rend les acides biliaires plus hydrophobes, ce qui favorise leur absorption passive au niveau du côlon (Belaid,2021).

### III. Méthodes d'analyse de la composition du microbiote intestinal

Plusieurs méthodes se confrontent pour analyser le microbiote intestinal, chacune ayant des avantages et des inconvénients. La mise en culture et la métagénomique sont des analyses taxonomiques, alors que la méta-transcription et Métabolomique sont des analyses fonctionnelles (figure 6).



**Figure 6** : Méthodes d'analyses du microbiote intestinal (Er-Razine, 2019; Nicolas, 2016).

#### IV.4. Techniques basées sur la culture

- La composition du microbiote intestinal était étudiée uniquement par les techniques bactériologiques classiques fondées sur la culture de selles sur différents milieux dans des atmosphères variées permettant une analyse simple, peu coûteuse, et avec une bonne sensibilité ( $10^2$  unités formant colonie/g (UFC/g) de selles) (Er-Razine, 2019).
- La technique de la « culturomique » consiste à cultiver des échantillons de selles dans un large panel de conditions différentes, en faisant varier les milieux et les atmosphères. Elle identifie ensuite toutes les colonies isolées par spectrométrie de masse, ce qui permet d'identifier plus d'espèces (Er-Razine, 2019).
- Ces deux méthodes ne sont pas appropriée pour la culture des bactéries anaérobies strictes, rendant difficile la caractérisation du microbiote intestinal, puisque 80% des espèces ne sont pas cultivables in vitro (Er-Razine, 2019).

#### IV.5. Techniques basées sur la biologie moléculaire

Le tableau 2 illustre l'ensemble des techniques moléculaires utilisées pour identifier et caractériser la flore intestinale.

**Tableau 2 : Techniques basées sur la biologie moléculaire(Er-Razine, 2019; Nicolas, 2016).**

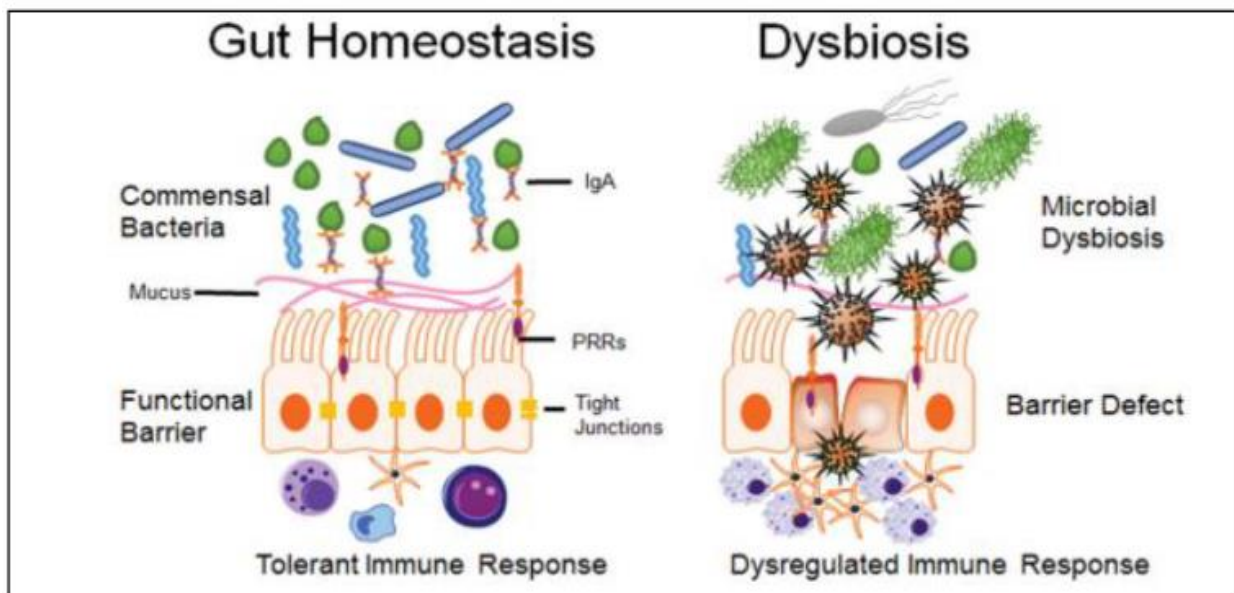
Technique	Explication de la techniques	Inconvénients
ARN ribosomal 16S	Le séquençage du gène codant l'ARNr 16S obtenu d'un extrait d'ADN total des selles, est très utilisé. Ce marqueur bactérien universel, est présent chez toutes les bactéries, avec des régions conservées et des régions hypervariables spécifiques à chaque espèce bactérienne.	L'existence de biais liés à l'amplification, l'identification est souvent limitée au genre et la sensibilité est ordinaire.
Hybridation in situ en fluorescence	Une technique est basée sur l'utilisation des sondes oligonucléotidiques couplées à un marqueur fluorescent qui s'hybrident à des séquences d'ARNr 16S complémentaires spécifiques d'une espèce ou d'un groupe bactérien. Quand l'hybridation se produit, les événements de fluorescence peuvent être comptés et triés en utilisant la cytométrie en flux.	Cette technique ne permet pas de détecter de nouvelles espèces bactériennes puisqu'elle nécessite la connaissance préalable de la séquence de l'ARNr 16S des bactéries ciblées.
technique d'empreinte	Une méthode permet de générer un profil ADN microbien formé par les différents fragments d'ADN bactériens de chaque échantillon et comparer différentes communautés microbiennes présentes dans différents échantillons. Les gènes codant les ARNr 16S sont amplifiés puis séparés par une électrophorèse. Les bandes d'intérêts peuvent être prélevées et ensuite séquencées.	Cette technique ne permet pas de fournir une identification phylogénétique directe ni d'avoir l'accès aux phylotypessous-dominants du microbiote intestinal.
micro-puces à ADN	Une technologie utilise des sondes oligonucléotidiques couplées à des marqueurs fluorescents qui sont fixées sur une lame de verre et s'hybrident aux molécules complémentaires d'ADN (ou d'ARN 16S) extrait de fèces. La fluorescence qui en résulte est alors détectée par un laser	Plusieurs sondes peuvent s'hybrider sur une même cible (phénomènes d'hybridations croisées) et la détection des espèces est limitée par les sondes placées sur la puce.
PCR quantitative	Une technique permet la quantification des bactéries ou un groupe bactérien spécifique par amplification de séquences d'ADNr 16S spécifiques d'espèces bactériennes (ou d'un groupe bactérien) en utilisant des amorces complémentaires fluoromarkées. Elle consiste à estimer les quantités d'ADNr 16S cibles présents dans l'échantillon à l'aide d'une courbe standard issue d'amplifications parallèles d'un nombre de copies connues. L'intensité du signal est proportionnelle à la quantité d'ADNr 16S cible présent dans l'échantillon.	La PCR quantitative est axée sur des groupes bactériens connus au départ et ne peut pas identifier de nouvelles espèces bactériennes.

Technique	Explication de la techniques	Inconvénients
La Métagénomique par séquençage de type « shotgun »	Elle représente l'avancée la plus récente dans le développement de l'analyse du microbiote intestinal. Elle consiste à analyser l'ensemble des génomes bactériens présents dans un écosystème donné par séquençage direct de l'ensemble de l'ADN d'un échantillon de selles, par fragmentation aléatoire sans étape d'amplification.	
Métatranscriptomique	Elle repose sur l'extraction et l'analyse des séquences d'ARNm d'une communauté microbienne dans le but de caractériser les profils d'expression génique qui en découle. Cette technique permet ainsi d'obtenir des informations phylogénétiques de même que la connaissance des fonctions exprimées par cette communauté. A l'heure actuelle, peu d'études métatranscriptomiques se sont réalisées sur le microbiote intestinal.	Le nombre de copies d'ARN transcrit est très variable selon le gène considéré, ce qui risque évidemment de biaiser le calcul de l'abondance relative. D'autre part, la présence d'un transcrit n'indique pas que ce dernier sera nécessairement responsable de la synthèse d'une protéine fonctionnelle dans le milieu. Par ailleurs, le temps de demi-vie de l'ARNm est relativement court et l'ARNm ne représente qu'une petite fraction de l'ARN total extrait.
Métabotéomique	Cette approche repose sur la séparation des protéines à étudier par une électrophorèse à deux dimensions, suivie d'une digestion enzymatique et une ionisation avant l'identification par spectrométrie de masse et par comparaison à des bases de données de référence. Les étapes de séparation des protéines peuvent être modifiées de manière à sélectionner les protéines de l'hôte qui interagissent avec des protéines microbiennes spécifiques, permettant d'avoir un aperçu sur les interactions impliquées dans le maintien de la symbiose hôte-microbiote.	L'efficacité des protocoles d'extraction et de purification qui doivent prendre en compte la localisation des protéines à extraire, soit de façon intra- ou extracellulaire, ou encore en liaison à des particules minérales ou organiques.
Métabolomique	Elle correspond au criblage non sélectif des liquides biologiques dans le but de révéler et de distinguer les métabolites issus du microbiote et ceux issus du métabolisme de l'hôte. Cette analyse métabolomique requiert une technique de séparation telle que l'électrophorèse par capillaires ou la chromatographie gazeuse ou liquide, suivie de la spectrométrie de masse.	La grande diversité des métabolites qui ne peuvent être déduits du génome et le manque de banques de données métabolomiques qui empêche l'identification structurale de nouveaux métabolites qui n'ont pas été déjà caractérisés. Enfin, il existe également des problèmes de reproductibilité et de standardisation inter-plateformes.

## V. Dysfonction de la flore intestinale

Dans des conditions normales d'individus en bonne santé, il existe une diapophonie et une régulation croisée entre l'hôte et le microbiote qui réside dans l'intestin, ce qui crée un équilibre homéostatique des bactéries afin que le tractus gastro-intestinal reste sain et exempt de prolifération de bactéries potentiellement pathogènes (DeGruttola *et al.*, 2016). Cependant, lorsque la relation mutuelle entre les membres du microbiote, les produits métaboliques et le système immunitaire de l'hôte est perdue, une dysbiose se produit (Gagliardi *et al.*, 2018).

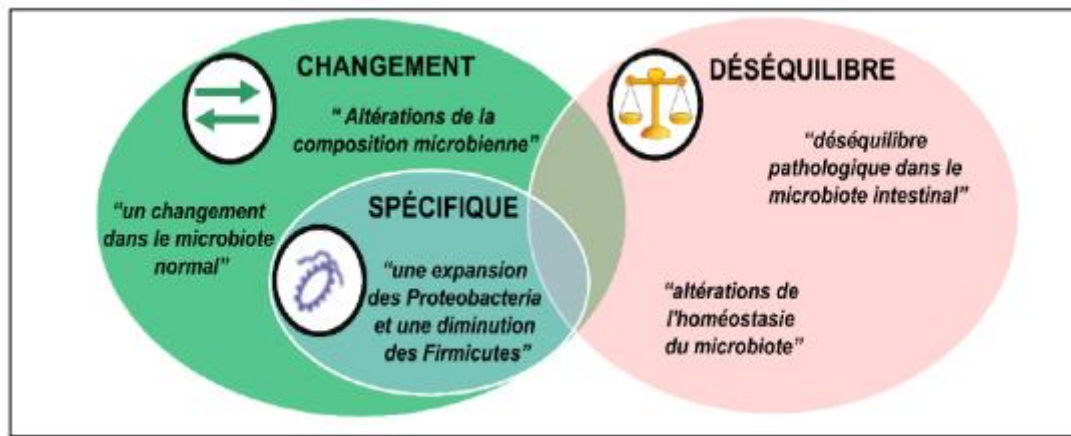
Le microbiote est considéré comme équilibré chez les personnes saines, c'est l'eubiose. Malgré ces fonctions bénéfiques pour l'hôte. La dysbiose est impliqué en pathologie intestinale comme les maladies inflammatoires de l'intestin ou extra-intestinales comme l'obésité et le diabète.



**Figure 7 :** Illustration de l'homéostasie intestinale et de la dysbiose(Wang & Roy, 2017).

### III.1. Définition de la dysbiose

La dysbiose intestinale est un déséquilibre ou des altérations dans la composition du microbiote intestinal (Hooks&O'Malley, 2017). Elle conduit à des modifications dans les fonctions du microbiote intestinal et elle est impliquée dans développement de nombreuses pathologies (Luu, 2018).



**Figure 8:** Définitions de la dysbiose (Hooks & O'Malley, 2017).

La dysbiose peut être classée en trois types différents : perte d'organismes bénéfiques, croissance excessive d'organismes potentiellement nuisibles et perte de la diversité microbienne globale. De plus, ces trois types ne sont pas mutuellement exclusifs et peuvent se produire simultanément (De Luca & Shoefeld, 2019).

### **V.1. Dysbiose et maladies métaboliques**

La dysbiose intestinale est une affection liée à diverses maladies, notamment le cancer du côlon, les maladies inflammatoires de l'intestin, les maladies neurologiques comme la maladie d'Alzheimer et le parkinsonisme, les maladies rénales chroniques, les maladies inflammatoires systémiques comme la polyarthrite rhumatoïde, les troubles cardio-métaboliques comme

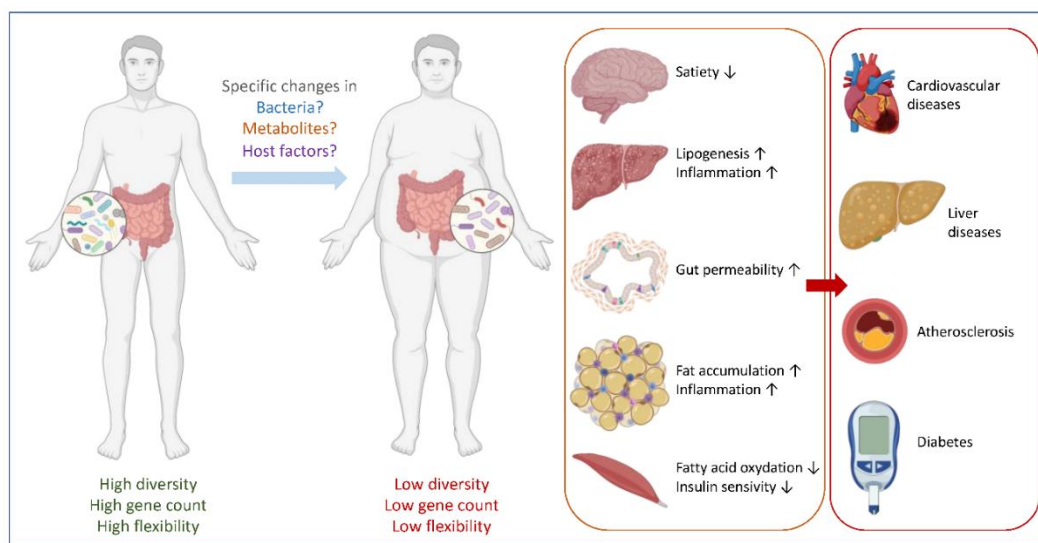
l'obésité, la résistance à l'insuline, le diabète de type 2 et l'hypertension et les maladies cardiovasculaires comme l'athérosclérose, les accidents vasculaires cérébraux et l'insuffisance cardiaque (Madan & Mehra, 2020).

La relation entre l'anxiété, stress et le microbiote intestinal a été longuement analysée par des chercheurs, qui d'après une étude *in vivo* ont conclu que sans microbiote, la sensibilité au stress était plus élevée, cependant, les mécanismes responsables de cette relation stress-microbiote sont encore à l'étude (Rabot, 2015).

Le déséquilibre du microbiote intestinal pourrait être impliqué dans les inflammations chroniques, l'insulinorésistance, l'hypertension artérielle qui mènent tout droit à ce que l'on appelle le syndrome métabolique (Veza *et al.*, 2020).

Le diabète est une affaire de sucre, mais aussi de bactéries intestinales qui nous permettent de digérer les sucres lents en sucres simples qui fermentent en acides gras à courte chaîne. Les diabétiques de type 2 auraient donc un microbiote moins riche en bactéries productrices d'acides gras à courte chaîne. En mourant, certaines bactéries libèrent des substances toxiques, dont la présence dans le sang est associée à un risque accru de diabète (**Harsch&Konturek, 2018**).

Dans une situation saine, la composition du microbiome intestinal est associée à une grande diversité, un nombre élevé de gènes (haute fonctionnalité) et une grande capacité d'adaptation aux conditions de stress potentielles. Un déséquilibre causé par des changements spécifiques dans la composition des bactéries, la production de métabolites et/ou les facteurs de l'hôte peut entraîner un changement spécifique du microbiote avec un état de faible diversité et un faible nombre de gènes, et une mauvaise flexibilité (**figure 9**). Une mauvaise flexibilité signifie un manque de résilience ou une difficulté à revenir à un état basal et stable. Cela contribue à une augmentation de l'inflammation de bas grade et des dysfonctionnements des organes qui, à leur tour, peuvent entraîner des troubles métaboliques, tels que des troubles cardiométaboliques, des maladies du foie et le (pré-)diabète (**Cani et al., 2021**).



**Figure 9** : Microbes intestinaux sont liés aux troubles métaboliques (**Cani et al., 2021**).

## **VI. Reconstruction de l'équilibre intestinale**

De nombreuses stratégies thérapeutiques ont été développées pour rétablir l'eubiose intestinale, et de nouvelles des stratégies sont constamment proposées et étudiées. Les principaux et actuellement les plus connus et les stratégies thérapeutiques les plus adoptées comprennent (i) l'administration de bactéries probiotiques susceptibles de déplacer les bactéries potentiellement

pathogènes et favoriser un rééquilibrage de la communauté microbienne ; l'administration de prébiotiques (c'est-à-dire des formulations de nutriments étant préférentiellement ou exclusivement métabolisé par des bactéries probiotiques) pour favoriser la prolifération de bactéries probiotiques ; et la administration de combinaisons de probiotiques et de prébiotiques (appelés synbiotiques). La thérapeutique plus récente approches ont été proposées, notamment la phagothérapie, la transplantation fécale, et une approche étudiée basée sur des bactéries prédatrices. Toutes ces stratégies partagent le même objectif de remplacer les microbes nocifs par des microbes plus favorables pour restaurer l'eubiose(**Gagliardi et al., 2018**).

## **Chapitre II : Maladies métaboliques et Obésité**

### **Introduction**

Sur le plan épidémiologique, l'Afrique du Nord et le bassin méditerranéen sont des régions avec taux d'obésité élevés. À l'instar de nombreux autres pays, l'Algérie enregistre ces dernières années une importante augmentation de la prévalence de l'obésité. En effet, 23,6 % et 57,1 % des Algériens présentent respectivement une obésité et un surpoids. L'augmentation parallèle de la fréquence du diabète de type 2 (10,5 %) et des facteurs de risque cardiovasculaire (15,1 % des individus ayant  $\geq 3$  facteurs de risque) sont les deux conséquences les plus défavorables de cette épidémie. Les études réalisées à l'échelle nationale, ne permettent pas de définir la prévalence et les facteurs de risques liés à cette pathologie. Elles permettent toutefois, de faire prendre conscience que le surpoids/obésité prend de l'ampleur et devient un véritable problème de santé publique (BOUHENNI, 2019).

### **I. Obésité chez l'adulte**

L'obésité est une maladie chronique, récurrente et multifactorielle telle que définie par la classification internationale des maladies. Elle constitue également un facteur de risque important pour un certain nombre d'autres maladies non transmissibles telles que le diabète, les maladies cardiaques et le cancer, entre autres.

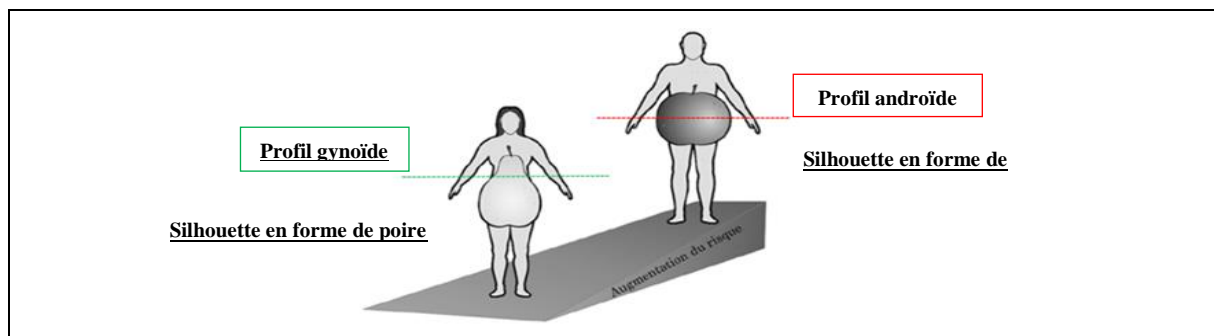
#### **I.1. Définition**

L'obésité est une maladie reconnue depuis 1997 par l'OMS, elle est définie comme étant une accumulation excessive du tissu adipeux pouvant atteindre plus de 50 % de la masse totale d'un individu. C'est une pathologie évolutive complexe et chronique caractérisée par son origine multifactorielle et par son hétérogénéité en termes de déterminants et de présentations phénotypiques. Deux paramètres ont une influence primordiale sur la physiopathologie de l'obésité, soit l'accumulation de gras et sa localisation anatomique (BOUHENNI, 2019).

#### **I.2. Types morphologiques d'obésité**

L'importance de la distribution de la graisse corporelle a d'abord été clairement indiquée par *Jean Vague*, en 1947 et en 1956. Il a appelé le modèle masculin "androïde", le modèle

féminin "gynoïde" et a fourni des preuves que le modèle androïde était beaucoup plus susceptible d'être associé aux diverses maladies chez les hommes et les femmes (figure 10).



**Figure 10 :** Types morphologiques d'obésité et l'augmentation du risque face aux maladies (BOUHENNI, 2019).

### **A. Obésité périphérique, générale ou gynoïde**

Les personnes souffrant d'obésité abdominale possèdent une graisse distribuée par voie sous-cutanée dans les zones fémoro-patellaires et dans la partie inférieure de l'abdomen, et présentent peu de risques de complications métaboliques. Le TAS d'un individu est capable de stocker les excès énergétiques de façon adéquate, comme il devrait être, cette personne serait protégée. Donc, les personnes ayant plus de capacité d'accumulation de TAS, à risque de développer une obésité abdominale importante et à moins de risques de développer une maladie cardio-métabolique.

### **B. Obésité centrale, abdominale ou androïde**

Les personnes souffrant d'obésité abdominale accumulent les graisses par voie sous-cutanée et viscérale dans l'abdomen. Dans le cas où le tissu adipeux est absent, déficient ou résistant à l'insuline et avec une capacité de stockage limitée, l'excès de graisse serait alors stocké de manière indésirable dans le foie, le cœur et le tissu adipeux viscéral. Donc, l'obésité viscérale est celle qui est la plus délétère et elle est associée aux nombreuses altérations cardio-métaboliques. Elle est probablement une étape précoce dans la cascade d'événements qui constituent le syndrome métabolique (BOUHENNI, 2019).

## **I.3. Quelques méthodes de mesure de la graisse totale et régionale**

Il existe plusieurs façons d'estimer le niveau de gras corporel, afin de déterminer si une personne est obèse et d'identifier le niveau et le type d'obésité. Cependant, la mesure précise

de la masse grasse chez l'Homme reste difficile et coûteuse, alors que les mesures anthropométriques sont des données brutes (BOUHENNI, 2019).

### A- Indice de masse corporelle (IMC ou BMI)

L'IMC est une mesure simple ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), consiste à diviser le poids par la taille (Must & Anderson, 2006), a un faible coût et une rapidité d'exécution et prédiction du risque de maladies chroniques (F. B. Hu, 2007). Cependant, il ne permet pas de faire la distinction entre la masse maigre et la masse grasse et ne tient pas compte les différences d'accumulation des graisses entre les hommes et les femmes, les enfants et les personnes âgées, les groupes ethniques et les populations particulières comme les athlètes de haut niveau (Després, 2011; Deurenberg et al., 1991; F. B. Hu, 2007).

$$\text{IMC} = \text{poids (kg)}/\text{taille}^2(\text{m})$$

A partir de cet indice, on peut subdiviser une population en fonction de son degré d'obésité (tableau 3). Nous parlons d'obésité lorsque l'IMC est supérieur ou égal à 30.

**Figure11:** Risques de morbidité associée à l'IMC chez l'adulte selon l'OMS (2000)

Classification	IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	Risque
Poids insuffisant	< 18.5	Accru
Poids normal	18.5 – 24.9	Moindre
Surpoids	25.0 – 29.9	Accru
Obésité	$\geq 30.0$	
Classe I	30.0 – 34.9	Élevé
Classe II	35.0 – 39.9	Très élevé
Classe III	$\geq 40.0$	Extrêmement élevé

### B- Tour de taille

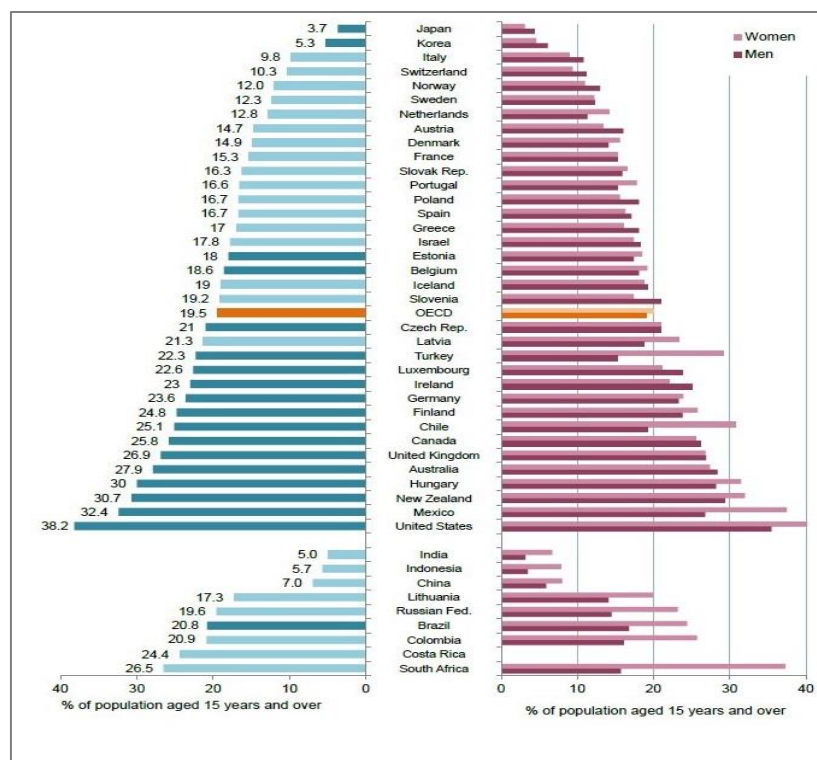
Il est un paramètre (m), son protocole de mesure n'est pas unifié. Il est pris au point médian entre le haut de la crête iliaque et la dernière côte flottante d'après l'OMS (World Health Organization, 2004).

**I.4. Epidémiologie de l'obésité chez les adultes**

**A. Dans le monde**

En termes de régions (2013), l'Amérique du Nord avait les niveaux les plus élevés de prévalence de l'obésité chez les adultes (30,46%) tandis que l'Asie du Sud avait le plus bas (4,37%). En termes de tendances longitudinales, l'obésité prévaut lence chez les adultes dans les pays étudiés est passée de 5,41 % en 1975 à 17,51 % en 2014 à un taux de 3,06 %.La prévalence de l'obésité chez les adultes a augmenté plus rapide dans les pays à faible revenu, et au rythme le plus lent dans les pays à revenu élevé pays (Talukdar et al., 2020).

En 2015, dans l'ensemble des pays membre de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE), 19,5 % des adultes étaient obèses (figure 12). Ce taux varie de moins de 6 % en Corée et au Japon à plus de 30 % en Nouvelle-Zélande, au Mexique et aux États-Unis (OCDE, 2017).



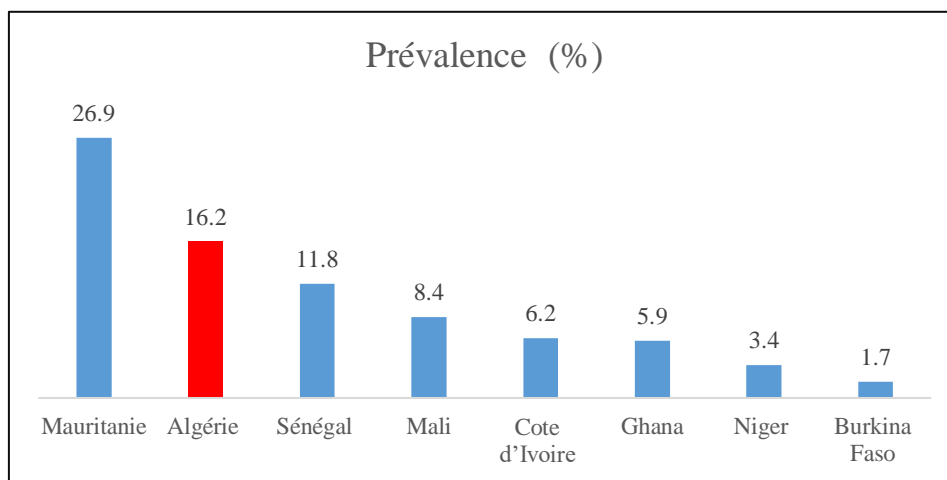
**Figure 12 :** Obésité chez les adultes, 2015 ou année la plus proche(OCDE, 2017).

En 2016, plus de 39% des adultes âgés de 18 ans étaient en surpoids et 13% étaient obèses dans le monde (OMS, 2020). D'après l'OMS (2018), la prévalence de l'obésité à l'échelle

mondiale doublera dans les 10 ans à venir, avec une estimation de 20 % d'adultes obèse en 2025 et 25 % en 2045.

### **B. En Afrique**

Durant les dernières années, la prévalence de l'obésité en Afrique a augmenté un peu plus rapidement. Selon l'estimation de l'OMS, en 2010 ce phénomène touche spécialement l'Algérie ainsi que dans les autres pays africains. Les pays mentionnés dans la figure 13 sont les plus touchés par l'obésité tels que l'Algérie qui est classée à la deuxième position selon l'estimation de l'OMS (Diop *et al.*, 2014).



**Figure 13 :** Obésité dans quelques pays d'Afrique en 2010 (Diop *et al.*, 2014).

### **C. Dans les pays maghrébins**

D'après les estimations Africaines en 2016 les prévalences de l'obésité sont plus élevées précisément dans l'Afrique de Nord ; dont en Egypte (32%), en Libye (32,5) et presque aussi élevé en Algérie (27,4%) ; Par contre moins élevé en Tunisie (presque 26,8%) et en Maroc (presque 26%).

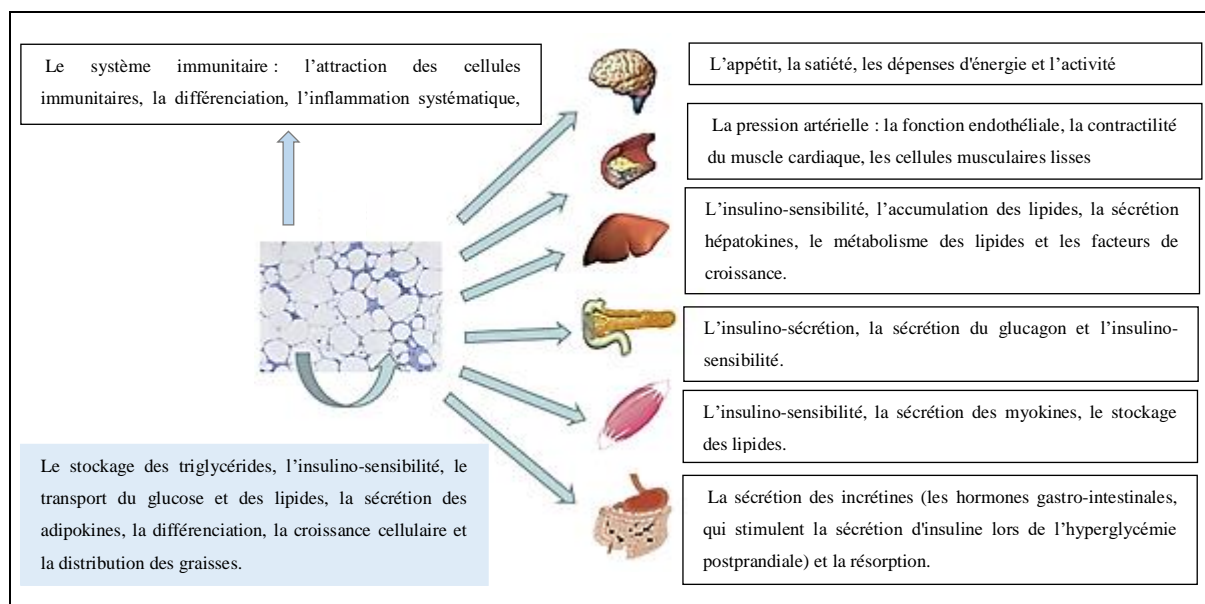
### **D. En Algérie**

L'Algérie n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes, en 2005, 55,9 % des personnes âgées de 35-70 ans étaient en surpoids et 21,24 % étaient obèses. Le surpoids et l'obésité touchent de plus en plus d'Algériens et de plus en plus tôt (Atek *et al.*, 2007). La prévalence de l'obésité était de 30,1 % chez les femmes et de 9,1 % chez les hommes (Atek *et*

*al.*, 2013). Selon les derniers résultats de l'enquête Step Wise du ministère de la Santé en 2017, le taux de l'obésité est de 30% chez les femmes et de 14% chez les hommes.

### I.5. Tissu adipeux et régulation métabolique

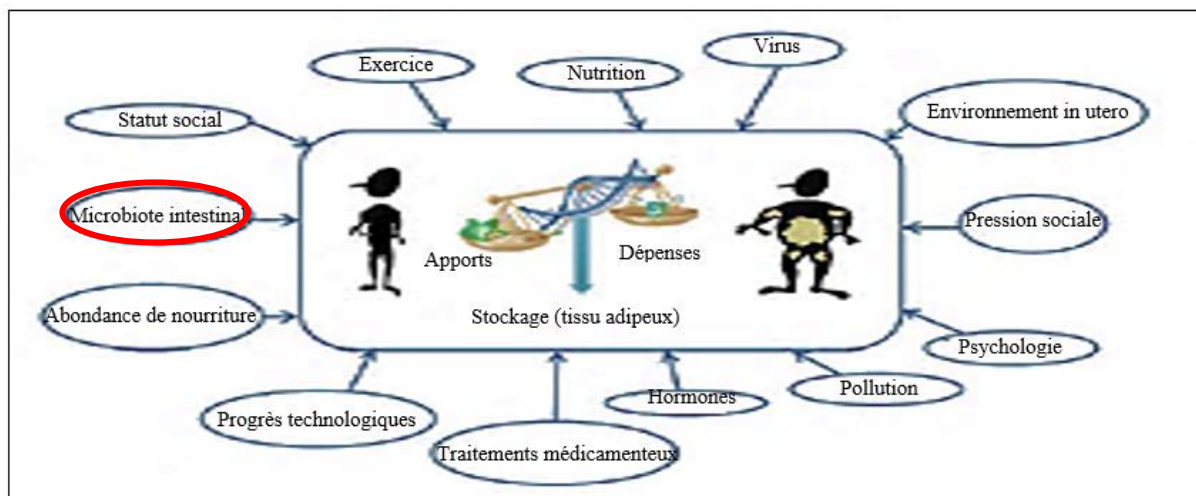
Le tissu adipeux possède deux fonctions principales au sein de l'organisme : un organe de stockage des réserves énergétiques et de sécrétion des adipokines (figure 13). En termes de la physiologie normale, le rôle principal du tissu adipeux est lié au métabolisme des lipides et des glucides. Il contribue à la régulation du poids corporel, donc au bilan énergétique, ainsi qu'à la régulation de l'appétit et de la satiété ; via les actions combinées de la leptine, de l'adiponectine et d'autres hormones. D'autres protéines sécrétées par le tissu adipeux englobent un large éventail de processus pro-inflammatoires et métaboliques, comme l'angiogenèse, la coagulation et la régulation de la pression sanguine (angiotensinogène). Le tissu adipeux joue également un rôle primordial dans la puberté et la reproduction. En termes de la physiopathologie, le tissu adipeux et son expansion dans l'obésité est comme site principal d'entreposage de l'excédent énergétique contribue, jusqu'à un certain point, à la protection contre la lipotoxicité du foie, du cœur, du pancréas, du muscle et des autres dépôts ectopiques (BOUHENNI, 2019).



**Figure 14:** Rôles du tissu adipeux dans la régulation métabolique systémique (Fasshauer&Blüher, 2015).

### I.6. Déterminants environnementaux de l'obésité

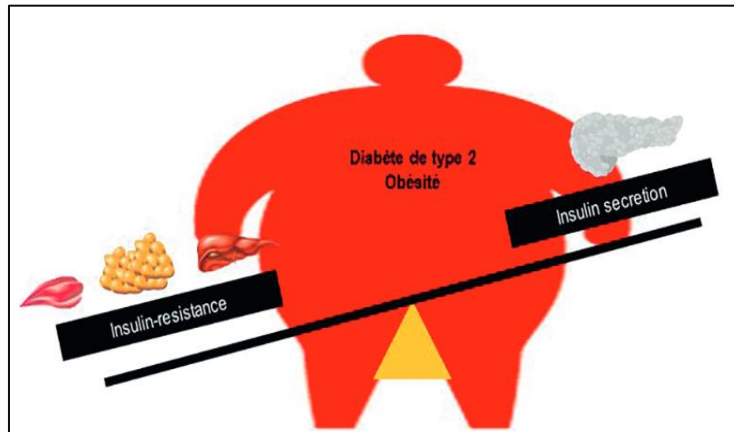
Les causes sont multifactorielles (figure 14), mais l'épidémie d'obésité serait en grande partie due à la conjonction entre sédentarité et alimentation inappropriée, les modifications de l'alimentation et la réduction de l'activité physique entraînent un déséquilibre de la balance énergétique (Faucher & Poitou, 2016). Parmi les facteurs déclenchant de l'obésité est le dysbiose : une augmentation du poids corporel est associée à un changement du microbiote identifié par une modification du rapport B/F avec une plus grande proportion de *Firmicutes* et un déclin de *Bacteroidetes* populations (Gérard & Vidal, 2019).



**Figure 15 : Déséquilibre de la balance énergétique et ses déterminants (Faucher & Poitou, 2016).**

### I.7. Obésité : Facteur de risque de diabète de type 2

L'obésité est le premier facteur de risque de diabète ainsi que l'âge. La maladie surviendrait suite à une production insuffisante en insuline face à une demande accrue de l'organisme causée, elle, par une augmentation de la résistance à l'insuline des tissus cibles de l'insuline tels que le foie, les muscles et le tissu adipeux (Tenenbaum et al., 2018).



**Figure 16 :** Perturbations métaboliques dans l'obésité (Tenenbaum et al., 2018).

L'insulinorésistance (tableau) est définie lorsque le taux de l'insuline normal ou élevé produit une réponse inadaptée des cellules cibles de l'insuline. L'hyperinsulinémie compensatoire survient lorsque la sécrétion de cellules  $\beta$  augmente, au début de l'insulinorésistance, pour maintenir une glycémie normale dans le cadre de l'insulinorésistance périphérique dans le muscle et le TA. L'hyperinsulinémie permet le maintien de l'homéostasie glucidique et lipidique (BOUHENNI, 2019).

**Tableau 3:** Insensibilité à l'insuline dans les trois tissus cibles (BOUHENNI, 2019).

Types	Tissus	Conséquences
IR périphérique	Tissu adipeux	L'augmentation de lipolyse entraîne une augmentation des AGL circulants .
	Muscle squelettique	Inhibition de l'absorption du glucose insulino-dépendant.
IR hépatique	Foie	Une oxydation accrue des AGL stimule la néoglucogénèse, la synthèse des TG et la production hépatique du glucose .

L'hyperinsulinémie est fortement liée à l'obésité, puisque la majorité des individus insulinorésistants sont en excès de poids. Comme dans le cas de l'obésité, les adipocytes augmentent la lipolyse et elles libèrent les acides gras à longue chaîne qui se déposent au niveau des organes périphériques et perturbent l'action de l'insuline. Le lien entre l'augmentation des acides gras à longue chaîne circulants et l'insulinorésistance pourraient impliquer une accumulation ectopique des TG et des métabolites dérivés des acides gras à longue chaîne dans les muscles, le foie et les vaisseaux sanguins, activer les leucocytes des tissus, contribuer à l'apparition des maladies spécifiques d'organes et provoquer l'insulinorésistance et l'inflammation des îlots pancréatiques qui peuvent réduire la sécrétion

d'insuline et déclencher l'apoptose des cellules  $\beta$  menant à une perte de masse d'îlots pancréatiques, événements critiques dans la progression du diabète (BOUHENNI, 2019).

## II. Diabète de type 2

### II.1. Définition et Diagnostic du diabète de type 2

Le diabète sucré est un groupe hétérogène des troubles métaboliques caractérisé par une hyperglycémie avec altération du métabolisme glucidique, lipidique et protéique résultant de défauts dans la sécrétion et/ou l'action de l'insuline (Kitabchi et al., 2006).

#### A- Pré-diabète

La présence de l'un des critères de pré-diabète (tableau) expose la personne à un risque cardio-métabolique élevé. D'ailleurs, la glycémie à jeun semble résulter d'une sécrétion d'insuline de première phase altérée, indiquant à la fois un dysfonctionnement des cellules pancréatiques  $\beta$  et une augmentation de l'insulino-résistance hépatique (Tuomi et al., 2014). L'intolérance au glucose résulte d'une altération de la sensibilité des cellules  $\beta$  au glucose qui conduit à une sécrétion d'insuline de première phase défectueuse à long terme (Tuomi et al., 2014).

Généralement, le pré-diabète est associé à l'obésité abdominale, à la dyslipidémie avec triglycérides et/ou cholestérol HDL bas et à l'hypertension (American Diabetes Association, 2018).

**Tableau 4:** Critères du diagnostic de pré-diabète (Goldenberg & Punthakee, 2013).

Épreuve de laboratoire	Valeurs de référence	Diagnostic
Glycémie à jeun (GAJ)	6,1 à 6,9 mmol/L	Anomalie de la glycémie à jeun
Glycémie 2 h après l'ingestion de 75 g de glucose (GPP)	7,8 à 11,0 mmol/L	Intolérance au glucose
Taux de l'HbA1c	6,0 à 6,4 %	Pré-diabète

La pathogenèse des complications de diabète de type 2 peut s'installer dans la phase pré-diabétique pendant l'état d'insulino-résistance (Hörber et al., 2019).

## **B- Diabète de type 2**

Le diabète de type 2, précédemment appelé « diabète non insulino-dépendant » ou « diabète de l'adulte », représente 90 à 95 % de tous les diabètes. Cette forme englobe les personnes qui ont une déficience relative (plutôt qu'absolue) en insuline et qui ont une résistance périphérique à l'insuline. Au moins au début, et souvent tout au long de leur vie, ces personnes peuvent ne pas avoir besoin d'un traitement à l'insuline pour survivre (**American Diabetes Association, 2018**).

Les causes du diabète de type 2 sont diverses. Bien que les étiologies spécifiques ne soient pas connues, la destruction auto-immune des cellules  $\beta$  ne se produit pas et les patients n'ont aucune des autres causes connues de diabète. La plupart des patients atteints de diabète de type 2, mais pas tous, sont en surpoids ou obèses. L'excès de poids lui-même provoque un certain degré de résistance à l'insuline (**American Diabetes Association, 2018**).

Des valeurs seuils ont été définies par plusieurs organisations internationales soutenant le diagnostic de diabète (**American Diabetes Association, 2018**) :

- Glycémie à jeun  $\geq 126$  mg/dL ( $\geq 7,0$  mmol/L) ;
- HbA1c  $\geq 6,5$  % ( $\geq 48$  mmol/mol) ;
- Glycémie postprandiale (après 2 h)  $\geq 200$  mg/dL ( $\geq 11,1$  mmol/L) ;
- Glycémie plasmatique aléatoire  $\geq 200$  mg/dL ( $\geq 11,1$  mmol/L).

Les patients atteints de diabète de type 2 peuvent avoir des niveaux d'insuline qui semblent normaux ou élevés, les niveaux de glucose sanguin plus élevés chez ces patients devraient entraîner des valeurs d'insuline encore plus élevées si leur fonction des cellules  $\beta$  avait été normale. Ainsi, la sécrétion d'insuline est défectueuse chez ces patients et insuffisante pour compenser la résistance à l'insuline (**American Diabetes Association, 2018**).

Donc, le diabète de type 2 résulte d'une combinaison de deux éléments : réduction de la sécrétion d'insuline et réduction de la sensibilité à l'insuline, qui est à l'origine d'une hyperglycémie postprandiale.

## **II.2. Prévalence de Diabète**

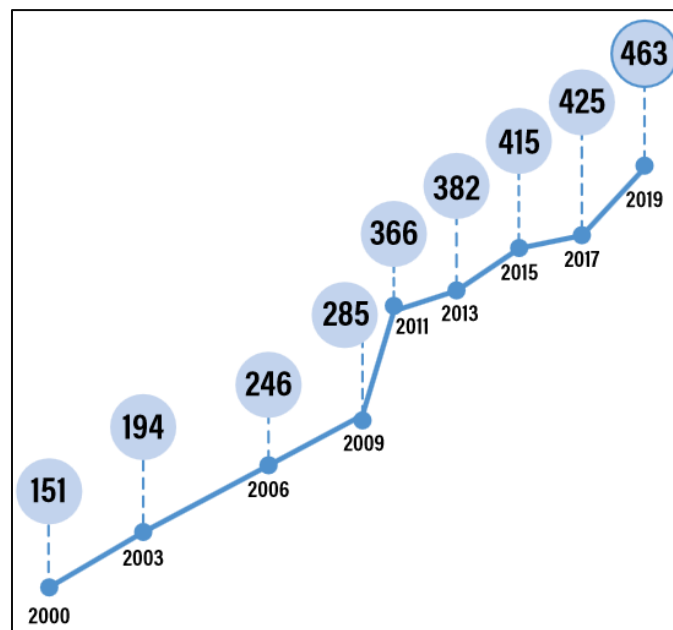
Le diabète sucré est un trouble métabolique caractérisé par hyperglycémie chronique. Il est en augmentation dans le monde (**Hörber et al., 2019**).

### A- Dans le monde

Le diabète de type 2 est le type de diabète le plus courant et il représente environ 90 % de l'ensemble des cas de diabète dans le monde (Hörber *et al.*, 2019)(FID, 2019).

À l'échelle mondiale, l'OMS a estimé à 422 millions le nombre des adultes qui vivaient avec le diabète en 2014, contre 108 millions en 1980. La prévalence mondiale du diabète a presque doublé depuis 1980, passant de 4,7 à 8,5 % de la population adulte. (OMS, 2016).

En 2000, la prévalence mondiale du diabète était estimée à 151 millions de personnes âgées de 20 à 79 ans (4,6 % de la population mondiale à l'époque). Les estimations de FID ont depuis mis en lumière des augmentations alarmantes, avec par exemple une multiplication par trois pour l'estimation de 2019 (463 millions ou 9,3 % de tous les adultes dans cette tranche d'âge). La FID a également estimé que 79,4 % d'entre eux vivent dans des pays à faible revenu et ceux à revenu intermédiaire. Les pays dans lesquels la FID a trouvé le plus grand nombre d'adultes vivant avec le diabète sont la Chine, l'Inde et les États-Unis. Dans ce contexte, la FID a pensé que 578,4 millions d'adultes âgés de 20 à 79 ans d'ici à 2030 (10,2 % de la population) et 700,2 millions d'ici à 2045 vivront avec un diabète (10,9 %)(FID, 2019).



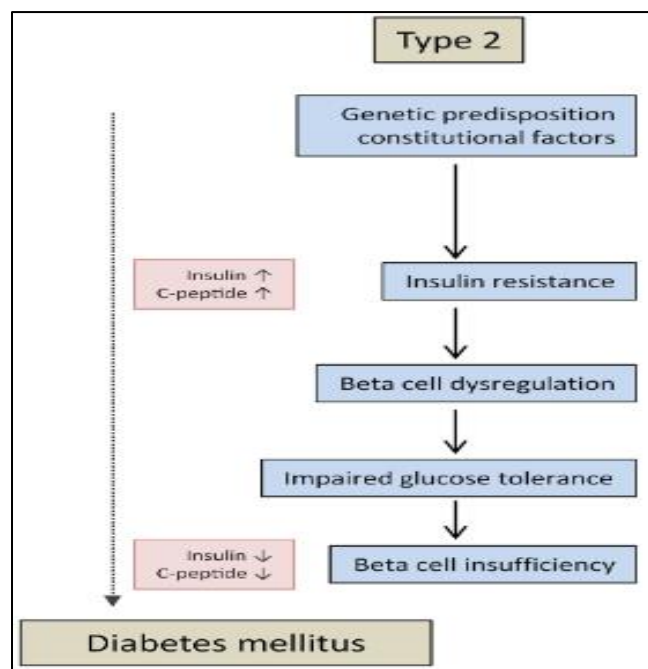
**Figure 17 :** Estimations et projections de la prévalence mondiale du diabète dans la tranche d'âge de 20 à 79 ans (en millions)(FID, 2019).

## B- En Algérie

En 2005, environ de 12,33 % des algériens (35-70 ans) étaient diabétiques (Atek et al., 2007). À l'instar des autres pays, la prévalence du diabète en Algérie continue d'augmenter pour atteindre 14,4 % de la population (18 -69 ans), soient environ 4 millions de personnes atteintes de diabète en Algérie en 2018 (Belhadj et al., 2019).

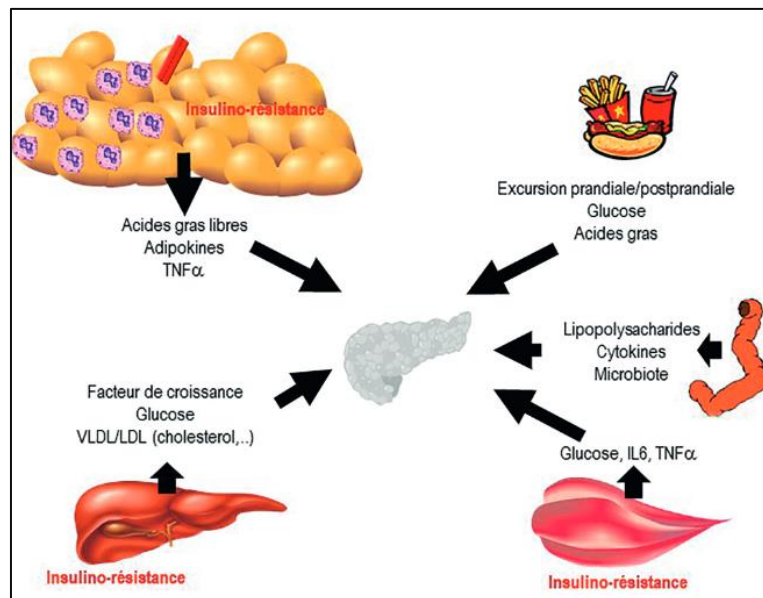
### II.3. Evolution du diabète de type 2 et cellules bêta pancréatiques

L'homéostasie du glucose dépend de la balance entre la quantité d'insuline sécrétée et la sensibilité des tissus périphériques à son action. Au début de la maladie, la production d'insuline par le pancréas est normale. La prise de poids par le patient stimule les cellules des muscles à utiliser de préférence les acides gras pour en tirer de l'énergie. L'on dit que les cellules de l'organisme chargées de capter et d'utiliser le glucose deviennent insensibles à l'insuline. Le glucose ne pouvant entrer dans les cellules, les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas vont produire plus d'insuline pour forcer la prise de glucose par les cellules. Au fur et à mesure de l'avancée de la maladie, les cellules bêta vont s'épuiser, c'est-à-dire que leur production d'insuline va diminuer jusqu'à disparaître. Le taux de sucre dans le sang (glycémie) va donc augmenter (Boulé et al., 2001; Prentki & Nolan, 2006).



**Figure 18 :** Événements pathologiques conduisant au diabète sucré de type 2 (Hörber et al., 2019).

L'excès d'apport lipidique et l'insulino-résistance systémique, associés avec l'obésité, joueraient un rôle clé dans le déclin de la masse et de la fonction des cellules bêta (figure 6). L'inflammation chronique de faible grade, induite par l'hyperlipidémie contribue à aggraver l'insulino-résistance et le rôle diabétogène de l'obésité. En effet, l'exposition chronique des tissus insulino-sensibles aux cytokines pro-inflammatoires entraînent une insulino-résistance. De même, les cellules bêta pancréatiques exposées longuement aux cytokines pro-inflammatoires sont incapables de sécréter de l'insuline en réponse au glucose et finissent par mourir par apoptose. Cette inflammation chronique pourrait aussi être induite par une augmentation de la perméabilité intestinale et un changement de composition du microbiote, aussi observés chez les sujets obèses présentant un DT2. Cette hypothèse est confortée par le fait que l'introduction d'une flore intestinale de donneurs minces chez des patients obèses améliore leur sensibilité à l'insuline (Tenenbaum *et al.*, 2018).



**Figure 19 :** Altération des cellules bêta pancréatiques dans le diabète de type 2 (Tenenbaum *et al.*, 2018).

#### **II.4. Complication du diabète de type 2 et syndrome métabolique**

D'une part, le diabète de type 2 expose à de nombreuses complications qui procèdent de mécanismes complexes associant hyperglycémie, insulino-résistance, inflammation de bas-grade et athérogénèse accélérée. À long terme, les diabétiques peuvent être touchés par (Schlienger, 2013) :

1. Les complications cardio-cérébrovasculaires grèvent le pronostic du diabète. La coronaropathie, l'insuffisance cardiaque et l'artérite distale ont des formes cliniques particulières et sont parfois silencieuses. Le diabète de type 2 est à considérer comme un facteur de risque cardiovasculaire indépendant.
2. La néphropathie diabétique est souvent d'origine mixte. Elle est actuellement la première cause d'insuffisance rénale terminale. Son histoire naturelle peut être infléchie par un strict contrôle métabolique et tensionnel et une correction précoce de la microalbuminurie.
3. La rétinopathie est paradoxalement assez peu évolutive mais reste néanmoins inquiétante chez ces patients souvent âgés à haut risque ophtalmologique global.
4. Le pied diabétique est une complication grave et longtemps méconnue liée à la microangiopathie, macroangiopathie et à la neuropathie. Il peut être considéré complication des complications. Son dépistage doit être systématique.
5. Parmi les complications émergentes du diabète de type 2 figurent certains cancers. Par ailleurs, ce type de diabète est intriqué avec des situations à risque telles que la stéatohépatite non alcoolique et le syndrome d'apnée du sommeil. Il est associé à un déclin cognitif, à des troubles de l'humeur et à une altération du métabolisme osseux.

D'autre part, le syndrome métabolique, étant considéré comme un facteur de risque cardiovasculaire, constitue un problème majeur de santé publique. Il aggrave les risques déjà élevés chez les diabétiques. La prévalence du syndrome était très élevée dans notre population d'étude, puisque plus de quatre diabétiques de type 2 sur cinq (86,30%) avaient présenté ce syndrome. De même, le diabète était associé dans 100% de cas avec au moins un autre facteur de risque cardiovasculaire (**Raharinaivalona et al., 2020**).

Le pré-diabète et le diabète de type 2 sont souvent des manifestations d'un trouble sous-jacent beaucoup plus vaste, y compris du syndrome métabolique, trouble très courant et ayant de multiples facettes, caractérisé par une constellation d'anomalies, dont l'obésité abdominale, l'hypertension, la dyslipidémie et l'hyperglycémie. En présence du syndrome métabolique, le risque de maladies cardiovasculaires est élevé. Le syndrome métabolique et le diabète de type 2 se manifestent souvent de façon concomitante, mais les personnes non diabétiques qui sont atteintes du syndrome métabolique présentent un risque élevé de développer le diabète. Il existe à l'heure actuelle des données probantes justifiant la prise de mesures énergiques pour diagnostiquer et traiter non seulement l'hyperglycémie, mais aussi les facteurs de risque

cardiovasculaire associés au syndrome métabolique, comme l'hypertension, la dyslipidémie et l'obésité abdominale, dans l'espoir de réduire considérablement la morbidité et la mortalité cardiovasculaires (**Goldenberg & Punthakee, 2013**).

### **III. Syndrome métabolique**

#### **III.1. Définition et diagnostic du syndrome métabolique**

En règle générale, la coexistence de l'obésité abdominale et des anomalies cliniques et métaboliques, tels que l'hypertension artérielle (HTA), l'hyper-insulinémie, l'ITG, le taux élevé de TG et le taux réduit de HDL-c, sont un regroupement de plusieurs facteurs de maladies cardio-métaboliques connue sous le nom de syndrome métabolique. En 2015, un groupe d'experts de plus de 20 organisations a énoncé les trois axiomes fondamentaux qui soutiennent ce concept : le syndrome métabolique (SM) est un état patho-physiologique chronique et progressif, il représente un regroupement des facteurs de risque formant un syndrome complexe et il est associé à un risque accru de maladies cardiovasculaires, de DT2 et d'autres troubles (**BOUHENNI, 2019**).

Chez les adultes, il existe plusieurs définitions de diagnostic du SM (tableau). En 2009, un groupe de travail de plusieurs organisations mondiales a publié les critères uniformes pour le diagnostic clinique du syndrome métabolique. Toutes les organisations ont défini la présence du SM par l'existence au moins de trois critères de diagnostic, mais encore la plupart de ces organisations ont fixé un critère obligatoire (la case en gris, tableau).

**Tableau 5:** Définitions du syndrome métabolique chez l'adulte (**BOUHENNI, 2019**).

Organisation	Date	Glycémie (mmol/L)	Insulinémie (percentile)	Obésité	HDL-c (mmol/L)	TG (mmol/L)	PAS/PAD (mmHg)
OMS	1998	GAJ $\geq$ 6,1 ou GPP $\geq$ 7,77 ou IR		RT <sub>H</sub> $\geq$ 0,90 ; RT <sub>F</sub> $\geq$ 0,85 ou IMC $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup>	TG $\geq$ 1,70 ou HDL <sub>H</sub> $<$ 0,9 et HDL <sub>F</sub> $<$ 1,0		140/90 ou traitement
EGIR	1999	GAJ $\geq$ 6,1	$\geq$ 75 <sup>ème</sup>	TT <sub>H</sub> $\geq$ 94 cm et TT <sub>F</sub> $\geq$ 80 cm		TG $\geq$ 2 ou HDL $<$ 1,0	140/90
ATPIII	2001	GAJ $\geq$ 6,1		TT <sub>H</sub> $\geq$ 102 cm TT <sub>F</sub> $\geq$ 88 cm	HDL <sub>H</sub> $<$ 1,03 HDL <sub>F</sub> $<$ 1,29	$\geq$ 1,70	130/85 ou traitement
AACE	2003	GAJ $\geq$ 6,1 ou GPP $\geq$ 7,77 sans diabète		/	HDL <sub>H</sub> $<$ 1,03 HDL <sub>F</sub> $<$ 1,29	$\geq$ 1,70	130/85
FID	2005	GAJ $\geq$ 5,6 ou DT2	/	Obésité abdominale par ethnie.	HDL <sub>H</sub> $<$ 1,03 HDL <sub>F</sub> $<$ 1,29 ou traitement	$\geq$ 1,70 ou traitement	130/85 ou traitement
AHA/NHLBI	2005	GAJ $\geq$ 5,6 ou traitement	/	TT <sub>H</sub> $\geq$ 102 cm TT <sub>F</sub> $\geq$ 88 cm	HDL <sub>H</sub> $<$ 1,03 HDL <sub>F</sub> $<$ 1,29 ou traitement	$\geq$ 1,70 ou traitement	130/85
FID, AHA/NHLBI, WHF et IAS	2009	GAJ $\geq$ 5,6 ou traitement	/	IMC $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> ou OBA par ethnie (les caucasiens : TT <sub>H</sub> $\geq$ 94 ou 102 cm TT <sub>F</sub> $\geq$ 80 ou 88 cm).	Dyslipidémie : TG $\geq$ 1,70 et/ou HDL <sub>H</sub> $<$ 1,03 et HDL <sub>F</sub> $<$ 1,29 ou traitement		130/85 ou traitement

### III.2. Épidémiologie du syndrome métabolique

Avec l'épidémie croissante de l'obésité et du diabète, la prévalence du syndrome métabolique rencontre aussi une augmentation exponentielle. Il est aussi reconnu comme étant un facteur de risque cardiovasculaire majeur. Puisqu'il favorise la survenue d'athérosclérose et de dysfonction endothéliale (**Raharinavalona et al., 2020**).

#### A- Dans le Monde

Le syndrome métabolique affecte un cinquième ou plus de la population américaine et environ un quart de la population européenne. L'Asie du Sud-Est a une plus faible prévalence, mais qui évolue rapidement vers des taux similaires à ceux du monde occidental (**Rochlaniet al., 2018**).

Une analyse menée en 2015 dans 10 pays européens a montré que la prévalence du SM est de 24,3% avec une augmentation liée à l'âge une fréquence plus élevées Europe du Sud (Italie, Espagne et Portugal: 31,4; 18,4 et 17,1%, respectivement) et en Belgique(20,4%), par rapport à l'Europe du Nord (Allemagne, Suède et Lituanie: 7,6; 9,4 et 9,6%, respectivement) (**Sharda et al., 2015**)(**Scuterietal., 2015**).

Dans une méta-analyse récente menée dans 15 pays de l'Asie pacifique, il a été montré que malgré les différences de méthodologie, de critères de diagnostic et d'âge des sujets étudiés, que la région est confrontée à une épidémie importante de SM. Dans la plupart des pays, près du 1/5 de la population adulte ou plus est affecté par le SM avec une augmentation importante de la prévalence (**Ranasinghe et al., 2017**).

### **B- En Algérie**

En 2005, le taux de prévalence du syndrome métabolique en Algérie est de 26,33 %, pour les hommes dont la tranche d'âge est située entre 35 et 70 ans, la prévalence de ce syndrome est de 17,37 %, tandis que pour les femmes de la même tranche d'âge, elle est de l'ordre de 32,7 % (**Atek et al., 2007**). La prévalence du syndrome métabolique avoisine chez les 1088 algériens ( $\geq 25$  ans) de ville de Tlemcen 17,4 % selon le NCEP et 25,7 % selon la FID (**Yahia Berrouiguet & Brouri, 2013**). En 2014, Une analyse réalisée sur 828 personnes a montré que la prévalence de syndrome métabolique (selon la définition de NCEP/ATP III, 2001) était de 44,66% chez une population urbaine de la ville d'Oran avec un âge moyen de 44 ans (**Houti et al., 2014**).

### **III.3. Physiopathologie du syndrome métabolique associé à l'obésité**

Évidemment, Il existe plusieurs mécanismes expliquant la physiopathologie de syndrome métabolique, notamment le plus largement accepté est l'association de l'insulino-résistance avec un flux d'acides gras, l'inflammation chronique de bas grade et un stress oxydatif (**BOUHENNI, 2019**). La figure identifie les maladies cardiovasculaires et le DT2 comme les principaux résultats cliniques de l'association l'obésité avec le syndrome métabolique. Cette liaison est un facteur primordial de risque cardio-métabolique prédisposent les individus aux maladies cardio-métaboliques.

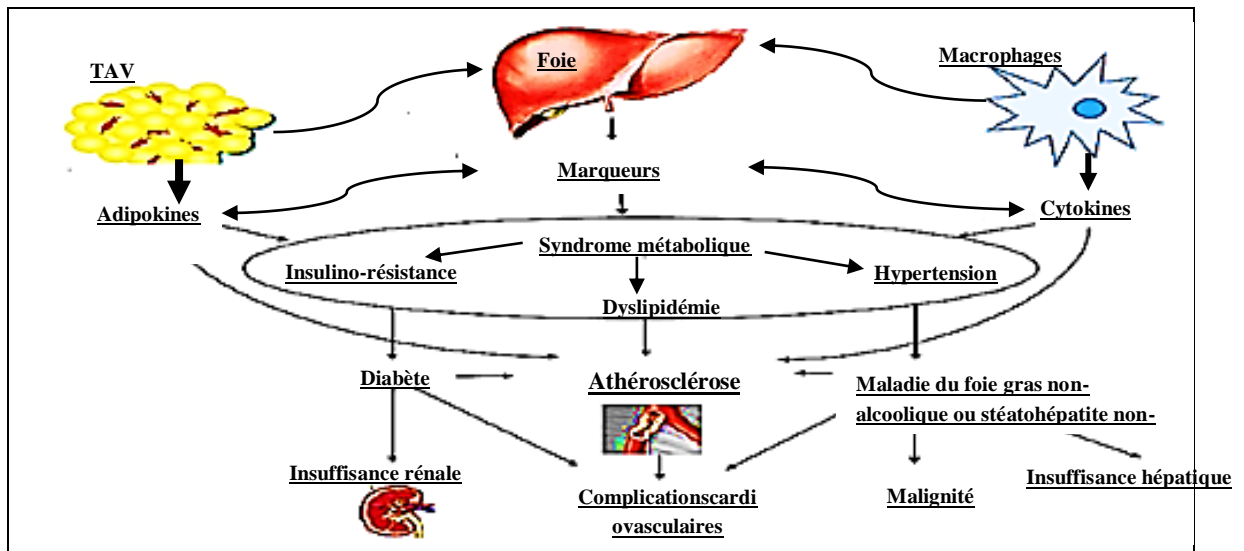


Figure 20 : Développement du syndrome métabolique et de ses complications (Srikanthan et al., 2016).

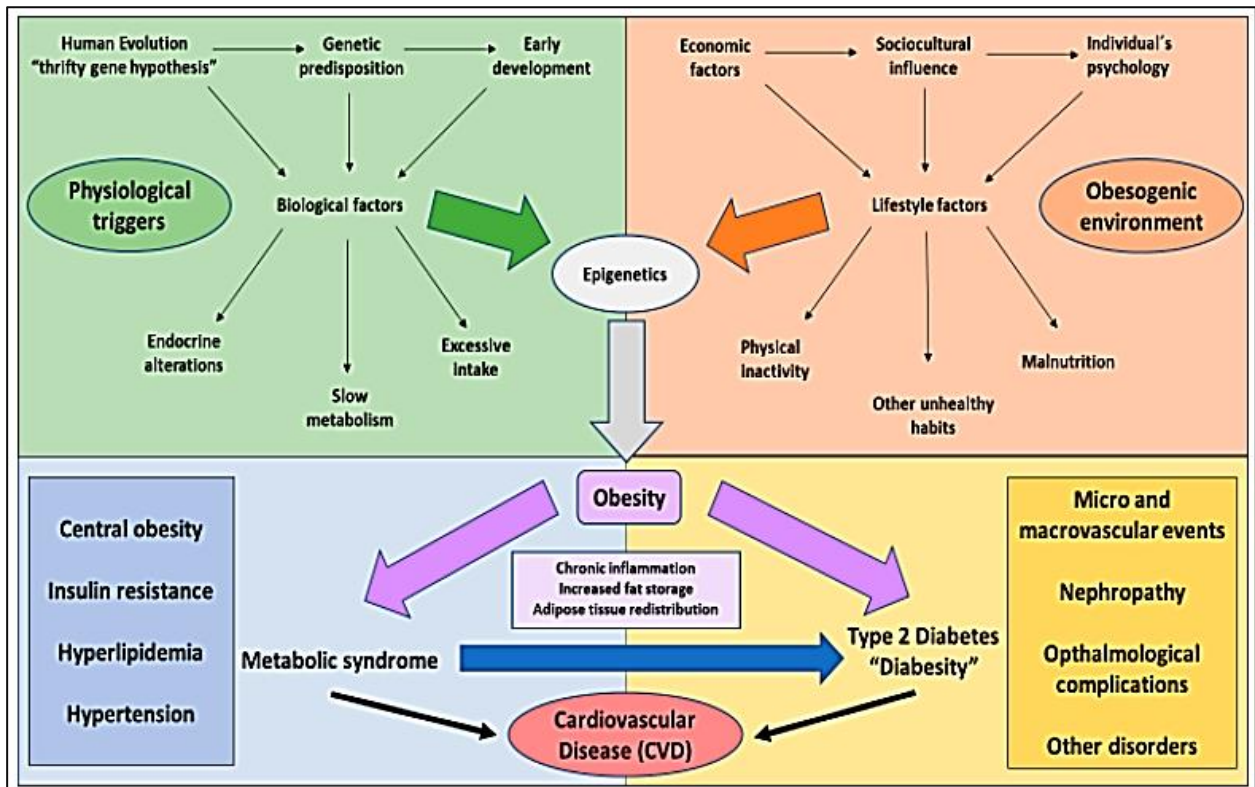
## **Chapitre III :Dysfonctionnement de flore intestinale et maladies métaboliques**

### **Introduction**

Les cellules microbiennes produisent de nombreuses enzymes nécessaires à la digérer les glucides et les protéines dans le côlon, ce que les cellules hôtes humaines ne peuvent pas. Le régime alimentaire a une forte influence sur la composition et la diversité microbiennes, ainsi que des facteurs tels que le climat et la géographie entourant l'hôte humain ou la génétique de cet hôte. Tous ces facteurs pourraient affecter la pathogénèse et l'évolution de diverses maladies, telles que le syndrome métabolique, caractérisé par l'obésité, l'hypertension, une glycémie élevée et des taux élevés d'acides gras durs digestibles dans le sang (Kushugulova et al., 2018)

### **VII. Relation entre l'obésité, le diabète de type 2 et le syndrome métabolique**

Les interactions entre de multiples facteurs biologiques et de mode de vie, directement influencés par un environnement obésogène et des changements physiologiques peuvent interagir avec la régulation épigénétique de l'individu, favorisant ainsi le développement de l'obésité. Cette condition caractérisée par un stockage excessif des graisses, une redistribution du tissu adipeux et une inflammation chronique pourrait conduire au syndrome métabolique, un ensemble d'altérations systémiques (obésité centrale, résistance à l'insuline, hyperlipidémie et hypertension). La présence d'un syndrome métabolique augmente le risque de développer un diabète de type 2 chez les patients obèses (appelé diabésité), car il a été rapporté que les personnes obèses sans troubles métaboliques supplémentaires présentent rarement un DT2 (Ortega et al., 2020).



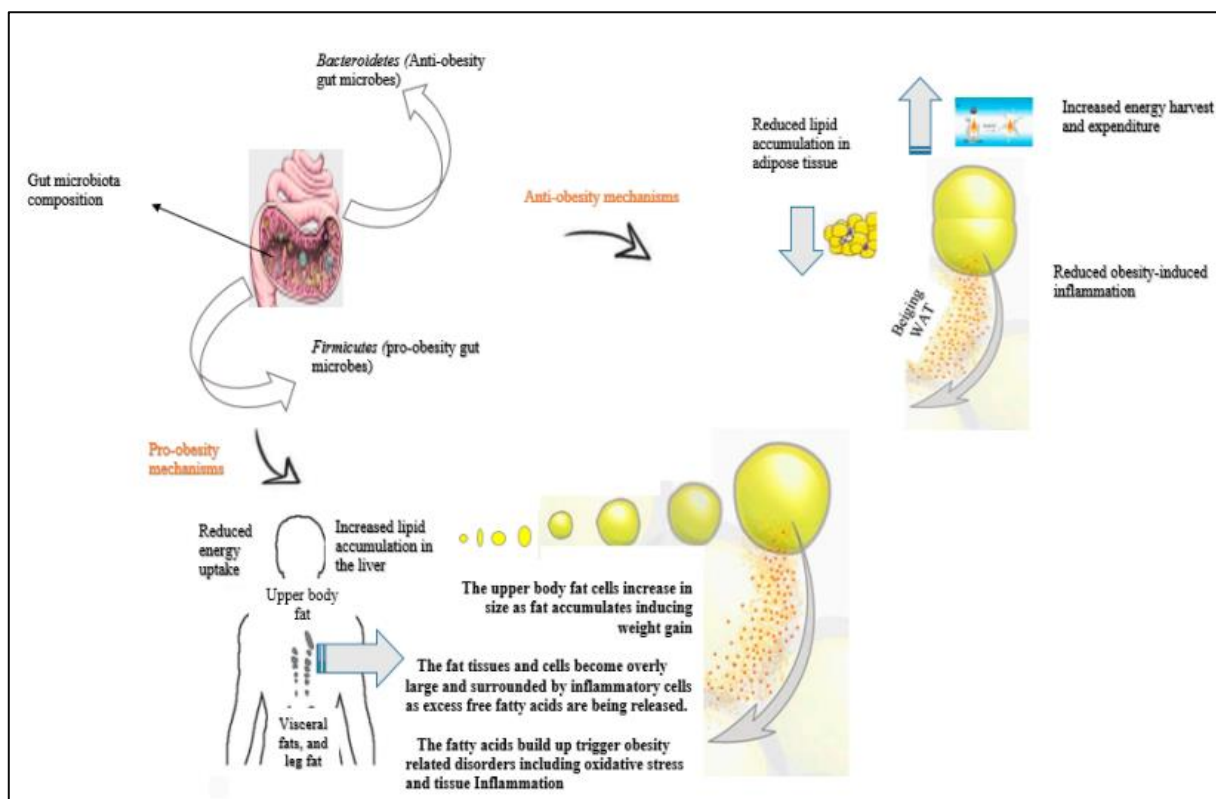
**Figure 21 :** Facteurs de risque déclenchant les problèmes métaboliques (Ortega *et al.*, 2020).

## VIII. Dysbiose et obésité

Le microbiote intestinal est considéré comme un facteur clé dans le développement de l'obésité. Dans le sens contraire, les microbiotes intestinaux et leurs fonctions ont été significativement modifiés dans l'obésité (R *et al.*, 2018).

### VIII.1. Microbiote intestinal pro-obésité et anti-obésité

Dans l'intestin, la composition microbienne peut être largement regroupée en deux : microbiote intestinal bénéfique (anti-obésité) réduisant les risques d'obésité et microbiote intestinal pathogène (pro-obésité) augmentant les risques d'obésité. Par conséquent, en raison de la relation étroite entre l'obésité et les bactéries intestinales, la composition microbienne de l'intestin joue un rôle crucial dans la pathogenèse de l'obésité (figure).

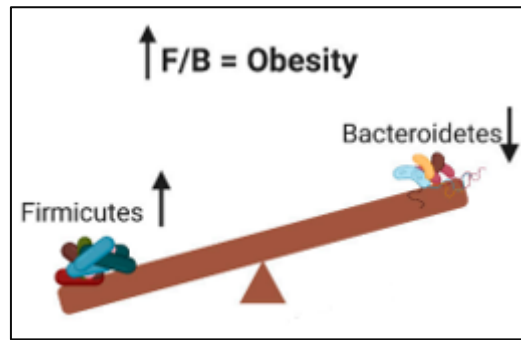


**Figure 22 :** Mécanisme d'action du microbiote intestinal pro et anti-obésité (Aloo& Oh, 2022).

La microbiote intestinal pro-obésité peut induire une prise de poids excessive en déclenchant l'expression de protéines liées à la différenciation adipeuse, en augmentant l'accumulation de lipides hépatiques et/ou en réduisant l'absorption d'énergie dans l'organisme. En revanche, le microbiote intestinal anti-obésité réduit les risques d'obésité en augmentant la dépense énergétique dans l'organisme, corps, inhibant l'apparition de l'inflammation liée à l'obésité et/ou réduisant l'accumulation de lipides dans le tissu adipeux ou dans le foie (Aloo& Oh, 2022).

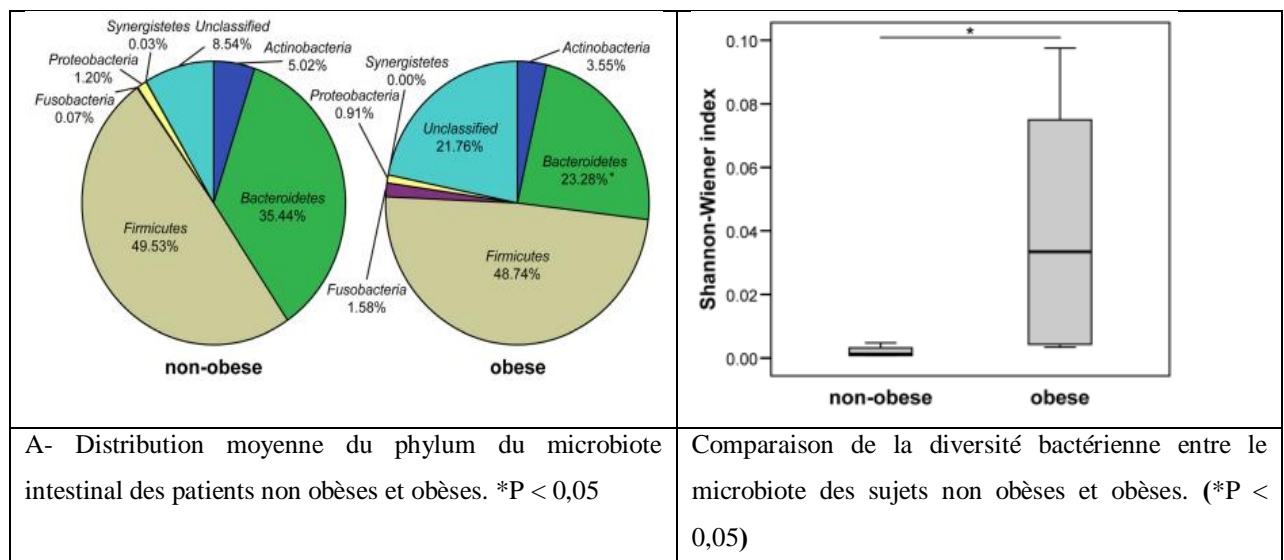
Les premières études sur l'obésité et le microbiote rapportent qu'une augmentation du poids corporel est associé à un changement du microbiote identifié par une modification du rapport B/F avec une plus grande proportion de *Firmicutes* et un déclin de *Bacteroidetes* populations (Gérard & Vidal, 2019).

Des recherches ont montré que les microbes des *Firmicutes* augmente l'absorption des calories entraînant un gain de poids et des animaux obèses et les sujets humains ont tendance à avoir des niveaux plus élevés de *Firmicutes*. De plus, les microbes de le phylum *Firmicutes* augmente l'absorption des acides gras et diminue l'oxydation des acides gras, contribuant à une plus grande accumulation de graisse et à un gain de poids (Islam et al., 2022).



**Figure 23 :** Des changements dans le rapport (F/B) peuvent provoquer une obésité (Stojanov et al., 2020).

L'obésité est associée à des changements dans la composition du microbiote intestinal. Le microbiote intestinal des patients obèses est moins diversifié avec une abondance relative réduite de bactéries intestinales par rapport à la normale. Dans une étude, l'analyse du microbiote fécal chez 12 humains obèses a également montré une augmentation du rapport *Firmicutes/Bacteroidetes*. Cependant, il a été démontré que cette diminution de *Bacteroidetes* s'améliorait avec la perte de poids chez les personnes obèses (Ley et al., 2006). Au Japon, l'analyse génomique des selles de 23 sujets non obèses (IMC < 20 kg/m<sup>2</sup>) et de 33 sujets obèses (IMC ≥25 kg/m<sup>2</sup>) a montré un nombre significativement réduit de *Bacteroidetes* et un nombre plus élevé de *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio chez les sujets obèses par rapport aux sujets non obèses. De plus, la diversité bactérienne était significativement plus élevée chez les sujets obèses par rapport aux sujets non obèses (figure).



**Figure 24 :** Distribution du phylum et diversité du microbiote intestinal chez les non obèses et les obèses. (Kasai et al., 2015)

Des résultats similaires ont été rapportés chez 61 adultes ukrainiens chez lesquels le rapport F/B était significativement associée à l'indice de masse corporelle (IMC). Les individus avec un ratio  $F/B \geq 1$  ont été 23 % plus susceptibles d'être en surpoids que ceux avec un rapport  $F/B < 1$  (**Koliada et al., 2017**). De même, les sujets qatariens (37 obèses et 36 maigres) présentaient un microbiote intestinal altéré ; les ratios F/B chez les sujets obèses et maigres étaient  $2,25 \pm 1,83$  et  $1,76 \pm 0,58$ , respectivement (**Sohail et al., 2019**). Chez les écoliers kazakhs (**Xu et al., 2012**) et belges (**Bervoets et al., 2013**), le F/B rapport était significativement plus élevé dans les groupes obèses par rapport à celui des groupes témoins.

Au contraire, Schwartz et al. (**Schwartz et al., 2010**) ont signalé un ratio inférieur de Firmicutes dans adultes en surpoids par rapport aux témoins maigres.

Plusieurs études n'ont observé aucune relation entre le rapport F/B et l'obésité, la prise de poids ou l'IMC. Duncan et coll. (**Duncan et al., 2008**) n'ont suggéré aucune différence entre les *Firmicutes* et *Bacteroidetes* selon l'IMC. **Hu et al., 2015** ont analysé les selles des coréens (âgés 13-16 ans), ils n'avaient révélé aucune différence significative dans le rapport F/B entre les obèses ( $0,56 \pm 0,86$ ,  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) et les normo-pondéraux ( $0,50 \pm 0,53$ ,  $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$ ). Cependant, il y avait une différence dans la prévalence de deux *Bacteroidetes* : les *Bacteroides* était 20 % plus répandu dans le groupe normal que dans le groupe obèse, et les *Prevotella* était 19 % plus fréquente dans le groupe obèse par rapport au groupe normal (**H.-J. Hu et al., 2015**).

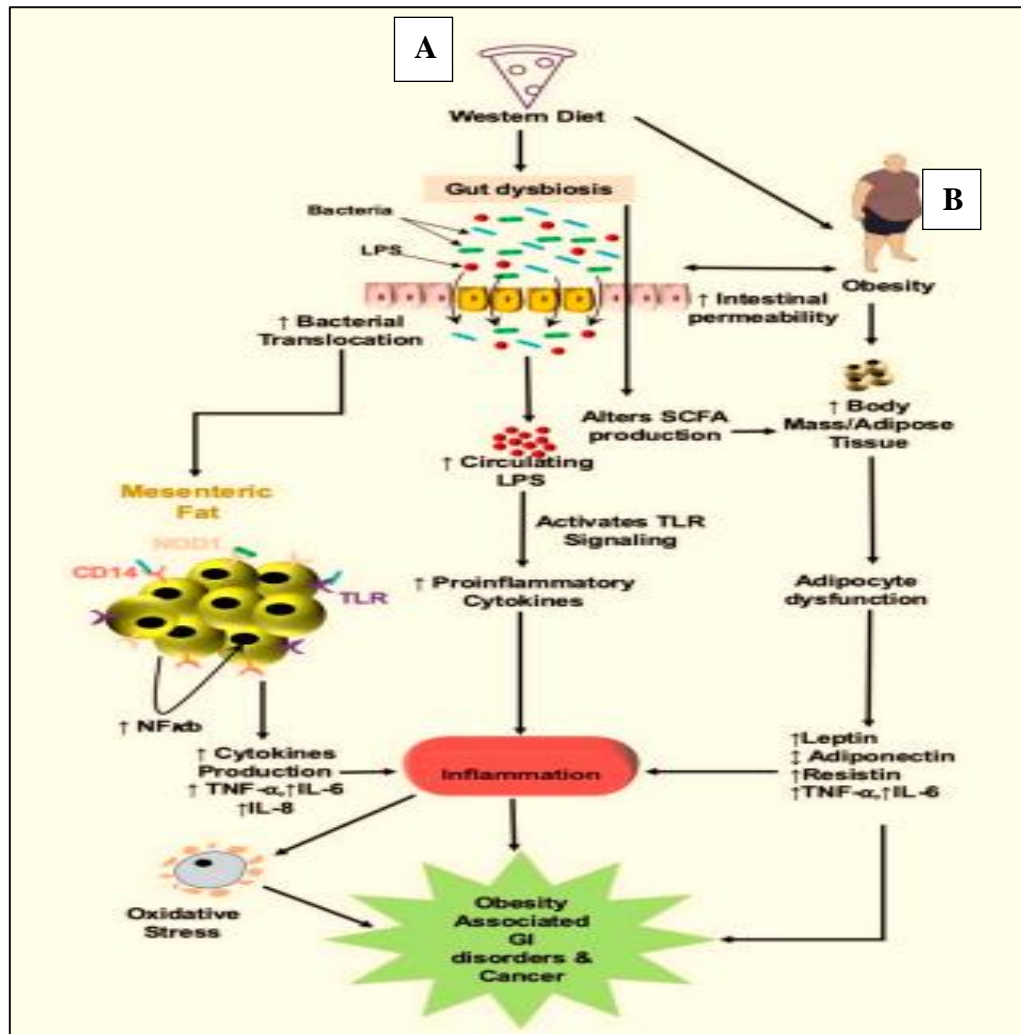
Des écarts entre ces résultats contradictoires peuvent être dus aux habitudes alimentaires, à la physiologie de l'hôte, facteurs ainsi que les méthodologies utilisées dans leurs analyses (**Lv et al., 2019**). De plus, l'association entre le rapport F/B et l'obésité varie selon les populations spécifiques, les groupes d'âge, les genres, et les facteurs environnementaux et génétiques, et d'autres embranchements (tels que *Protéobactéries*) peuvent jouer un rôle important. Probablement, il existe un nombre limité de bactéries spécifiques espèces des phylums *Firmicutes* et *Bacteroidetes* qui sont associées à l'obésité. Ces différences s'expliquaient par la capacité de certaines bactéries, notamment des *Firmicutes* phylum, pour produire plus d'enzymes responsables de la dégradation et de la fermentation des glucides. la majorité des études soutiennent l'affirmation selon laquelle les bactéries *Firmicutes* ont une meilleure capacité à fermenter et métabolisent les glucides et les lipides, et contribuent ainsi au développement de l'obésité (**Stojanov et al., 2020**).

**VIII.2. Physiopathologie de l'obésité liée au dysbiose**

Dans le premier axe (A), l'interaction complexe entre alimentation, le microbiote intestinal, le tissu adipeux, le système immunitaire et la perméabilité intestinale (figure) conduisent au développement des troubles gastro-intestinaux et du cancer :

1. La dysbiose augmente la perméabilité intestinale et altère la production des SCFA.
2. Une barrière intestinale défectueuse entraîne la translocation des bactéries dans le tissu adipeux mésentérique, entraînant la production de cytokines pro-inflammatoires.
3. Une barrière défectueuse augmente également le LPS (les lipopolysaccharides) circulant, provoquant inflammation.
4. Le dysfonctionnement adipocytaire altère la sécrétion d'adipokine qui peut participer à une inflammation de bas grade.

Dans l'autre axe (B), l'obésité augmente le risque de plusieurs maladies chroniques, notamment les troubles gastro-intestinaux tels que les maladies inflammatoires de l'intestin et le cancer colorectal. Le taux élevé de leptine et la production de TNF- $\alpha$  à partir de la graisse mésentérique peut induire une inflammation chronique dans l'intestin causant des dommages à la paroi intestinale et transférant les bactéries vers le mésentérique graisse. La translocation bactérienne peut également se produire en raison d'augmentation de la perméabilité intestinale due à la consommation d'un régime occidental. La présence de cette graisse provoque des cicatrices et de la fibrose, une caractéristique commune des maladies cardiovasculaires (figure).



**Figure 25 :** Patho-mécanisme des troubles gastro-intestinaux (CD, RCH) et du cancer dans l'obésité (Islam *et al.*, 2022).

### VIII.3. Rôles des LPS et des SCFA dans l'installation de l'obésité

#### A- Rôles spécifiques des LPS

L'obésité est caractérisée par une inflammation de bas grade qui peut être causée par la réponse immunitaire innée de l'hôte aux polysaccharides bactériens (LPS). Ces LPS sont également connus sous le nom d'endotoxines et sont présents dans la membrane externe des bactéries Gram négatives (ref). Ils sont considérés comme les plus forts inducteurs de sécrétion de cytokines. En effet, le récepteur aux LPS est le CD14, une glycoprotéine membranaire de 55 kd qui contrôle la synthèse et la production de cytokines inflammatoires via la voie NF-κB (Wright SD *et al.*, 2014). Les LPS activent le système immunitaire en se liant à leur complexe récepteur (CD14/TLR4/MD2), favorisant la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires entraînant inflammation chronique de bas grade

L'individu en bonne santé a généralement de faibles niveaux de LPS en circulation. Cependant, la recherche a montré que les individus obèses ou les modèles expérimentaux d'obésité induite par l'alimentation sont associés à des niveaux élevés de LPS en circulation provoquant une endotoxémie. *Cani et al.* ont montré que des souris nourries avec un régime riche en matières grasses pendant 4 semaines présentaient une concentration plasmatique élevée de LPS, suggérant que ce régime alimentaire favorise la croissance de plus de bactéries Gram-négatives productrices de LPS. Les bactéries Gram-négatives réduisent l'expression des protéines des jonctions serrées augmentant la perméabilité intestinale et, par conséquent, provoquant une endotoxémie métabolique. *Cani et al.* ont également montré que la perfusion sous-cutanée de LPS chez les souris pendant 4 semaines entraînait une glycémie à jeun, une insulïnémie et une prise de poids. En outre, la perfusion de LPS a provoqué une augmentation des macrophages dans le tissu adipeux, des marqueurs inflammatoires et de la teneur en triglycérides du foie. Tous ces effets de la perfusion de LPS étaient similaires à ceux observés chez les souris nourries avec un régime riche en gras.

### **B- Rôle des SCFA**

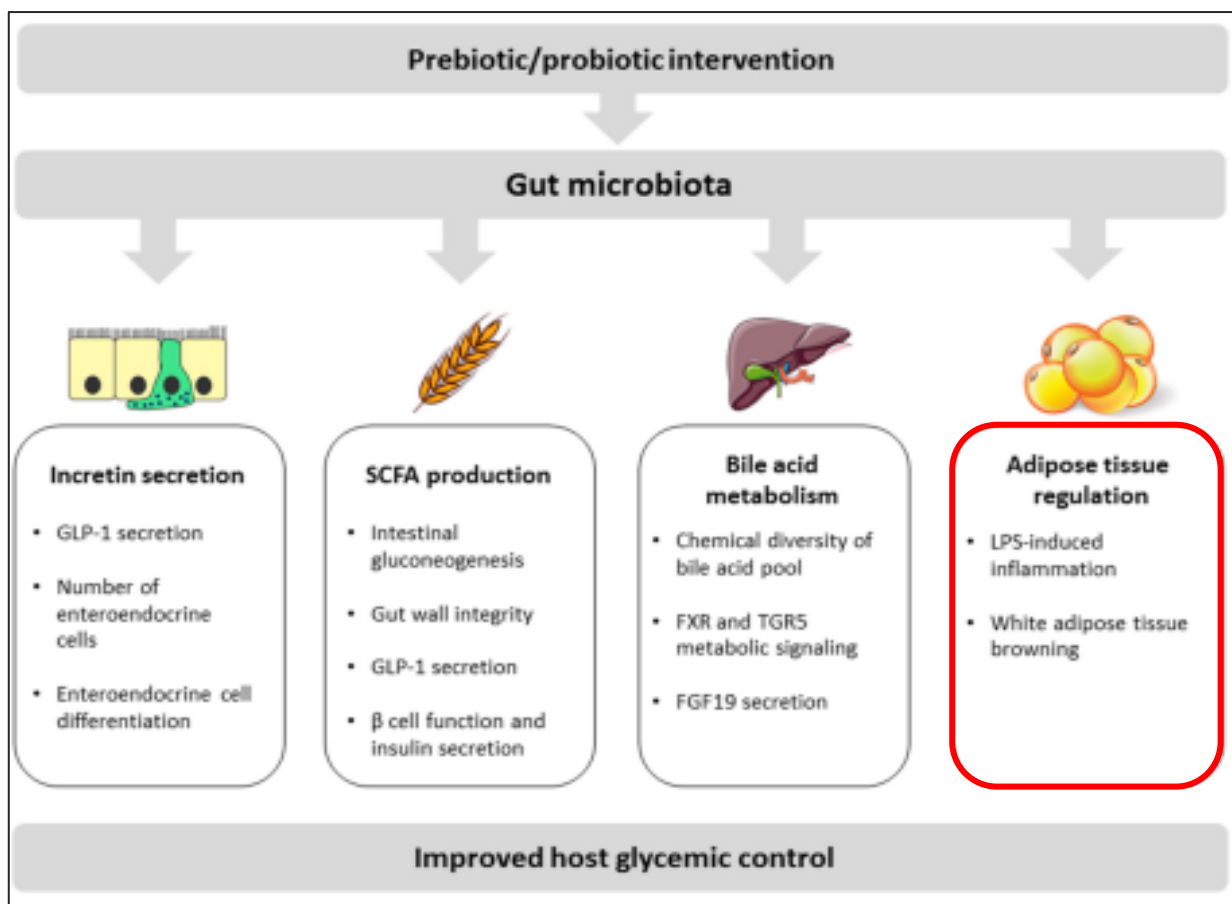
Les SCFA produits par les bactéries intestinales peuvent également jouer un rôle important dans l'obésité (**Islam et al., 2022**).

1. Le Butyrate et le propionate sont considérés comme anti-obésogènes en raison de leur capacité à améliorer le métabolisme (T2DM, obésité), tandis que l'acétate est considéré comme obésogène. Les SCFA, principalement de l'acétate, sont utilisés comme substrats pour la lipogenèse et la synthèse du cholestérol dans le foie et d'autres tissus.
2. Les SCFA régulent les facteurs de transcription impliquant dans la lipogenèse et la glycolyse.
3. Les SCFA peuvent réprimer le facteur adipocytaire induit par le jeûne, qui inhibe la lipoprotéine lipase (LPL), induisant l'accumulation de triglycérides (TG) dans les adipocytes de l'hôte, parce que la LPL décompose les TG pour être utilisées par le corps comme source d'énergie.
4. Les SCFA diminuent également l'oxydation des acides gras qui entraîne une augmentation de l'accumulation de graisse.

## IX. Dysbiose et diabète de type 2

### IX.1. Microbiote intestinal et homéostasie glycémique

Les principaux mécanismes moléculaires proposés par lesquels le microbiote intestinal module et interfère avec le contrôle de la glycémie de l'hôte comprennent : la modulation de sécrétion d'incrétines, production d'acides gras à chaîne courte, acides biliaires transformation et régulation de l'inflammation du tissu adipeux et fonction (figure 1).

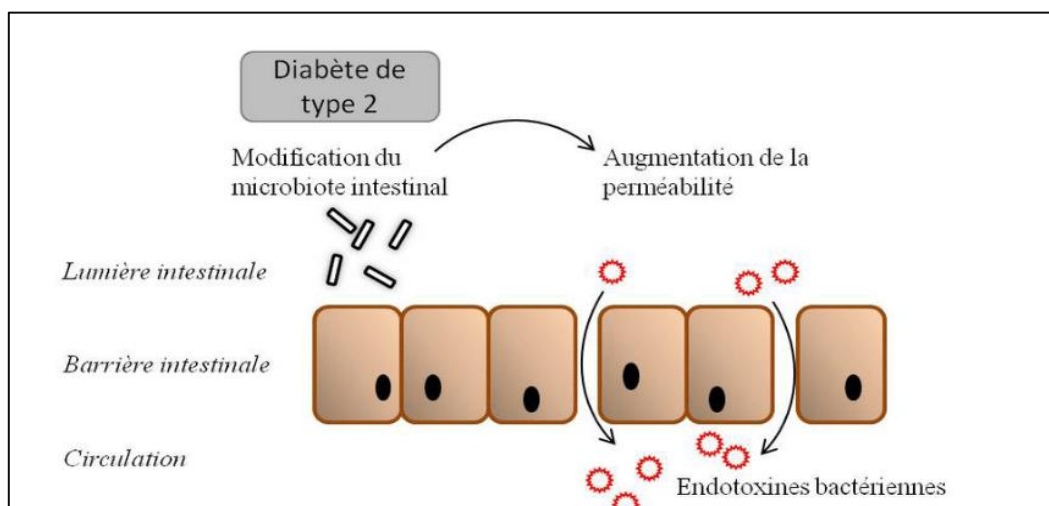


**Figure 26 :** Facteurs modulant la microbiote intestinal et interférant avec la glycémie (gérard&vidal, 2019).

Dans le cas où le diabète est associé à l'obésité, la dérégulation de la barrière muqueuse intestinale augmente la translocation du complexe lipopolysaccharidique (LPS), également appelé endotoxine, à travers la barrière épithéliale, avec une perpétuation de l'inflammation muqueuse et la génération d'une endotoxémie métabolique condition. Bien que les mécanismes sous-jacents à l'endotoxémie ne soient pas complètement compris, de plus en plus de preuves suggèrent une association entre les altérations de la régulation du microbiote intestinal et

l'activation accrue des voies inflammatoires, conduisant à une altération de la signalisation de l'insuline (Aloo& Oh, 2022).

Un changement au niveau de la composition du microbiote intestinal (dysbiose) à cause d'un régime gras peut induire une hyperperméabilité intestinale et être ainsi à l'origine de cette endotoxémie métabolique et donc au développement de diabète de type 2 (figure ).



**Figure 27 :** Altération de la barrière muqueuse intestinale et la translocation du LPS (Fourrier et al., 2015).

### **IX.2. Microbiote intestinal d'une personne saine vs. une personne diabétique**

Comme le montre la figure, les variations de la composition du microbiote intestinal et de ses produits dérivés sont associées à une augmentation de l'adiposité, de l'inflammation de bas grade et de la résistance à l'insuline, ainsi qu'à des altérations du système endocannabinoïde (système nerveux central) ; de la production de peptides intestinaux ; de la résistance à la leptine et d'autres caractéristiques métaboliques associées aux changements rapportés chez les patients diabétiques (Ortega et al., 2020) .

Chez les diabétiques, la diminution de la diversité microbienne et l'augmentation de F/B ratio provoquent :

1. La déséquilibre de la balance énergétique par la diminution de la production des SCFA.
2. L'endotoxémie est causée par augmentation des LPS circulants.
3. L'inflammation chronique de bas grade est stimulée par le complexe LPS-récepteur TLR4.

4. L'augmentation du tissu adipeux grâce à la stimulation permanente de l'appétit (effets orexigènes).
5. La résistance à l'insuline et à la leptine sont observées à cause de la dysrégulation des peptides intestinaux.
6. L'altération de l'axe cerveau-intestin-microbiome par l'implication du système endocannabinoïde.

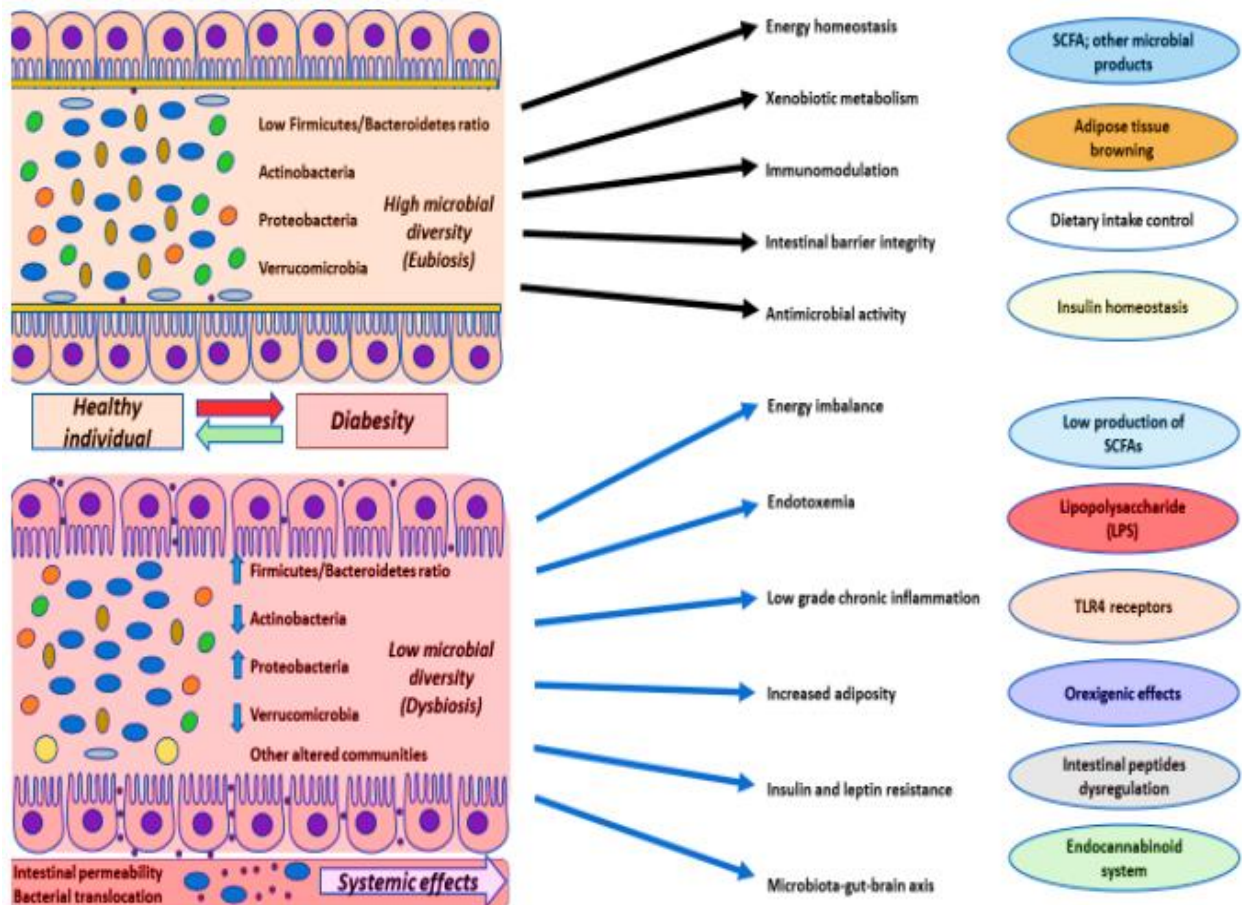
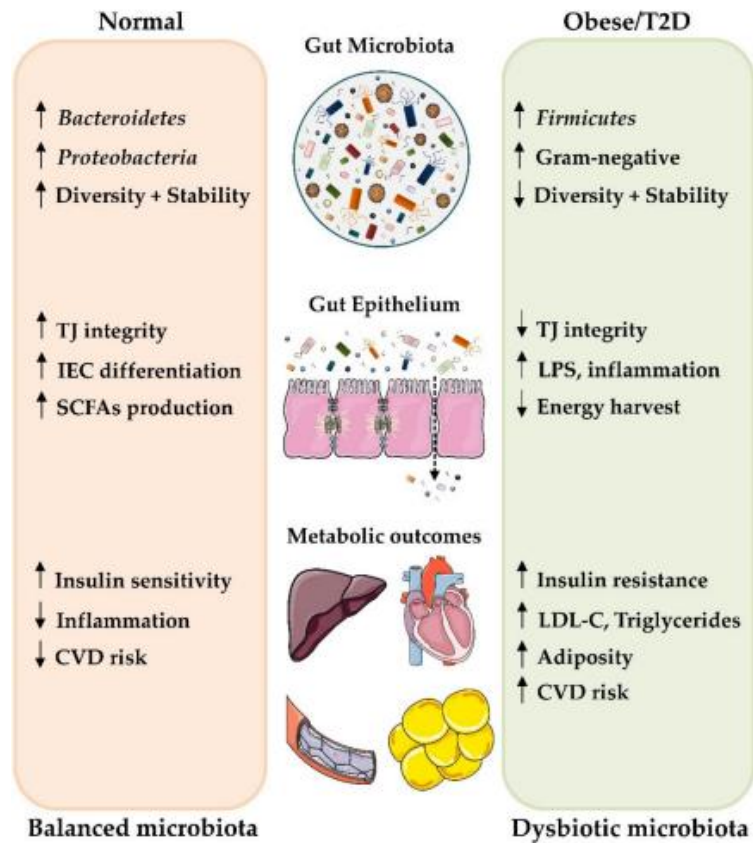


Figure 28 : Diabète et dysfonctionnement de la flore intestinale (Ortega *et al.*, 2020).

## X. Dysbiose et syndrome métaboliques

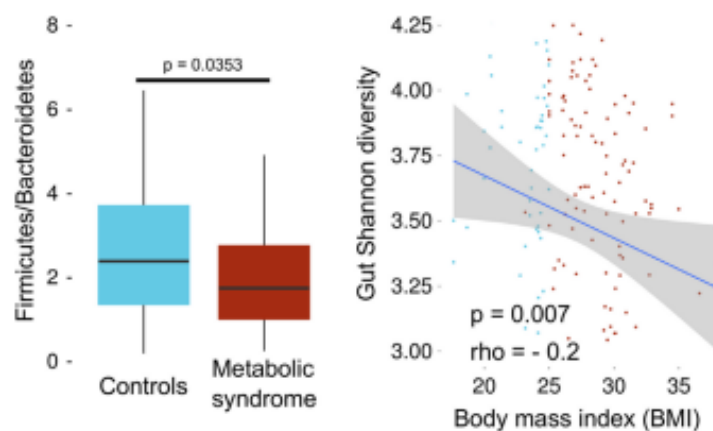
### X.1. Microbiote intestinal et obésité associée aux syndrome métabolique

Des nombreuses études sur des modèles animaux et humains ont démontré que la dysbiose du microbiote intestinal peut être considéré comme un acteur majeur dans le développement de l'obésité et du DT2. Bactérie spécifique, phyla, classe, ordre ou espèce et/ou l'activité bactérienne semble être préjudiciable ou bénéfique à l'apparition de tels syndromes. En effet, bien que la composition du microbiote intestinal fluctue fortement chez les individus en bonne santé, ceux qui présentent une résistance à l'insuline, une adiposité globale et une dyslipidémie sont caractérisée par une faible variété bactérienne (figure).



**Figure 29 :** Rôle du microbiote intestinal dans le développement de l'obésité et du DT2, y compris certains des mécanismes supposés contribuer aux altérations de l'état métabolique de l'hôte (Veza *et al.*, 2020).

Dans une analyse métagénomique du microbiote intestinal du Kazakhstan donneurs, le rapport F/B a été significativement réduit ( $p = 0,0353$ ) chez les sujets avec le syndrome métabolique que chez les témoins sains. Les sujets avec le syndrome métabolique également ont ayant une diversité de Shannon significativement ( $p < 0,1$ ) plus faible et régularité de la communauté que les sujets contrôlent (figure).



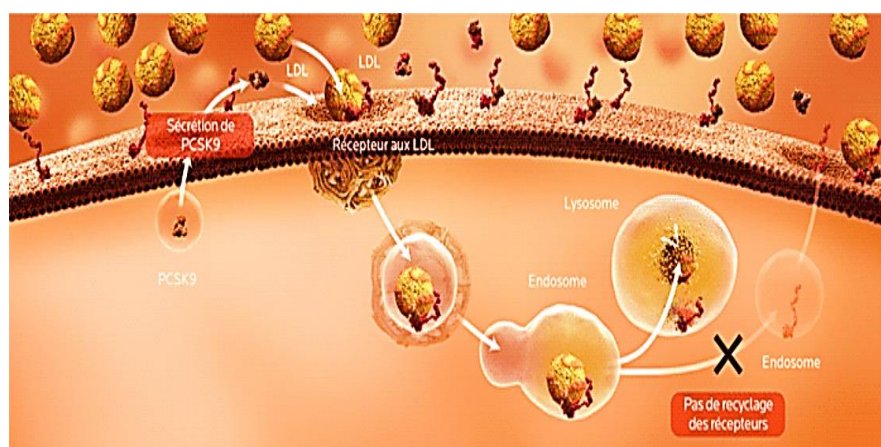
**Figure 30 :** Rapport F/B chez les sujets SM et les sujets contrôles (Kushugulova *et al.*, 2018).

## X.2. Dysbiose et maladies cardio-métaboliques

Les patients atteints d'obésité associée au diabète présentent une richesse mineure en diversité microbienne, caractérisée par un rapport *Firmicutes/Bacteroidetes* élevé, qui s'accompagne de modifications chez les *Actinobactéries*, les *Potéobactéries* et dans d'autres communautés microbiennes. Ces altérations peuvent avoir des conséquences importantes en termes de déséquilibre énergétique, d'endotoxémie, d'inflammation de bas grade, d'adiposité plus élevée ou de résistance à l'insuline et à la leptine, interagissant notamment avec l'axe microbiote-intestin-cerveau (Aloo & Oh, 2022).

La dysbiose microbienne intestinale peut être un déterminant majeur de la translocation du LPS à travers la barrière épithéliale intestinale et de l'inflammation muqueuse et de l'endotoxémie qui en résultent. La liaison du LPS aux TLR peut interférer avec la signalisation de l'insuline, entraînant une résistance à l'insuline et induisant la transcription de PCSK9 (ProteinConvertaseSubtilisin/Kexin type 9) (Aloo & Oh, 2022).

La protéine PCSK9, à son tour, favorise la réduction du LDL-R dans les hépatocytes et les adipocytes, augmentant le LDL-C sanguin (Aloo & Oh, 2022). Les données actuelles ont montré que la protéine PCSK9 est capable de réguler le taux cellulaire des récepteurs aux LDL. En effet, la protéine PCSK9 se lie au récepteur aux LDL à la surface des hépatocytes (cellules du foie) et subit alors une endocytose avec le récepteur. Dans l'endosome, la baisse du pH augmente l'affinité de PCSK9 pour le récepteur, provoquant son orientation plutôt vers le compartiment de dégradation que vers celui de recyclage (Cholestérol et PCSK9, 2022)



**Figure 31 :** Mécanisme d'augmentation de LDL-c.

Par conséquent, il est possible de déduire que l'endotoxémie et la résistance à l'insuline peuvent contribuer de manière synergique à augmenter les taux plasmatiques de PCSK9, représentant ainsi deux facteurs de risque importants pour les maladies cardiovasculaires (**Aloo& Oh, 2022**).

# **Partie pratique**

## **Chapitre IV : Matériel et méthodes**

### **I. Objectifs de recherche**

#### **I.1. Objectif principal**

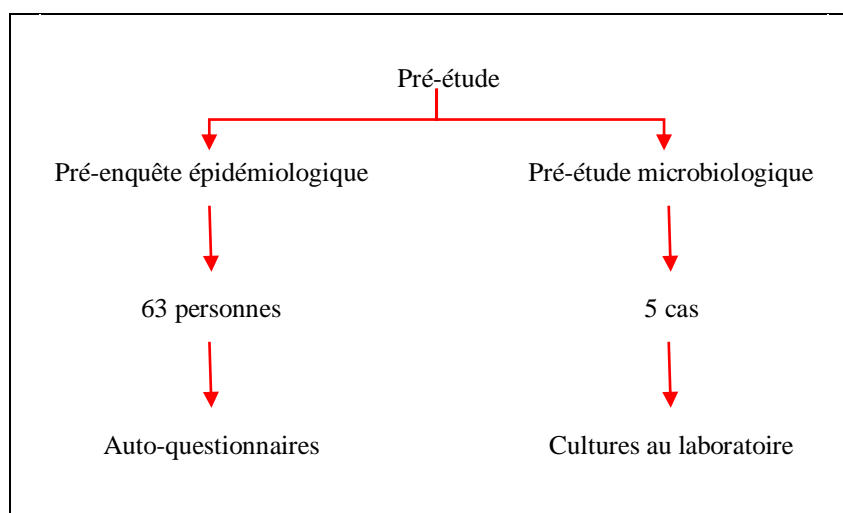
Étudier l'implication de dysfonctionnement de la flore intestinale humaine dans le développement de diabète et de l'obésité.

#### **I.2. Objectifs secondaires**

- Estimer la fréquence du diabète de type 2 chez les adultes dans la commune de Bouira.
- Estimer la fréquence de l'obésité chez les adultes de la localité de Bouira.
- Etudier les déterminants de l'obésité et le risque cardio-métabolique lié à cette pathologie.
- Évaluer le déséquilibre de la flore intestinale comme un biomarqueur du diabète sucré et de l'obésité.
- Valider les questionnaires de version Arabes (annexe).

### **II. Type et lieu d'étude**

Il s'agit d'une pré-enquête épidémiologique descriptive transversale/ analytique se sera déroulée dans la commune de Bouira qui est située au centre de l'Algérie (Annexe A). Une étude cas-témoins complémentaire à cette pré-enquête aura été réalisée à partir d'une pré-étude microbiologique.



**Figure 32:** plan de pré-étude.

### **III. Population cible**

En 2020, les statistiques comptent plus de 856228 individus repartis sur 45 communes, dont 114135 individus dans la ville de Bouira. L'enquête épidémiologique partielle et l'étude clinique cas-témoins se seront portées sur d'une population adulte, des deux sexes âgés de 18 à 65 ans, de la commune de Bouira.

### **IV. Recrutement des sujets**

#### **IV.1. Pré-enquête épidémiologique**

Du point de vue méthodologique, les patients qui ont été soumis au questionnaire sont tirées de façon aléatoire.

**Tableau 6 :** Critères d'inclusion et d'exclusion pour Pré-enquête épidémiologique.

<b>Critères d'inclusion</b>	<b>Critères d'exclusion</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Sujets âgés entre 18 et 65 ans des deux sexes.</li> <li>– Présents le jour de l'enquête et ayant répondu au questionnaire.</li> <li>– Résidant à la commune de Bouira.</li> <li>– Acceptant de participer à l'étude.</li> <li>– Indemne de toute pathologie sévère.</li> </ul>	<p>N'ont pas été inclus dans cette étude, les nourrissons ayant :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Sujets ayant une date de naissance inconnue ou âgés moins de 18ans où plus de 65 ans.</li> <li>– Femmes enceintes ou allaitantes et les hommes musclés.</li> <li>– Absents le jour de l'enquête et n'ayant pas répondu au questionnaire.</li> <li>– Résidant en dehors de la commune.</li> <li>– S'installant récemment dans la commune.</li> <li>– Présentant une pathologie grave.</li> </ul>

#### **IV.2. Pré-étude microbiologique**

Parmi les participiaux de pré-enquête, on choisit des cas et des témoins selon les Critères d'inclusion et d'exclusion pour réaliser le pré-étude microbiologique (tableau 8).

**Tableau 7** : Critères d'inclusion et d'exclusion pour Pré-enquête épidémiologique.

Groupes	Critères d'inclusion	Critères d'exclusion
Normo-pondéraux (Np)	Sujets sains ayant un IMC < 25 Kg/m <sup>2</sup> .	Refus du prélèvement des selles. Sujets ayant un diabète de type 2. Sujets ayant une pathologie cardio-métabolique, rénale ou hépatique. Sujets ayant un IMC >25 Kg/m <sup>2</sup> .
Obèses (OB)	Sujets ayant un IMC > 25 Kg/m <sup>2</sup> .	Refus du prélèvement des selles. Sujets sous traitement médical. Sujets sains ayant un IMC < 25 Kg/m <sup>2</sup> .
Diabétiques Normo-pondéraux (DNp)	Sujets ayant un diabète de type 2. Sujets sains ayant un IMC < 25 Kg/m <sup>2</sup> .	Refus du prélèvement des selles. Sujets sous traitement médical. Sujets ayant un IMC > 25 Kg/m <sup>2</sup> .
Diabétiques obèses (DOB)	Sujets ayant un diabète de type 2. Sujets sains ayant un IMC >25 Kg/m <sup>2</sup> .	Refus du prélèvement des selles. Sujets sous traitement médical. Sujets ayant un IMC < 25 Kg/m <sup>2</sup> .

## **V. Considérations éthiques**

Avant de se lancer dans toute investigation sur les échantillons du patient, un consentement est signé par chaque patient qui le suit en assurant l'avis favorable et l'anonymat des patients.

## **VI. Outils de la pré-enquête épidémiologique**

Dix questionnaires version arabe et version français ont été utilisés pour réaliser la pré-enquête épidémiologique :

1. **Informations générales** : âges, sexe, commune,...
2. **Score socio-économique de Kuppuswamy** : Ce questionnaire est le plus utilisée pour déterminer le statut socio-économique d'un individu ou d'une famille en milieu urbain (Saleem, 2018).
3. **Données psychologique et Échelle du stress perçu « Perceived Stress Scale 10 »** : Ce questionnaire est un outil pour mesure le stress perçu dont les réponses pour chaque item varient selon une échelle de Likert à cinq points allant de 0 (jamais) à 4 (très souvent), et qui évaluent le niveau du stress perçu durant le dernier mois. L'échelle PSS10 est

composée de deux facteurs, le premier regroupe six items négatifs mesurant « la perception du stress » chez l'individu, alors que le deuxième regroupe quatre items positifs, mesurant le « coping » ou l'adaptation au stress. Le score total du stress est obtenu par la somme des différentes réponses après inversion des items positifs, et il varie de 0 à 40 (Ali et al., 2021).

4. **Questionnaire mondial sur la pratique d'activités physiques (GPAQ) :** Ce questionnaire a été mis au point par l'OMS pour enquêter sur la pratique d'activités physiques dans les pays. Il permet de recueillir des informations sur la pratique d'exercice physique dans les trois situations (ou domaines) ci-après et sur les comportements sédentaires. Les sujets abordés sont les suivants : Activités au travail ; Se déplacer d'un endroit à l'autre et Activités de loisirs.
5. **Questionnaire de préférences alimentaires :** Pour mesurer les préférences vis-à-vis du goût gras, sucré et salé, un test déclaratif a été réalisé à l'aide d'un questionnaire inspiré de celui de *Deglaire et coll. (2010)* (Amélie Deglaire et al., 2010).
6. **Score sur l'alimentation saine :** Ce score nous permet de classer les personnes selon leur alimentation.
7. **Questionnaire sur le Microbiote.**
8. **Score sur le risque de développement de diabète de type 2 (Canadian Diabetes Risk Questionnaire (CANRISK)) :** est un questionnaire visant à aider les Canadiens à déterminer leur risque de pré-diabète ou de diabète de type 2. Il vise principalement les adultes âgés de 45 à 74 ans, mais peut également s'appliquer à des groupes plus jeunes dans les populations à risque élevé.
9. **Questionnaire sur les maladies chroniques**
10. **Questionnaire destiné aux patients diabétiques**

## **VII. Pré-étude microbiologique**

Notre pratique a été effectuée au niveau de laboratoire d'hygiène EPSP de Bouira, durant 15 jours.

### **VII.1. Condition du prélèvement et transport des échantillons des selles**

Pour la préparation de la population d'étude, il est recommandé d'éviter les aliments qui laissent des résidus ou qui colorent les selles (légumes secs, fraises, tomates, betterave).

Chaque personne incluse dans l'étude a reçu un pot sec, propre et étiqueté avec un code (pour garder l'anonymat) afin de prélever un échantillon de selles le lendemain matin.

En total, 5 échantillons de selles frais sont collectés, à raison de 01 ou 02 échantillons par groupe, à partir de 3 groupes différents : un groupe des diabétiques obèses « DOB », un groupe des obèses « OB » et un groupe des normo pondéraux « Np ».

Les échantillons des selles sont récupérés au moment des toilettes matinaux des personnes participantes. Avant tout prélèvement, certaines règles d'asepsie doivent être respectées pour éviter toute contamination possible de la flore intestinale, le volontaire devra obligatoirement :

- Déféquer dans un pot de crachat stérile et sec à bouchage hermétique pour récolter les selles.
- Se laver et désinfecter les mains avant la récolte de l'échantillon.
- Les selles ne doivent surtout pas être mélangées aux urines.
- Fermer hermétiquement et rapidement le pot qui contient l'échantillon.

Immédiatement, l'ensemble des échantillons recueillis sera transporté, dans une glacière contenant les sachets réfrigérants ( $\approx 4^{\circ}\text{C}$ ), dans une période ne dépassant pas les deux heures afin d'être traité et examiné au laboratoire d'analyses microbiologiques le même jour.

Pour une pré-étude, nous avons recueilli 05 échantillons des selles. Ceux-ci sont analysés au niveau de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Bouira.

## **VII.2. Préparation des milieux**

La préparation des milieux se fait de la même manière ; après la pesée (mettre une quantité de milieu déshydraté (g) dans un volume d'eau purifiée (L) ; tableau) et l'homogénéisation, les milieux sont bouillis jusqu'à dissolution, complète et stérilisés à l'autoclave à  $121^{\circ}\text{C}$  pendant 15 minutes.

**Tableau 8** : Préparation des milieux de cultures.

Milieux	Poudre (g)	Eau purifiée (mL)	Poudre (g)	Eau purifiée (mL)
Gélose PCA ( <i>Plate Count Agar</i> )	23-23,5	1000	4,6-4,7	200
Gélose MRS ( <i>de De Man, Rogosa et Sharpe</i> )	70,3	1000	14 ,06	200
Gélose O.G.A. ( <i>Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar</i> )	40	1000	8	200
Bouillon de Rothe	/			
Milieu de <i>Litsky</i>	34,8	1000	6,96	200
Gélose de <i>MacConkey</i>	50,0	1000	10	200
Gélose nutritive	28	1000	5,6	200










### VII.3. Examen microscopique et microscopique des selles

A l'arrivée de chaque prélèvement, un examen macroscopique et un autre microscopique des selles sont réalisés. L'examen microscopique englobe un examen à l'état frais (en l'eau physiologique et en solution iodo-iodurée) et un examen après coloration de Gram.

#### A- Examen macroscopique

Il consiste à étudier les caractères organoleptiques des selles. Cet examen permet de noter la consistance, la couleur et la présence éventuelle de sang, de mucus ou d'autres éléments surajoutés et la présence de certains parasites (adultes d'oxyures et d'Ascaris, anneaux de Tænia) (OMS, 1993).

**Tableau 9** : paramètres étudiés lors de l'examen macroscopique.

Consistance (échelle de Bristol)	 Forme de saucisse	 Petites boules de selles dures	 Mousseux
	 Morceaux irréguliers	 Forme de saucisse grumeleuse	 Liquide
	Semi- solide (pas de constipation ou diarrhée)	Solide solides (cas de constipation)	Pâteuse ou liquide (cas de diarrhée)
Couleur	 Normal : brune	 Sombre (putréfaction) : brune foncée ou noire	 Claire (absence de la bile) : jaune ou blanche
Résidus alimentaire	Fibres musculaires mal digérées graisses neutres cellulose digestible et amidon.		/
	Présence		Absence

## **B-Examen microscopique**

Le tableau 11 illustre l'importance de réaliser les examens microscopiques.

**Tableau 10 :** Intérêts des examens microscopiques.

Examens	Objectifs d'examen
Observation directe des selles à l'état frais	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Rechercher les leucocytes fécaux.</li> <li>2. Repérer des souches pathogènes grâce à leur mobilité par ciliature polaire (<i>Vibrio</i> et des <i>Campylobacter</i>).</li> <li>3. Rechercher les hématies, les levures, les œufs et larves d'helminthes, les formes végétatives et kystiques des protozoaires.</li> </ol>
Frottis des selles coloré au Gram	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Apprécier l'équilibre de la flore en déterminant les pourcentages de bactéries Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup>. En règle générale, les Gram<sup>+</sup> représentent entre 20 et 30% et les Gram<sup>-</sup> entre 70 et 80%.</li> <li>2. Rechercher des bactéries présentant une morphologie particulière.</li> </ol>

### **- Observation directe des selles à l'état frais**

On divise virtuellement la lame microscopique en deux parties afin de réaliser un examen en eau physiologique et un autre en iodo-iodurée

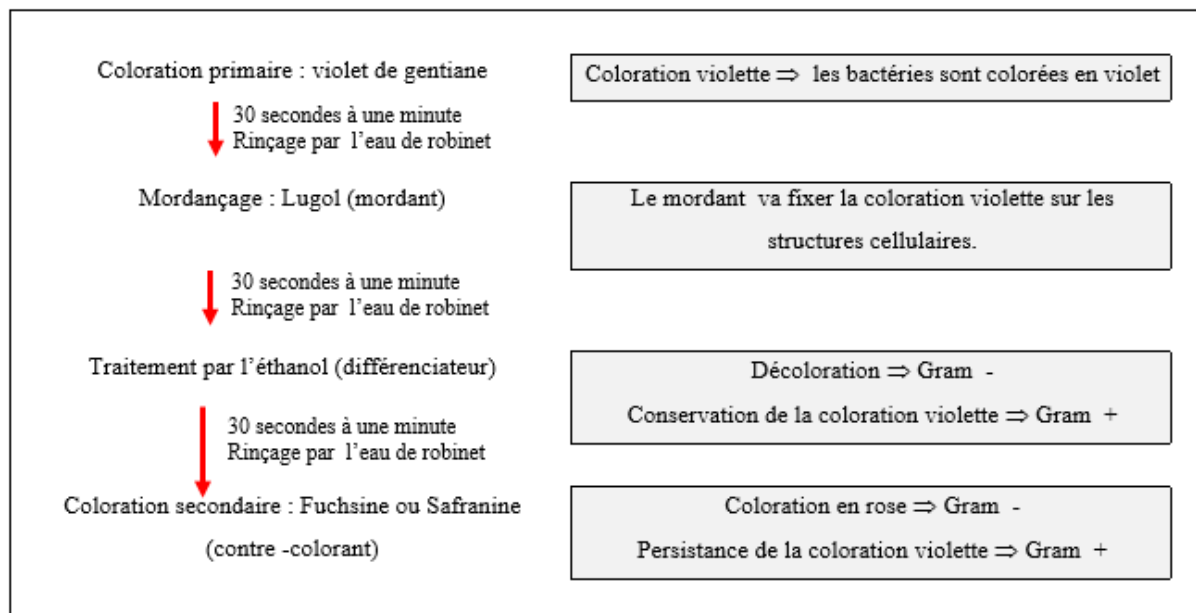
- **En eau physiologique :** D'abord, nous aurons prélevé des selles en surface et en profondeur à différents endroits à l'aide d'une baguette en verre. Ensuite, nous aurons dilué ces particules de matières fécales dans de l'eau physiologique à 0,9%, où cette préparation ne doit pas être trop concentrée ni trop diluée. Enfin, nous aurons déposé une petite goutte de la solution mère entre lame et lamelle stériles.
- **En iodo-iodurée :** Même procédure que l'examen précédent mais en délayant les matières fécales dans le Lugol.

La lecture des lames se fait d'abord au faible grossissement (x10) pour déceler les œufs et larves d'helminthes puis au grossissement moyen (x40) pour rechercher les formes végétatives et kystiques des protozoaires. Balayer toute la lame avec des mouvements en zig-zag soit de haut en bas soit de droite à gauche.

En général, l'observation microscopique à l'état frais se fait en lumière blanche : l'éclairage direct de la préparation ; le condensateur baissé si le microscope le permet ; le diaphragme fermé (lumière minimale) ; l'objectif x 40 à sec (sans huile). Pour la mise au point, l'objectif est à environ 1 mm au-dessus de la lamelle.

### - Frottis des selles coloré au Gram

Pour la préparation du frottis, on suit les mêmes étapes de la préparation de la lame et le mélange de l'observation à l'état frais avec l'étalement et sans ajout de la lamelle. On fait passer la lame sur le bec bunsen quelquefois dans le but de sécher en évitant de brûler le frottis. Selon la figure 33, la coloration de Gram comprend quatre principales étapes qui sont : la coloration primaire, le mordantage, le traitement par l'éthanol et la coloration secondaire.



**Figure 33** : Technique de coloration de Gram.

En général, l'observation microscopique après coloration de Gram se fait en lumière blanche (lumière maximale) : le condensateur est monté jusqu'à la lame si le microscope le permet ; le diaphragme est ouvert (maximum de lumière) et l'objectif x 100 à immersion (avec huile).

## VII.4. Solution mère et dilutions décimales

### A- Préparation de la solution mère

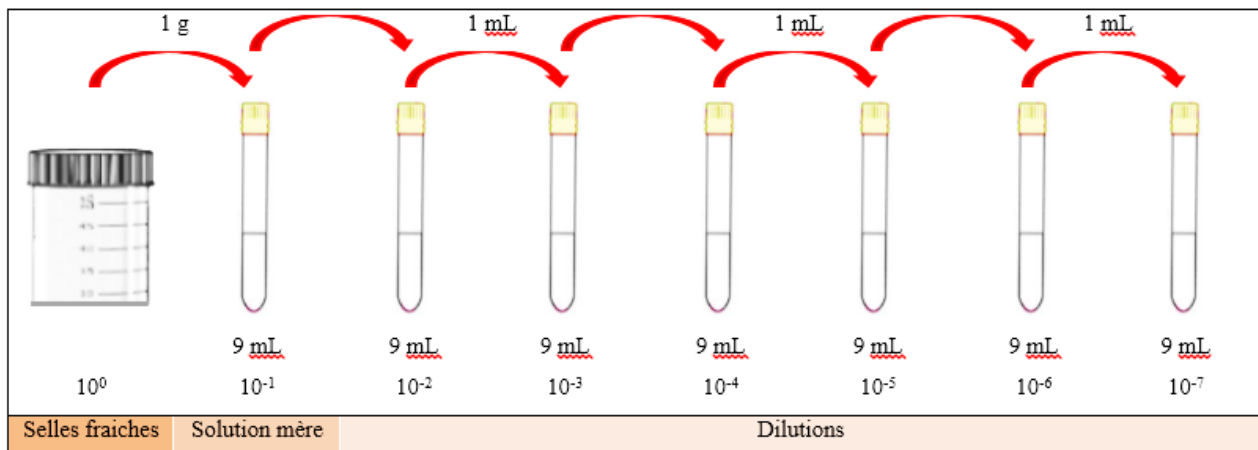
Dans des conditions d'asepsie, une solution de départ titrant 1/10 ( $10^{-1}$ ) est préparée pour chaque échantillon des selles. Tout d'abord, une quantité de 1g de matières fécales est pesée

sur une balance électrique de haute précision, puis elle est remise dans un tube stérile (n° 01) qui contient 9 ml d'eau physiologique. Enfin, ce mélange est homogénéisé à l'aide de vortex. Cette suspension contenant des microorganismes est laissée au repos pendant 30 min pour assurer leur revivification. A partir des solutions mères, de plus petites dilutions décimales sont réalisées pour faciliter le dénombrement.

### **B- Préparation de la série des dilutions**

Dans des conditions d'asepsie et sans oubli d'agiter les suspensions sur vortex, une série des dilutions est préparé pour chaque solution mère de tous les échantillons :

- En premier lieu, six tubes sont numérotés de 2 à 7 pour chaque échantillon des selles. Un volume de 9 ml de l'eau physiologique est remis dans tous tubes préparés.
- En deuxième lieu, un volume de 1000  $\mu\text{l}$  (1000  $\mu\text{l}$  = 1 ml) de solution mère homogène ( $10^{-1}$ ) est prélevé à l'aide d'une micropipette aux embouts stériles et introduit dans le tube n° 2 pour obtenir la dilution  $10^{-2}$ .
- En troisième lieu, un volume de 1000  $\mu\text{L}$  de tube n° 2 homogène ( $10^{-2}$ ) est transféré vers le tube n° 3 pour obtenir la dilution  $10^{-3}$ . Respectivement, les dilutions décimales  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  et  $10^{-7}$  sont effectuées selon la démarche précédente.



**Figure 34 :** Méthode de préparation des dilutions décimales.

## **VII.5. Techniques classiques de numération de microorganismes**

Le dénombrement des microorganismes est effectué selon deux méthodes différentes : le dénombrement direct et le dénombrement indirect.

## **A- Dénombrement directe**

### **- Cellules de comptage : lame de Malassez**

La numération des cellules ou le cymomètre est un comptage direct des cellules pour estimer la densité cellulaire d'une suspension. C'est une technique consiste à observer un quadrillage sous microscope, puis à compter le nombre des cellules observées. Elle est effectuée dans des lames type hématimètre (cellules de comptage), comme la lame de Malassez qu'est la plus utilisée pour la numération des microorganismes (figure 35). Ces lames portant un quadrillage gravé qui facilite le comptage des cellules observées au microscope ; elles sont conçues en verre de 2 à 3 mm d'épaisseur comportant une surface délimitée et quadrillée et recouverte d'une lamelle de sorte qu'elle emprisonne une quantité connue de la solution-dilution de l'échantillon à examiner.

### **Etapes de comptage des cellules par la lame de Malassez**

La numération des cellules est réalisée en trois étapes qui sont :

#### **Mise en hématimètre**

Premièrement, la lamelle est placée sur la lame de Malassez. Deuxièmement, un volume d'environ de 20  $\mu\text{L}$  de suspension diluée est prélevé avec une micropipette à des cônes de stérile (embouts jaunes). Pour Remplir correctement la chambre de comptage, un volume suffisant et non débordé de suspension diluée est mise au niveau du quadrillage de la chambre de comptage où la pointe de la pipette est appuyée obliquement sur la lame à la jointure de la lamelle et la chambre de comptage (figure 36).

#### **Comptage au microscope**

Premièrement, la mise au point est faite sur le quadrillage à l'objectif x10, puis sur à l'objectif x40 pour le comptage. Deuxièmement, la numération est effectuée selon le protocole et les règles propre à la cellule Malassez (figure 36) :

- ✓ Le comptage des microorganismes est réalisé dans 5 bandes horizontales.
- ✓ Les microorganismes à dénombrer sont toutes les cellules à l'intérieur du grand rectangle.
- ✓ Pour les cellules positionnées sur la limite du grand rectangle, on comptabilise les cellules d'une seule longueur et d'une seule largeur (soit 2 côtés sur 4).
- ✓ Le dénombrement au moins 200 cellules réparties sur une vingtaine de rectangles.

Si la densité cellulaire est trop importante, une dilution est refaite (-20 cellule par rectangle).

### Calcul de la densité cellulaire

Il s'effectue selon la formule citée en dessous.

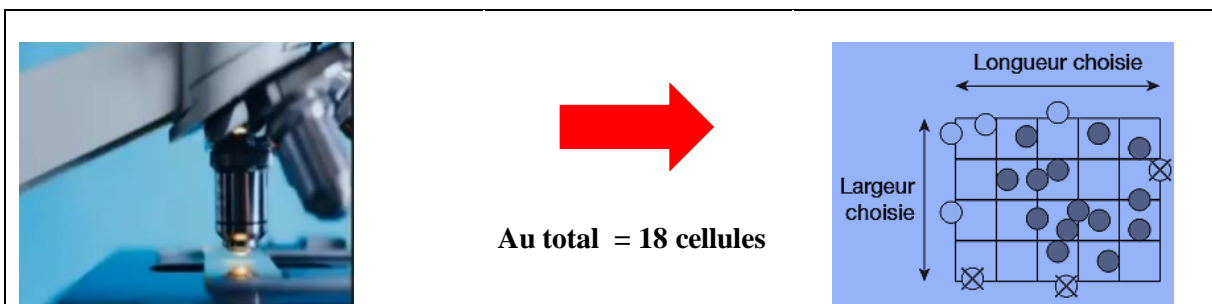
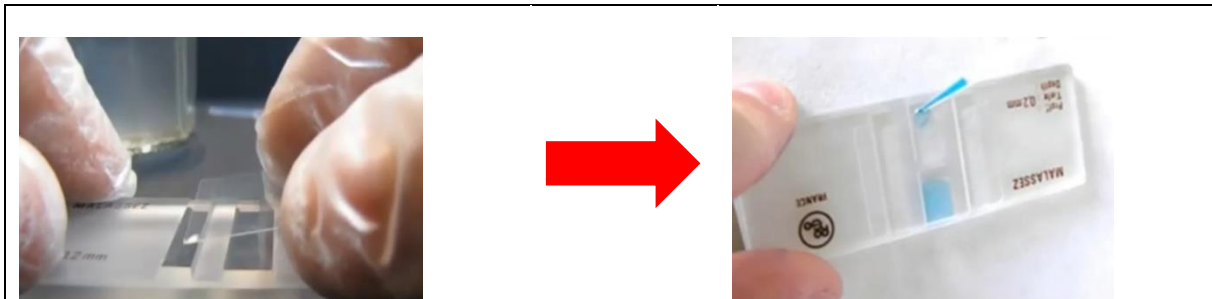
$$\text{Densité cellulaire (cell/mL)} = \left( \frac{\text{Nb de cellules comptées}}{\text{Nb de rectangles comptés} \times \text{Volume d'un rectangle}} \right) \times F_d$$

Moyenne du nombre de cellule par rectangle (cell/mL)

$$= \left( \frac{\text{Nb de cellules comptées}}{\text{Nb de rectangles comptés} \times \text{Volume d'un rectangle}} \right)$$

D'où :

- ✓ Nb de cellules comptées =  $\Sigma$  des cellules comptées dans l'ensemble des rectangles.
- ✓ Nb de rectangles comptés =  $\Sigma$  des rectangles comptés dans les 5 bandes horizontales.
- ✓ Volume d'un rectangle =  $10^{-5}$  mL
- ✓  $F_d$  = Facteur de dilution de suspension



**Figure 35:** Remplissage de la chambre de la lame de Malassez et règle de numérotation à l'aide de la lame de Malassez.

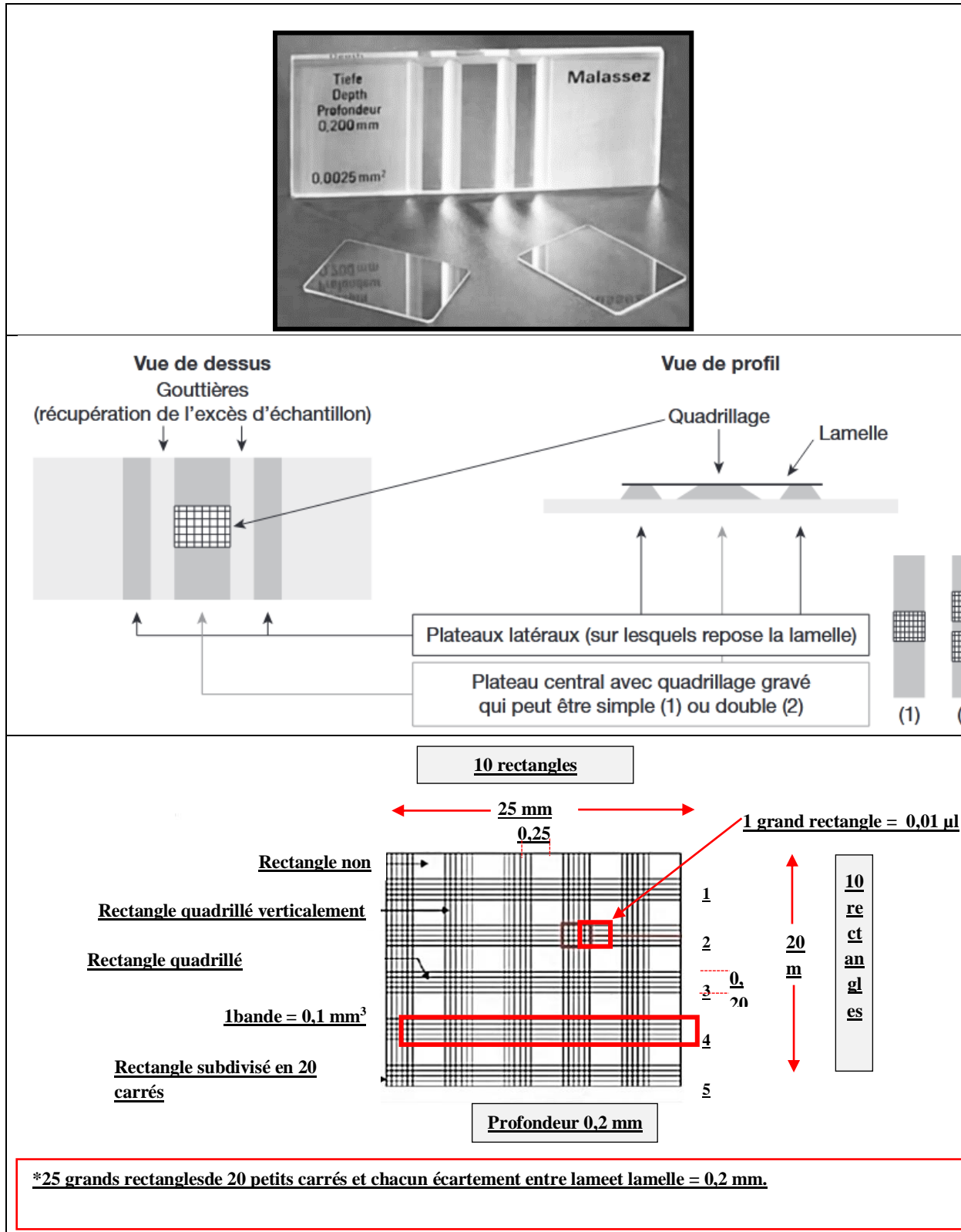


Figure 36 : Représentation schématique de quadrillage de la cellule de Malassez.

## **B- Dénombrement indirect**

Les protocoles cités en dessous sont repérés pour toutes les dilutions de tous les échantillons. D'une façon décroissante, on commence tous jours par la solution le plus concentrée et on termine par le moins concentre.

### **- Dénombrements en milieu gélosé**

#### **\* Techniques :**

On utilise les trois techniques de numérotation suivantes :

#### **❖ Technique standard « plate count » → Ensemencement en masse**

Cette technique consiste à déposer 1000 µL d'une dilution dans le fond d'une boîte de Pétri vide et stérile et de verser dessus le milieu gélosé en surfusion (45° C). La culture est donc mélangée au milieu en faisant pivoter la boîte dans le sens d'une aiguille d'une montre tout en la maintenant sur la surface de la paillasse.

#### **❖ Technique de la double couche → Ensemencement en profondeur**

Cette technique est utilisée dans le but d'éviter le l'envahissement des colonies en surface. A l'aide d'une micropipette, un volume de 1 mL de chaque tube de dilution homogène est prélevé aseptiquement et coulé avec une première couche de 15 à 18 mL de milieu de dénombrement ( $\frac{3}{4}$ ), préalablement fondu et ramené à 45- 50°C, dans une boîte de Pétri.

L'inoculum et le milieu sont bien homogénéisés par des mouvements circulaires de la main, dans un sens, puis dans l'autre. Après solidification, une deuxième couche de 5 mL ( $\frac{1}{4}$ ) est ajoutée ; puis les boîtes de Pétri sont incubées retournées (couvercle vers le bas).

#### **❖ Technique de « surface count » → Ensemencement par inondation**

En règle générale, on coule la boîte de Pétri avec le milieu de dénombrement fondue et on le laisse solidifier complètement pendant au moins 15 minute (la boîte entrouverte). À l'aide une micropipette à cône stérile, on dépose 100 µl de suspension diluée et homogénéisé (100 µl = 0,1ml) sur la gélose sèche, puis on étale bien ce volume avec la pipette râteau stérile du centre vers les bords où on inonde la totalité de la plaque gélosée sans toucher la paroi de la boîte de Pétri pour ne pas compliquer l'analyse du résultat obtenu par la suite. On laisse la boîte inondée pendant quelques minutes afin que la gélose puisse absorber l'humidité à la surface. En dernière étape, la boîte est retournée et incubée à 37°C dans l'étuve.

#### **\*Comptage des colonies**

- ❖ Selon la norme Française XPV08-102, chaque boîte retenue devra contenir au plus 300 colonies et au moins 15 colonies.
- ❖ **Cas 01 : une seule boîte**

– **Règle :** Une boîte exploitable est une boîte qui contient de 15 à 300 colonies.

– **Formule :**  $N = \frac{\text{Nombre d'UFC dans la boîte (UFC/mL)}}{Vd' \text{ inoculum déposé}} \times \text{Facteur de dilution}$

– **Exemple :**

Facteur de dilution	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	Calcul
Nombre des colonies UFC. mL <sup>-1</sup> 1	333	33	4	$N = \frac{33 \text{ (UFC.mL}^{-1}\text{)}}{0,1 \text{ mL}} \times 10^4$ $= 3,3 \cdot 10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$
Boîtes exploitables (15 à 300 colonies)	Non	Oui	Non	

❖ **Cas 02 : deux boîtes**

– **Règle :** Le nombre de microorganismes par ml d'échantillon est calculé à partir des boîtes retenues au niveau de deux dilutions successives.

**Formule :**

$$N = \frac{\text{somme des nombre d'UFC dans les boîte (UFC/mL)}}{1,1 \times Vd' \text{ inoculum déposé}} \times$$

**Facteur de dilution (le moins fort)**

**Exemple :**

Facteur de dilution	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	Calcul
Nombre des colonies (UFC. mL <sup>-1</sup> )	291	28	3	$N = \frac{291 + 28 \text{ (UFC.mL}^{-1}\text{)}}{1,1 \times 0,1 \text{ mL}} \times 10^3$ $= 2,9 \cdot 10^8 \text{ UFC.mL}^{-1}$
Boîtes exploitables (15 à 300 colonies)	Oui	Oui	Non	

Les résultats sont exprimés par le nombre d'unité formant une Colonie (UFC) (*Colony Forming Unit*) par ml ou par gramme présentes dans l'échantillon.

- **Dénombrements indirects en milieu liquide**

Cette numération en milieu liquide est connue sous le nom de la méthode du nombre le plus probable (NPP) de Mc GRADY, elle est utilisée, généralement, pour la recherche et le dénombrement des coliformes totaux, coliformes fécaux, et Streptocoques fécaux dans l'eau. Cette technique est basée sur l'utilisation de trois tubes de milieu liquide (simple ou double concentration),ensemencé avec (1 ou 10 mL) de trois dilutions décimales de l'échantillon à examiner (méthodes de 3).Après incubation on compte le nombre de tubes positifs dans chaque série de trois et on détermine le nombre caractéristique formé de trois chiffres qui est ensuite reporté dans la table de Mc GRADY. La croissance est appréciée par le trouble

microbien, par le virage de couleur du milieu, ou par la production de gaz carbonique.

**Figure 37 :** Table de Mac Grady (méthode de 3 tubes).

Nb de tubes positifs au niveau des trois taux de dilution retenus	NPP	Nb de tubes positifs au niveau des trois taux de dilution retenus	NPP
000	< 0,3	230	2,9
001	0,3	300	2,3
010	0,3	301	4
020	0,6	302	6
100	0,4	310	4
101	0,7	311	7
110	0,7	322	12
111	1,1	320	9
120	1,1	321	15
121	1,5	322	21
200	0,9	323	29
201	1,4	330	20
210	1,5	331	50
211	2,0	332	110
220	2,1	333	> 110
221	2,2		

## Chapitre VI : Résultats et discussion

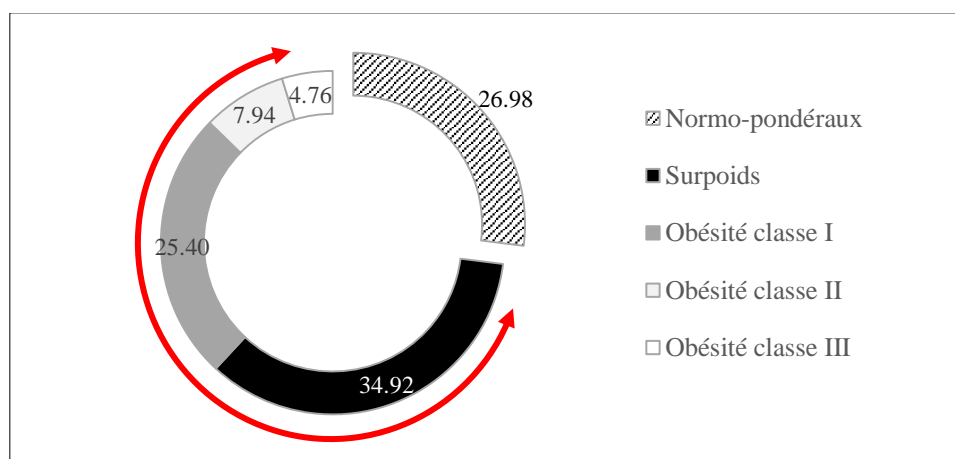
### I. Pré-enquête épidémiologique

#### I.1. Présentation de la population étudiée

Il y a une différence significative entre les deux groupes ce qui concerne le tour de taille ( $p < 0,001$ ). La fréquence de l'obésité est très élevée dans la population globale (figure 38 et tableau 12).

**Tableau 11** : Caractéristiques de la population étudiée.

Paramètres	Normo-pondéraux	Obésité inclut le surpoids	Total	P
N (%)	17(26,98%)	46 (73,01%)	63 (100%)	/
Age (ans)	28,47 ± 10,54	35,89 ± 14,29	33,89 ±13,711	0,056
Sexe	10 Hommes	17 Hommes	27 Hommes	0,102
	7 Femmes	29 Femmes	36 Femmes	
Poids (Kg)	66,80 ± 10,54	89,86 ±19,94	83,63 ±20,448	<b>0,001</b>
Taille (m)	1,74 ± 10,54	1,69 ± 0,09	1,70 ± 0,096	0,085
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	22,14 ± 10,54	31,42 ± 6,20	28,91 ± 6,817	<b>0,001</b>
TT (cm)	87,71 ± 10,54	105,20 ±12,91	100,48 ±14,273	<b>0,001</b>



**Figure 38** : Corpulence de la population étudiée.

#### I.2. Obésité et prédisposition au diabète

Les personnes obèses sont les plus prédisposées au risque de diabète par rapport aux personnes normo-pondérales. L'obésité peut activer certains gènes qui augmentent le risque métabolique (tableau 13).

**Tableau 12** : corpulence en fonction de risque de développement de DT2.

	Faible risque	Risque modère	Risque élevé	Total	P
Normo-pondéraux	12 (70,59%)	4(23,53%)	1(5,88%)	17 (100,00%)	0,007
Obèses (IMC> 25Kg/m <sup>2</sup> )	13(28,26%)	19(41,30%)	14(30,43%)	46 (100,00%)	
Total	25 (39,68%)	23(36,51%)	15(23,81%)	63(100,00%)	

Les résultats prévenants sont confirmés ; c'est-à-dire que l'augmentation de la masse corporelle expose les personnes au diabète de type 2 ; Plus de 15 % des obèses sont des personnes diabétiques (figure 39).

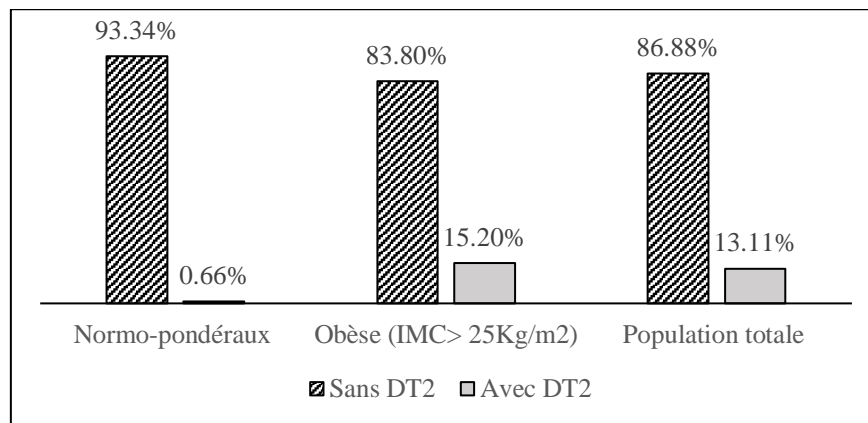


Figure 39 : repartitions de la population en fonction de la corpulence et du diabète.

### I.3. Problèmes sanitaires liés aux microbiotes de la population étudiée

#### A- Microbiote du corps

Plus 42 % de cette population ont une difficultés à perdre du poids (figure 40).

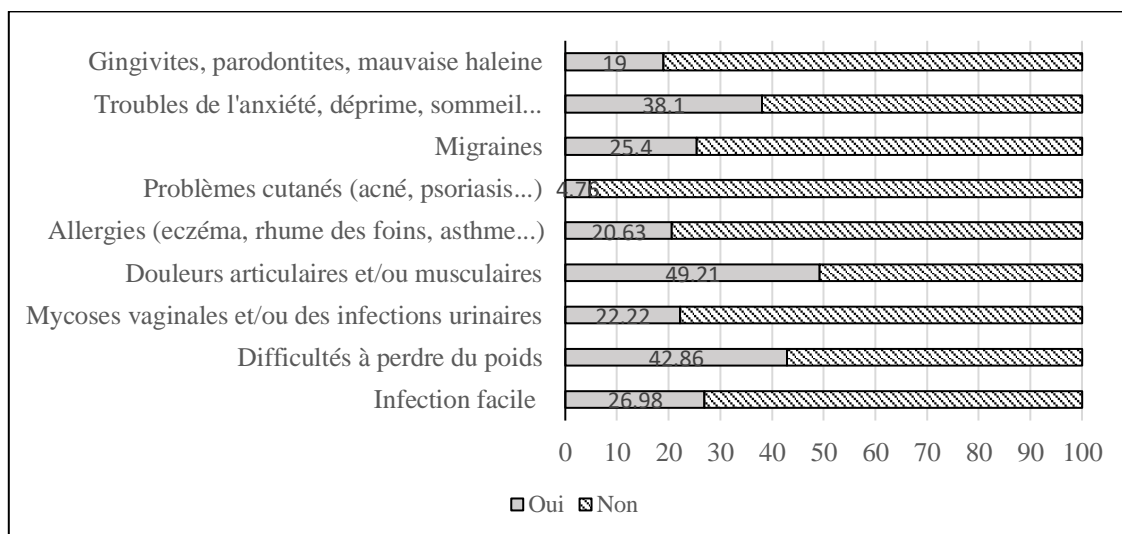
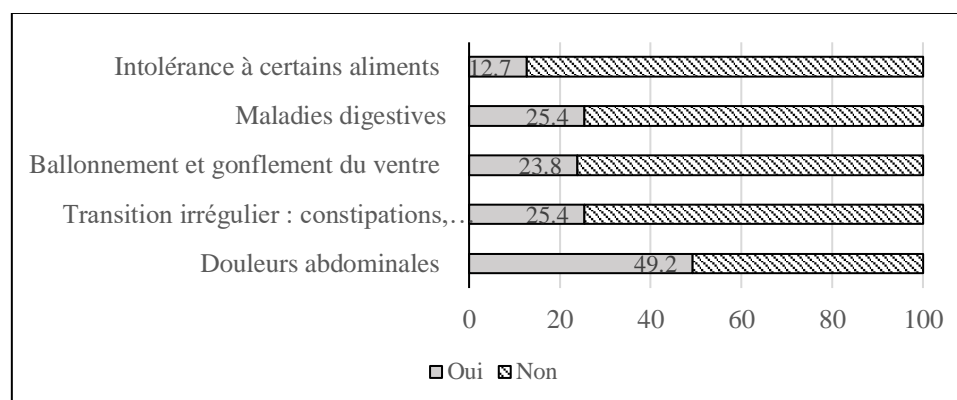


Figure 40 : Problèmes de microbiote de la population.

**B- Microbiote intestinal**

Plus 49 % de cette population ont des douleurs abdominales (figure 41)



**Figure 41** : Problèmes du microbiote intestinal de la population.

**I.4. Problèmes sanitaires liés aux microbiotes selon la corpulence****A- Microbiote du corps**

Les obèses ont une difficulté à perdre du poids et des douleurs d'articulations et musculaires par rapport aux normaux (tableau 14).

**Tableau 13** : Problèmes de microbiote selon les deux groupes de corpulences.

Problèmes	Corpulence	Oui	Non	P
Infection facile	Normo-pondéraux	23,53	76,47	0,487
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	28,26	71,74	
Difficultés à perdre du poids	Normo-pondéraux	5,88	94,12	<b>0,0001</b>
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	56,52	43,48	
Mycoses vaginales et/ou des infections urinaires	Normo-pondéraux	11,8	88,2	0,194
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	26,1	73,9	
Douleurs articulaires et/ou musculaires	Normo-pondéraux	23,53	76,47 <sup>2</sup>	<b>0,013</b>
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	58,70	41,30	
Allergies (eczéma, rhume des foins, asthme...)	Normo-pondéraux	17,65	82,35	0,511
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	21,74	78,26	
Problèmes cutanés (acné, psoriasis...)	Normo-pondéraux	0	100	0,382
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	6,5	93,5	
Migraines	Normo-pondéraux	41,2	58,8	0,080
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	19,6	80,1	
Troubles de l'anxiété, déprime, sommeil...	Normo-pondéraux	23,6	76,5	0,123
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	43,5	56,5	
Gingivites, parodontites, mauvaise haleine	Normo-pondéraux	17,6	82,4	0,588
	Obèses (IMC > 25Kg/m <sup>2</sup> )	19,6	80,4	

**Microbiote intestinal** Il y a une différence significative entre les deux groupes de corpulences concernant la présence de ballonnement et de gonflement (tableau 15).

**Tableau 14** : Problèmes dumicrobiote intestinal selon les deux groupes de corpulences.

Problèmes	Corpulence	Oui	Non	P
Douleurs abdominales	Normo-pondéraux	41,2	58,8	0,321
	Obèses (IMC> 25Kg/m <sup>2</sup> )	52,2	47,8	
Transition irrégulier : constipations, diarrhées, ou alternance des deux	Normo-pondéraux	11,8	88,2	0,115
	Obèses (IMC> 25Kg/m <sup>2</sup> )	30,4	69,6	
Ballonnement et gonflement	Normo-pondéraux	100,0	0	<b>0,04</b>
	Obèses (IMC> 25Kg/m <sup>2</sup> )	32,6	67,4	
Maladies digestives	Normo-pondéraux	23,5	76,5	0,557
	Obèses (IMC> 25Kg/m <sup>2</sup> )	26,1	73,9	
Intolérance à certains aliments	Normo-pondéraux	11,8	88,2	0,631
	Obèses (IMC> 25Kg/m <sup>2</sup> )	13,0	87,0	

## II. Pré-étude microbiologique

### II.1. Présentation des cas-témoins

Le tableau 16 et 17 illustre certaines informations sur la population de pré-étude microbiologique.

**Tableau 15** : Paramètres de la population de pré-étude microbiologique.

Paramètres	Sexe	Age (ans)	Poids (Kg)	Taille (m)	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	TT (cm)	Obésité	DT2	Antibiotiques
Np <sub>1</sub>	Femme	26	50	1,64		81	-	--	-
Np <sub>2</sub>	Homme	55	73	1,73	24,39	104	-	-	-
Np <sup>+</sup>	Femme	35	56	1,64		85	-	-	+++
OB	Femme	26	120	1,68	42,52	137	+++	-	-
DOB <sub>1</sub>	Femme	59	167	1,67	59,88	109	+++	+	-
DOB <sub>2</sub>	Homme	65	90	1,8	27,78	113	+	+	-

**Tableau 16 :** Microbiote intestinal et la population de pré-étude microbiologique.

Problèmes	Douleurs abdominales	Constipations, diarrhées, ou alternance des deux	Ballonnement et gonflement	Maladies digestives	Intolérance à certains aliments
Np <sub>1</sub>	-	+	-	-	-
Np <sub>2</sub>	+	+	-	-	-
Np <sup>+</sup>	+	+	+	+	-
OB	+	+	-	-	-
DOB <sub>1</sub>	+	+	-	-	-
DOB <sub>2</sub>	-	+	-	+	-

## II.2. Examens macroscopiques et microscopiques des selles

### A- Examen macroscopique

L'examen macroscopique (tableau 18) sous la lumière des échantillons de selles fraîches recueillis a démontré une différence entre la texture et la couleur, une présence des résidus alimentaires, une absence de formes parasitaires visibles à l'œil nu ainsi qu'une absence totale du sang, des glaires dans les différents échantillons.

**Tableau 17 :** Résultats obtenues de l'observation macroscopique des échantillons recueillis.

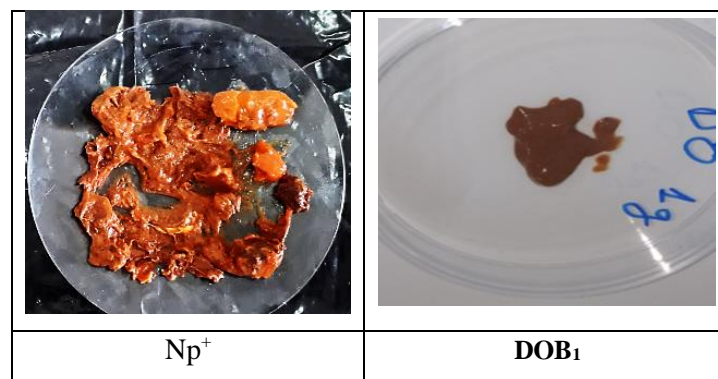
Cas-témoins		NP <sub>1</sub>	NP <sub>2</sub>	NP <sup>+</sup>	OB	DOB <sub>1</sub>	DOB <sub>2</sub>
Consistance	Semi solide	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)
	Solide						
	Liquide					(+)	
Couleur	Brune	(+)	(+)			(+)	(+)
	Sombre				(+)		
	claire						
	Autre couleur			(+++)			
Macroparasites		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Residualimentaires		(-)	(+)	(+++)	(-)	(-)	(++)
Eléments surajoutés	Mucus	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Sang	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	Autres	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(-) absence, (+) présence faible, (++) présence moyenne, (++++) présence excessive.

Nos résultats montrent qu'il existe une différence de couleur des selles. Les selles peuvent prendre différentes couleurs selon les aliments consommés, les médicaments pris ou l'état de santé de chacun. Les selles des cas en bonne santé Np<sub>1</sub> et Np<sub>2</sub> sont de couleur normale, par contre les selles de patient Np<sup>+</sup> sont colorées à cause de traitement par les antibiotiques.

La consistance de la matière fécale dépend de la vitesse à laquelle la matière a traversé l'intestin. Les selles des personnes normo-pondérales (NP<sub>1</sub> et NP) sont semi-solides, par contre elles sont liquides avec une forte odeur pour la femme diabétique obèse (DOB<sub>1</sub>). Les selles seront liquides si le transit est accéléré, qu'il y a une diarrhée. La différence de texture et de consistance dans les selles est principalement attribuable au temps qu'elles restent dans le côlon. Elles durcissent lorsqu'elles y passent trop de temps, mais plus elles circulent rapidement, plus elles s'amollissent.

On remarque une variation dans la répartition des fibres chez les différents patients : la quantité des fibres alimentaires n'est pas visible chez le patient NP<sub>1</sub>, OB et DOB<sub>1</sub>, moyennement visible chez le patient NP<sub>2</sub> et DOB<sub>2</sub>, et très visible chez le patient Np<sup>+</sup>. Les fibres ne peuvent être digérées complètement, et il est possible que les fibres insolubles ne changent pas beaucoup au cours de leur parcours digestif. En plus, le Np<sup>+</sup> a problèmes un problème digestif, car ses selles contiennent un grand morceau des aliments (figure 42).



**Figure 42 :** Observation macroscopique des selles.

## **B- Examen microscopique**

### **- Observation directe des selles à l'état frais**

L'examen microscopique permet de révéler les leucocytes fécaux, la mobilité par ciliature polaire (pathogènes), les formes végétatives et kystiques des protozoaires et des larves d'helminthes. En fonction du résultat obtenu (tableau 19), on note une absence totale de ces éléments sauf les débris alimentaires qui sont présents en grande quantité.

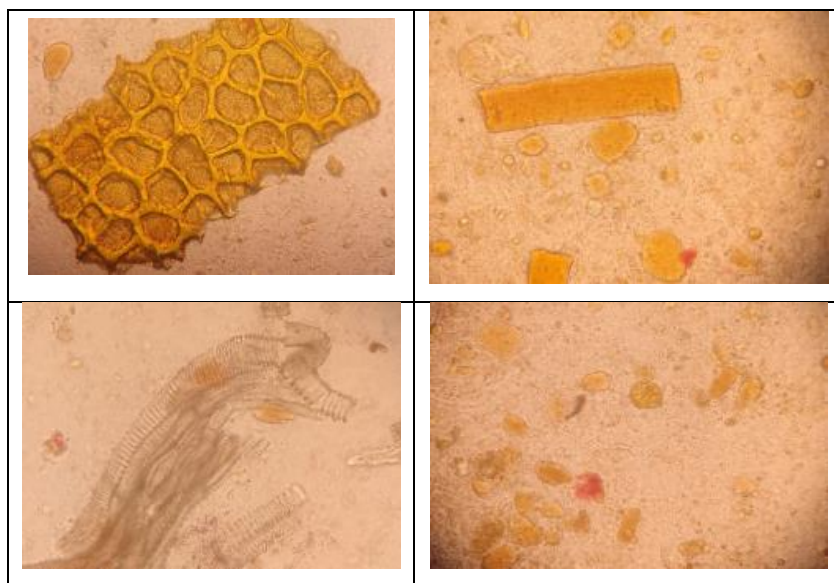
**Tableau 18 :** Résultats de l'examen à l'état frais des échantillons.

Echantillons	Leucocytes fécaux.		Mobilité par ciliature polaire (pathogènes)		les œufs et larves d'helminthes		les formes végétatives et kystiques des protozoaires		Débris	
	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non	Oui	Non
Np <sub>1</sub>		-		-		-		-	++	
Np <sub>2</sub>		-		-		-		-	++	
Np <sup>+</sup>		-		-		-		-	+++	
OB		-		-		-		-	+++	
DOB <sub>2</sub>		-		-		-		-	++	
DOB <sub>1</sub>		-		-		-		-	+++	

La figure 43 montre que tous les échantillons des selles sont riches en fibres alimentaires. Cependant la charge en débris alimentaire est plus élevée chez les Np<sup>+</sup>, DOB<sub>1</sub> et OB et moins chargée que chez les DOB<sub>2</sub>, Np<sub>1</sub> et Np<sub>2</sub>. Ces débris peuvent être issus de la digestion ou bien d'autres processus métaboliques, ou l'existence d'une déficience fonctionnelle digestive (résidus de viande, de végétaux, de tissu conjonctif animal).

En plus, une grande quantité des graisses est presque identique chez les patients obèse OB (IMC > 40 Kg/m<sup>2</sup>) et DOB<sub>1</sub> (IMC > 40 Kg/m<sup>2</sup>) contrairement aux autres les patients Np<sub>1</sub> (IMC < 25 Kg/m<sup>2</sup>), Np<sub>2</sub> (IMC < 25 Kg/m<sup>2</sup>), Np<sup>+</sup> (IMC < 25 Kg/m<sup>2</sup>) et DOB<sub>2</sub> (IMC < 30 Kg/m<sup>2</sup>). Ainsi, la présence excessive de graisses non digérées, ce qui traduit un déficit de bile ou de sucs pancréatiques ou un défaut d'absorption intestinale. La flore intestinale joue un rôle important dans la dégradation des selles biliaires et un dysfonctionnement de cette flore peut induire donc un problème de digestion des graisses alimentaire.

Ces résultats montrent également la présence d'amidons dans les selles de DOB<sub>1</sub>, dont l'augmentation traduit une accélération du transit intestinal ou une destruction de la flore colique. Chez cette patiente, la diarrhée est observable.



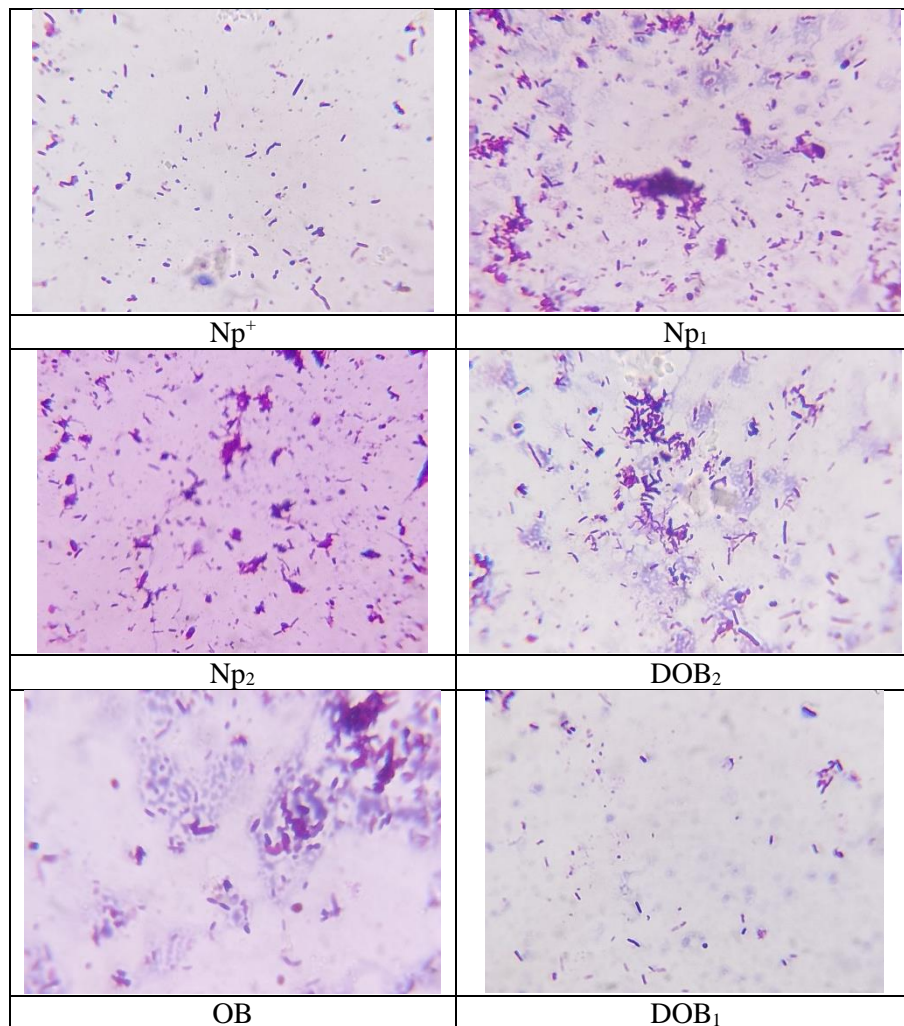
**Figure 43 :** Observation microscopique à l'état frais de l'échantillon DOB1 (Solution de lugol).

#### **- Frottis des selles coloré au Gram**

Une différence significative de la charge et la diversité microbienne a été observée après la coloration du Gram entre l'échantillon Np<sub>1</sub> et Np<sub>2</sub> des deux personnes de poids normal et l'échantillon Np<sup>+</sup> de la personne normo-pondérale sous traitement des antibiotiques et entre les échantillons OB, DOB<sub>2</sub> et DOB<sub>1</sub> des personnes obèses atteintes ou non le diabète de type 2 (figure44).

L'échantillon le plus pauvre en bactéries intestinale est celui de la personne qui consomme les antibiotiques à une longue durée qui dépasse une année. Les antibiotiques sont des substances chimiques inhibent la croissance bactérienne. De même l'obésité et le diabète sont associés souvent avec la diminution du microbiote intestinal. Les trois personnes obèses et/ou diabétiques (OB, DOB<sub>2</sub> et DOB<sub>1</sub>) ont une diversité bactérienne moins que les sujet normaux (Np<sub>1</sub> et Np<sub>2</sub>). Cependant, le DOB<sub>1</sub> est le cas qui possède moins les bactéries par rapport aux autres obèses (OB et DOB<sub>2</sub>). Plusieurs études ont montré que l'augmentation de l'IMC est associée à la diminution de la diversité de la flore intestinale. Dans notre pré-étude, en première position l'IMC de DOB<sub>1</sub> dépasse 50 kg/m<sup>2</sup>, en deuxième position est celui d'OB (> 40 kg/ m<sup>2</sup>) et en troisième position est celui de DOB<sub>2</sub> (> 30 kg/ m<sup>2</sup>). C'est le contraire pour la diversité bactérienne de la flore intestinale, les selles de la personne DOB<sub>2</sub> sont plus variées que ceux de la personne OB et ceux de la personne DOB<sub>1</sub>.

D'après nos résultats, il y a un équilibre entre les bactéries gram positives et les bactéries Gram négatives dans les selles des sujets normaux ( $Np_1$  et  $Np_2$ ). Ce qui renforce ces résultats est le rapport F/B. Les bactéries Gram positives sont plus dominant chez les patients  $NP^+$ ,  $DOB_1$  et  $OB$ , mais avec une déférence dans les forme des bactéries, par contre chez le patient  $DOB_2$  il y a une prédominance des bactérie Gram (-). Ces résultats montrent qu'il y a un dysbiose intestinal chez les obèses et/ou diabétiques et les sujets sous traitement des antibiotiques.



**Figure 44** : Résultats de coloration de Gram

### II.3. Dénombrement des cellules bactériennes

#### A- Dénombrement direct

D'après le tableau 20, on note que la densité des micro-organismes est presque là même chez les Np<sub>1</sub>, BOD<sub>2</sub> et OB ( $1,22 \times 10^{-9}$  -  $1,28 \times 10^9$  cell / mL), par contre le sujet Np<sub>2</sub> possède la flore intestinale la plus riche en cellules et les sujets Np<sup>+</sup> et DOB<sub>2</sub> ont la plus faible diversité microbienne ( $< 0,9 \times 10^9$  cell/mL). Ce résultat est en accord avec le résultat de la coloration de Gram.

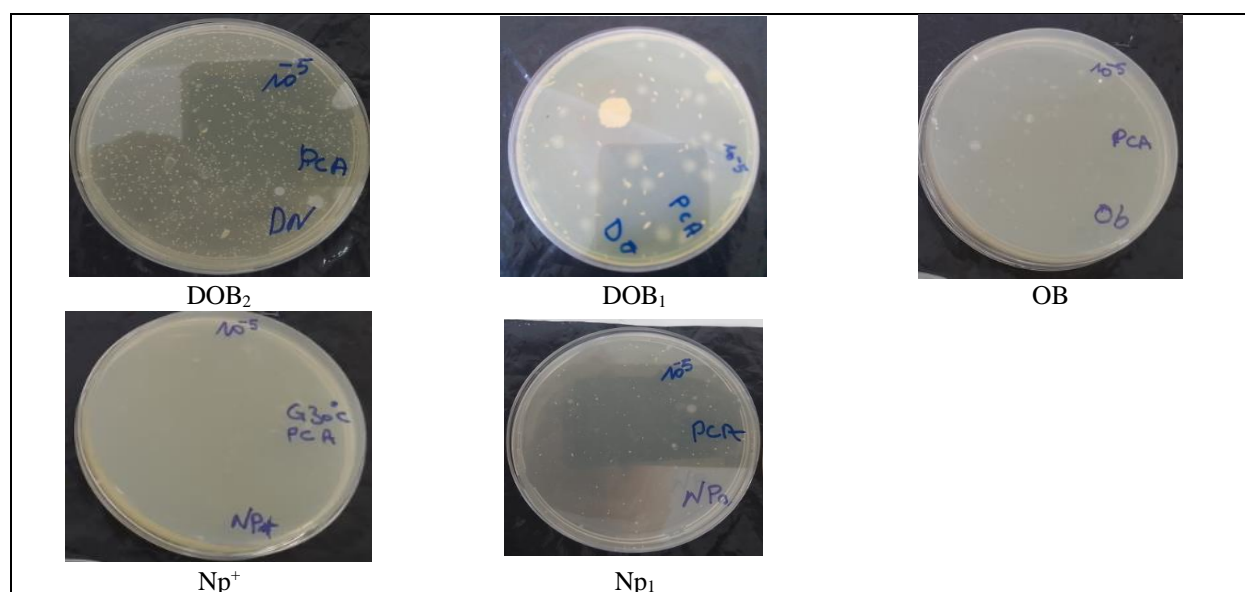
**Tableau 19** : Cellule de comptage mallasses.

Cas	Cellules	Rectangle	Volumed'unrectangle	Facteur de dilution	Calcule x 10 <sup>9</sup> (cell/ml)
NP <sub>1</sub>	633	5	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>2</sup>	1,27
NP <sub>2</sub>	122	5	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>3</sup>	2,44
NP <sup>+</sup>	342	5	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>2</sup>	0,68
OB	638	5	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>2</sup>	1,28
DOB <sub>2</sub>	612	5	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>2</sup>	1,22
DOB <sub>1</sub>	436	5	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>2</sup>	0,87

#### B- Dénombrement indirect

##### \* Résultats de dénombrement des bactéries aérobies totales (après 48 h)

Ces résultats révèlent une différence remarquable dans l'aspect morphologique des colonies entre les échantillons observés (figure 45).



**Figure 45** : Résultat après incubation dans le milieu PCA (10-5).

Notre résultat après incubation à 37C°/48h (dilution 10<sup>-5</sup>) montre que le nombre bactérien est élevé chez DOB<sub>2</sub> et NP<sub>1</sub>, par contre il est très bas chez OB et DOB<sub>1</sub>.

**Tableau 20** : Comptage des colonies sur milieu solide PCA (48 h).

Cas	x 10 <sup>7</sup> (UFC/mL)
Np <sub>1</sub>	29,5
Np <sub>2</sub>	21,8
OB	1,99
DOB <sub>2</sub>	36,3
DOB <sub>1</sub>	3,10
Np+	1,20

#### \*Résultats de dénombrement des entérobactéries (VRBL)

Après incubation à 37C°/24 h, les résultats montrent la présence des colonies roses violettes, entourées ou non d'un halo violet de sels biliaries précipités, cela indique la présence des entérobactéries (G-).



**Figure 46** : Résultat de DOB<sub>1</sub> après incubation dans le milieu VRBL (10<sup>-2</sup>).

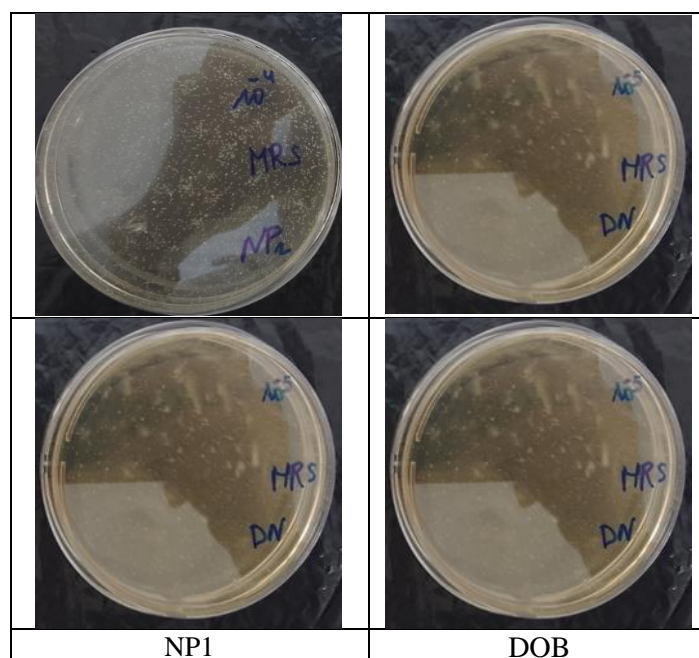
Nos résultats montrent que les bactéries entérobactéries chez les Np<sup>+</sup>, DOB<sub>2</sub> sont très nombreuses, alors qu'elles sont moins ou absentes chez les OB et DOB<sub>1</sub>.

**Tableau 21** : Comptage des colonies sur milieu solide VRBL.

Cas	x 10 <sup>7</sup> (UFC/mL)
Np <sub>1</sub>	02,75
Np <sub>2</sub>	03,0
OB	1,00
DOB <sub>2</sub>	26,00
DOB <sub>1</sub>	0,0007
Np+	0,56

**\*Résultats de dénombrement des bactéries lactiques**

Après incubation à 37°C pendant 48 heures, l'observation macroscopique note la présence des colonies de petite taille, de couleur blanche. L'aspect de ces colonies indique la présence de bactéries lactiques.



**Figure 47** : Résultat après incubation dans le milieu MRS.

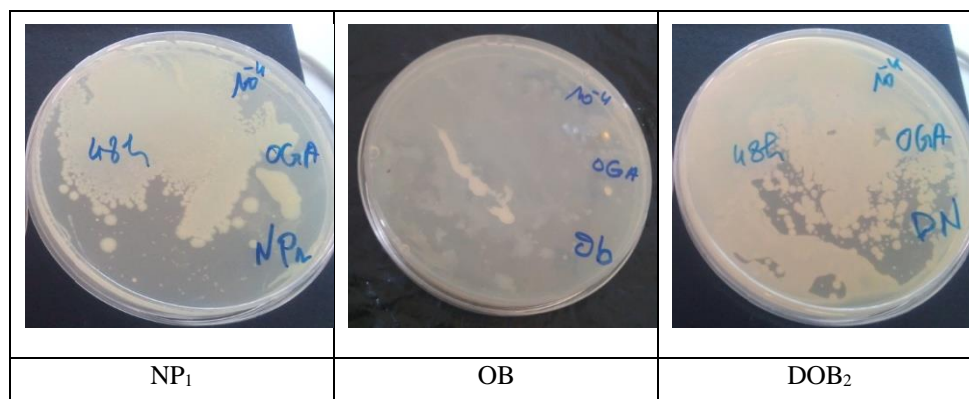
Après l'identification macroscopique, une identification microscopique a été faite en réalisant une coloration de Gram. Cette dernière indique la présence des cellules en forme de coque avec une couleur violette, ce qui indique que ce sont des bactéries à Gram positif et c'est le cas des bactéries de groupe de bactéries lactiques. En fin, les résultats de dénombrement obtenu sont illustrés dans le tableau 23.

**Tableau 22** : Comptage des colonies sur milieu solide MRS.

Cas	$\times 10^7$ (UFC/mL)
Np <sub>1</sub>	2,88
Np <sub>2</sub>	3,20
OB	/
DOB <sub>2</sub>	1,26
DOB <sub>1</sub>	/
Np+	0,03

### \* Résultats de dénombrement des levures et des moisissures (OGA)

Après l'incubation à 37°C pendant 72h à 5 jour, on constate que les levures apparaissent sous la forme de colonies blanches crémeuses lisses et de taille différentes en surface sur le milieu OGA dont la charge variée d'un échantillon à un autre (figure).



**Figure 48 :** Résultat après incubation dans le milieu OGA.

**Tableau 23 :** Comptage des colonies sur milieu solide OGA.

Cas	$\times 10^7$ (UFC/mL)
Np <sub>1</sub>	0,017
Np <sub>2</sub>	0,032
OB	0,35
DOB <sub>2</sub>	0
DOB <sub>1</sub>	0,051
Np+	0,025

### \*Dénombrement sur milieu liquide : Stréptocoques fécaux

Le Bouillon de Rothe est utilisé pour la confirmation lors des recherches et dénombrements des Streptocoques fécaux qui désigne les streptocoques fortement présents dans les selles humaines.



**Figure 49** : Résultats de DOB1 après incubation dans le Bouillon de Rothe.

Les bactéries streptocoques fécaux ne sont pas abondantes chez les patients normaux (Np<sub>1</sub>, Np<sub>2</sub> et Np<sup>+</sup>), alors qu'elles sont fortement présentes dans les selles des patients obèses (DOB<sub>1</sub> et OB). Lorsque ces bactéries pathogènes sont présentes transitoirement et en faible quantité dans les selles, on parle de porteurs sains et en autre temps elles peuvent être responsables d'infections (quantité élevé).

**Tableau 24** : Comptage des colonies sur milieu liquide de Bouillon de Rothe.

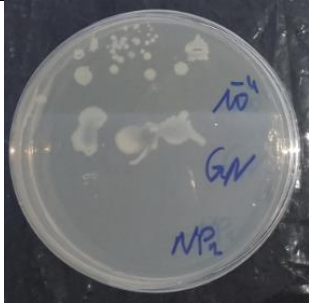
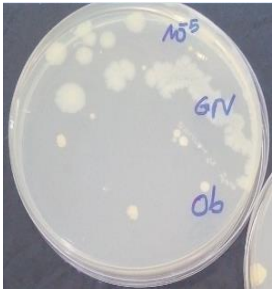
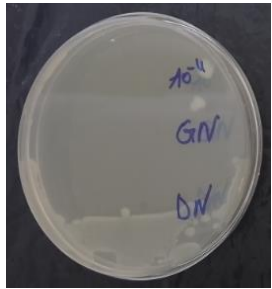
Patients	Dilution			Tubes positifs	NPP	Calcul
	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>			
Np <sub>1</sub>	3	3	3	333	> <b>110</b>	> <b>110</b>
Np <sub>2</sub>	3	3	3	333	> <b>110</b>	> <b>110</b>
Np <sup>+</sup>	3	1	1	311	7	7 × 10 <sup>5</sup>
OB	3	2	1	321	15	17 × 10 <sup>5</sup>
DOB <sub>1</sub>	3	2	2	322	12	12 × 10 <sup>5</sup>
DOB <sub>2</sub>	3	3	3	333	> <b>110</b>	> <b>110</b>


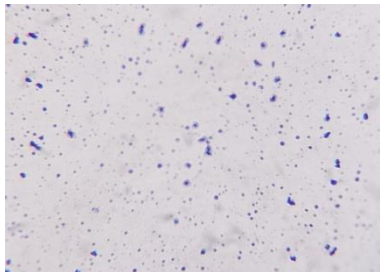


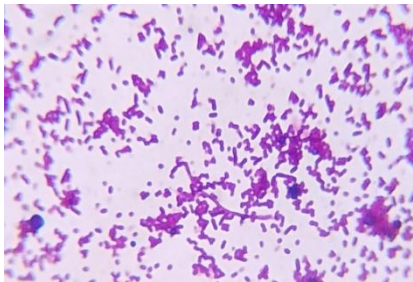

#### **II.4. Isolement des bactéries**

Pour débiter l'identification des souches bactériennes fécales, on fait une observation macroscopique afin d'étudier la morphologie des colonies d'une culture pure, puis on passe à l'observation microscopique afin d'étudier la morphologie des cellules bactériennes de la même souche.

**A- Ensemencement par striation sur le Gélose nutritif**

Pour l'identification des bactéries, il est nécessaire d'appliquer les tests biochimiques. Le tableau 26 résume la morphologie des deux colonies (régulière et irrégulière) observées sur le GN. Ces résultats nous montrent que dans le test de catalase, la formation de mousse représente une réaction positive.

		
Np <sub>1</sub>	OB	DOB <sub>2</sub>

Colonie 1			
Colonie 2			

**Figure 50 : Test de catalase et coloration de Gram**

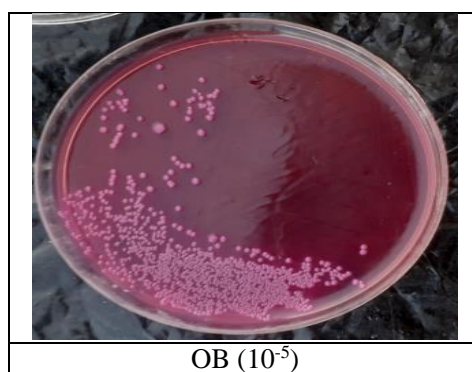
**Tableau 25:** Morphologie des 2 colonies bactériennes (régulier et irrégulier)

Paramètres	Coronie type 1	Colonie type 2
1. Forme des colonies	Sphérique régulière	Ir régulière
2. Elevation (relief)	Semi-bombée	Plate
3. Taille	< 1 mm	> 1 mm
4. Pigment (chromogénèse)	(-)	(-)
5. Transparence (opacité)	Translucide	Translucide
6. Consistance	Crémeuse	Crémeuse
7. Surface (contours)		
8. Catalase	positive	Positive
9. Coloration de Gram	G+	G-
10. Forme bactérienne	Coque	Diplocoque/coque/amas

### **B- Ensemencement par striation sur la gélose de MacConkey**

Le Gélose de *MacConkey* est un milieu sélectif qui inhibe les microorganismes à Gram positif, et donc il nous permet de faire l'isolement et la différenciation entre des entérobactéries :

- ✓ Les colonies lactose-positif présentent une coloration rouge et sont entourées d'un halo de sels biliaires précipités.
- ✓ La présence de colonies rouge-brique, avec ou sans zone de précipité, implique de réaliser les tests nécessaires à la confirmation d'*Escherichia coli* : coloration de Gram, croissance sur gélose EMB 10<sup>-5</sup>.
- ✓ Les colonies lactose-négatif sont incolores à rose pâle, translucides implique de réaliser les tests nécessaires à la confirmation de *Shigella sonnei* : coloration de Gram, croissance sur gélose Hektöen.



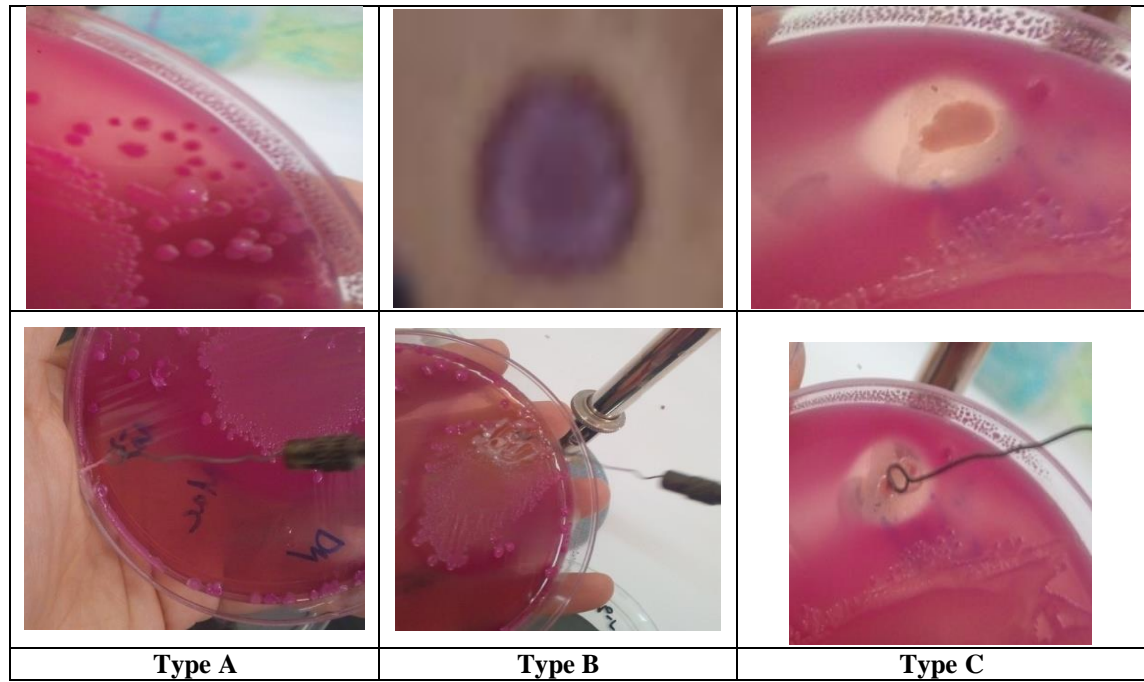
**Figure 51** :Résultat après incubation dans le Géllose de MacConkey.

D'après les résultats marqués dans le tableau 27 :

- ✓ **La colonie A** : est peut-être un *Enterobacteria* ou *Klebsiella*, sont souvent mucoïdes, et rose foncé à pâle.
- ✓ **La colonie B** : sont des colonies d'*Escherichia coli* qui sont roses à rose foncé, bombé et en forme de sphère et sont entourées d'une zone rose foncé de sels biliaires précipités.
- ✓ **La colonie C** : est peut-être des *Salmonella*, *Proteus*, *Yersinia*, *Pseudomonas*, car ils apparaissent incolores sur le milieu et la gélose entourant ces bactéries reste relativement transparente.

**Tableau 26** :Paramètres des colonies observées.

Paramètres	Colonie type A	Colonie type B	Coronie type C
Forme	Sphérique	Sphérique	Irrégulier
Taille	<1mm	>1mm	>1mm
Pigment	Centre rose entouré avec un anneau claire	Centre claire entouré avec un zone rose foncé	Incolore
Consistance	Muqueuse (collant)	Crémeuse	Sèche
Surface	Bombée	Bombée	Plate
Groupement	Gram négatif	Gram négatif	Gram négatif
Test de lactose	+	+	-



**Figure 52 :** Observation macroscopique des colonies A ; B et C sur le milieu MacConkey.

## Discussion générale

Notre enquête avait pour but de vérifier l'influence de variation de la flore intestinale sur les maladies métaboliques (obésité et diabète), ainsi s'il existe une différence de flore intestinale entre les patients sains et les patients diabétique et/ou obese. Cette étude s'est faite sur des échantillons de coproculture de deux laboratoires pendant une période relativement courte , Elle a permis de faire un point sur le profil clinique et épidémiologique des patients,

Dans un 1er temps, Notre étude statistique pouvait être plus explicite qu'elle ne l'est ceci s'explique par le fait que la fiche de renseignements que nous avons établis au niveau du service n'était pas toujours bien remplie il y avait un manque de données ; par exemple, le tour de taille ,les analyse biochimique ....etc ,qui sont des paramètres important n'a pas toujours été respecté ce qui a fait que nous n'avons pas pu détailler ces paramètres.

L'effectif de patients traités est relativement faible. Cela s'explique principalement par le manque de donneurs de selles. Les principales difficultés rencontrées pour le recrutement de donneurs sont une méconnaissance de la pratique par la population générale. En effet, il y a peu d'information disponible pour être donneur de selles, et une faible visibilité des centres ayant mis en place la pratique. Une autre difficulté est la perception de la matière fécale par la population, évoquant le dégoût et un certain tabou

Par manque de matériels, nous n'avons pas pu utiliser beaucoup de méthodes pour approfondir notre étude. Citons par exemple le PCR, les tests biochimiques...etc. qui vont par ailleurs donné de bons résultats.

Acheminement des prélèvements des selles n'était pas respecté (la durée et température), ainsi que plusieurs fois on obtient des résultats négative grâce a des préparations avec des solutions congelé

Généralement les études de la diversité bactérienne dans l'intestin humain sont réalisées afin de confirmer que la diversité microbienne diffère entre un sujet sain et un autre atteint d'une pathologie. Dans cette étude 6 patientes souffrantes d'un diabète et /ou d'obésité et des personnes saines

D'après les résultats totaux on trouve que, la prévalence de l'obésité abdominal et diabète type 2 sont plus élevée chez les personnes âgées (40-65ans) ; et le surpoids propager chez les personne jeune (18-40) ( $IMC > 25 \text{ kg/m}^2$ ) .nos résultats confirment d'autres travaux. Une enquête nationale de santé réalisée en 2018 par l'institut National de Santé Publique montre que la

prévalence du diabète total en Algérie ainsi que la L'obésité augmentent significativement avec l'âge notamment entre 35 et 70 ans (diabète de type II) (Enquête Nationale de Santé, 2018

D'après la Pré-enquête , une différence marquée ce qui concerne le tour de taille entre les patients , l'environnement et surtout les désordres d'ordre alimentaire et psychologique qui en sont les causes principales. En comparant avec d'autres études effectués au Canada et aux États-Unis ont montré un plus d'un tiers des personnes marquée un tour de taille élevée qui sont considérés comme étant en surpoids ou obèses (**Gutiérrez,et al.,2018.**).

On constate que le mode de vie en Algerie est plus sein, Or il est alarmant, et des mesures de prévention sont indispensablement envisageables.

D'après la présente étude, L'obésité présente le facteur de risque qui peut activer certains gènes qui augmentant le risque métabolique, Le risque de diabète augmente de manière linéaire avec l'IMC : 2% chez les sujets en surpoids, 21% chez les obèses. Ces mêmes résultats ont été observés chez Darmon, 2018 qui a réalisé une étude sur la relation entre l'IMC et le diabète.

Les analyses macroscopiques nous révèlent une absence d'anomalie dans le transit digestif de nos patients , . Et l'observation des échantillons à l'état frais, nous révèle une absence de la mobilité des microorganismes, une absence de toutes formes des leucocytes fécaux,des kystiques des protozoaires et des larves d'helminthes chez tous les échantillons , à l'exception de certains débris d'origine alimentaire, Ces résultats reste proche de celui trouvé au niveau d'une étude réalisée à l'hôpital Idrissi de Kenitra en 2016

L'absence des formes végétatives s'expliquerait probablement par le retard de l'acheminement des prélèvements à l'hôpital, ce qui souligne l'importance de l'émission des selles au laboratoire.

Notre analyse de la répartition des espèces bactériennes montre des résultats variables. En effet, il est statistiquement significatif pour l'espèce E. coli, Enterobacteria ou Klebsiella et très significatif pour Salmonella, Proteus, Yersinia, Pseudomonas. Pour les autres espèces elles sont statistiquement non significatives. Ces résultats concordent avec ceux de Cheikhrouhou et al., 2020

---

# **Conclusion générale**

## **Conclusion générale**

La présente étude constitue une contribution à l'étude d'Implication de la flore intestinale ans le développement des maladies métaboliques chez les diabétiques obèses. Il devient indéniable que la flore intestinale joue un rôle dans la survenue de l'obésité et de la résistance à l'insuline, bien que le lien de causalité ne soit pas encore clairement établi. Dans cette optique, il est nécessaire de mieux connaître les facteurs génétiques et environnementaux déterminant les caractéristiques du microbiote intestinal. L'étude de la répartition des colonies bactériennes chez l'obèse, avant et après perte de poids, pourrait également être utile pour mieux cibler une attitude thérapeutique visant la modification de la composition du microbiote. Ces perspectives de modulation du microbiote intestinal et du métabolisme cellulaire microbien sont extrêmement intéressantes,

On constate aujourd'hui des modifications importantes de la composition du microbiote chez les individus vivant dans les sociétés industrialisées. Celles-ci ont été imputées à la transformation du style de vie, et plus particulièrement aux changements de l'alimentation humaine (appauvrie en fibres, enrichie en graisses et sucresrapides), à la consommation d'antibiotiques, et à l'exposition à divers polluants. Ces altérations se caractérisent par une réduction de la diversité bactérienne, la perte de bactéries symbiotiques exerçant des effets favorables sur le métabolisme ou le système immunitaire au profit de bactéries dites pathobiontes » aux propriétés souvent proinflammatoires

Une connaissance approfondie des mécanismes qui sous-tendent les effets du microbiote, comme de ceux qui contrôlent sa composition, est aujourd'hui indispensable pour appréhender précisément son rôle dans cette pathologie sin validantes, et définir des stratégies thérapeutiques ou préventives capables de restaurer une composition du microbiote favorable à la santé humaine.

**Références  
bibliographiques**

## Référence et bibliographie

1. Ali, A. M., Hendawy, A. O., Ahmad, O., Al Sabbah, H., Smail, L., & Kunugi, H. (2021). The Arabic Version of the Cohen Perceived Stress Scale: Factorial Validity and Measurement Invariance. *Brain Sciences, 11*(4), 419. <https://doi.org/10.3390/brainsci11040419>
2. Aloo, S. O., & Oh, D.-H. (2022). The Functional Interplay between Gut Microbiota, Protein Hydrolysates/Bioactive Peptides, and Obesity: A Critical Review on the Study Advances. *Antioxidants, 11*(2). <https://doi.org/10.3390/antiox11020333>
3. Amélie Deglaire, Méjean Caroline, Castetbon Katia, Hercberg Serge, & Schlich Pascal. (2010). *Development and internal validation of a fat-, sweet- and salt-liking questionnaire.*
4. American Diabetes Association. (2018). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes Care, 42*(Supplement\_1), S13-S28. <https://doi.org/10.2337/dc19-S002>
5. Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Paslier, D. L., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., ... Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature, 473*(7346), 174. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
6. Atek, M., OUCHFOUN, A., Laid, Y., AIT MOHAND, A., FOURAR, D., KABRANE, A., MEZIMECHE, N., LEBCIR, H., BOUTEKDJIRET, L., OUFERHAT, H., BOUGHOUFALAH, A., GUETTAI, M., Oudjehane, R., Houti, L., HADJIDJ, C., KHETTACHE, R., & Lebeche, R. (2007). *La transition épidémiologique et le système de santé en Algérie : Enquête Nationale Santé 2005.* <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.1668.4967>
7. Atek, M., Traissac, P., Ati, J. E., Laid, Y., Aounallah-Skhiri, H., Eymard-Duvernay, S., Mézimèche, N., Bougateg, S., Béji, C., Boutekdjiret, L., Martin-Prével, Y., Lebcir, H., Gartner, A., Kolsteren, P., Delpeuch, F., Romdhane, H. B., & Maire, B. (2013). Obesity and Association with Area of Residence, Gender and Socio-Economic Factors in Algerian and Tunisian Adults. *PLoS ONE, 8*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075640>
8. Belaid, H. A.-R. (2021). *Nouvelles approches de la translocation bactérienne digestive dans l'insuffisance rénale chronique terminale : Focus sur les lipopolysaccharides circulants, l'inflammation et le microbiote intestinal* [Phdthesis, Université Bourgogne Franche-Comté]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03667168>

9. Belhadj, M., Arbouche, Z., Brouri, M., Malek, R., Semrouni, M., Zekri, S., Nadir, D., & Abrouk, S. (2019). BAROMÈTRE Algérie : Enquête nationale sur la prise en charge des personnes diabétiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 13(2), 188-194. [https://doi.org/10.1016/S1957-2557\(19\)30055-0](https://doi.org/10.1016/S1957-2557(19)30055-0)
10. Bervoets, L., Van Hoorenbeeck, K., Kortleven, I., Van Noten, C., Hens, N., Vael, C., Goossens, H., Desager, K. N., & Vankerckhoven, V. (2013). Differences in gut microbiota composition between obese and lean children : A cross-sectional study. *Gut Pathogens*, 5(1), 10. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-5-10>
11. BOUHENNI, H. (2019). *Obésité et facteurs de risque cardio-métabolique chez les adolescents scolarisés dans la wilaya de Jijel : Relation entre l'obésité abdominale, l'acide urique et les hormones métaboliques*. Université des Frères Mentouri Constantine 1.
12. Boulé, N. G., Haddad, E., Kenny, G. P., Wells, G. A., & Sigal, R. J. (2001). Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus : A meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA*, 286(10), 1218-1227. <https://doi.org/10.1001/jama.286.10.1218>
13. Cani, P. D., Moens de Hase, E., & Van Hul, M. (2021). Gut Microbiota and Host Metabolism : From Proof of Concept to Therapeutic Intervention. *Microorganisms*, 9(6), 1302. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061302>
14. *Cholestérol et PCSK9*. (2022, septembre 3). <https://www.hypercholesterolemie.fr/cholesterol-et-pcsk9/pcsk9-une-cible-cle>.
15. Clarke, G., Sandhu, K., Griffin, B., Dinan, T., Cryan, J., & Hyland, N. (2019). Gut Reactions : Breaking Down Xenobiotic–Microbiome Interactions. *Pharmacological Reviews*, 71, 198-224. <https://doi.org/10.1124/pr.118.015768>
16. De Luca, F., & Shoenfeld, Y. (2019). The microbiome in autoimmune diseases. *Clinical and Experimental Immunology*, 195(1), 74-85. <https://doi.org/10.1111/cei.13158>
17. DeGruttola, A. K., Low, D., Mizoguchi, A., & Mizoguchi, E. (2016). Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflammatory Bowel Diseases*, 22(5), 1137-1150. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000750>
18. Després, J.-P. (2011). Excess visceral adipose tissue/ectopic fat the missing link in the obesity paradox? *Journal of the American College of Cardiology*, 57(19), 1887-1889. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.10.063>
19. Deurenberg, P., Weststrate, J. A., & Seidell, J. C. (1991). Body mass index as a measure of body fatness : Age- and sex-specific prediction formulas. *The British Journal of Nutrition*, 65(2), 105-114.

20. Diop, S., Sauvain-Dugerdil, C., Diarra, S., & Douptcheva, N. (2014). La montée de l'obésité dans un contexte où la dénutrition n'est pas éradiquée. Application de l'approche des Capabilités sur des données mixtes au Mali. *African Population Studies*, 28(2), 776-796. <https://doi.org/10.11564/28-2-596>
21. Duncan, S. H., Lobley, G. E., Holtrop, G., Ince, J., Johnstone, A. M., Louis, P., & Flint, H. J. (2008). Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *International Journal of Obesity* (2005), 32(11), 1720-1724. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.155>
22. Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5728), 1635-1638. <https://doi.org/10.1126/science.1110591>
23. Er-Razine, R. (2019). *LE ROLE DU MICROBIOTE INTESTINAL ET SON RETENTISSEMENT SUR LA PREVALENCE DES MALADIES METABOLIQUES*. [Thesis]. <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/17909>
24. Fasshauer, M., & Blüher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(7), 461-470. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.014>
25. Faucher, P., & Poitou, C. (2016). Physiopathologie de l'obésité. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 83(1), 6-12. <https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2015.08.002>
26. FID. (2019). *L'Atlas du diabète de la Fédération internationale du diabète* (9ème édition). Federation internationale du diabete,. [https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302\\_133352\\_2406-IDF-ATLAS-FRENCH-BOOK.pdf](https://diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133352_2406-IDF-ATLAS-FRENCH-BOOK.pdf)
27. Fourrier, C., Castanon, N., & Layé, S. (2015). Rôle de l'inflammation dans la dépression associée au diabète. *Nutrition et Endocrinologie*.
28. Gagliardi, A., Totino, V., Cacciotti, F., Iebba, V., Neroni, B., Bonfiglio, G., Trancassini, M., Passariello, C., Pantanella, F., & Schippa, S. (2018). Rebuilding the Gut Microbiota Ecosystem. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(8), 1679. <https://doi.org/10.3390/ijerph15081679>
29. Gérard, C., & Vidal, H. (2019). Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control. *Frontiers in Endocrinology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2019.00029>
30. Goldenberg, R., & Punthakee, Z. (2013). Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. *Canadian Journal of Diabetes*, 37, S369-S372. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2013.07.031>
31. Harsch, I. A., & Konturek, P. C. (2018). The Role of Gut Microbiota in Obesity and Type 2 and Type 1 Diabetes Mellitus : New Insights into « Old » Diseases. *Medical Sciences (Basel, Switzerland)*, 6(2), E32. <https://doi.org/10.3390/medsci6020032>

32. Hooks, K. B., & O'Malley, M. A. (2017). Dysbiosis and Its Discontents. *mBio*, 8(5), e01492-17.  
<https://doi.org/10.1128/mBio.01492-17>
33. Hörber, S., Achenbach, P., Schleicher, E., & Peter, A. (2019). Harmonization of immunoassays for biomarkers in diabetes mellitus. *Biotechnology Advances*, 39.  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.015>
34. Houti, L., Hamani-Medjaoui, I., Hetraf, S., Ouhaibi-Djellouli, H., Goumidi, L., &MedieneBenchechor, S. (2014). Épidémiologie du syndrome métabolique dans la population urbaine en Algérie. Oran, Algérie. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 62, S226-S227. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2014.06.178>
35. Hu, F. B. (2007). Obesity and mortality : Watch your waist, not just your weight. *Archives of Internal Medicine*, 167(9), 875-876. <https://doi.org/10.1001/archinte.167.9.875>
36. Hu, H.-J., Park, S.-G., Jang, H. B., Choi, M.-K., Choi, M.-G., Park, K.-H., Kang, J. H., Park, S. I., Lee, H.-J., & Cho, S.-H. (2015). Obesity Alters the Microbial Community Profile in Korean Adolescents. *PLoS One*, 10(7), e0134333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134333>
37. Islam, M. R., Arthur, S., Haynes, J., Butts, M. R., Nepal, N., &Sundaram, U. (2022). The Role of Gut Microbiota and Metabolites in Obesity-Associated Chronic Gastrointestinal Disorders. *Nutrients*, 14(3), 624. <https://doi.org/10.3390/nu14030624>
38. Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., &Jansson, J. K. (2007). Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME Journal*, 1(1), 56-66.  
<https://doi.org/10.1038/ismej.2007.3>
39. Kasai, C., Sugimoto, K., Moritani, I., Tanaka, J., Oya, Y., Inoue, H., Tameda, M., Shiraki, K., Ito, M., Takei, Y., &Takase, K. (2015). Comparison of the gut microbiota composition between obese and non-obese individuals in a Japanese population, as analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing. *BMC gastroenterology*, 15, 100.  
<https://doi.org/10.1186/s12876-015-0330-2>
40. Kitabchi, A. E., Umpierrez, G. E., Murphy, M. B., &Kreisberg, R. A. (2006). Hyperglycemic Crises in Adult Patients With Diabetes : A consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 29(12), 2739-2748. <https://doi.org/10.2337/dc06-9916>
41. Koliada, A., Syzenko, G., Moseiko, V., Budovska, L., Puchkov, K., Perederiy, V., Gavalko, Y., Dorofeyev, A., Romanenko, M., Tkach, S., Sineok, L., Lushchak, O., &Vaiserman, A. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiology*, 17(1), 120. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1027-1>

42. Kushugulova, A., Forslund, S., Costea, P., Kozhakhmetov, S., Khassenbekova, Z., Urazova, M., Nurgozhin, T., Zhumadilov, Z., Benberin, V., Driessen, M., Hercog, R., Voigt, A., Benes, V., Kandels-Lewis, S., Sunagawa, S., Letunic, I., & Bork, P. (2018). Metagenomic analysis of gut microbial communities from a Central Asian population. *BMJ Open*, 8, e021682. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-021682>
43. Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S., & Gordon, J. I. (2006). Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122), 1022-1023. <https://doi.org/10.1038/4441022a>
44. Li, X., Watanabe, K., & Kimura, I. (2017). Gut Microbiota Dysbiosis Drives and Implies Novel Therapeutic Strategies for Diabetes Mellitus and Related Metabolic Diseases. *Frontiers in Immunology*, 8, 1882. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01882>
45. Luu, H. T. (2018). *Microbiote intestinale, cancer du sein et métabolisme lipidique* [Thèse de doctorat, Université de Nantes]. <http://www.theses.fr/2018NANT1007/document>
46. Lv, Y., Qin, X., Jia, H., Chen, S., Sun, W., & Wang, X. (2019). The association between gut microbiota composition and BMI in Chinese male college students, as analysed by next-generation sequencing. *The British Journal of Nutrition*, 122(9), 986-995. <https://doi.org/10.1017/S0007114519001909>
47. Madan, S., & Mehra, M. R. (2020). Gut dysbiosis and heart failure : Navigating the universe within. *European Journal of Heart Failure*, 22(4), 629-637. <https://doi.org/10.1002/ejhf.1792>
48. McCracken, E., Monaghan, M., & Sreenivasan, S. (2018). Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clinics in Dermatology*, 36(1), 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.09.004>
49. Must, A., & Anderson, S. E. (2006). Body mass index in children and adolescents : Considerations for population-based applications. *International Journal of Obesity (2005)*, 30(4), 590-594. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803300>
50. Nicolas, S. (2016). *Modulation de l'homéostasie glucidique par transfert de microbiote intestinal chez la souris conventionnelle* [Phdthesis, Université Paul Sabatier - Toulouse III]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01589668>
51. *Obésité et surpoids*. (s. d.). Consulté 9 septembre 2022, à l'adresse <https://www.who.int/fr/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>
52. Organisation mondiale de la Santé (OMS). (2016). *Profil des pays pour le diabète, 2016*. <http://www.who.int/diabetes/country-profiles/fr/>. <http://www.who.int/diabetes/country-profiles/fr/>
53. Ortega, M. A., Fraile-Martínez, O., Naya, I., García-Honduvilla, N., Álvarez-Mon, M., Buján, J., Asúnsolo, Á., & de la Torre, B. (2020). Type 2 Diabetes Mellitus Associated with Obesity (Diabesity). The

Central Role of Gut Microbiota and Its Translational Applications. *Nutrients*, 12(9), E2749.

<https://doi.org/10.3390/nu12092749>

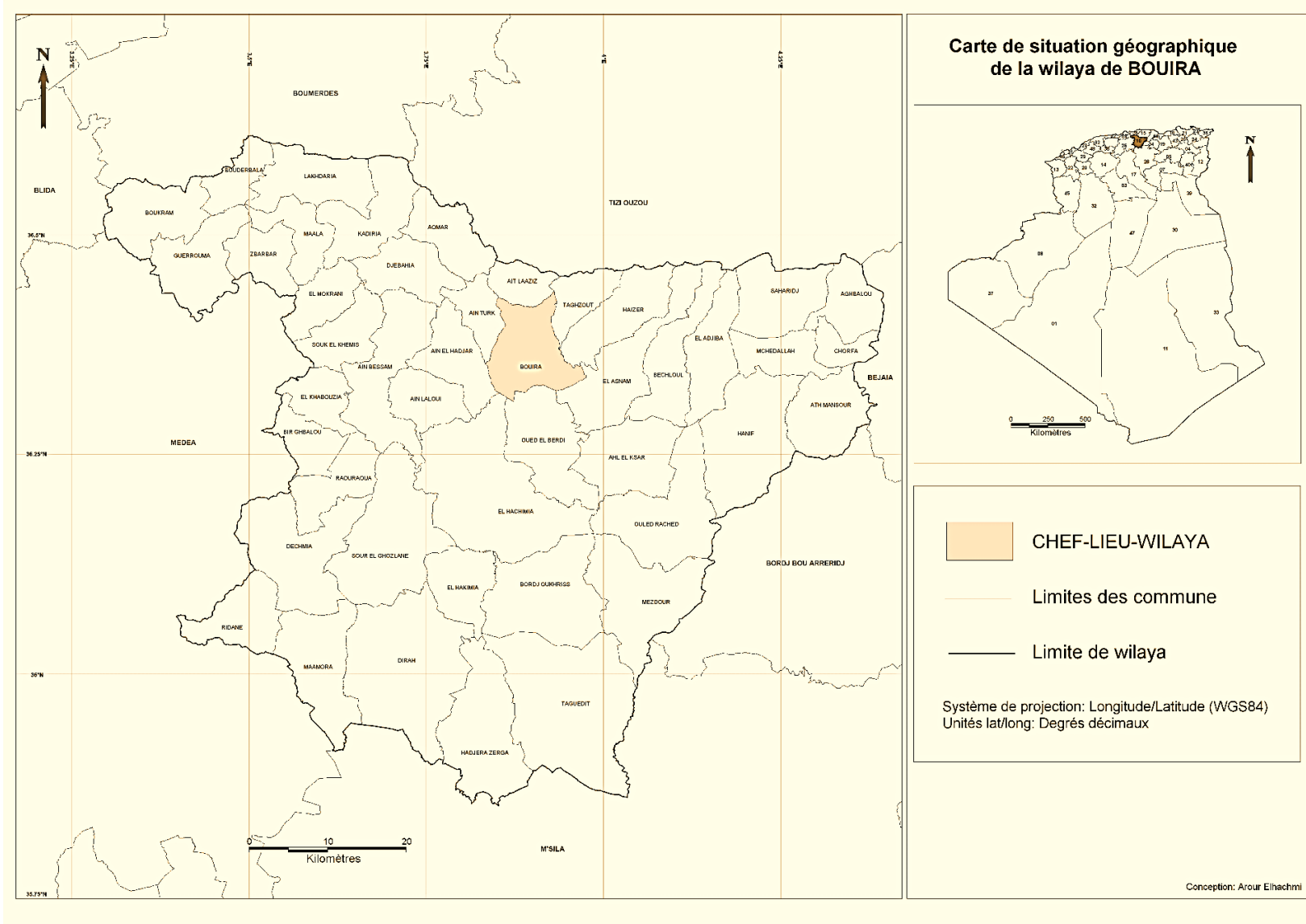
54. Prentki, M., & Nolan, C. J. (2006). Islet  $\beta$  cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1802-1812. <https://doi.org/10.1172/JCI29103>
55. Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F., Yamada, T., Mende, D. R., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., ... Wang, J. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59-65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
56. R, G., C, Z., H, L., M, Y., C, P., L, H., C, K., X, W., Y, Z., S, Q., & H, Q. (2018). Dysbiosis Signatures of Gut Microbiota Along the Sequence from Healthy, Young Patients to Those with Overweight and Obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 26(2). <https://doi.org/10.1002/oby.22088>
57. Rabot, S. (2015). Axe intestin-cerveau : Comment le microbiote intestinal influence la réponse au stress. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 168(3), 267-273. <https://doi.org/10.4267/2042/57938>
58. Raharinalona, S. A., Razanamparany, T., Raheison, R. E., & Rakotomalala, A. D. P. (2020). Prévalences du syndrome métabolique et des facteurs de risque cardiovasculaire chez les diabétiques de type 2 vus au service d'endocrinologie, Antananarivo. *The Pan African Medical Journal*, 36, 67. <https://doi.org/10.11604/pamj.2020.36.67.15845>
59. Ranasinghe, P., Mathangasinghe, Y., Jayawardena, R., Hills, A. P., & Misra, A. (2017). Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the asia-pacific region : A systematic review. *BMC Public Health*, 17(1), 101. <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4041-1>
60. Rashid, M.-U., Zaura, E., Buijs, M. J., Keijser, B. J. F., Crielaard, W., Nord, C. E., & Weintraub, A. (2015). Determining the Long-term Effect of Antibiotic Administration on the Human Normal Intestinal Microbiota Using Culture and Pyrosequencing Methods. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 60 Suppl 2, S77-84. <https://doi.org/10.1093/cid/civ137>
61. Saleem, S. (2018). *MODIFIED KUPPUSWAMY SCALE UPDATED FOR YEAR 2018*.
62. Schlienger, J.-L. (2013). Complications du diabète de type 2. *La Presse Médicale*, 42(5), 839-848. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2013.02.313>
63. Schwartz, A., Taras, D., Schäfer, K., Beijer, S., Bos, N. A., Donus, C., & Hardt, P. D. (2010). Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 18(1), 190-195. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.167>

64. Sharda, M., Jain, P., Gupta, A., Nagar, D., &Soni, A. (2015). Correlation and Comparison of Various Anthropometric Measurements of Body Fat Distribution and Sagittal Abdominal Diameter as a Screening Tool for Cardio Metabolic Risk Factors and Ischaemic Heart Disease in Elderly Population. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 63(1), 22-26.
65. Sohail, M. U., Elrayess, M. A., Al Thani, A. A., Al-Asmakh, M., &Yassine, H. M. (2019). Profiling the Oral Microbiome and Plasma Biochemistry of Obese Hyperglycemic Subjects in Qatar. *Microorganisms*, 7(12), 645. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7120645>
66. Srikanthan, K., Feyh, A., Visweshwar, H., Shapiro, J. I., &Sodhi, K. (2016). Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers : A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *International Journal of Medical Sciences*, 13(1), 25-38. <https://doi.org/10.7150/ijms.13800>
67. Stojanov, S., Berlec, A., &Štrukelj, B. (2020). The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease. *Microorganisms*, 8(11), 1715. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>
68. Talukdar, D., Seenivasan, S., Cameron, A., & Sacks, G. (2020). The association between national income and adult obesity prevalence : Empirical insights into temporal patterns and moderators of the association using 40 years of data across 147 countries. *PLOS ONE*, 15, e0232236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232236>
69. Tenenbaum, M., Bonnefond, A., Froguel, P., &Abderrahmani, A. (2018). Physiopathologie du diabète. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(502), 26-32. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(18\)30145-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(18)30145-X)
70. The Organisation for Economic Co-operation and Development. (2017). *Obesity Update 2017*. OECD Health Statistics. <https://www.oecd.org/health/health-systems/Obesity-Update-2017.pdf>
71. Tuomi, T., Santoro, N., Caprio, S., Cai, M., Weng, J., &Groop, L. (2014). The many faces of diabetes : A disease with increasing heterogeneity. *Lancet (London, England)*, 383(9922), 1084-1094. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62219-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62219-9)
72. Vezza, T., Abad Jiménez, Z., Marti-Cabrera, M., Rocha, M., & Victor, V. (2020). Microbiota-Mitochondria Inter-Talk : A Potential Therapeutic Strategy in Obesity and Type 2 Diabetes. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9. <https://doi.org/10.3390/antiox9090848>
73. Wang, F., & Roy, S. (2017). Gut Homeostasis, Microbial Dysbiosis, and Opioids. *Toxicologic Pathology*, 45(1), 150-156. <https://doi.org/10.1177/0192623316679898>
74. World Health Organization, (WHO). (2004). *Obesity : Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series 894)* (p. 252).

75. Xu, P., Li, M., Zhang, J., & Zhang, T. (2012). Correlation of intestinal microbiota with overweight and obesity in Kazakh school children. *BMC Microbiology*, *12*(1), 283. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-283>
76. Yahia Berrouguet, A., & Brouri, M. (2013). Prévalence et caractéristiques du syndrome métabolique à Tlemcen : Étude en population. *Diabetes & Metabolism*, *39*, A111. [https://doi.org/10.1016/S1262-3636\(13\)72098-6](https://doi.org/10.1016/S1262-3636(13)72098-6)
77. Yang, Q., Liang, Q., Balakrishnan, B., Belobrajdic, D. P., Feng, Q.-J., & Zhang, W. (2020). Role of Dietary Nutrients in the Modulation of Gut Microbiota : A Narrative Review. *Nutrients*, *12*(2), 381. <https://doi.org/10.3390/nu12020381>

# **Annexes**

**Annexe. A:**



**Annexe. B: Composition des solutions utilisée**

Solution	Composition	Mesures
200 mL de Violet de Gentiane	Cristal violet	2 g
	Phénol	4 g
	Ethanol (90°GL)	20 mL
	Eau distillée	200 mL
100 mL de Lugol 5% (solution iodo-iodurée)	Iode métalloïdique	05 g
	Iodure de potassium	10 g
	Eau distillée	100 mL
200 mL de Fuchsine	Fuchsine basique	2 g
	Phénol	10 g
	Ethanol	20 mL
	Eau distillée	200 mL
Aceto-ethanol		200 mL
Eau physiologique 0,9 %	Eau distillée	1000 mL
	NaCl	09 g
Eau oxygénée 20°		50 mL

**Annexe. C : Composition des milieux gélosés de dénombrement****1- Milieux gélosés pour 1000 mL de l'eau distillée**

Gélose	Incubation	Comptage	Composants	Mesures
<b>PCA (Plate Count Agar)</b>	48-72 h à 37°C	10-300 colonies.	Peptone de caséine	5 g
			Extrait de levure	2,50 g
			Glucose	1 g
			Agar	15 g
			pH	7,0 ± 0,2
<b>OGA (Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar)</b>	48-72 h à 37°C	10 - 100 colonies.	Extrait de levure	5 g
			Glucose	20 g
			Oxytétracyclique	0,1 g
<b>MRS (Man, Rogosa et Sharpe)</b>	48-72 h à 37°C	< 300 colonies	Peptone	10 g
			Extraits de viande	10 g
			Extrait de levure	5 g
			Glucose	20 g
			Tween 80 (sorbitannemonoléate)	01 g
			Hydrogéo-orthophosphatedipotassique	02 g
			Acétate de sodium, trihydraté	02 g
			Citrated'ammoniaque	02 g
			Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
			Sulfate de manganèse tétrahydraté	0,05 g
			Agar-agar	15 g
			pH	6,5
<b>VRBG (Violet-Red-Bile-Glucose)</b>	24 h ± 2 h à 37°C	15 -150 colonies.	Peptone	7 g
			Extrait de levure	3 g
			Chlorure de sodium	5 g
			Sels biliaires	1,5 g
			Glucose	10 g
			Rouge neutre	30 mg
			Cristal violet	2 mg
			Agar	12 g
			pH	7,4 ± 0,2

**2- Milieux liquides pour 1000 mL de l'eau distillée**

Bouillon	Incubation	Composants	Mesures
<b>Rothe</b>		Extrait de viande de bœuf	4,5 g
		Tryptone	15 g
		Glucose	7,5 g
		Chlorure de sodium	7,5 g
		Azoture de sodium	0,2 g
<b>Eva-litsky</b>		Peptone	20 g
		Glucose	5 g
		chlorure de soduim	5 g
		phosphate monopotassique	2,7 g
		azoture de soduim	0,3 g
		éthyle-violet	0,4 mg

**Annexe. D:** Composition des milieux d'isolement

Milieu	Incubation	Composants	Mesures
<b>Gélose nutritive</b>		Peptone	5
		Extraits de viande	1
		Extraits de levure	2
		Chlorure de sodium	5
		Agar	15
		Eau distillée	1000 mL
		pH	7 ± 4 0,2
<b>MacConkey</b>		Peptone de caséine	17 g
		Peptone de viande	3 g
		Sels biliaires	1,5 g
		Cristal violet	0,001 g
		Lactose	10 g
		Rouge neutre	0,03 g
		NaCl	5 g
		Agar	13,5 g
		pH	7,1 g
		Extrait de levure	3 g
		Chlorure de sodium	5 g
		Sels biliaires	1,5 g
		Glucose	10 g
		Rouge neutre	30 mg
		Cristal violet	2 mg
		Agar	12 g
		Eau distillée	1000 mL
pH	7,4 ± 0,2		

**Annexe. E : Formulaire de consentement du participant**

Je certifie avoir pris connaissance de toutes les questions ci-dessus et que les réponses données ont été fidèlement reproduites. De plus, je consens à ce qu'elles servent de base à une étude sur les facteurs déclenchant le diabète et l'obésité.

Date 

....	....	2022
------	------	------

 N° de la carte nationale ..... Signature de la personne .

(Le consentement est établi en deux exemplaires dont un exemplaire à remettre à l'intéressé(e)).

A lire attentivement avant de le signer. Ne pas hésiter à poser des questions si certains aspects semblent peu clairs ou si des précisions supplémentaires semblent nécessaires.

Intitulé du projet de Master:.....

Code de participant (e) :..... Date de naissance : ..... : Sexe :.....

**Lieu et date : .....**

**Signature du patient/de la patiente**

## Résumé

L'objectif de cette pré-étude est de préparer à réaliser une étude sur l'implication de microbiote intestinal sur le développement des maladies métaboliques. La présente pré-étude est une pré-enquête épidémiologique, qui inclut une pré-étude microbiologique, est réalisée sur 63 adultes âgés de 18 à 65 ans résidant dans la commune de Bouira dont cinq cas sont recrutés pour prélever des échantillons de la matière fécale qui sont ensemencés sur plusieurs milieux de culture afin d'effectuer le comptage des cellules bactériennes. Cette pré-étude montre que les personnes obèses ou diabétiques obèses ont des troubles intestinaux indiquant la présence d'une dysbiote intestinale. Elle indique également que le diabète de type 2 est associé fortement avec l'obésité ; la fréquence du diabète dans la population étudiée est de plus de 13% et celle de l'obésité est de plus de 31%. En conclusion, la réalisation d'une étude sur les diabétiques obèses ayant un dysfonctionnement de la flore intestinale est nécessaire pour comprendre les mécanismes impliquant dans l'installation des troubles métaboliques.

**Mots-clés :** Dysbiose, Obésité, Diabète de type 2, maladies métaboliques.

## Abstract

The objective of this pre-study is to prepare to carry out a study on the implication of intestinal microbiota on the development of metabolic diseases. This pre-study is an epidemiological pre-survey, which includes a microbiological pre-study, is carried out on 63 adults aged 18 to 65 years residing in the commune of Bouira whose five cases are recruited to take samples of fecal matter that are seeded on several culture media to perform the count of bacterial cells.

This pre-study shows that obese or obese diabetic people have intestinal disorders indicative of the presence of intestinal dysbiota. It also indicates that type 2 diabetes is strongly associated with obesity; the frequency of diabetes in the study population is more than 13% and that of obesity is more than 31%. In conclusion, The realization of a study on obese diabetics with a dysfunction of the intestinal flora is necessary to understand the mechanisms involved in the installation of metabolic disorders.

**Keywords:** Dysbiosis, Obesity, Type 2 diabetes, metabolic diseases.

## ملخص

الغرض من هذه الدراسة التمهيدية هو إعداد دراسة عن مشاركة الميكروبات معوية في تطور الأمراض الأيضية وهذه الدراسة التمهيدية هي دراسة استقصائية أولية وبائية، وتشمل هذه الدراسة ما قبل الدراسة الميكروبيولوجية، التي تجرى على 63 بالغاً تتراوح أعمارهم بين 18 و 65 عاماً يقعون في بويرة، منها خمس حالات يتم فيها تعيين عينات من المادة البرازية التي يتم تصفيها على عدة وسائط زراعية من أجل تنفيذ فرز الخلايا البكتيرية. تظهر هذه الدراسة التمهيدية أن الأشخاص الذين يعانون من السمنة المفرطة أو مرضى السكر يعانون من اضطرابات معوية تشير إلى وجود خلل في الأمعاء . كما يشير إلى أن مرض السكري من النوع 2 يرتبط ارتباطاً وثيقاً بالسمنة ؛ ويزيد معدل الإصابة بالسكري في دراسة السكان أكثر من 13 %.

والسمنة أكثر من 31 ٪ في الختام، من الضروري إجراء دراسة على مرضى السكر الذين يعانون من اختلال في الفلورا المعوية لفهم الآليات التي تنطوي على تركيب اضطرابات الأيض

**الكلمات المفتاحية:** ديسبيوسيس، السمنة، مرض السكري من النوع 2، الأمراض الأيضي