



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université 1 Mentouri Constantine
faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة 1 منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

Effet des contaminants chimiques alimentaires sur le microbiote intestinal humain

Rédigé par : *LAIB Maroua*

SOUALMIA Manele

HAMADA Oumaima

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : *Mme. Bouloufat Linda* (MCB- UFM Constantine 1)

Rapporteur : *Mme. ARABET Dallel* (MCA - UFM Constantine 1).

Examinatrice : *Mlle. Bouchloukh Warda* (MCB- UFM Constantine 1)

Année universitaire

2020 - 2021

Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme. ARABET Dallel (MCA - UFM Constantine 1), on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail Mme. Boultifat Linda (MCB- UFM Constantine 1) pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury d'examen, Mlle. Bouchloukh Warda (MCB- UFM Constantine 1) pour l'honneur qu'elle nous a accordé en examinant ce modeste travail.

Nous exprimons également notre gratitude à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire

Un grand merci à nos parents pour leur soutien, leurs encouragements et leur patience durant ces années d'études

Enfin, merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

À ma très chère mère, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

À mon très chère père, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et ses sacrifices afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

À mon grand-père Mohamed, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.

À mes chers frères : Mohamed et Cheaib.

À mon fiancé, qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

À mes meilleures cousines : Rayan et Lina.

À mes meilleurs amis sans exception.

Enfin, je remercie mon binôme : Oumaima et Manel.

Maroua

Dédicaces

*Je dédie le fruit de ce modeste travail avec amour et
sincérité*

*À ma mère, pour son amour, ses encouragements et ses
sacrifices pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*À mon père, pour son soutien, son affection et la confiance
qu'il m'a accordé*

*À ma grand-mère Qui n'a jamais cessé de formuler des
prières à mon égard*

*À ma chère sœur Warda, Meriem et son mari, à mes frères
amis, Samy et sa femme Pour leur soutien moral tout au
long de mes études.*

*À ma chère minette Qui m'a aidé a supporté les moments
difficiles.*

Sans oublier mon binôme Maroua et Manel

À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Oumaima

Dédicace

*Tout d'abord je remercie Dieu de m'avoir donné la santé et la
volonté de commencer et de terminer ce mémoire*

*Je tiens à remercier ma famille, ma mère, mon père et mon
frère Manef Islem qui ont œuvré pour ma réussite, de par
leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et leur
précieux conseils*

*Je remercie également mes amies Aya et Fifi, qui ont
toujours été là pour moi.*

*Enfin, je remercie toute personne qui occupe une place dans
mon coeur.*

Housna Manel

Résumé

La population humaine est exposée à de très nombreux contaminants chimiques environnementaux et alimentaires (métaux lourds, pesticides, polluants organiques persistants, additifs alimentaires et produits néoformés...). Ces expositions pourraient perturber le microbiote intestinal. Le rôle majeur de ce dernier est de maintenir l'homéostasie du tractus gastro-intestinal, et plus généralement celle de son hôte. À ce titre, de nombreuses pathologies humaines sont associées à une dysbiose de ce microbiote intestinal, tels que les cancers colorectaux, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les troubles du métabolisme ou encore les maladies auto-immunes. Ces pathologies ont une étiologie mal connue et multifactorielle dans laquelle l'environnement semble jouer un rôle clé. Parmi les différentes substances polluantes répertoriées dans ce travail, l'objectif est d'étudier les conséquences d'exposition du microbiote intestinal humain à différents types de contaminants chimiques d'origine alimentaire : les pesticides, les dioxine (TCDD), les antibiotiques et une amine aromatique hétérocyclique (PhIP)

Mots clés : contaminant chimique alimentaire, microbiote intestinal, dysbiose, pathologies humaines.

Abstract

The human population is exposed to a large number of environmental and dietary chemical contaminants (heavy metals, pesticides, persistent organic pollutants, food additives and neoformed products, ...etc.). These exposures could disrupt the intestinal microbiota, which plays a major role in maintaining the homeostasis of the gastrointestinal tract and, more generally, that of its host. many human pathologies are associated with a dysbiosis of this intestinal microbiota, such as colorectal cancers, chronic inflammatory bowel diseases (IBD), metabolic disorders or auto-immune diseases. The aetiology of these diseases is poorly understood and multifactorial, in which the environment seems to play a key role. Among the different pollutants listed in this work, the objective is to study the consequences of exposure of the human intestinal microbiota to different types of chemical contaminants of food origin: pesticides, dioxins (TCDD), antibiotics and a heterocyclic aromatic amine (PhIP)

Key words: food chemical contaminant, gut microbiota, dysbiosis, human pathologies.

ملخص

يتعرض البشر للعديد من الملوثات الكيميائية البيئية والغذائية (المعادن الثقيلة، المبيدات الحشرية، الملوثات العضوية الثابتة، المواد المضافة إلى الأغذية، المنتجات الجديدة، وما إلى ذلك). هذه الملوثات يمكن أن تعطل عمل البكتيريا المعوية ; التي يكمن دورها الرئيسي في الحفاظ على توازن الجهاز الهضمي، وبشكل عام على صحة المضيف. على هذا النحو، ترتبط العديد من الأمراض البشرية مع خلل التنسج في هذه الميكروبات المعوية، مثل سرطان القولون والمستقيم، وأمراض الأمعاء الالتهابية واضطرابات التمثيل الغذائي أو أمراض المناعة الذاتية. هذه الأمراض لها مسببات غير معروفة بالضبط ومتعددة العوامل حيث يبدو أن البيئة تلعب دورا رئيسيا. ومن بين مختلف المواد الملوثة المدرجة في هذا العمل، الهدف دراسة عواقب تعرض الكائنات الحية المجهرية المعوية البشرية لأنواع مختلفة من الملوثات الكيميائية المنقولة بالأغذية: المبيدات الديوكسينات والمضادات الحيوية والأمين العطري غير المتفاعل

الكلمات المفتاحية: الملوثات الكيميائية الغذائية، الميكروبات المعوية، خلل التنسج، الأمراض البشرية

Liste des abréviations

A

AA : Acides aminés.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AGCC : Acide gras à courte chaîne.

AH : Amines hétérocycliques.

AhR : Hydrocarbures aromatiques.

ALC : Acides linoléiques conjugués.

Apc : Adenomatous polyposis coli.

ARNr 16S : Acide Ribonucléique ribosomale 16 Svedberg.

B

BDNF : *Brain-Derived Neurotrophic Factor*.

C

CCR : Cancer colorectal.

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer.

D

DIMEIQX : 2-amino-3,4,8-triméthylimidazo (4,5-f) quinoxaline.

G

GABA : Acide gamma-aminobutyrique.

GC-MS : Spectrométrie de masse à phase gazeuse.

I

Ig : Immunoglobuline.

IgAs : Immunoglobuline A sécrétoire.

IMC : Indice de masse corporelle.

L

LED : Lupus érythémateux disséminé.

LPL : Lipoprotéine lipase.

M

MC : Maladie de Crohn.

MelQx : 2- amino-3,8-diméthylimidazo (4,5-f) quinoxaline.

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'intestin.

MMR : *Mis Match Repair*.

O

OMS : Organisation mondiale de la santé.

P

PAF : Polypose Adénomateuse Familiale.

PCB : Polychlorobiphényle.

PCDD : Polychloré dibenzo-p-dioxine.

PCDF : Polychloré dibenzofurane.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

PhIP : 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo (4,5-b) pyridine.

POP : Polluants organiques persistants.

PVC : Chlorures de polyvinyle.

R

RCH : Rectocolite hémorragique.

S

SI : Système immunitaire.

SII : Syndrome de l'Intestin Irritable.

SNC : Système nerveux central.

SPME : Micro extraction en phase solide.

T

TCDD : Tétrachlorodibenzo-para-dioxine.

TEQ : Quantité équivalente toxique.

TMA : Triméthylamine.

TMAO : Triméthylamine -N- oxyde.

TSA : Troubles du spectre de l'autisme.

Tableau des figures		
Figure 01	Transfert des dioxines dans la chaîne alimentaire	Page 04
Figure 02	Pyramide trophique représentant une chaîne alimentaire : les taux de contamination par les PCDD/PCDF s'accumulent d'un niveau à l'autre	Page 05
Figure 03	Résumé des possibles modes d'exposition de l'environnement et de l'homme aux pesticides	Page 07
Figure 04	Schéma des notions de bioaccessibilité et biodisponibilité en cas d'ingestion d'une matrice contaminée	Page 10
Figure 05	Composition et densité du microbiote intestinal	Page 11
Figure 06	Colonisation du microbiote intestinal chez l'enfant	Page 13
Figure 07	Facteurs majeurs influençant la composition de microbiote	Page 14
Figure 08	Fonctions physiologiques du microbiote intestinal	Page 16
Figure 09	Groupes phylogénétiques et fonctionnels des bactéries intestinales impliquées dans le métabolisme des acides gras à courte chaîne (AGCC)	Page 17
Figure 10	Organisation de la barrière et du système immunitaire intestinal	Page 19
Figure 11	L'axe bidirectionnel cerveau-intestin-microbiote. Voies neuronales, immunologiques, endocrines et métaboliques par lesquelles le microbiote influence le cerveau, et la composante du cerveau au microbiote de cet axe	Page 21
Figure 12	Facteurs favorisant la dysbiose	Page 22
Figure 13	Représentation schématique de la physiopathologie des MICI	Page 24
Figure 14	Incidence des MICI dans le monde	Page 25
Figure 15	Mécanismes physiopathologiques impliqués dans les MICI	Page 28

Figure 16	Modèle multifactoriel de la physio- pathologie du syndrome de l'intestin irritable (SII)	Page 28
Figure 17	Incidence et mortalité du cancer colorectal selon l'appartenance géographique Taux estimé pour 100 000	Page 30
Figure 18	Métabolisme bactérien des phospholipides alimentaires et athérosclérose	Page 34
Figure 19	Impact des polluants environnementaux sur le microbiote intestinal et conséquences sur l'hôte	Page 37
Figure 20	Cellule bactérienne et modes d'action des antibiotiques	Page 40
Figure 21	Exemple de cibles des pesticides conduisant à des perturbations métaboliques au niveau de l'organisme	Page 41

Tableau des tableaux		
Tableau 01	Phyla et quelques genres microbiens dominants dans le tube digestif	Page 12
Tableau 02	Principaux mécanismes de l'axe bidirectionnel cerveau-intestin-microbiote	Page 21

Table des matières

Résumé.....	I
Abstract.....	II
ملخص.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	VI
Liste des tableaux.....	VIII
Introduction.....	1

Chapitre 1 : les contaminants chimiques

1 Définition.....	3
2 Les contaminants chimiques dans les aliments.....	3
2.1 Principales familles des contaminants chimiques	3
2.1.1 Dioxines	3
2.1.2 Pesticides.....	6
2.1.3 Les antibiotiques	7
2.1.4 Les amines hétérocycliques.....	8
3 Notion de bioaccessibilité et biodisponibilité.....	9

Chapitre 2 : le microbiote intestinal humain

1 Définition.....	11
2 Composition du microbiote intestinal humain.....	12
2.1 Phyla bactériens et répartition topographique	12
2.2 Noyau phylogénétique et entérotypes.....	13
3 Variation de la flore au cours du temps	13
3.1 De la naissance à l'équilibre	13
3.2 Facteur influençant l'installation du microbiote.....	14
3.2.1 Le mode d'accouchement.....	14
3.2.2 L'alimentation	15
3.2.3 Les antibiotiques	15
4 Fonctions du microbiote intestinal	15
4.1 Fonctions physiologiques	15

4.2	Fonctions métaboliques	17
4.2.1	Métabolisme nutritionnel	17
4.3	Fonctions de barrière intestinale.....	18
4.4	Fonctions de modulation du système immunitaire	19
5	La dysbiose	22
5.1	Les facteurs qui la favorisent.....	22

Chapitre 3 : Dysbiose et pathologies liées au microbiote

1	Les pathologies digestives	24
1.1	les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin MICIs.....	24
1.1.1	Généralités.....	24
1.1.2	Epidémiologie des MICIs.....	24
1.1.3	Physiopathologie des MICI.....	25
1.2	Le Syndrome de l'Intestin Irritable (SII).....	26
1.2.1	Généralité	26
1.2.2	Epidémiologie des SII	26
1.2.3	Physiopathologie des SII.....	27
1.3	Le cancer colorectal (CCR)	27
1.3.1	Généralité	29
1.3.2	Épidémiologie des CCR	29
1.3.3	Physiopathologie des CCR	29
	1.3.3.1 Polypose Adénomateuse Familiale (PAF).....	30
	1.3.3.2 Le syndrome de Lynch.....	31
2	Pathologies extra-digestives	31
2.1	Les maladies auto-immunes	31
2.1.1	Le lupus érythémateux disséminé	31
2.2	Les maladies métaboliques	32
2.2.1	L'obésité.....	32
2.3	Les maladies cardiovasculaires	33
2.3.1	L'athérosclérose.....	33
2.4	Les troubles neurologiques	35
2.4.1	L'autisme	35
3	Relation de polluant-microbiote et pathologie humaine.....	36

Chapitre 4 : Récapitulation de l'effet toxique des différents contaminants alimentaire

1	L'effet de l'exposition humaine aux dioxines et leur relation à l'endocrinologie microbienne.....	38
2	L'effet des antibiotiques sur la composition du microbiote intestinal.....	39
3	L'effet des pesticides sur la fonctionnalité du microbiote intestinal.....	40
4	L'effet des amines hétérocycliques.....	41
	Conclusion.....	43
	Référence bibliographiques.....	44



Introduction

De tout temps, les populations humaines ont, semble-t-il, été exposées à la présence de contaminants chimiques toxiques. Des taux de mercure particulièrement élevés ont été révélés dans du poisson consommé par les chasseurs-cueilleurs de l'âge de pierre, il y a plus de 6500 ans (Murray *et al.*, 2015). Une autre étude sur cette même période montre des taux de cadmium et de plomb respectivement 20 fois et 4 fois supérieurs aux taux autorisés actuellement par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA : *European Food Safety Authority*) dans des restes alimentaires archéologiques en Norvège (Blankholm *et al.*, 2020). De nos temps actuels, le développement de nos sociétés a conduit à une production de plus en plus importante de molécules chimiques potentiellement toxiques, déversées accidentellement ou non dans l'environnement (Marre *et al.*, 2000).

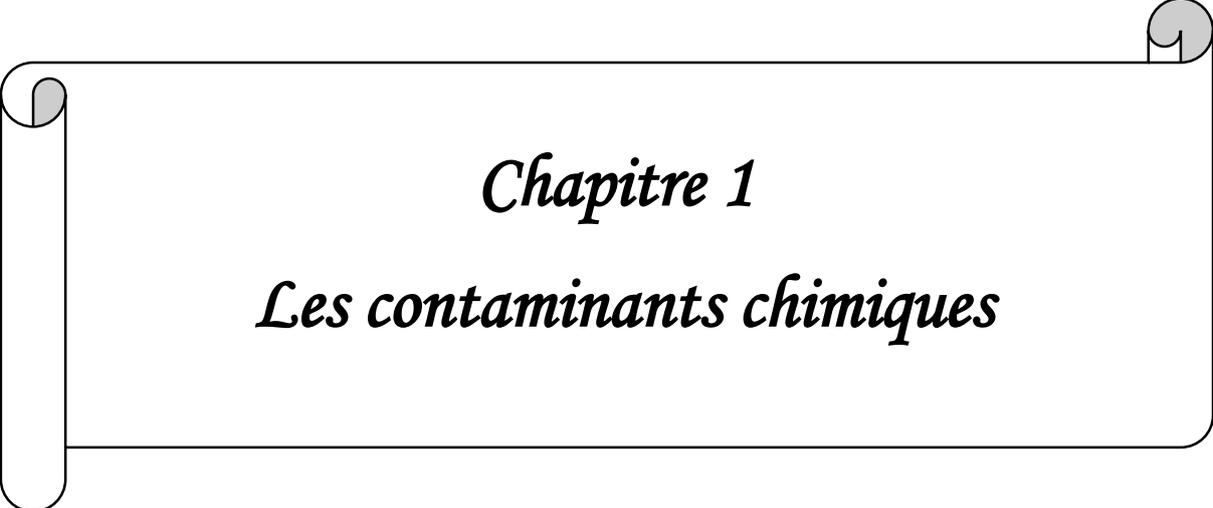
Depuis les années 30, un lien entre la pollution atmosphérique et les pathologies respiratoires a été établi mais ce n'est qu'au début des années 50, que les premiers rapports scientifiques sur la contamination chimique des aliments sont apparus. L'exposition humaine aux contaminants alimentaires est alors devenue un problème majeur de santé publique. Malgré l'interdiction de la production de certains composés avérés toxiques pour l'homme, leur persistance dans l'environnement (eau, sol, air) conduit à une accumulation de ces molécules dans la chaîne alimentaire. Le lien entre notre alimentation et l'apparition de certaines pathologies apparaît de plus en plus évident. Un des principaux facteurs explicatifs serait une exposition répétée à de faibles doses de contaminants toxiques ; qu'il s'agisse, soit de micropolluants présents dans l'environnement et accumulés par les végétaux ou les animaux au cours de leur production puis retrouvés dans les produits alimentaires dérivés, soit de composés néoformés lors des procédés de transformation des aliments. La toxicité de nombreux contaminants alimentaires sur les cellules et les organes de l'homme est aujourd'hui de mieux en mieux documentée. En revanche, l'influence de ces composés sur le microbiote intestinal humain est un domaine de recherche récent en pleine expansion. Longtemps ignorés, ces micro-organismes jouent de nombreux rôles pour le bien-être et la santé de l'homme. Leur activité peut amplifier ou à l'inverse diminuer l'effet toxique des contaminants alimentaires. Leurs perturbations par ces composés pourraient aussi participer au développement de nombreuses pathologies (Marre *et al.*, 2000).

Étant donné que l'exposition aux produits chimiques d'origine alimentaire se fait principalement via l'alimentation, le tractus gastro intestinal (TGI) et le microbiote intestinal sont perpétuellement exposés à ces composés. Le microbiote intestinal joue un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie du

TGI, en réalisant des fonctions métaboliques, immunologiques et structurales, essentielles à la physiologie de son hôte (*Marre et al.*, 2000).

Ce travail s'intéresse à cette communauté aussi particulière que complexe qu'est la microflore intestinale. On se focalise particulièrement sur l'effet de son déséquilibre (dysbiose) sur la qualité de la vie de l'homme mais aussi au rôle que jouent les différents toxiques alimentaires dans ce déséquilibre et à la réponse du microbiote intestinal à ces perturbations.

Dans cette optique, le manuscrit s'articule sur quatre chapitres. Le premier tourne autour des toxiques alimentaires. Le deuxième détaille la composition du microbiote intestinal. Le troisième explique le phénomène de la dysbiose et enfin, le quatrième résume l'effet des toxiques sur le microbiote intestinal et la réponse de celui-ci aux changements de son environnement. Le manuscrit se termine par une conclusion générale et des références bibliographiques.



Chapitre 1

Les contaminants chimiques

1 Définition

Les contaminants chimiques sont définis par Santé Canada comme « [...] toute substance chimique n'étant pas intentionnellement ajoutée aux aliments [...] » (Santé Canada, 2008a).

Ces contaminants peuvent provenir de l'environnement et entrer dans la chaîne alimentaire ou provenir d'une contamination accidentelle (lors du transport par exemple). Ils peuvent également se former lors de la transformation alimentaire, ou encore se former naturellement dans une denrée (toxines) ([http : //www.inspq.qc.ca](http://www.inspq.qc.ca)).

2 Les contaminants chimiques dans les aliments

Nos aliments proviennent de notre environnement immédiat, mais aussi, de plus en plus, de pays divers. Nous exigeons que nos aliments soient sans danger pour notre santé. Cependant, il arrive que ces aliments soient contaminés en cours de production, de transformation, de transport et de manipulation par des substances potentiellement dangereuses pour la santé. Notre environnement est contaminé par des agents chimiques, physiques et biologiques qui risquent de porter atteinte à notre santé. Les aliments constituent probablement la partie de l'environnement humain la plus complexe au point de vue chimique et la plus susceptible d'être contaminée par des substances d'origine naturelle ou par des produits organiques et inorganiques, d'origine tant environnementale qu'industrielle. Cette contamination de l'alimentation peut se faire de façon accidentelle ou, s'il s'agit de produits liés à une technologie alimentaire particulière, de façon volontaire et, en principe, sécuritaire. Divers contaminants peuvent donc être captés par la chaîne alimentaire et ainsi être transférés à l'être humain par voie digestive (Panisset *et al.*, 2003).

2.1 Principales familles des contaminants chimiques

2.1.1 Dioxines

Les dioxines sont des composés organiques chlorés. Ce sont des sous-produits indésirables dans un grand nombre de processus thermiques impliquant du chlore, du carbone et de l'oxygène (Tuomisto *et al.*, 2011). Dans les années 60, leur émission était principalement liée aux activités industrielles impliquant la synthèse de dérivés chlorés (pesticides, PCBs et chlorures de polyvinyle (PVCs)) (EFSA, 2015).

De nos jours, les principales sources d'émission de dioxines résultent des activités d'incinération des déchets ménagers et hospitaliers, de la métallurgie et des procédés de fabrication de la pâte à papier (Buekens *et al.*, 2001 ; EFSA, 2012b ; Tuomisto *et al.*, 2011).

Les dioxines regroupent 75 polychlorés dibenzo-p-dioxines (PCDDs) et 135 congénères polychlorés dibenzofuranes (PCDFs) qui peuvent également être synthétisés à partir de processus biologiques et de réactions photochimiques tout à fait naturels (EFSA, 2015).

Cependant, 17 d'entre eux sont considérés comme ayant de potentiels effets néfastes pour l'homme et les animaux, la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-para-dioxine (TCDD) étant la plus toxique (Defois, 2017).

Plus de 90% de l'exposition de l'homme aux dioxines proviennent de l'alimentation. Les aliments les plus contaminés étant la viande, les produits laitiers, les poissons et les crustacés (Schwarz *et al.*, 2014 ; WHO, 1998).

Les transferts des PCDD/PCDF à partir d'une source industrielle atmosphérique comme un incinérateur sont schématisés dans la Figure 01 (Alexander *et al.*, 2000).

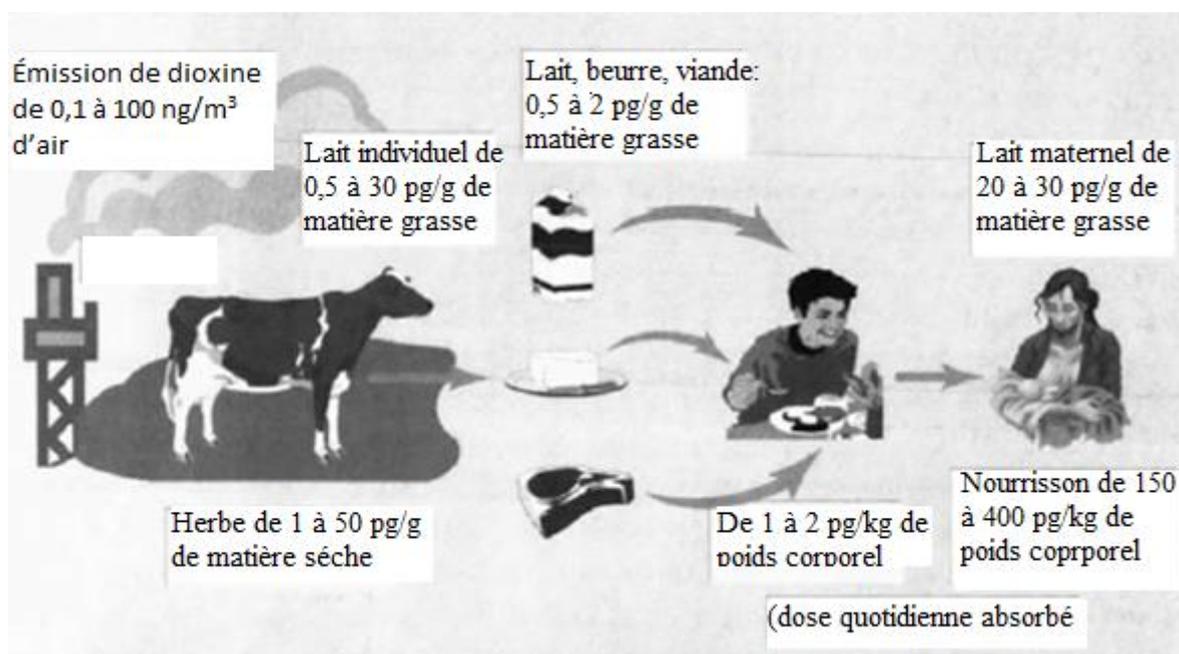


Figure 01 : Transfert des dioxines dans la chaîne alimentaire (valeurs moyennes exprimées en TEQ : quantité équivalente toxique) (d'après le Point Vétérinaire, 1998, reproduit avec l'autorisation des Editions du Point Vétérinaire).

Le comportement des dioxines dans les chaînes alimentaires joue un rôle majeur dans l'étude de l'exposition de l'homme et des animaux à ces contaminants. Ces chaînes peuvent être représentées sous forme d'une pyramide dite trophique (Figure 02) : d'un niveau à l'autre, la biomasse de chaque compartiment de la pyramide diminue fortement du fait des pertes énergétiques (Alexander *et al.*, 2000).

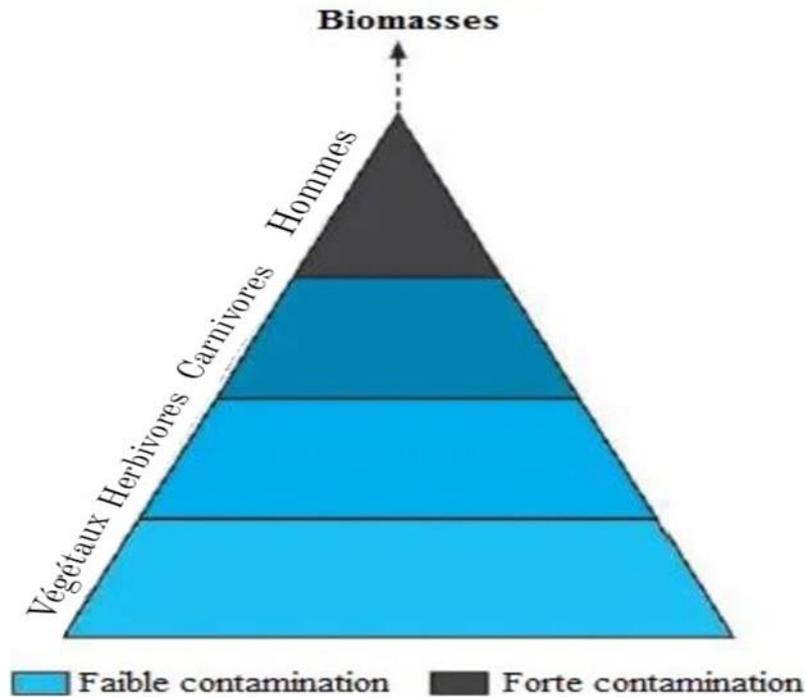


Figure 02 : Pyramide trophique représentant une chaîne alimentaire : les taux de contamination par les PCDD/PCDF s'accumulent d'un niveau à l'autre (Alexander *et al.*, 2000).

Plusieurs études épidémiologiques ont été réalisées chez l'homme après un relargage accidentel à partir d'unités de production industrielles. Les principaux effets liés à l'exposition à la TCDD ont été des manifestations dermatologiques (chloracné) et hépatiques (augmentation du volume du foie, élévation transitoire des taux sériques d'enzymes hépatiques) (INERIS, 2006). En modèle animal, l'exposition à la TCDD engendre des lésions cutanées, hépatiques, des troubles neurologiques ainsi que des perturbations des systèmes reproductifs et immunitaires (Chmill *et al.*, 2010 ; González *et al.*, 2017 ; Han *et al.*, 2017; INERIS, 2006; Jacob *et al.*, 2017).

La TCDD a été caractérisée comme cancérigène pour l'homme (groupe 1) par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) (IARC, 2012b). Des études de cancérogenèse chez l'animal montrent que le foie est la principale cible du cancer, mais d'autres sites (thyroïde, poumons, cavité orale) peuvent être également concernés (Dragan, 2000 ; INERIS, 2006).

2.1.2 Pesticides

Les pesticides sont aussi appelés « produits phytosanitaires ». La directive européenne 91/414/CE du 15 juillet 1991 (relative à la mise sur le marché des produits phytosanitaires), abrogée et remplacée par le règlement européen CE 541/2011, les définissent comme étant : « les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action,
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives,
- Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs,
- Détruire les végétaux indésirables,
- Détruire des parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux ».

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi par divers autres acteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits, les vins, etc., sont mis en évidence. L'exposition aux pesticides se caractérise donc par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (Figure 03) (Merhi, 2008).

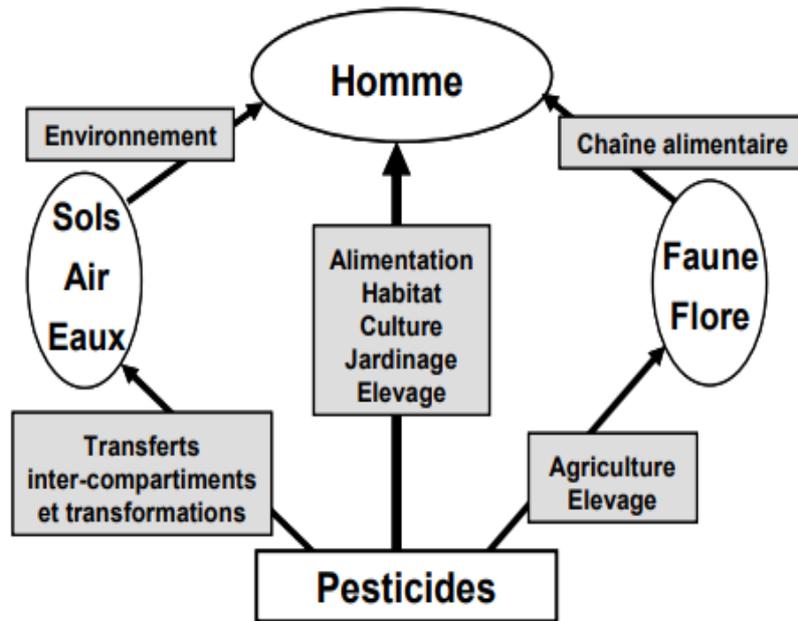


Figure 03 : résumé des possibles modes d'exposition de l'environnement et de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).

Les principaux pesticides actuellement utilisés appartiennent à plusieurs grandes familles chimiques, dont les organochlorés, les organophosphorés, les pyréthrinoïdes et les carbamates (Defois, 2017).

Bien que la corrélation entre l'utilisation des pesticides et l'incidence de certains cancers ne soit pas clairement établie, des études cytogénétiques montrent l'existence, chez les utilisateurs des pesticides, de perturbations génétiques en relation avec le cancer (Merhi, 2008).

2.1.3 Les antibiotiques

Plusieurs études bien documentées ont établi le lien entre la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait et l'apparition de réactions de type allergique immédiates ou chroniques (Boonk et Van Ketel, 1982; Wilson, 1994).

Une autre préoccupation est liée à l'apparition de populations bactériennes antibiorésistantes à la suite de l'utilisation intensive d'antibiotiques comme traitements ou comme stimulants de croissance. Un article publié dans Science (Neu, 1992) a remis en lumière la gravité et la complexité du problème de l'augmentation de l'antibiorésistance dans la

population, à une période de retour en force de certaines maladies infectieuses d'origine bactérienne, phénomène lié, entre autres, aux effets de la pauvreté et du sida.

La principale inquiétude n'est pas reliée à la présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments, mais plus à la question de la sélection de matériel génétique (Facteur R, plasmides), facteur d'antibiorésistance chez l'animal, pouvant être transmis à l'être humain et pouvant, à la limite, interférer avec l'efficacité des antibiotiques.

Il semble évident aux experts de l'organisation mondiale de la santé que l'antibiorésistance des pathogènes de l'alimentation est le résultat direct de l'utilisation thérapeutique et nutritionnelle des antimicrobiens chez les animaux destinés à la consommation (Khachatourians, 1998).

L'utilisation thérapeutique chez l'animal, de la tétracycline et de la pénicilline est interdite depuis longtemps au Japon, en Australie, en Nouvelle-Zélande et en Europe, alors qu'elle est nutritionnelle des antimicrobiens en industrie animale depuis 1986 (Boyce, 1998).

2.1.4 Les amines hétérocycliques

La cuisson à haute température (150 °C et plus) engendre des amines hétérocycliques (AHs) qui ont démontré une action cancérigène chez les animaux et qui seraient probablement cancérigène chez l'humain (Probst-Hensch *et al.*, 1997).

Les trois AHs les plus couramment retrouvées dans les viandes cuisinées sont la 2-amino-3,8-diméthylimidazo (4,5-f) quinoxaline (MeIQx), la 2-amino-3,4,8-triméthylimidazo (4,5-f) quinoxaline (DIMEIQX) ainsi que la 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo (4,5-b) pyridine (PhIP) (Pais *et al.*, 1999).

Bien que l'exposition se produit principalement par la consommation de viande cuite à haute température, les AHs ont également été détectées dans certains produits alimentaires transformés comme la bière, le vin ainsi que le fromage fumé (Manabe *et al.*, 1993 ; Naccari *et al.*, 2009).

Selon Adamson *et al* (1996), l'apport quotidien en amines hétérocycliques se situe entre 10 et 20 mg/personne/ jour, et le risque de cancer évalué en se basant sur les études animales serait de l'ordre de 10^{-3} à 10^{-4} . (On considère comme virtuellement sécuritaire une dose qui provoque un cancer supplémentaire par million d'habitants.) Toutefois, Felton *et al.* (1997)

stipulent que ce risque peut varier par un facteur de plus de 1000 entre les individus, selon le niveau d'exposition et la différence interindividuelle dans le métabolisme et la capacité de réparer l'ADN. La présence dans le régime alimentaire de facteurs anticancérigènes (antioxydants, phénols, flavones) pourrait moduler le risque de cancer.

La quantité d'hydrocarbures aromatiques (AHs) formée est favorisée par des cuissons prolongées et dépend du mode de cuisson. Une viande frite et grillée contient plus d'AHs qu'une même viande cuite à la vapeur, à l'étuve ou pochée (Layton *et al.*, 1995).

L'évaluation de la toxicité des AHs et plus particulièrement de la 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo (4,5-b) pyridine (PhIP) a été réalisée principalement sur leurs potentiels mutagènes et cancérigènes en modèle animal.

L'exposition orale à la 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo (4,5-b) pyridine (PhIP) est associée en modèle murin, à la formation de cancers du côlon, du sein et de la prostate (Chiavarini *et al.*, 2017 ; Li *et al.*, 2012; Xiao *et al.*, 2016 ; Choudhary *et al.*, 2012; Qiu *et al.*, 2005; Shan *et al.*, 2004).

Une étude a également attribué des effets neurotoxiques à la PhIP via l'induction d'un stress oxydant. Du fait du manque d'études épidémiologiques, la PhIP a été classée comme cancérigène possible pour l'homme (groupe 2B) par le centre international de recherche sur le cancer. Les mécanismes de la toxicité de la PhIP sont médiés par sa liaison au récepteur d'aryl hydrocarbure (AhR) (National Toxicology Program, 2016 ; WHO and IARC, 1993 ; Griggs *et al.*, 2014).

3 Notion de bioaccessibilité et biodisponibilité

Actuellement, les évaluations de risque considèrent, de façon sécuritaire, que la totalité d'une substance présente dans un sol ingéré par un individu, atteindra ses organes cibles et générera un effet toxique. Cependant, plusieurs études sur les animaux suggèrent que seule une fraction des substances présentes dans un sol parvient dans le sang, puis au niveau de l'organe cible. En effet, la matrice ingérée, qui véhicule la substance toxique, a une importance fondamentale dans la relation dose-effet de la substance étudiée. Il s'agit donc d'étudier le facteur correctif à mettre en œuvre dans le calcul de la dose d'exposition afin de tenir compte des variations de la relation dose-effet entre la matrice étudiée (sol) et la matrice de référence dont sont issues les valeurs toxicologiques de référence (<http://www.record-net.org/>).

Ce facteur correctif se fonde sur deux éléments (Figure 04) :

- la bioaccessibilité, définie comme la fraction de la dose administrée solubilisée dans le tractus gastro-intestinal et disponible à l'absorption.
- la biodisponibilité orale, définie comme la fraction de la dose administrée parvenant dans le compartiment sanguin (<http://www.record-net.org/>).

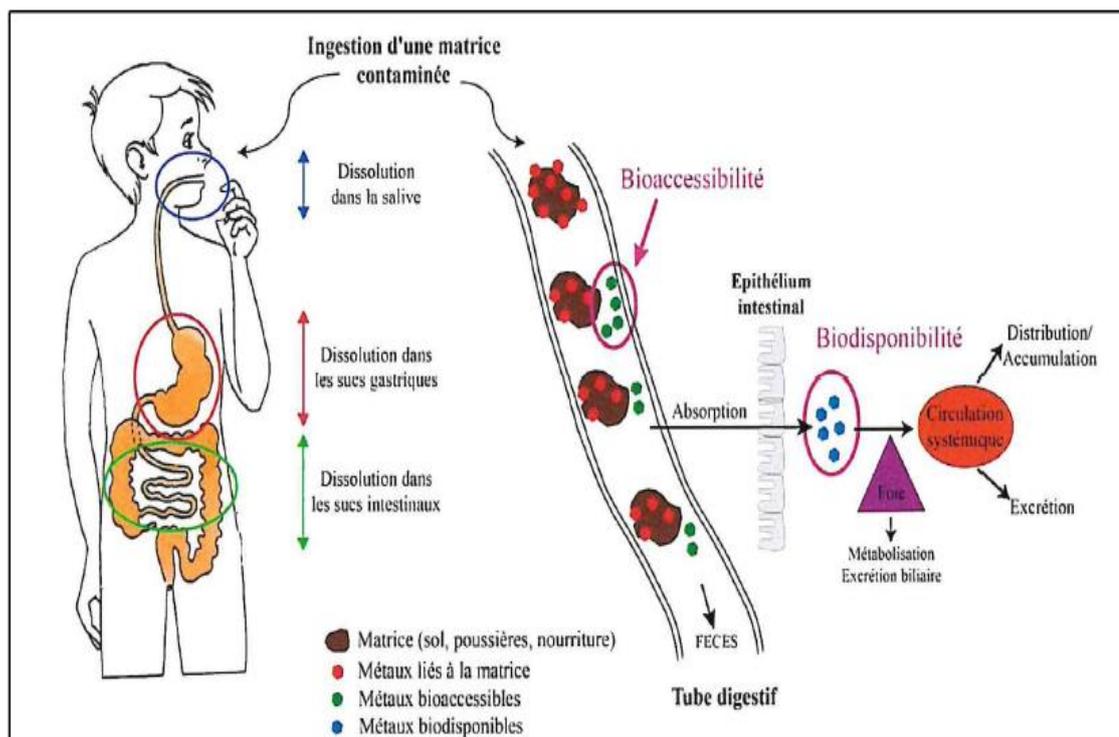
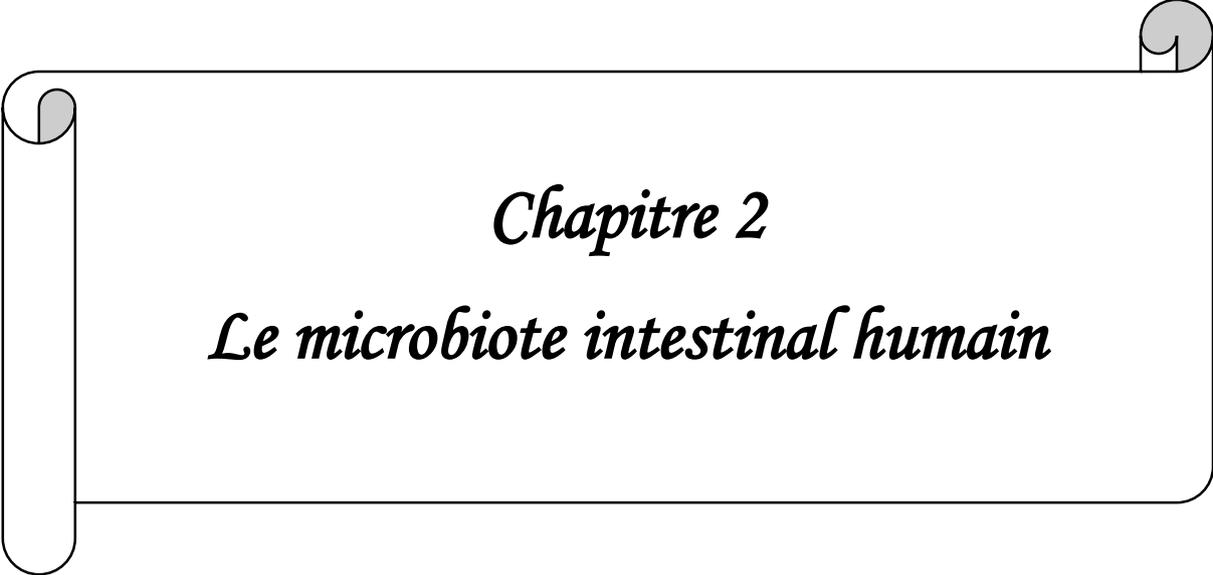


Figure 04 : Schéma des notions de bioaccessibilité et biodisponibilité en cas d'ingestion d'une matrice contaminée (Pelfrêne, 2016).

L'évaluation de la toxicité des contaminants alimentaires chez l'homme a longtemps négligé l'impact du métabolisme de ces composés par les microbiotes. D'après plusieurs études, il a été démontré que le microbiote cutané et intestinal a les capacités à dégrader de tels composés, pouvant conduire à la formation de métabolites secondaires potentiellement plus toxiques que les polluants eux-mêmes (Defois, 2017).



Chapitre 2
Le microbiote intestinal humain

1 Définition

Avant notre naissance, nous sommes colonisés par des bactéries via le cordon ombilical (Jimenez *et al.*, 2005). Puis, dans les premiers mois de notre vie, nous acquérons un partenaire unique: notre microbiote (Mackie *et al.*, 1999).

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe, comprenant tous les organismes unicellulaires du tube digestif, principalement des bactéries (symbiotiques ou saprophytes), mais aussi des virus, des champignons et des archées (Figure 05).

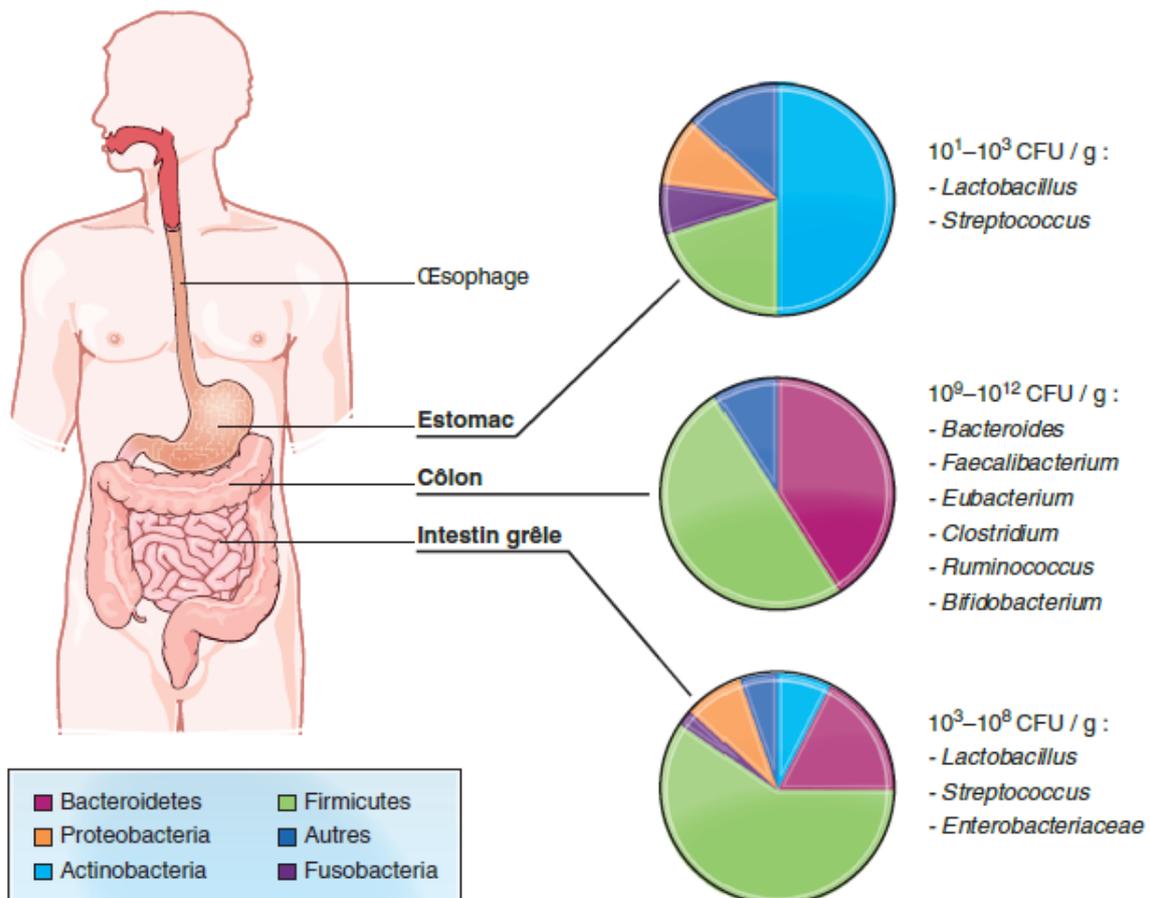


Figure 05 : Composition et densité du microbiote intestinal (Carole, 2014).

Il peut être considéré comme un organe car il a un impact majeur sur notre vie. En effet, sans ces microorganismes, nous ne pouvons pas digérer certains composants des aliments, notre système immunitaire sera immature et notre paroi intestinale va se développer faiblement (Sonnenburg *et al.*, 2005 ; Ley *et al.*, 2008 ; Mazmanian *et al.*, 2005).

2 Composition du microbiote intestinal humain

2.1 Phyla bactériens et répartition topographique

Plus de 1000 espèces bactériennes sont retrouvées dans le tractus digestif humain mais 5 phyla bactériens (Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria et Verrucomicrobia) forment à eux seuls 95% du microbiote intestinal connu (Tremaroli *et al.*, 2012) (Tableau 01).

Toutefois, compte tenu du faible nombre de germes cultivables (< 1 à 5% du microbiote total), de nombreux germes intestinaux restent encore à être identifiés.

Chez un individu «sain», la population du microbiote intestinal se répartit en moyenne en 60 à 75% de Firmicutes, 30 à 40% de Bacteroidetes, 1 à 5% d'Actinobacteria ainsi qu'une petite part de Proteobacteria, de Fusobacteria et de Cyanobacteria (<1%). Ainsi les deux phyla majeurs sont les Firmicutes et les Bacteroidetes. Les Firmicutes regroupent surtout les espèces anaérobies à Gram positif très sensibles à l'oxygène, tandis que les Bacteroidetes correspondent aux bactéries à Gram négatif (Costello *et al.*, 2013 ; Eckburg *et al.*, 2005).

En effet, tout au long du tractus intestinal, les communautés bactériennes varient et ceci en fonction des facteurs de l'hôte (pH, transit, acide biliaire, enzymes digestives, mucus, système immunitaire...), et des facteurs bactériens (capacité métabolique et d'adhésion, coévolution, interactions et compétitions microbiennes) (Costello *et al.*, 2013).

Tableau 01 : Phyla et quelques genres microbiens dominants dans le tube digestif (Marteau *et al.*, 2017).

Phyla	Quelques Genres
Firmicutes	<i>Ruminococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Lactobacillus</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteroides</i>
Proteobacteria	<i>Escherichia</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Helicobacter</i>
Actinobacteria	<i>Bifidobacterium</i>

2.2 Noyau phylogénétique et entérotypes

Chaque individu possède sa propre signature bactérienne intestinale pouvant varier avec l'âge, l'alimentation, son origine géographique ou bien l'environnement. Cependant, des études métagénomiques récentes ont mis en évidence l'existence d'un nombre restreint d'espèces bactériennes partagées par tous incluant notamment *Bacteroides vulgatus*, *Roseburia intestinalis*, *Ruminococcus bromii*, *Eubacterium rectale*, *Coprobacillus sp.*, *Bifidobacterium longum* et *Faecalibacterium prausnitzii*. Ces espèces constitueraient : le noyau (ou core phylogénétique) du microbiote intestinal humain et seraient réparties en 3 catégories principales appelées entérotypes (Bacteroides, Bacteroides, Ruminococcus), tout comme il existe différents groupes sanguins. Il a pu être montré qu'au sein d'une même famille certains traits de ce microbiote sont conservés (Biagini, 2019 ; Tap *et al.*, 2009).

3 Variation de la flore au cours du temps

3.1 De la naissance à l'équilibre

Le fœtus est stérile dans l'utérus et la colonisation bactérienne ne débute qu'à la naissance à partir des flores de sa mère (vaginale et fécale) et de l'environnement (Dolié, 2018).

L'intestin d'un nouveau-né est colonisé d'abord par une flore anaérobie facultative comme des entérobactéries, des entérocoques et des staphylocoques qui peuvent se développer par la consommation de l'oxygène dans la lumière intestinal en flore anaérobie stricts tel que les *bifidobactérium*, les *clostridium* et les *bacteroides* (Arrieta *et al.*, 2014; Bezirtzoglou, 1997).

Par la suite, le nouveau-né est continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées des adultes (Figure 06) (Campeotto, 2007).

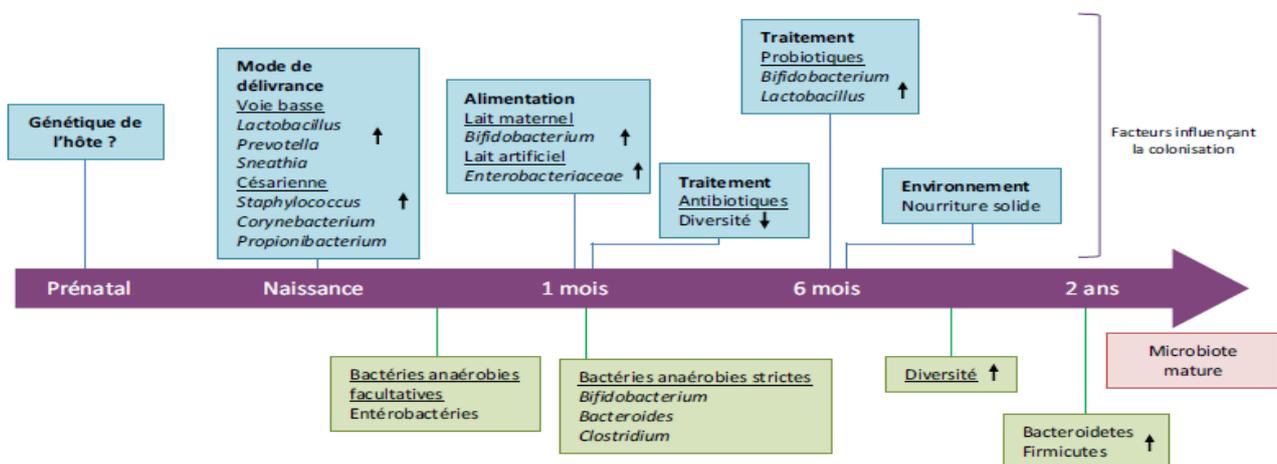


Figure 06 : Colonisation du microbiote intestinal chez l'enfant (Verdu *et al.*, 2015).

Une flore complexe et stable, qui se rapproche de celle de l'adulte, propre à chaque individu, semble être obtenue entre les âges de 2 à 4 ans (Campeotto, 2007).

3.2 Facteur influençant l'installation du microbiote

Comme dans tout écosystème microbien, le microbiote sain peut être évalué grâce à des facteurs environnementaux (Figure 07) parmi ces facteurs :

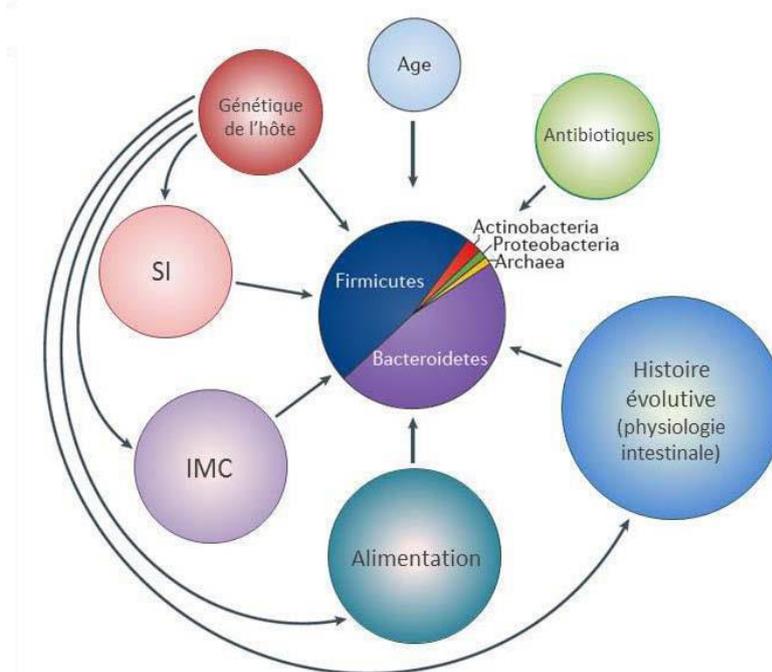


Figure 07 : facteurs majeurs influençant la composition de microbiote humain.

IMC : indice de masse corporelle ; *SI* : système immunitaire (Hall *et al.*, 2017).

3.2.1 Le mode d'accouchement

D'après une étude du département de biologie de Puerto Rico, le premier facteur influençant la composition du microbiote intestinal du nourrisson est le type d'accouchement pratiqué. Le microbiote intestinal du nouveau-né ressemble au microbiote vaginale de sa mère et est dominé par les genres bactériens *Lactobacillus* et *Prevotella* alors que les nouveau-nés par césarienne présentaient une communauté bactérienne proche de celle de la peau : *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium* (Dominguez-Bello *et al.*, 2010 ; Backhed *et al.*, 2015) avec une diminution de l'abondance relative de *bifidobacterium* et de *bacteroïdes* (Adlerberth *et al.*, 2006 ; Wampach *et al.*, 2017).

3.2.2 L'alimentation

Chez le nouveau-né, le type d'alimentation influence l'implantation de la flore intestinale. Chez les nourrisson allaités, le *Bifidobacterium* est le genre prédominant. Par ailleurs, chez les enfants nourris au lait artificielle, leur flore intestinale est principalement composée par *Lactobacillus* (Zivkovic *et al.*, 2011 ; Conlon *et al.*, 2015). Au bout de deux ans, la flore intestinale de l'enfant a acquis sa composition quasi-définitive. Ensuite, la flore tend vers celle de l'adulte que l'on qualifie de flore normale.

A l'âge adulte, chacun de nous possède sa propre collection de bactéries mais celles-ci assurent les mêmes fonctions. Il a été également observé des différences marquantes entre les populations d'une alimentation riche en fruits, légumes et fibres qu'est associée à une plus grande richesse et diversité du microbiote intestinal avec une prévalence plus importante des Bactéroïdètes tel que les genres *Prevotella* et *Bifidobacteria*. A l'inverse, les phyla *Firmicutes* et *Proteobacteria* prédominent dans un régime riche en graisses et pauvre en fibres (Turnbaugh *et al.*, 2009b ; Wu *et al.*, 2011 ; Ridaura *et al.*, 2013 ; Trompette *et al.*, 2014 ; Heinritz *et al.*, 2016). Cependant, une alimentation riche en fibres favorise l'abondance d'organismes métabolisant les glucides dont ceux appartenant au phylum des *Firmicutes* tels que les genres *Ruminococcus*, *Roseburia* et *Eubacterium* (Walker *et al.*, 2011 ; David *et al.*, 2014 ; Chung *et al.*, 2016 ; Woting, 2016). Ces changements de structure peuvent être très rapides et les taxa affectés par ces changements sont individus dépendants.

3.2.3 Les antibiotiques

Les antibiotiques sont utilisés pour tuer les bactéries pathogènes qui causent des maladies infectieuses. Cependant, ils peuvent aussi favoriser le développement de certains microorganismes en générant une pression sélective, endommageant ainsi la croissance d'autres espèces et détruisant sévèrement le microbiote intestinal (Costello *et al.*, 2012).

L'altération de la flore dépendra de la sensibilité des bactéries selon le spectre d'action de l'antibiotique utilisé et de la durée d'utilisation (Emilie, 2018).

4 Fonctions du microbiote intestinal

4.1 Fonctions physiologiques

Dès le début du XX^{ème} siècle, l'outil moléculaire a révolutionné notre compréhension du microbiote intestinal. Ces techniques moléculaires, se sont tout d'abord basées sur l'analyse des

gènes exprimant l'ARN ribosomique (ARN r16S) afin de cibler les populations de bactéries ainsi que leurs fonctions.

Le microbiote intestinal est aujourd'hui considéré comme un organe à part entière (Hara, 2006). L'ensemble des travaux conduits ces 15 dernières années comme par exemple, des expériences sur des animaux axéniques (dépourvus de microbiote intestinal), a permis d'établir que le microbiote intestinal exerçait un rôle de première importance sur l'organisme entier et qu'il est indispensable à son bon fonctionnement (Smith *et al.*, 2007). Donc, il possède à la fois des fonctions métaboliques, trophique et protectrice (Figure 08).

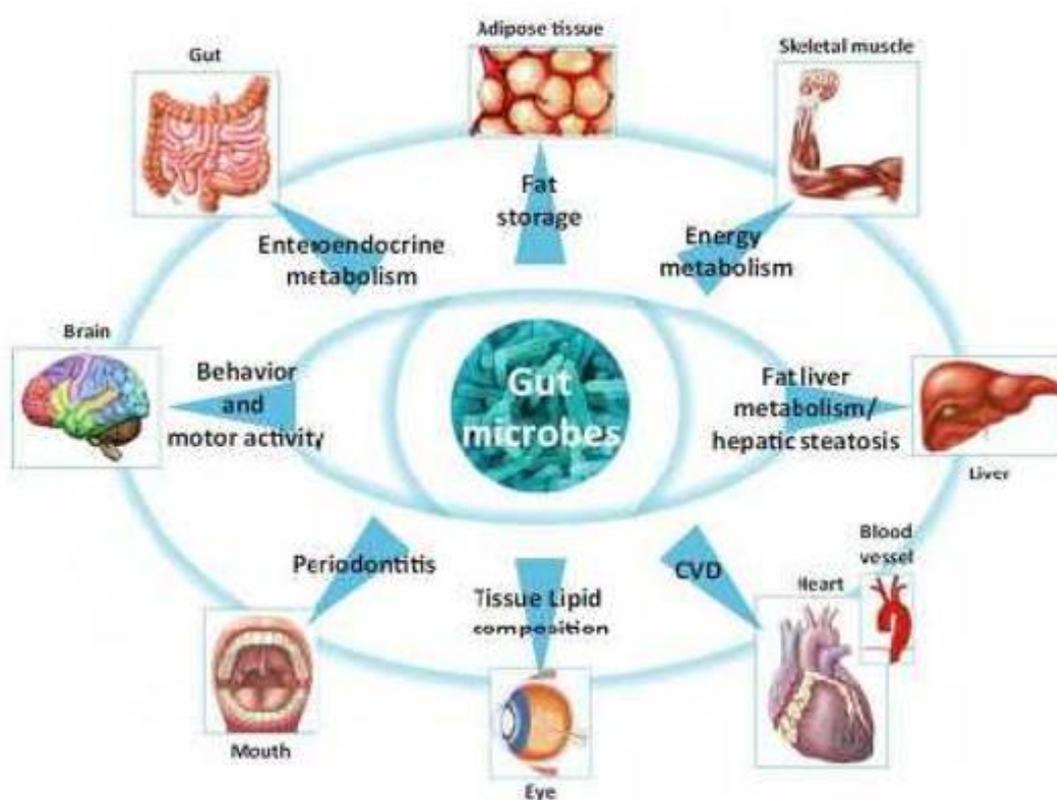


Figure 08 : Fonctions physiologiques du microbiote intestinal (Burcelin *et al.*, 2011).

Chez un sujet sain, le microbiote intestinal maintient une relation symbiotique avec la muqueuse intestinale afin d'assurer des fonctions essentielles du métabolisme nutritionnel et de détoxification, dans la protection de l'hôte face aux agents pathogènes et l'immunomodulation ainsi que dans le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale. De plus, de récents travaux ont mis en évidence un système de communication bidirectionnelle et neuro-hormonale entre le microbiote intestinal et le système nerveux central dénommé « l'axe cerveau-intestin » (Collins *et al.*, 2012).

4.2 Fonctions métaboliques

4.2.1 Métabolisme nutritionnel

Alors que le microbiote de l'intestin grêle, moins abondant et sujet à de plus grandes variations, est chargé de la fermentation des oses, celui du côlon, plus abondant, stable et diversifié, assure la fermentation anaérobie des glucides complexes comprenant les polysides (cellulose, hémicellulose, pectine), l'amidon résistant à l' α -amylase, des oligosides ou des sucres alcool non assimilés par l'intestin (Macfarlane, 1996). Cette chaîne trophique de fermentation des glucides dans le côlon humain, considérée comme étant une activité clé du microbiote intestinal, est assurée par plusieurs groupes bactériens possédant des activités différentes et complémentaires. Ainsi, les espèces dominantes du côlon, incluant les espèces productrices d'acides gras à courte chaîne (AGCC), jouent un rôle majeur dans l'initiation de la dégradation des polysides et collaborent avec les espèces chargées de la fermentation des oligosides (Flint *et al.*, 2012). Les AGCC tels que l'acétate, le propionate et le butyrate exercent différents effets chez l'hôte en tant que source majeure d'anions dans le côlon et d'énergie pour l'organisme hôte (Figure 09). Le butyrate est principalement consommé par l'épithélium colique, le propionate rejoint le foie et l'acétate la circulation systémique. Le butyrate et le propionate sont impliqués dans la régulation de l'immunité, le maintien de la barrière épithéliale ainsi que la motilité intestinale (Arpaia *et al.*, 2013). Les gaz, et en particulier le H_2 , vont être utilisés par les espèces hydrogénotrophes méthanogènes, acétogènes ou sulfatoréductrices (Eckburg *et al.*, 2005). Les principaux genres bactériens dominants du côlon producteur des AGCC à partir du pyruvate sont *Bactéroïdes*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* et *Eubacterium* (Arpaia *et al.*, 2013).

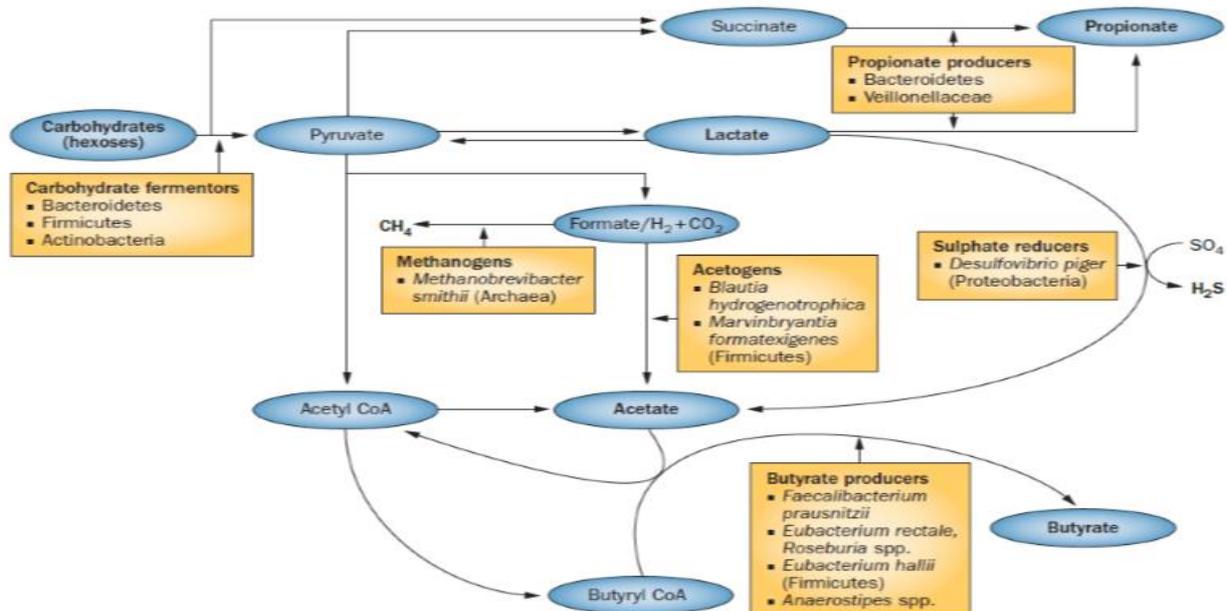


Figure 09 : Groupes phylogénétiques et fonctionnels des bactéries intestinales impliquées dans le métabolisme des acides gras à courte chaîne (AGCC) (Macfarlane *et al.*, 1997).

Les métabolites issus de la fermentation des acides aminés (AA) alimentaires ou endogènes sont plus diversifiés que ceux issus de la fermentation des glucides et incluent des substances potentiellement toxiques ou carcinogènes. De plus, le microbiote intestinal exerce une influence positive sur le métabolisme lipidique, notamment en inhibant l'activité de la Lipoprotéine lipase (LPL) dans le tissu adipeux ou en activant l'expression génique d'une colipase nécessaire au fonctionnement de la lipase pancréatique. En outre, d'autres espèces bactériennes, appartenant aux genres *Bactéroïdes* et *Bifidobacterium*, ont démontré leur capacité à stimuler la synthèse des acides linoléiques conjugués (ALC) ainsi qu'à déconjuguer et déshydrogéner les acides biliaires primaires pour les convertir en acides biliaires secondaires (acides désoxycholique et lithocholique) (Hooper *et al.*, 2001; Fukiya *et al.*, 2009).

Sur le plan nutritionnel également, une autre fonction majeure du microbiote intestinal est sa capacité à synthétiser certaines vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine, pantothenate, biotine, folate), ainsi que les vitamines C et K2. En exprimant l'isoforme CYP27B1 de la cytochrome P-450, le côlon fait partie des organes assurant la conversion extra-rénale du métabolite de la vitamine D (Walter *et al.*, 2011).

4.3 Fonctions de barrière intestinale

L'épithélium intestinal est une barrière dynamique permettant la sécrétion d'enzymes digestives ainsi que l'absorption des nutriments, des électrolytes et de l'eau, tout en limitant l'accès des bactéries, parasites et virus aux tissus de l'hôte. Il est composé d'une monocouche de cellules reposant sur la lamina propria via leur pôle basolatéral, étroitement liées entre elles par des jonctions serrées et recouvertes d'une couche de mucus contenant des Immunoglobulines (Ig) A sécrétoires (IgAs) et de grandes concentrations de peptides antimicrobiens. Cet épithélium n'est pas totalement lisse mais est organisé en villosités permettant d'augmenter la surface de contact entre l'intestin et la lumière intestinale (Figure 10) (Peterson *et al.*, 2014).

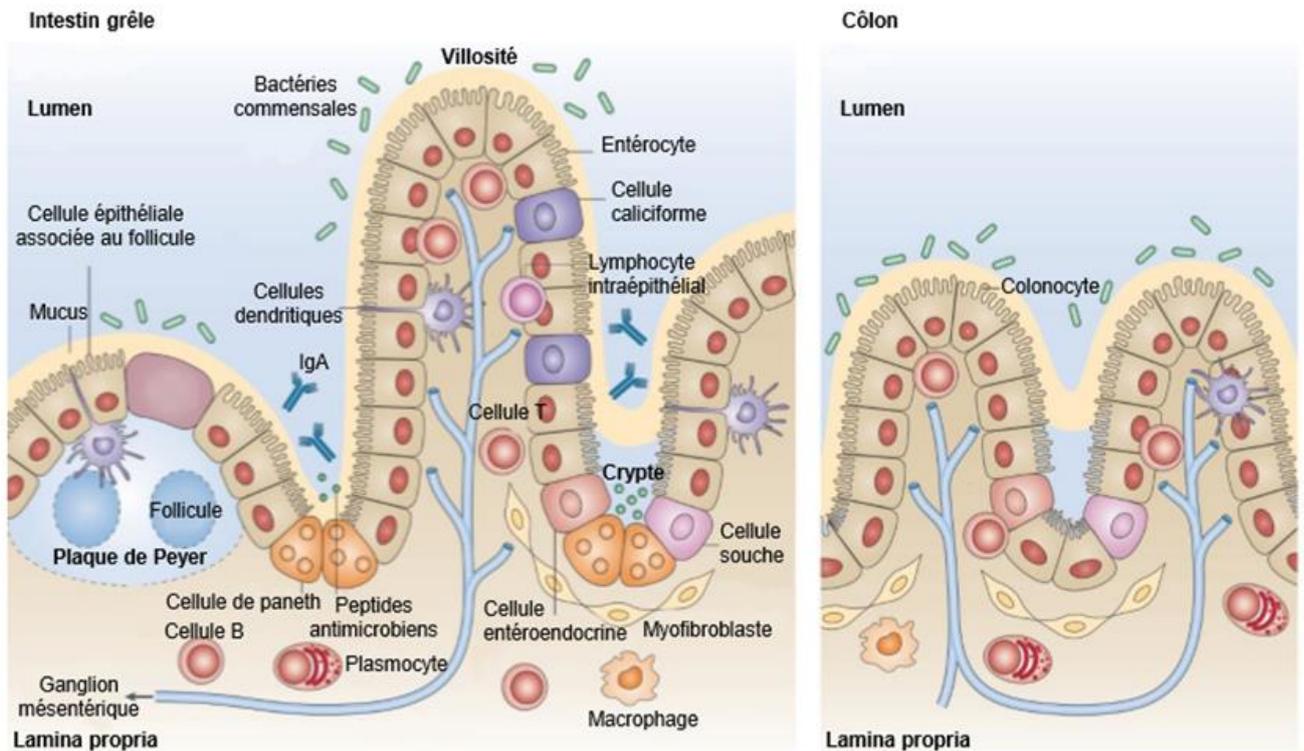


Figure 10 : Organisation de la barrière et du système immunitaire intestinal (modifiée d'après Abreu, 2010).

À la surface de cette muqueuse viennent se fixer les bactéries de la flore intestinale s'opposant à la colonisation de la muqueuse par les bactéries pathogènes par un phénomène de compétition sur les sites d'adhérence. Les bactéries commensales étant plus adaptées à l'écosystème intestinal que les pathogènes. Cela forme un film protecteur à la surface de l'épithélium intestinal. Lorsqu'elles détectent des bactéries pathogènes, les bactéries de la flore intestinale peuvent stimuler la synthèse de peptides antimicrobiens par les cellules de l'épithélium intestinal, telles que des bactériocines. Ces peptides possèdent une activité de type antibiotique par effet bactéricide ou bactériostatique (Emilie, 2018).

4.4 Fonctions de modulation du système immunitaire

Le rôle de la microflore sur la physiologie du système immunitaire intestinal ; en particulier le système immunitaire inné et sa description anatomique ayant fait et faisant encore l'objet de nombreuses publications. À la différence du système immunitaire périphérique, le système immunitaire inné est en contact continu avec la masse antigénique considérable des protéines alimentaires et bactériennes. Ce dernier ne développe pas de réponses immunes inflammatoires inappropriées qui porteraient atteinte à l'intégrité de la muqueuse intestinale (Cellier *et al.*, 2000).

Les réponses immunes du système immunitaire innée sont adaptées au milieu intestinal et la présence de la flore intestinale joue un rôle crucial sur ses fonctions. Ces fonctions sont apparemment contradictoires, la première fonction est d'élaborer des réponses protectrices cellulaires et humorales, quand il y a danger : présence de virus, bactéries ou parasites entéropathogènes. La réponse anticorps humorale est caractérisée par la production d'une classe d'Ig, les IgA, spécifiques des muqueuses, excrétées dans la lumière intestinale associées à une protéine, la pièce sécrétoire leur conférant une résistance aux enzymes protéolytiques (Phalipon *et al.*, 2002 ; Mowat, 2003).

Les anticorps IgA sécrétoires (IgAs) forment des complexes avec l'antigène, bloquant l'adhésion des bactéries pathogènes, la multiplication virale dans l'entérocyte et neutralisant les entérotoxines. Les réponses cellulaires feraient essentiellement appel aux lymphocytes intra - épithéliaux, dont une fonction primordiale serait de maintenir l'intégrité de l'épithélium intestinal en détruisant les entérocytes infectés ou anormaux (Vassali *et al.*, 2002).

La deuxième fonction du système immunitaire innée est d'empêcher l'induction de réponses immunes envers les Ag et composants bactériens présents de façon permanente dans le tube digestif, par l'élaboration de réponses suppressives. L'une de ces réponses est « la tolérance orale » (Strobel *et al.*, 1998)

La tolérance orale se définit par le fait que l'ingestion d'une protéine conduit à la suppression des réponses immunes cellulaires et humorales spécifiques de la protéine ingérée, aux niveaux intestinal et périphérique, en cas de ré - exposition à celle - ci. Cette réponse joue un grand rôle dans l'homéostasie intestinale, en évitant les réactions inflammatoires de la muqueuse incompatibles avec la fonction essentielle de l'intestin qu'est l'assimilation des nutriments. Lorsqu'elle est défectueuse, des pathologies inflammatoires apparaissent, en particulier les hypersensibilités alimentaires se manifestant au niveau périphérique (eczéma atopique) ou intestinal (diarrhées, vomissements) (Husby *et al.*, 1994).

***Axe cerveau-intestin-microbiote**

Sur tout le long du tractus intestinal se trouvent des circuits neuronaux qui sont liés au cerveau et au système nerveux central. Les intestins possèdent leurs propres fonctions spécialisées, y compris l'absorption des nutriments de la matière digérée par l'intestin grêle et l'extraction d'eau par le gros intestin. De plus, de nombreuses fonctions intestinales sont contrôlées par le système nerveux entérique, qui est composé d'un ensemble de neurones pouvant fonctionner indépendamment du cerveau et du système nerveux central, au moins dans une certaine mesure (Figure 11). C'est pourquoi on l'appelle parfois le « deuxième cerveau » du corps (Tableau 02) (Furness *et al.*, 2014).

Tableau 02 : Principaux mécanismes de l'axe bidirectionnel cerveau-intestin-microbiote (Carabotti *et al.*, 2015).

Du microbiote intestinal au cerveau :

- Production, expression et renouvellement des neurotransmetteurs (sérotonine, GABA) et facteurs neurotrophiques (BDNF)
- Protection de la barrière intestinale et de l'intégrité des jonctions serrées
- Modulation des voies afférentes sensibles entériques
- Métabolites bactériens
- Régulation de l'immunité mucoale

Du cerveau au microbiote intestinal :

- Altération de la production du mucus et du biofilm
- Altération de la motilité
- Altération de la perméabilité intestinale
- Altération de la fonction immunitaire

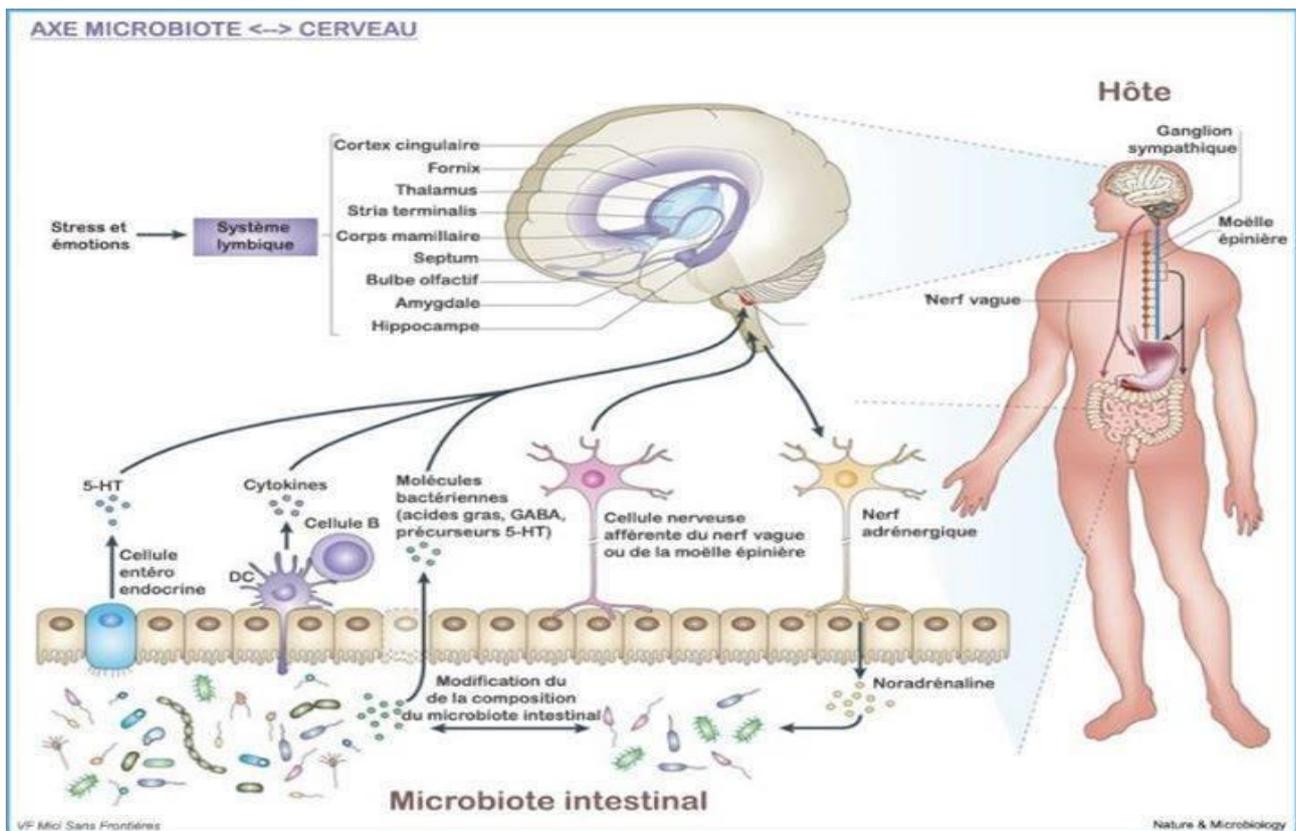


Figure 11 : L'axe bidirectionnel cerveau-intestin-microbiote. Voies neuronales, immunologiques, endocrines et métaboliques par lesquelles le microbiote influence le cerveau, et la composante du cerveau au microbiote de cet axe (Collins *et al.*, 2012).

5 La dysbiose

La dysbiose représente le reflet d'un déséquilibre entre l'hôte et son microbiote, suite à des changements de la composition de la flore bactérienne. Elle est associée à un certain nombre de maladies (<https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/intestinal>)

5.1 Les facteurs qui la favorisent

Divers événements peuvent perturber cet équilibre (Figure 12) :

- Prise des médicaments (surtout les antibiotiques)
- Les agents infectieux bactériens, viraux, ou parasitaires
- Un déficit immunitaire
- Une alimentation inadaptée
- Les toxines et polluants
- Différentes maladies
- Le stress

Tous ces facteurs peuvent provoquer des changements plus ou moins importants dans la population microbienne. Moins durable : les bactéries néfastes peuvent être dominantes, moins de bactéries protectrices et moins de diversité microbienne (<https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/intestinal>).

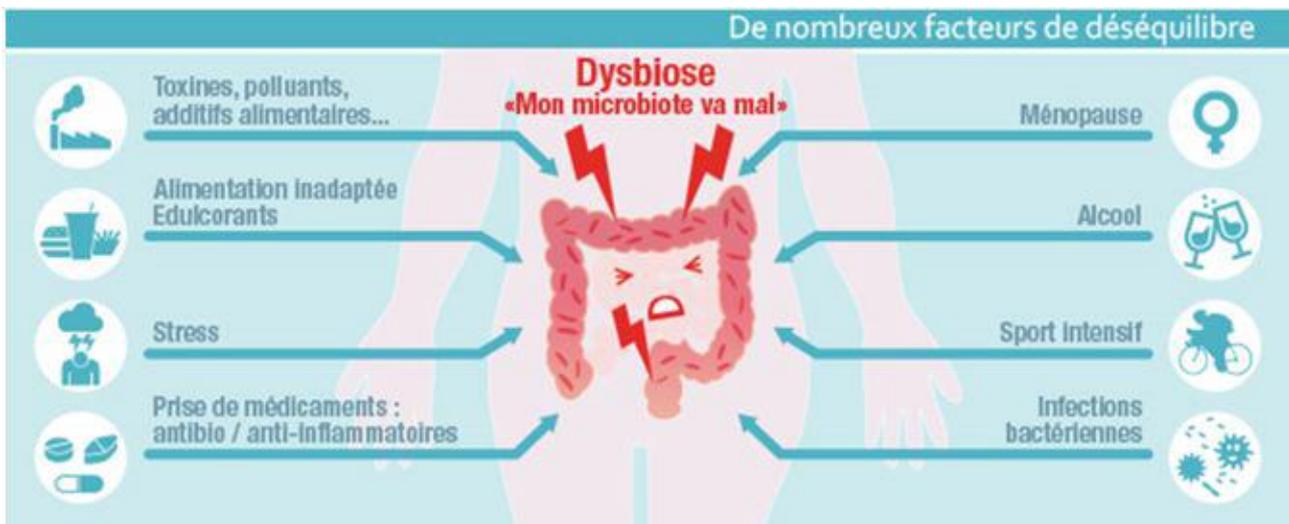
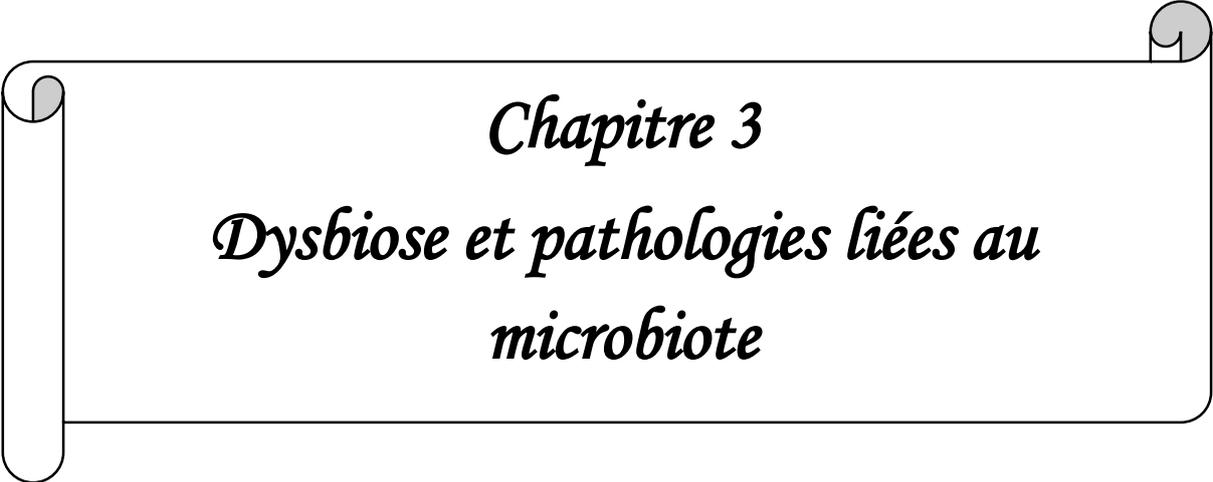


Figure 12 : Facteurs favorisant la dysbiose (Morad, 2019).

Chaque individu possède sa propre signature bactérienne intestinale. Le microbiote intestinal exerce un rôle de première importance sur l'organisme entier et il est indispensable à son

bon fonctionnement. Ce dernier participe à de nombreuses fonctions essentielles pour l'organisme, telles que la digestion, l'éducation du système immunitaire, le rôle de barrière.

Si la composition au cours de la vie est généralement assez stable, l'hygiène alimentaire, la qualité de vie mais aussi les pathologies ou traitements médicamenteux, peuvent faire varier la composition du microbiote de manière plus ou moins durable voir impacter le rôle du microbiote dans la santé humaine.



Chapitre 3

*Dysbiose et pathologies liées au
microbiote*

1 Les pathologies digestives

1.1 Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI)

1.1.1 Généralités

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'intestin (MICI) sont caractérisées par la présence de lésions inflammatoires pouvant toucher tout ou une partie du tube digestif. Les MICI peuvent survenir à tout âge mais elles touchent plus fréquemment des personnes relativement jeunes ayant entre 20 et 40 ans. La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) sont les deux principales formes de MICI. L'étiologie des MICI est encore inconnue mais les études récentes indiquent que ces maladies inflammatoires chroniques sont multifactorielles. Des facteurs génétiques, environnementaux et microbiologiques peuvent être les causes principales des MICI (Figure 13) (Tunay *et al.*, 2016).

Les MICI sont des pathologies idiopathiques chez les individus génétiquement prédisposés, mettant en cause un déséquilibre du système immunitaire et une composition modifiée du microbiote, également connu sous le nom de dysbiose (Huttenhower *et al.*, 2014).

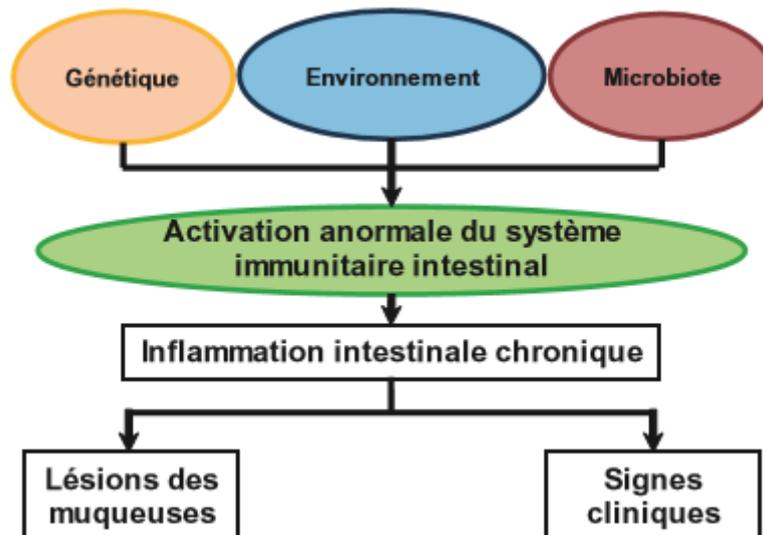


Figure 13 : Représentation schématique de la physiopathologie des MICI. (Tunay *et al.*, 2016).

1.1.2 Epidémiologie des MICIs

Les MICIs sont caractérisées par une grande disparité de répartition géographique (Figure 14) (Cosnes *et al.*, 2011).

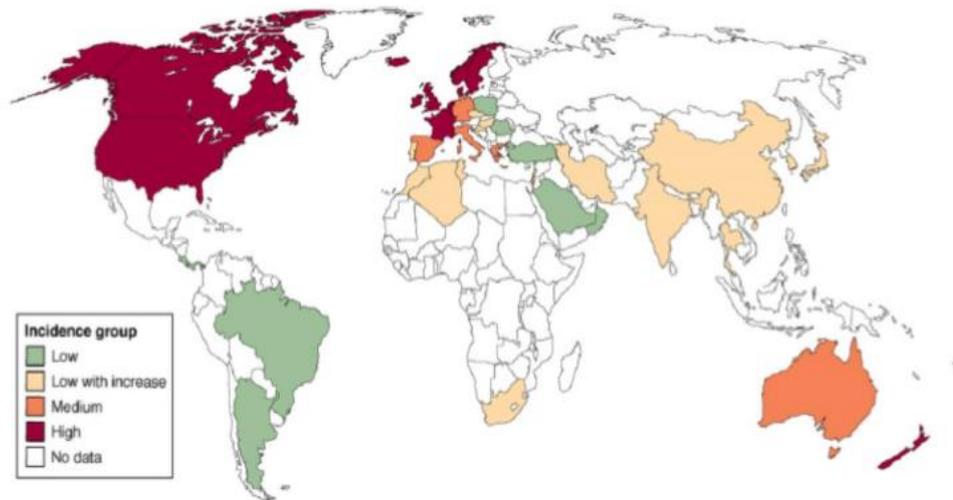


Figure 14 : Incidence des MICI dans le monde (Cosnes, 2011).

Incidence pour 100 000 habitants/an,

en rouge $>10/100000$, en orange entre 5-10/100 000, en vert $< 4/100000$, en beige incidence en constante augmentation, en blanc absence de données disponibles.

Cependant ces données épidémiologiques ont des limites :

- Les critères diagnostiques varient entre les différentes publications. En effet le diagnostic repose sur un faisceau d'examen : endoscopie digestive, histologie et imagerie et non sur un «gold standard ».

- La disponibilité des examens d'endoscopie digestive est un facteur limitant le diagnostic des MICI dans les pays en voie de développement, aboutissant à une sous-estimation de ces maladies dans ces régions.

- Les données de prévalence sont moins fiables que celle d'incidence du fait d'un défaut d'enregistrement des patients en rémission prolongée (Cosnes *et al.*, 2011).

1.1.3 Physiopathologie des MICI

Les MICI sont des maladies multifactorielles. La maladie survient sur un terrain génétique prédisposé après l'exposition à des facteurs de risque environnementaux. Cependant cette combinaison est variable d'un sujet à l'autre et module l'expression de la maladie. L'observation que certains individus développent une MICI dans l'enfance et d'autres à l'âge adulte suggère une contribution variable des facteurs d'environnement et de facteurs génétiques au cours de l'initiation ou l'évolution de la maladie chez chaque individu. La physiopathologie fait intervenir une modification de la flore intestinale (dysbiose), une dysfonction de la barrière épithéliale et une dérégulation de la réponse immunitaire Innée (notamment de l'autophagie) et spécifique (Figure 15), l'ensemble aboutissant à une rupture de tolérance vis-à-vis des microorganismes de la flore intestinale et à une inflammation intestinale chronique (Graham *et al.*, 2013).

La dysbiose au cours de MICI se caractérise par une réduction de la diversité des bactéries du microbiote. On note également au cours de la maladie de Crohn (MC), une augmentation des Entérobactéries et une diminution des Firmicutes (en particulier *Faecalibacterium Prausnitzii*) (Gevers *et al.*, 2016).

1.2 Le Syndrome de l'Intestin Irritable (SII)

1.2.1 Généralité

Le Syndrome de l'Intestin Irritable (SII) est le trouble fonctionnel intestinal le plus fréquent. Le SII est une pathologie chronique de faible morbidité mais avec une forte prévalence dans les pays développés, atteignant jusqu'à 20% de la population générale (Brandt *et al.*, 2002).

Le SII se caractérise le plus souvent par une sensibilité et un inconfort digestif chronique sans aucune anomalie anatomique visible lors des biopsies, à la différence des MICI. Une inflammation de bas grade associée à une activation du système immunitaire a été décrite sans qu'aucun marqueur spécifique n'ait été défini (Chang *et al.*, 2012).

Les symptômes varient avec la prise alimentaire et sont en lien direct avec la survenue d'événements stressants. Comme pour la MICI, une corrélation positive a été montrée entre l'occurrence d'événements de stress durant la petite enfance (perte d'un parent, divorce ou abus sexuels) et le développement d'un SII à l'âge adulte. Bien que le pronostic vital ne soit pas engagé, la qualité de vie des patients est négativement impactée occasionnant un surcoût pour

la société et le système de santé sans aucun traitement définitif à l'heure actuelle (Vidlock *et al.*, 2009 ; Ducrotte, 2010).

1.2.2 Epidémiologie des SII

Le syndrome de l'intestin irritable peut donc se manifester par une combinaison de symptômes. Selon Drossman (1995), la personne qui souffre du syndrome de l'intestin irritable présente typiquement soit de la diarrhée, soit de la constipation ou une alternance de diarrhée et de constipation. Une douleur abdominale vive et persistante, de la flatulence, du ballonnement, de la satiété précoce et plus rarement de la nausée peuvent fréquemment accompagner les symptômes typiques.

Le syndrome de l'intestin irritable est présent chez 14 à 24 % de la population adulte tant en Amérique du Nord qu'en France et en Grande-Bretagne. Il se manifeste plus souvent chez la femme puisque 75% des individus touchés par le syndrome de l'intestin irritable sont de sexe féminin. Cependant, seulement 15 % des personnes atteintes du syndrome de l'intestin irritable en souffrent au point de consulter un professionnel de la santé. L'âge des personnes qui viennent consulter peut varier entre 30 et 50 ans (Drossman, 1995).

1.2.3 Physiopathologie des SII

Le rôle de l'environnement intestinal associé aux différents troubles du transit, diarrhée ou constipation, et à la sensibilité viscérale semble essentiel dans la compréhension de la pathologie. Certaines études rapportent une modification qualitative et quantitative du microbiote. Les troubles de la motricité, la sensibilité viscérale et une inflammation de bas grade caractérise le SII. Une perturbation des voies neuro-immunes liant le système nerveux central et le système nerveux entérique a également été démontré appuyant un effet direct du stress dans cette pathologie (Figure 16) (Ohman *et al.*, 2010 ; Stasi *et al.*, 2012).

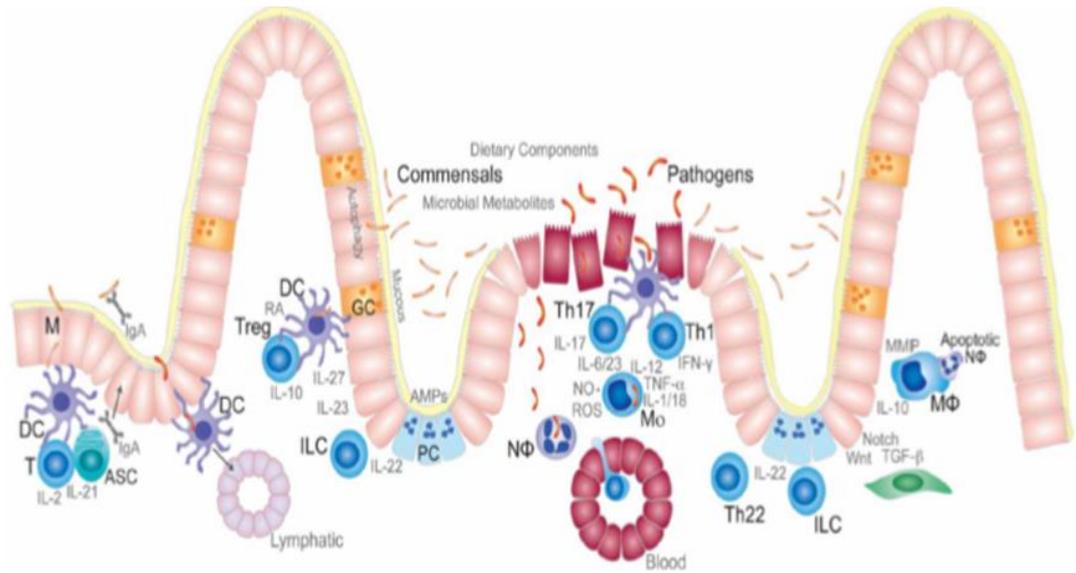


Figure 15 : Mécanismes physiopathologiques impliqués dans les MICI (Graham *et al.*, 2013).

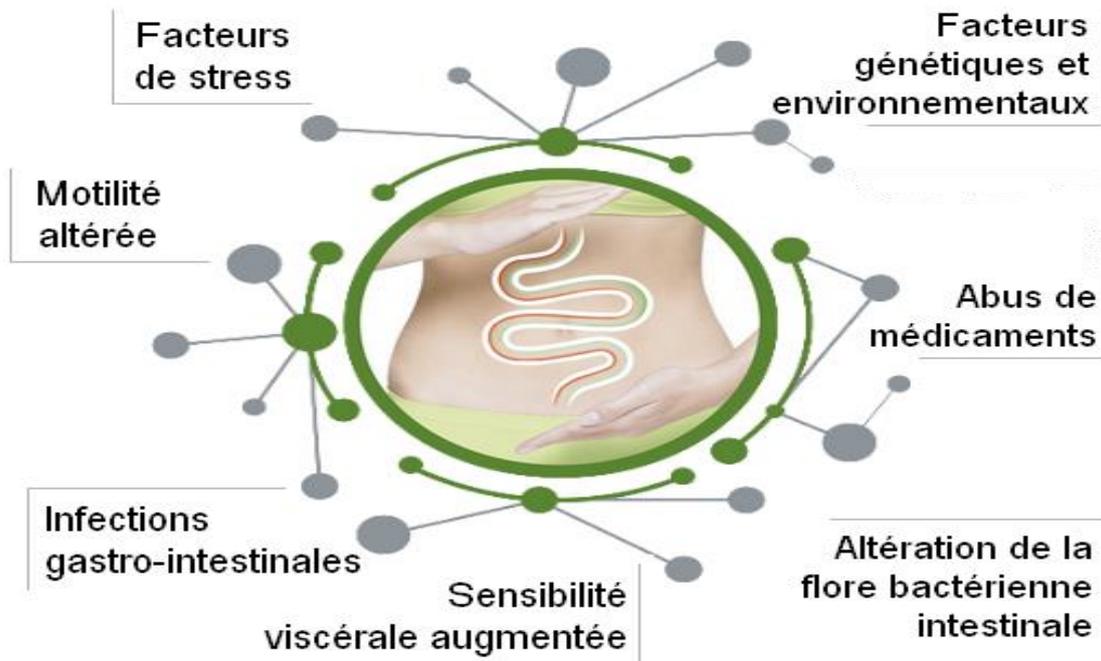


Figure 16 : Modèle multifactoriel de la physio- pathologie du syndrome de l'intestin irritable (SII) (Stasi *et al.*, 2012).

1.3 Le cancer colorectal (CCR)

1.3.1 Généralité

Le cancer colorectal (CCR) est un problème de santé publique majeur. Il représente près de 12 % de l'ensemble des cancers incidents tous sexes confondus. Chez l'homme, le cancer colorectal se place au 3^{ème} rang (derrière celui de la prostate et du poumon) en termes d'incidence et au 2^{ème} rang (derrière le cancer du poumon) en termes de mortalité. Chez la femme, il se situe au 2^{ème} rang (derrière le cancer du sein) en termes d'incidence et au 3^{ème} rang (derrière les cancers du sein et du poumon) en termes de mortalité (INCA, 2013).

Les facteurs de risque associés au CCR sont classés selon deux catégories : les facteurs héréditaires et les facteurs environnementaux. Les individus ayant des antécédents génétiques ou ayant eu une MICI ont environ 15 % de risque de développer des tumeurs colorectales, alors que les 85 % restants sont sporadiques (Taylor *et al.*, 2010).

Les études épidémiologiques ont confirmé que les MICI, l'obésité, le diabète, les habitudes de vie sont les facteurs de risque prédominants dans ce type de cancer. Par exemple, plusieurs recherches ont démontré qu'une alimentation riche en fibres, en calcium et en vitamine D contribue à réduire le taux d'incidence du cancer. D'autres études ont dévoilé l'impact de cette alimentation sur le microbiote intestinal, et sur les voies de signalisation de la régulation immunitaire impliquées dans la tumorigenèse de CCR (Liang *et al.*, 2009 ; Bishehsari *et al.*, 2014).

1.3.2 Épidémiologie des CCR

Près de 55% des cas surviennent dans les régions du monde les plus développées. La répartition géographique de l'incidence varie peu entre les 2 sexes mais on observe un facteur 10 entre les pays les plus touchés par ce type de cancer (Australie/Nouvelle Zélande) et les pays où on en dénombre le moins (Afrique de l'Ouest) (Figure 17).

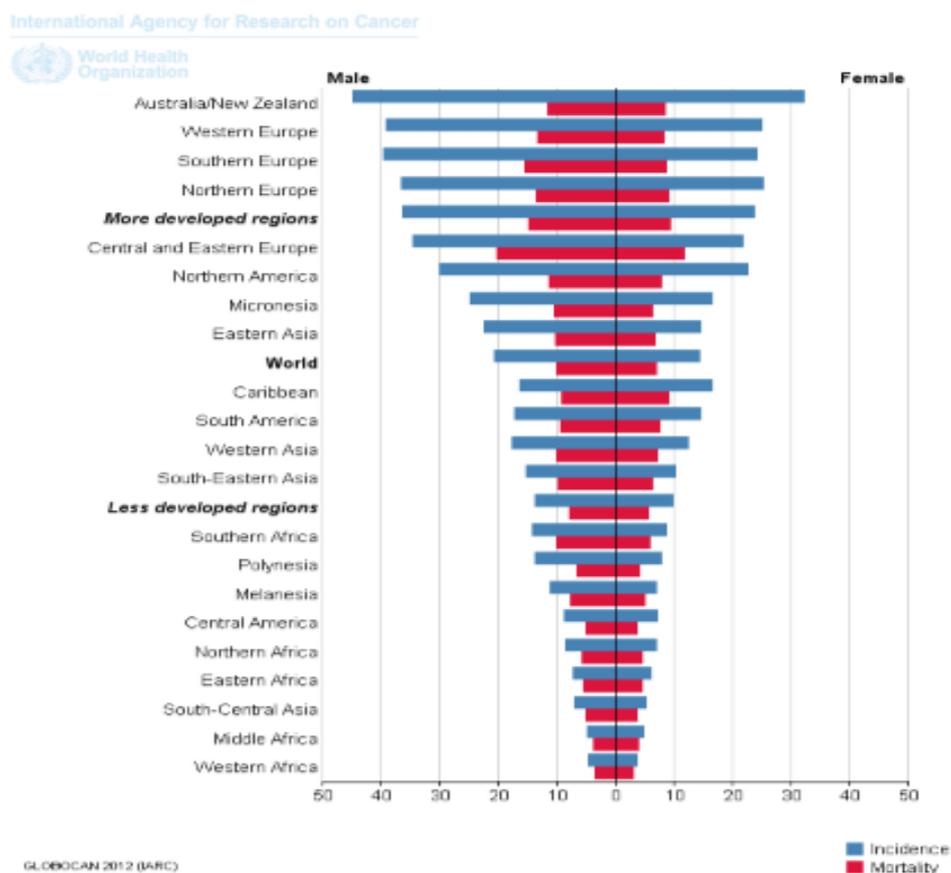


Figure 17 : Incidence et mortalité du cancer colorectal selon l'appartenance géographique
Taux estimé pour 100 000 (standardisé sur l'âge) (GLOBOCAN, 2012).

1.3.3 Physiopathologie des CCR

Environ 5% des cancers colorectaux sont des formes héréditaires dues à des mutations germinales (mutation sur l'ADN d'un gamète) tandis que 95% sont des cancers sporadiques dus à des mutations somatiques (qui ne touchent pas les cellules destinées à la reproduction) spontanées. Ces cancers colorectaux sporadiques peuvent être modulés par un grand nombre de facteurs notamment le mode de vie et l'alimentation (INCA, 2007).

On distingue deux formes de cancers héréditaires : la Polypose Adénomateuse Familiale et le syndrome de Lynch (Lynch *et al.*, 2009).

1.3.3.1 Polypose Adénomateuse Familiale (PAF)

Cette maladie est causée par une mutation du gène suppresseur de tumeur Apc (Adenomatous polyposis coli) sur le bras long du chromosome 5. Les personnes atteintes développent un nombre important d'adénomes précocement. Sans traitement, ces adénomes évoluent

naturellement vers des adénocarcinomes avec un âge moyen d'apparition de 40 ans (Weitz *et al.*, 2005 ; Heinen, 2010).

1.3.3.2 Le syndrome de Lynch

Ce syndrome est causé par une mutation dans la famille de gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariements de l'ADN (Mismatch Repair, MMR). Ces mutations entraînent des accumulations d'insertions/délétions qui peuvent être sur des gènes oncogéniques ou suppresseurs de tumeurs et donc entraîner des effets délétères. Cette maladie se caractérise par des tumeurs colorectales précoces (avant 50 ans) mais aussi par des cancers de l'intestin grêle, de l'endomètre, de l'ovaire, des voies urinaires, de l'estomac et des voies biliaires (Lynch *et al.*, 2009 ; Boland *et al.*, 2010).

2 Pathologies extra-digestives

L'impact du microbiote intestinal sur l'organisme de l'hôte ne se limite pas à un environnement digestif. Les composants microbiens ainsi que les métabolites que le microbiote produit sont des molécules médiatrices capables de traverser la barrière intestinale et d'atteindre la circulation générale. Ces molécules, impliquées dans de nombreuses cascades de signalisation, permettent alors au microbiote de communiquer avec les organes et les tissus périphériques de l'hôte. De nombreux travaux ont ainsi montré qu'une altération de ce dialogue microbiote-hôte peut être associée à divers dysfonctionnements immunitaires, métaboliques et psychologiques chez l'homme (Schroeder *et al.*, 2016).

2.1 Les maladies auto-immunes

2.1.1 Le lupus érythémateux disséminé

Le lupus érythémateux disséminé (LED) est une maladie auto-immune inflammatoire chronique qui évolue par poussées. Cette pathologie se caractérise par une réponse auto-immune dirigée contre des antigènes d'origine nucléaire. Ceci entraîne la production d'auto-anticorps qui peuvent être à l'origine de lésions tissulaires inflammatoires (Emilie, 2018).

Le lupus est une maladie qui peut toucher de nombreux organes pouvant varier d'une personne à une autre et changer au cours de l'évolution de la maladie. Les manifestations les plus fréquentes peuvent être des manifestations rhumatologiques, dermatologiques notamment une éruption cutanée caractéristique au niveau du visage en forme d'ailes de papillon, mais peuvent aussi toucher entre autres les reins, le système nerveux central, le cœur, les poumons et les cellules sanguines (Hachulla *et al.*, 2016).

Les résultats ont clairement montré la présence d'une dysbiose au niveau du microbiote des patients atteints de lupus, avec notamment une augmentation de l'abondance relative en Bacteroidetes. Il a été observé une diminution significative du ratio Firmicutes / Bacteroidetes chez les malades, avec un ratio presque 2,5 fois plus faible.

Une étude (López *et al.*, 2016) de cultures *in vitro* de microbiote isolé d'échantillons de selles de patients atteints de lupus a été réalisée. Il a pu être montré l'activation de lymphocytes CD4 + naïfs et leur différenciation en Th17 dans une plus grande mesure, en comparaison du microbiote fécal de sujets sains. Ceci est intéressant compte tenu du rôle majeur que semble jouer les Th17 dans l'inflammation tissulaire du lupus.

Pour la suite de l'étude, le microbiote des patients atteints de lupus a été enrichi avec des souches connues pour être des inducteurs de cellules lymphocytaire T régulateurs (**Treg**) *Bifidobacterium bifidum* ou l'association de 2 souches de *Clostridia* (*Ruminococcus obeum* DSM25238 et *Blautia coccooides* DSM935). L'ajout du mélange des deux souches de *Clostridia* a montré une réduction significative de l'équilibre Th17 / Th1, alors que la supplémentation en *B. bifidum* empêche la suractivation des lymphocytes CD4 +.

Ces effets suggèrent que des études plus poussées chez l'homme sont nécessaires pour évaluer un bénéfice thérapeutique potentiel des probiotiques contenant des souches inductrices de Treg afin de rétablir le déséquilibre Treg / Th17 retrouvé dans le lupus.

2.2 Les maladies métaboliques

De par son rôle primordial dans le métabolisme de l'hôte, le microbiote intestinal est également impliqué dans les troubles métaboliques tels que l'obésité.

2.2.1 L'obésité

L'augmentation de la prévalence de l'obésité ces dernières années est telle qu'elle ne peut être uniquement due à des facteurs génétiques. Les chercheurs se sont intéressés au microbiote intestinal comme pouvant être un facteur environnemental influençant l'obésité. Son rôle dans le stockage des graisses et l'obésité a donc été récemment investigué.

Des résultats parus dans le journal « *Nature* » en 2006 suggèrent que le microbiote intestinal contribue à l'absorption par l'hôte de glucides et de lipides et régule le stockage des graisses (Turnbaugh *et al.*, 2006). Ces effets seraient liés à l'induction par le microbiote de la lipogenèse hépatique et du stockage des triglycérides dans les adipocytes. D'autre part, la même équipe a montré que le microbiote de souris obèses (ob/ob), comportait une proportion

anormalement élevée de Firmicutes et anormalement basse de Bacteroidetes. De plus, le transfert du microbiote de ces souris obèses à des souris axéniques induisait une augmentation de l'extraction énergétique des aliments ingérés supérieure à celle induite par le transfert d'un microbiote de souris minces. Chez l'homme obèse, il existe, dans le microbiote fécal, une proportion augmentée de Firmicutes et diminuée de Bacteroidetes, comparativement aux sujets minces et la perte de poids semble corrélée avec l'augmentation de la proportion de Bacteroidetes.

2.3 Les maladies cardiovasculaires

2.3.1 L'athérosclérose

L'athérosclérose, première maladie cardio-vasculaire du monde, se caractérise par le dépôt d'une plaque essentiellement composée de lipides (on parle d'athérome) sur la paroi des artères. À terme, ces plaques peuvent entraîner la lésion de la paroi artérielle (sclérose), conduire à l'obstruction du vaisseau, ou encore se rompre, avec des conséquences souvent dramatiques. L'hypercholestérolémie est un des facteurs de risque de la formation d'athérome, tout comme l'âge, la sédentarité, le surpoids, le tabagisme, le diabète ou l'hypertension artérielle (Stepankova, 2010).

Le côlon reçoit jusqu'à 1 g par jour de cholestérol dont 70% proviennent de la bile, 20% de la fraction de l'alimentation non absorbée au niveau de l'intestin grêle et les 10 % restants de la desquamation des muqueuses intestinales (Gérard *et al.*, 2009).

Dès les années 1930, il a été montré que le microbiote intestinal était capable de convertir ce cholestérol en coprostanol, non absorbé par l'intestin et éliminé dans les fèces. Il a ensuite été montré que chez les rats axéniques, c'est-à-dire dépourvus de microbiote intestinal, l'absorption du cholestérol était augmentée, aboutissant à une accumulation plus importante de cholestérol dans le foie par rapport à des rats conventionnels (Sekimoto *et al.*, 1983).

Plusieurs études, réalisées dans les années 1970, ont montré que ce métabolisme du cholestérol suivait une répartition bimodale au sein de la population humaine : chez la majorité des individus, plus de 70% du cholestérol arrivant dans le côlon est ainsi métabolisé par le microbiote, alors que pour une minorité, moins de 20% du cholestérol est transformé. Une étude réalisée sur 17 patients par ailleurs montrait que cette capacité de conversion du cholestérol était inversement corrélée avec le taux de cholestérol sanguin. En d'autres termes, plus le

microbiote exprime une activité élevée de réduction du cholestérol en coprostanol, plus la cholestérolémie serait faible (Sekimoto *et al.*, 1983).

Le microbiote intestinal métabolise également la choline issue des phospholipides d'origine alimentaire, contenus en grande quantité dans les œufs, le lait et la viande en triméthylamine (TMA), un gaz entièrement absorbé qui est ensuite oxydé en TMAO (TMA-N-oxyde) dans le foie. Ce composé, le TMAO, s'est avéré être associé à un plus fort risque de maladie cardiovasculaire chez l'homme (Figure 18) (Wang *et al.*, 2011).

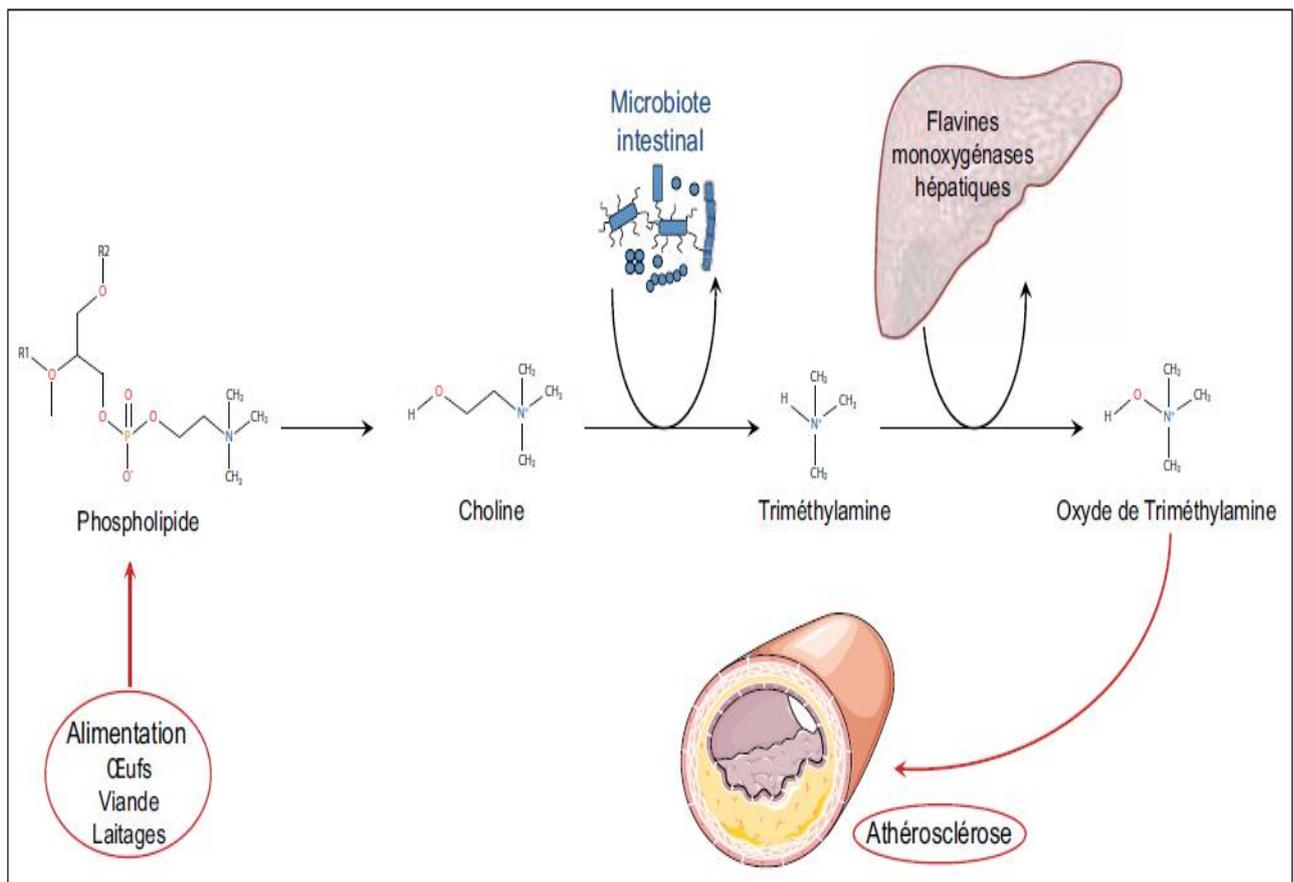


Figure 18 : Métabolisme bactérien des phospholipides alimentaires et athérosclérose.

La choline issue de la digestion des phospholipides alimentaires est convertie par le microbiote en triméthylamine, elle-même oxydée dans le foie, ce qui génère un composé fortement pro athérogène

(<https://www.researchgate.net/publication/253495635>).

Chez la souris, le fait de supplémenter l'alimentation en TMAO ou en choline promeut le développement des plaques d'athérome. Ce phénomène est inhibé si la choline n'est pas administrée par voie orale ou si le microbiote est déplété par un traitement antibiotique, ce qui confirme le rôle du microbiote dans l'action de la choline.

2.4 Les troubles neurologiques

2.4.1 L'autisme

Les troubles du spectre de l'autisme (TSA) résultent d'anomalies du neurodéveloppement. Ils apparaissent précocement au cours de la petite enfance et persistent à l'âge adulte (Emilie, 2018).

La majorité des personnes atteintes de TSA développent des anomalies gastro-intestinales. Les symptômes gastro-intestinaux les plus couramment retrouvés sont la constipation, la diarrhée, l'inconfort abdominal, les ballonnements, les gaz et la distension (Emilie, 2018).

L'étude du microbiote d'enfants souffrants d'autisme montre une augmentation de la diversité bactérienne. De plus, il est observé une modification de la proportion des phyla dominants et notamment du rapport Bacteroidetes/Firmicutes, avec une diminution des Bacteroidetes et une augmentation des Firmicutes (Tomova *et al.*, 2015).

Plusieurs genres bactériens ont été retrouvés en proportions inhabituelles dans la flore des enfants atteints de TSA, tels que les *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridia* et *Desulfovibro*.

De plus, il a été observé que la dysbiose retrouvée chez les enfants atteints de TSA entraîne une diminution de la production d'AGCC et semble augmenter la perméabilité intestinale (Vuong *et al.*, 2017).

Pour témoigner de l'influence des bactéries intestinales sur le comportement, l'administration de certains probiotiques a été étudiée. Par exemple, la consommation pendant 2 mois du probiotique *Lactobacillus casei* conduisait à une diminution de l'anxiété chez des patients atteints du syndrome de fatigue chronique. En 2013, un groupe de chercheurs américains a montré que, chez des souris avec des troubles autistiques, l'intestin contenait moins de bactéries de l'espèce *Bacteroides fragilis* que chez les souris témoins. L'administration de cette souche bactérienne a permis une amélioration des troubles

psychomoteurs liés à l'anxiété et une amélioration de la communication entre individus (Rao *et al.*, 2009 ; Hsiao *et al.*, 2013).

En conclusion, le microbiote intestinal est un facteur déterminant dans de nombreuses pathologies humaines. Celles-ci touchent l'ensemble de l'organisme, du tractus digestif jusqu'au système nerveux central (SNC). La grande majorité de ces troubles présente un caractère inflammatoire associant une perturbation du microbiote intestinal à un dérèglement du système immunitaire (SI). D'autres pathologies, comme les maladies cardio-vasculaires ou l'obésité, mettent en cause un dysfonctionnement du rôle métabolique des bactéries intestinales. Certaines pathologies non citées précédemment ont également été associées au microbiote intestinal notamment le syndrome métabolique, la dermatite atopique, la stéatose hépatique non-alcoolique ou encore les cancers du foie et du sein.

3 Relation de polluant-microbiote et pathologie humaine

Ces dernières années, les polluants organiques persistants (POPs) ont fait l'objet d'une attention particulière car ils sont l'un des nombreux facteurs conduisant à une augmentation de l'obésité, du diabète et de certaines maladies auto-immunes et maladies neurologiques dans le monde. En raison de l'exposition aux POPs et aux produits chimiques d'origine alimentaire, le microbiote intestinal est toujours exposé à ces composés (Neel *et al.*, 2011 ; Jin *et al.*, 2014 ; Jin *et al.*, 2017).

Les polluants environnementaux, le microbiote intestinal et l'hôte interagissent ensemble créant un réseau complexe de connexions dont il est difficile à l'heure actuelle d'en connaître les causes et les conséquences (Figure 19). Il apparaît cependant que les polluants environnementaux perturbent l'homéostasie de l'hôte ainsi que l'équilibre du microbiote intestinal pouvant à son tour favoriser le développement de pathologies chez l'homme (Defois, 2018).

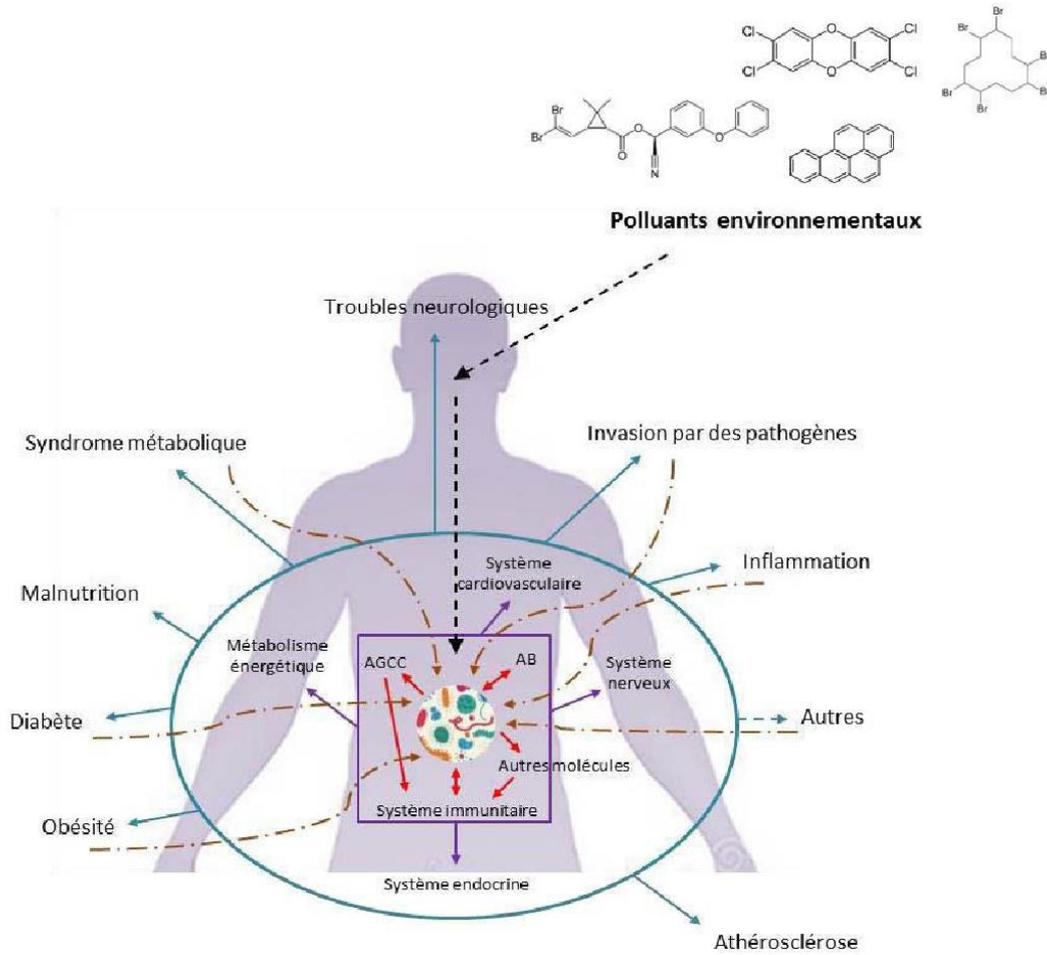
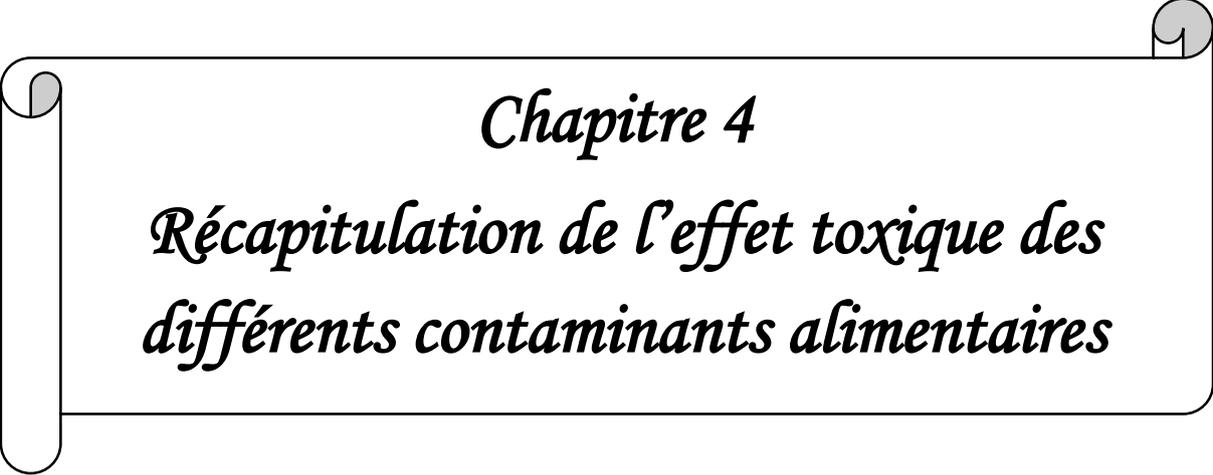


Figure 19 : Impact des polluants environnementaux sur le microbiote intestinal et conséquences sur l’hôte. AB : acides biliaires ; AGCC : acide gras à chaîne courte (Jin *et al.*, 2017).



Chapitre 4

*Récapitulation de l'effet toxique des
différents contaminants alimentaires*

1 L'effet d'expositions humaines aux dioxines et leur relation à l'endocrinologie microbienne

L'être humain est composé de 10^{13} cellules eucaryotes pour environ 10^{14} bactéries. La relation existante entre ces deux entités est normalement positive pour les deux parties. On parle d'un concept de commensalisme pour caractériser cette association bénéfique. On sait aujourd'hui que si cette cohabitation entre hommes et bactéries est possible, bénéfique et indispensable, c'est parce que les deux acteurs établissent un lien de communication efficace.

Au sein du microbiome intestinal, les bactéries sont capables de communiquer entre elles par les mécanismes de quorum sensing et quorum quenching. Curieusement, de manière intéressante, certaines molécules auto-inductrices bactériennes possèdent des homologies de structures importantes avec des hormones eucaryotes. Cette connaissance a rapidement laissé penser que les bactéries sont donc capables de percevoir les signaux eucaryotes tout comme elles percevaient des molécules auto-inductrices des autres procaryotes. Au vu de ces constatations, le concept d'endocrinologie microbienne a pu émerger (Lyte *et al.*, 2009)

Les dioxines (TCDD) sont des contaminants ubiquitaires et omniprésents dans l'environnement. En dehors des expositions accidentelles ou professionnelles, les humains sont exposés par voie alimentaire lors d'ingestion de produits riches en matière grasse (œuf, poissons, lait, viandes). Le CIRC a estimé qu'environ 90% de l'exposition aux dioxines dans la population générale provient de l'ingestion d'aliments contaminés, en raison de l'accumulation de ces composés dans la chaîne alimentaire. Les TCDD sont des polluants persistants, la population générale subit une exposition cumulative à long terme, et les concentrations sanguines de dioxines augmentent avec l'âge (IARC, 2012 ; Consonni *et al.*, 2012).

La classification de la TCDD comme cancérigène pour l'homme par le CIRC repose sur les résultats issus d'études portant sur des populations fortement exposées (aux herbicides contenant des dioxines ou lors d'accidents industriels). Contrairement à la population générale, ces groupes spécifiques ont des niveaux d'exposition beaucoup plus élevés en raison de leur exposition professionnelle. Parmi ces populations historiquement les plus exposées, on retrouve les ouvriers travaillant à la production d'herbicides et chlorophenols ainsi que les applicateurs d'herbicide utilisant des sprays. Les résultats expérimentaux concluent que les TCDD agissent comme des perturbateurs endocriniens via l'activation ou l'inhibition du récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR). Le mécanisme d'action principal de la TCDD en cancérogénèse est la promotion du développement tumoral par activation de la réplication

cellulaire, l'altération de la sénescence cellulaire et de l'apoptose. Le deuxième mécanisme d'augmentation du stress oxydatif. La TCDD n'est pas directement génotoxique mais provoque une augmentation des dérivés réactifs de l'oxygène entraînant des dommages et des mutations de l'ADN (Mandal, 2005 ; IARC, 2012).

2 L'effet des antibiotiques sur la composition du microbiote intestinal

Une meilleure visualisation des modifications du microbiote intestinal induites par les antibiotiques a été rendue possible grâce aux techniques indépendantes de la culture, comme le séquençage métagénomique (Willing *et al.*, 2011). Ce dernier permet de mieux comprendre les modes d'action des antibiotiques sur les cellules bactériennes (Figure 20).

Dans leur étude portant sur des sujets sains traités par ciprofloxacine pendant 5 jours, les chercheurs ont observé que l'administration d'antibiotiques avait un effet rapide en termes de réduction de la diversité bactérienne et de modification de la composition du microbiote intestinal. Malgré un certain degré de résilience, le retour à l'état pré-thérapeutique ne semble pas complet. Une réduction de la diversité bactérienne a été observée à long terme, de même qu'une réduction de la résistance à la colonisation dans les suites de l'administration répétée d'un traitement antibiotique (Dethlefsen *et al.*, 2011).

Les effets de l'antibiothérapie sur le microbiote intestinal sont rapides et profonds. De manière générale, des modifications des quantités et de la composition taxonomique du microbiote intestinal suite à l'administration d'antibiotiques ont été régulièrement rapportées. Les traitements antibiotiques perturbent l'équilibre entre les différents groupes bactériens habituellement retrouvés chez les sujets sains. Ce phénomène de dysbiose permet la colonisation par des souches bactériennes résistantes, potentiellement pathogènes, qui peuvent se multiplier *in situ* suite à l'exposition à une antibiothérapie (Rashid *et al.*, 2011 ; Sullivan *et al.*, 2011 ; Fantin *et al.*, 2011).

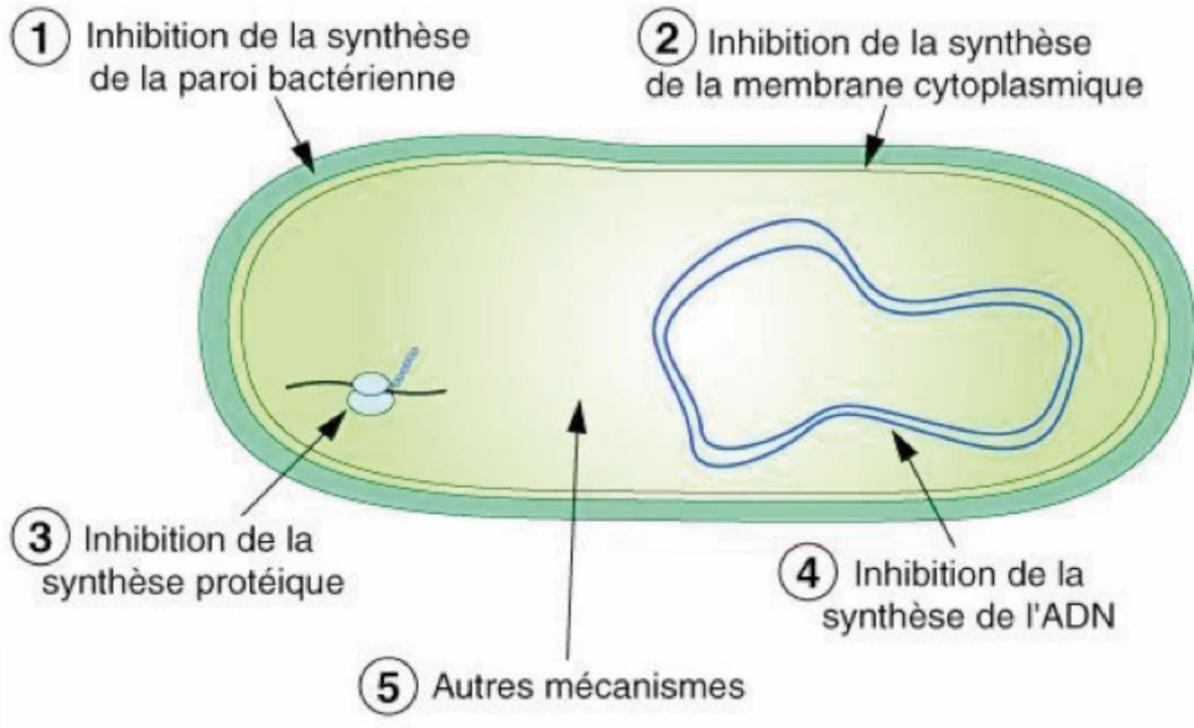


Figure 20 : Cellule bactérienne et modes d'action des antibiotiques (Dethlefsen *et al.*, 2011).

3 L'effet des pesticides sur la fonctionnalité du microbiote intestinal

De nombreuses études montrent que les pesticides peuvent impacter le microbiote intestinal (Figure 20). Le biome intestinal est un écosystème dynamique jouant un rôle prépondérant dans de nombreuses fonctions physiologiques de l'hôte. Des déséquilibres de cet écosystème intestinal ont été associés à de nombreuses pathologies (maladies métaboliques et/ou inflammatoire ou comportementale). Ainsi certaines études suggèrent que les pesticides pourraient indirectement être à l'origine de troubles métaboliques et fonctionnels en affectant le microbiote intestinal. Par ailleurs, une étude récente montre que certains pesticides organophosphorés peuvent être métabolisés par le microbiote intestinal en composés capables de stimuler la néoglucogenèse et ainsi perturber l'homéostasie métabolique (Claus *et al.*, 2016 ; Kakumanu *et al.*, 2016 ; Velmurugan *et al.*, 2017) (Figure 21).

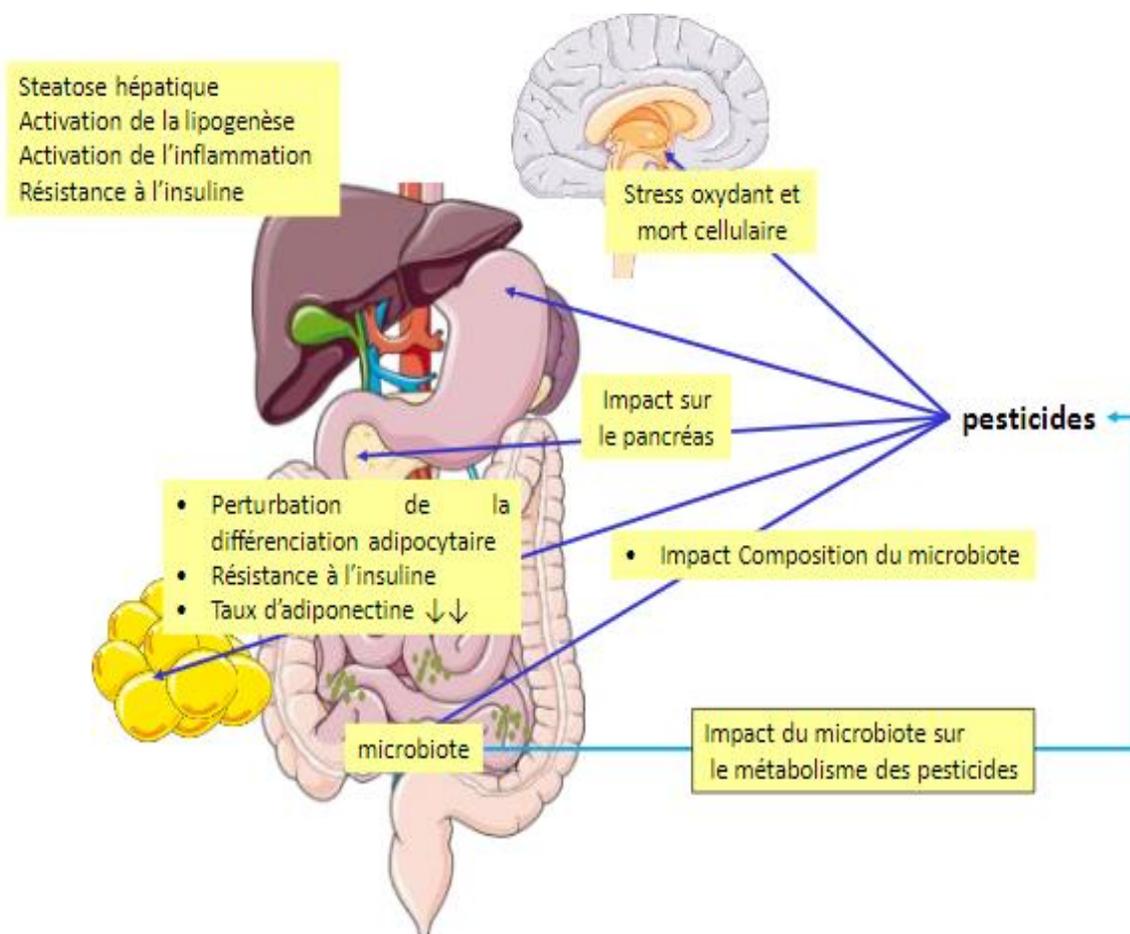


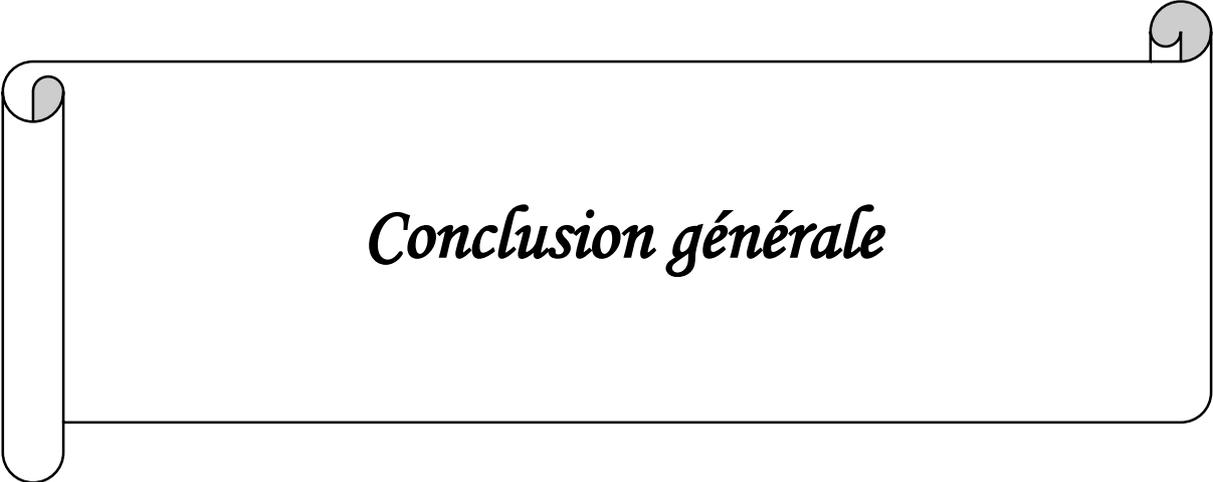
Figure 21 : Exemple de cibles des pesticides conduisant à des perturbations métaboliques au niveau de l'organisme (Kakumanu *et al.*, 2016).

4 L'effet des amines hétérocycliques

Dans la littérature de plusieurs travaux, ou les chercheurs ont étudié les conséquences d'une exposition aiguë du microbiote intestinal humain à un type de contaminants chimiques d'origine alimentaire : la 2-amino-1-méthyl-6-phénylimidazo (4,5-b) pyridine (PhIP) était la molécule d'intérêt. L'analyse des microbiotes digestifs par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) après leur micro extraction en phase solide (SPME) révèle des changements de composition en molécules volatiles en réponse à l'exposition à ce contaminant, avec notamment un déséquilibre de certains composés soufrés, phénoliques et esters. En parallèle, des analyses métatranscriptomiques et des mesures des propriétés inflammatoires montrent un impact sur les taux d'expression des gènes microbiens liés à certaines fonctions du métabolisme (lipides, membranes, ribosome...) et sur

l'établissement d'un état pro-inflammatoire modéré dans l'intestin. Des recherches sont en cours pour valider la robustesse des composés volatils identifiés comme marqueurs candidats d'exposition aux contaminants et pour évaluer leur potentiel informatif pour révéler des modifications de certains pans du métabolisme microbien (Defois *et al.*, 2018).

Ces résultats appuient le concept émergent selon lequel les contaminants alimentaires pourraient altérer les activités du microbiote intestinal.



Conclusion générale

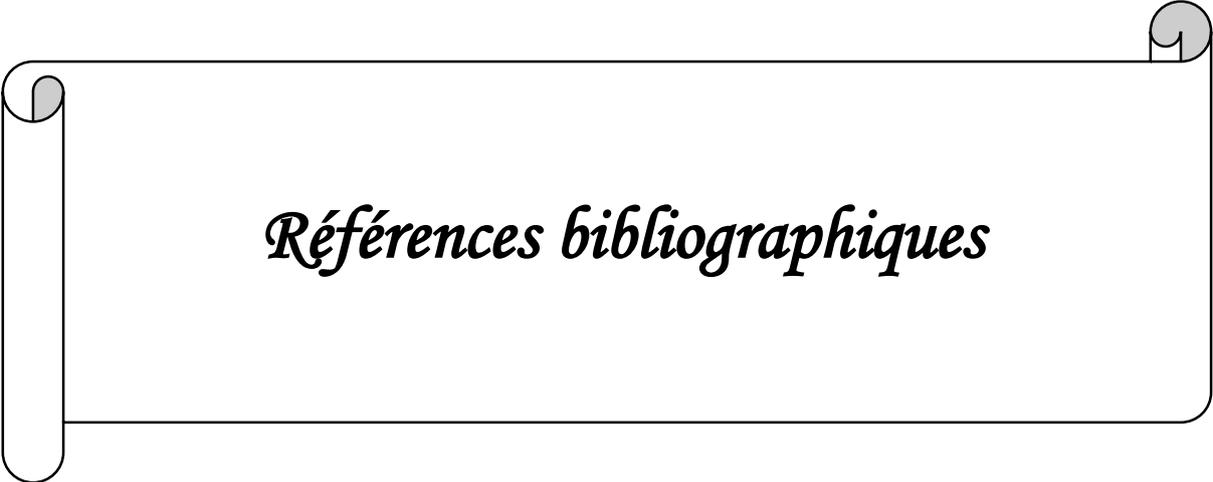
Depuis l'antiquité, l'homme est exposé à des quantités innombrables de molécules chimiques issues des activités humaines (e.g. industrie, transport, agriculture, transformation des aliments) et naturelles (e.g. feux de forêt, volcanisme). Avec la révolution industrielle au cours du XX^{ème} siècle, la production d'une grande diversité de molécules chimiques potentiellement toxiques s'est accentuée avec un risque potentiel d'être déversée accidentellement ou non dans l'environnement. Ces molécules polluantes peuvent contaminer tous les écosystèmes (eau, terre, air) et persistent dans l'environnement, entrent en interaction directe avec les tissus vivants où ils s'accumulent au cours de la production végétale et animale. elles se retrouvent, à terme, transférées dans les produits alimentaires.

Étant donné que la flore intestinale humaine est en contact continue avec le milieu environnemental extérieur ; le microbiote contient environ 10^{14} bactéries. Il présente un écosystème extrêmement complexe. Au-delà de l'étude de sa composition il a été mis en évidence que le microbiote intestinal exerce des fonctions majeures pour la physiologie de l'hôte à la fois métabolique mais aussi d'effet barrière et de maturation du système immunitaire.

Des modifications structurelles et, par conséquent fonctionnelles, du microbiote sont impliquées dans de nombreuses pathologies humaines, notamment digestives et métaboliques. Donc, il n'est pas surprenant de retrouver des altérations de la structure du microbiote intestinal associée à un état pathologique chronique de l'hôte.

Compte tenu de l'interaction complexe qui existe entre l'hôte et le microbiote intestinal. L'homme est soumis à la contamination par de multiples molécules toxiques, telles que les dioxines, les pesticides, les amines hétérocycliques ou encore les antibiotiques.

Ce travail a également souligné l'importance de mieux comprendre le rôle des microorganismes dans le fonctionnement de l'écosystème digestif et plus généralement dans l'homéostasie de son hôte. Etablir le lien entre les populations microbiennes identifiées et les activités métaboliques qu'elles réalisent, reste aujourd'hui un défi majeur en écologie microbienne.



Références bibliographiques

Adamson, R. H., U. P. Thorgeirsson et T. Sugimura. « Extrapolation of heterocyclic amine carcinogenesis data from rodent and non-human primates to human, Arch Toxicol », Supp. 18, 1996, p. 303-318.

Adlerberth, I., Lindberg, E., Aberg, N., Hesselmar, B., Saalman, R., Strannegard, I. L., et al. (2006). « *Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: An effect of hygienic lifestyle?* » *pediatr. Res.* 59, 96-101.

Arpaia N, Campbell C, Fan X, et al. « Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation ». *Nature* 2013 ;504 :451–5

Arrieta, M., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. M., and finlay, B. (2014). « *The intestinal microbiome in early life: health and disease* ». *Front. Immunol.* 5, 427.

Backhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., et al. (2015). « *Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life* ». *Cell Host Microbe* 17, 690-703.

Bezirtzoglou, E. « *The intestinal microflora during the first weeks of life* ». *Anaerobe* 3, n°. 2-3 (juin 1997) : 173-177.

BIOCODEX <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/intestinal>.

Bishehsari F, Mahdavinia M, Vacca M, Malekzadeh R, Mariani-Costantini R. Epidemiological transition of colorectal cancer in developing countries: environmental factors, molecular pathways, and opportunities for prevention. *World J Gastroenterol.* 2014 ;20(20) :6055-72.

Boland, C. R. and A. Goel (2010). "Microsatellite instability in colorectal cancer." *Gastroenterology* 138(6): 2073-2087 e3.

Boonk, W. J. et Van Ketel. « The role of penicillin in the pathogenesis of chronic urticaria », *Brit J Derm*, 106, 1982, p. 183-190.

Boyce, N. « A smoking gun? ». *New Sci*, 157, 2126, 1998, p. 13.

Brandt, L. J., D. Bjorkman, et al. (2002). "Systematic review on the management of irritable bowel syndrome in North America." *Am J Gastroenterol* 97(11 Suppl): S7-26.

Buekens, A., Stieglitz, L., Hell, K., Huang, H., and Segers, P. (2001). « Dioxins from thermal and metallurgical processes: Recent studies for the iron and steel industry ». *Chemosphere* 42, 729–735.

Campeotto, Florence, Anne-Judith Waligora-Dupriet, Florence Doucet-Populaire, Nicolas Kalach, Christophe Dupont, et Marie-José Butel. « [Établissement de la microflore intestinale chez le nouveau-né] ». *Gastroentérologie Clinique Et Biologique* 31, n°. 5 (mai 2007) : 533-542.

Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. L'axe intestin-cerveau : interactions entre le microbiote et les systèmes nerveux central et entérique. *Ann Gastroenterol.* 2015; 28(2) :203-209.

Carole Fumat. (2014) Microbiote et immunité intestinale dans ; Les fondamentaux de la pathologie digestive. Elsevier-Masson. France.

Chang, L., M. Adeyemo, et al. (2012). "Serum and colonic mucosal immune markers in irritable bowel syndrome." *Am J Gastroenterol* 107(2): 262-72.

Chiavarini, M., Bertarelli, G., Minelli, L., and Fabiani, R. (2017). « Dietary Intake of Meat Cooking-Related Mutagens (HCAS) and Risk of Colorectal Adenoma and Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Nutrients* 9, E514.

Chmill, S., Kadow, S., Winter, M., Weighardt, H., and Esser, C. (2010). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-P-Dioxin Impairs Stable Establishment of Oral Tolerance in Mice. *Toxicol. Sci.* 118, 98-107.

Choudhary, S., Sood, S., Donnell, R. L., and Wang, H. C. R. (2012). « Intervention of human breast cell carcinogenesis chronically induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine ». *Carcinogenesis* 33, 876-885.

Chung, W. S. F., Walker, A. W., Louis, P., Parkhill, J., Vermeiren, J., Bosscher, D., et al. (2016). « Modulation of the human gut microbiota by dietary fibres occurs at the species level ». *BMC Biol.* 14, 3.

Claus S.P., Ellero-Simatos S., Guillou H., 2016. The gut microbiota: a major player in the toxicity of environmental pollutants? *NPJ Biofilms Microbiomes* 2017 (3): 17001.doi :10.1038/npjbiofilms.2017.1

Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol* 2012 ; 10 : 735-742 [PMID : 23000955 DOI : 10.1038/nrmicro2876]

Conlon, M. A., and Brid, A. R. (2015). « *The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health* ». *Nutrients* 7, 17-44.

Consonni D, Sindaco R, Bertazzi PA. 2012. « Blood levels of dioxins, furans, dioxin-like PCBs, and TEQs in general populations » : a review, 1989-2010. *Environ Int* 44 :151±162; doi: 10.1016/j.envint.2012.01.004.

Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011 May ;140(6) :1785–94

Costello EK, Carlisle EM, Bik EM, Morowitz MJ, Relman DA. (2013) Microbiome assembly across multiple body sites in low-birthweight infants. *MBio*. 29; 4(6)

Costello, E. K., Stagaman, K., Dethlefsen, L., Bohannon, B. J. M., and Relman, D. A. (2012). « *The application of ecological theory towards an understanding of the human microbiome* ». *Science* (80-336, 1255-1262.

CPP : Comités de Protection des Personnes, 2002. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. *Comité de la EFSA* (2012b). « Update of the monitoring of levels of dioxins and PCBs in food and feed ». *EFSA J*. 10, 2832–2914.

David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., et al. (2014). « Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome ». *Nature* 505, 559-563.

Defois C, Ratel J, Garrait G, Denis S, Le Goff O, Talvas J, Mosoni P, Engel E, Peyret P (2018). HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30030472" Les produits chimiques alimentaires perturbent l'activité du microbiote intestinal humain et ont un impact sur l'homéostasie intestinale, comme l'ont révélé les systèmes in vitro. HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30030472" *Scientific reports*, 8(1), 11006

Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, & Relman DA (2008) « [Les effets omniprésents d'un antibiotique sur le microbiote intestinal humain, révélés par le séquençage profond de l'ARNr 16S] ». *Plos Biology* 6(11) : E280.

Disponible sur : <http://neovacs.fr/wp-content/uploads/cp-04-05-16.pdf>.

Dominguez-Bello, Maria G, Elizabeth K Costello, Monica Contreras, Magda Magris, Glida Hidalgo, Noah Fierer, et Rob Knight. « *Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns* ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, n°. 26 (juin 29, 2010): 11971-11975.

Dragan, Y. P., and Schrenk, D. (2000). Animal studies addressing the carcinogenicity of TCDD (or related I compounds) with an emphasis on tumour promotion. *Food Addit. Contam.* 17, 289-302.

Drossman, D.A. (1995). Diagnosing and treating patients with refractory functional gastrointestinal disorders. *Annals of Internal Medicine*, 123 (9), 688-697.

Ducrotte, P. (2010). « [Microbiota and irritable bowel syndrome]. » *Gastroenterol Clin Biol* 34 Suppl 1: S52-6

Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. « [Diversité de la flore microbienne intestinale humaine] ». *Science* 2005 ;308 :1635-1638

Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 10 ; 308(5728) :1635-8.

Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 10; 308(5728) :1635-8.

EFSA (2012b), Update of the monitoring of levels of dioxins and PCBs in food and feed. *EFSA J*,10 2914.

EFSA (2015). « Scientific statement on the health-based guidance values for dioxins and dioxin-like PCBs ». *EFSA J*. 13, 4124. Doi : 10.2903/j.efsa.2015.4124.

Emilie Dolié (2018) Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en pharmacie. France : Université Toulouse III Paul Sabatier, p 21-31.

Emilie Dolié (2018) Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en pharmacie. France : UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER, p 21-31.

Falony, G Joossens, M., Vieira-Silva, S, Wang, L, Darzi, Y, Fanst, K, et al (2016) « Population-level analysis of gut microbiome variation ». *Science* (80-) 352, 560-564.

Fantin B & De Lastours V (2015) « [Impact des fluoroquinolones sur le microbiote humain. Focus sur l'émergence de la résistance aux antibiotiques »]. *Future Microbiology* 10(7) :1241-1255.

FAO (Food and agriculture Organisation) et OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Rapport sur les considérations générales des réunions conjointes FAO/OMS de 1997 et de 1998 sur les résidus de pesticides.

Felton, J. S. et coll. « Health risk of heterocyclic amines », *Muta Res*, 376, 1-2,1997, p. 37-41.

Flint HJ, Scott KP, Louis P, et al. « Le rôle du microbiote intestinal dans la nutrition et la santé ». *Nature Rev Gastroenterol Hepatol* 2012 ;9 :577–89

Fukiya S, Arata M, Kawashima H, Yoshida D, Kaneko M, Minamida K, Watanabe J, Ogura Y, Uchida K, Itoh K, Wada M, Ito S, Yokota A. « Conversion of cholic acid and chenodeoxycholic acid into their 7-oxo derivatives by *Bacteroides intestinalis* AM-1 isolated from human feces ». *FEMS Microbiol Lett* 2009 ; 293 : 263-270 [PMID : 19243441 DOI : 10.1111/j.1574-6968.2009.01531.x]

Furness JB et al. In *Microbial Endocrinology: « The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease »* (eds. Lyte M, Cryan JF). Springer New York. 2014 ;817 :39-71

Gérard P. GI tract: microbial metabolism of steroids. In: “Microbiology of Hydrocarbons, Oils, Lipids, and Derived Compounds”, K.N. Timmis, ed. Springer Verlag GmbH. Heidelberg, 2009; 4: 3133-40

Gérard P. GI tract: microbial metabolism of steroids. In: “Microbiology of Hydrocarbons, Oils, Lipids, and Derived Compounds”, K.N. Timmis, ed. Springer Verlag GmbH. Heidelberg, 2009 ; 4 : 3133-40.

Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn’s disease. *Cell Host Microbe*. 2014 Mar 12 ;15(3) :382–92.

González-Barbosa, E., Mejía-García, A., Bautista, E., Gonzalez, F. J., Segovia, J., and Elizondo, G. (2017). TCDD induces UbcH7 expression and synphilin-1 protein degradation in the mouse ventral midbrain. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, e21947.

Graham DB, Xavier RJ. From genetics of inflammatory bowel disease towards mechanistic insights. *Trends Immunol*. 2013 Aug ;34(8) :371–8.

Griggs, A. M., Agim, Z. S., Mishra, V. R., Tambe, M. A., Director-Myska, A. E., Turteltaub, K. W., et al. (2014). « 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP) is selectively toxic to primary dopaminergic neurons In Vitro ». *Toxicol. Sci.* 140, 179-189.

Hachulla, Eric et Jean Sibilia. 2016 « Diagnostic, traitement et prise en charge du lupus érythémateux systémique : les avancées de la recherche ».

Han, M., Liu, X., Liu, S., Su, G., Fan, X., Chen, J., et al. (2017). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces hepatic stellate cell (HSC) activation and liver fibrosis in C57BL6 mouse via activating Akt and NF- κ B signaling pathways. *Toxicol. Lett.* 273, 10-19.

Heinen (2010). "Genotype to phenotype: analyzing the effects of inherited mutations in colorectal cancer families." *Mutation research* 693(1-2): 32-45.

Heinritz, S. N., Weiss, E., Eklund, M., Aumiller, T., Heyer, C. M. E., Messner, S., et al. (2016). Impact of a high-fat or high-fiber diet on intestinal microbiota and metabolic markers in a pig model. *Nutrients* 8, 1 E317.

Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. « Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine ». *Science* 291: 881–884, 2001.

Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. « Micro_biota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders ». *Cell* 2013; 155:1451–63

<http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/index-fra.php>. Consulté le 5 -2 2010.

<http://www.record-net.org/>

Huttenhower C, Kostic AD, Xavier RJ. Inflammatory bowel disease as a model for translating the microbiome. *Immunity* 2014 ;40 :843-54. Doi: 10.1016/j.immuni.2014.05.013

IARC (2012b). « [Monographies sur l'évaluation des risques cancérigènes pour l'homme] ». Volume 100F-27.

IARC, ed. 2012. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, volume 100 F, chemical agents and related occupations: this publication represents the views and expert opinions of an IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, which met in Lyon, 20 - 27 October 2009. IARC: Lyon.

INERIS : national de l'environnement industriel et des risques (2006). « [Dioxines-Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques] ».

Jacob, A., Tomkiewicz-Raulet, C., Jamet, C., Bendayan, R., Massicot, F., Coumoul, X., et al. (2017). Aryl hydrocarbon receptor upregulates IL-1 β expression in hCMEC/D3 human cerebral microvascular endothelial cells after TCDD exposure. *Toxicol. Vitro*. 41, 200-204.

Jimenez, E., Fernandez, L., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Nueno-Palop, C. et al. (2005) « Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section ». *Curr Microbiol* 51: 270-274.

Jin, Y., Miao, W., Lin, X., Wu, T., Shen, H., Chen, S., et al. (2014). « Sub-chronically exposing mice to a polycyclic aromatic hydrocarbon increases lipid accumulation in their livers ». *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 38, 353-363.

Jin, Y., Wu, S., Zeng, Z., and Fu, Z. (2017). « Effects of environmental pollutants on gut microbiota ». *Environ. Pollut.* 222, 1-9.

Kakumanu M.L., Reeves A.M., Anderson T.D., Rodrigues R.R., Williams M.A., Williams M.A., 2016. « [Le microbiome intestinal des abeilles est altéré par les expositions aux pesticides dans la ruche] ». *Front Microbiol*, 7,1–11

Kelly Biaggini (2019) Etude du dialogue système entéro-endocrinien/microbiote intestinal. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en microbiologie. France : Université de Rouen-Normandie, p10.

Khachatourians, G. G. « Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic resistant bacteria », *Can Med Assoc J*, 159, 1998, p. 2-16.

Layton, D. W., Bogen, K. T., Knize, M. G., Hatch, F. T., Johnson, V. M., and Felton, J. S. (1995). « Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research ». *Carcinogenesis* 16, 39-52.

Ley, R. E., Peterson, D. A., and Gordon, J. I. (2006). « Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine ». *Cell* 124, 837-848.

Ley, R.E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P.J., Ramey, R.R., Bircher, J.S. et al. (2008) « Evolution of mammals and their gut microbes ». *Science* 320: 1647-1651

Li, G., Wang, H., Liu, A. B., Cheung, C., Reuhl, K. R., Bosland, M. C., et al. (2012). « Dietary Carcinogen 2- Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo [4,5- b] Pyridine Induced Prostate Carcinogenesis in CYPIA- humanized Mice ». *Cancer Prev Res* 5, 963-972.

Liang PS, Chen TY, Giovannucci E. Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer.* 2009 ;124(10) :2406-15.

López, Patricia, Banesa de Paz, Javier Rodríguez-Carrio, Arancha Hevia, Borja Sánchez, Abelardo Margolles, et Ana Suárez. 2016. « Th17 Responses and Natural IgM Antibodies Are

Related to Gut Microbiota Composition in Systemic Lupus Erythematosus Patients ». Scientific Reports 6 (avril) : 24072.

Lynch, H. T., P. M. Lynch, S. J. Lanspa, C. L. Snyder, J. F. Lynch and C. R. Boland (2009). "Review of the Lynch syndrome: history, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications." Clin Genet 76(1): 1-18.

Lyte M, Li W, Freestone PP, Ajmal A, Colmer-Hamood JA, Hamood AN (2009) « Norepinephrine represses the expression of toxA and the siderophore genes in *Pseudomonas aeruginosa* ». FEMS Microbiol Lett 299(1) :100–109

Macfarlane, G. T., and G. R. Gibson. 1996. » Carbohydrate fermentation, energy transduction and gas metabolism in the human large intestine », p. 269–318. In R. I.

Mackie and B. A. White (ed.), Ecology and physiology of gastrointestinal microbes, vol. 1. « Gastrointestinal fermentations and ecosystem ». Chapman & Hall, New York, N.Y

Mackie, R., Sghir, A., and Gaskins, H.R. (1999) « Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract ». American Journal of Clinical Nutrition 69 : 1035S-1045S

Manabe, S., Suzuki, H., Wada, O., and Ueki, A. (1993). « Detection of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenyl-imidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in beer and wine ». Carcinogenesis 14, 899-901.

Mandal PK. 2005. « Dioxin: a review of its environmental effects and its aryl hydrocarbon receptor biology». J Comp Physiol [B] 175 :221±230; doi :10.1007/s00360-005-0483-3.

Marteau , S.P., *Microbiote intestinale*. EMC - Gastro-entérologie, 2017. 12 : p. p. 1-8.

Mazmanian, S.K., Liu, C.H., Tzianabos, A.O., and Kasper, D.L. (2005) « An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. Cell 122 : 107-118.

Morad chiguer (2019) microbiote intestinale et risque cardiovasculaire. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en médecine. Maroc : Université Mohammed v de Rabat, p 36.

Naccari, C., Galceran, M. T., Moyano, E., Cristani, M., Siracusa, L., and Trombetta, D. (2009). « Presence of heterocyclic aromatic amines (HAS) in smoked "Provola" cheese from Calabria (Italy) ». Food Chem Toxicol. 47, 321-327. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.018>.

National Toxicology Program (2016). Report on Carcinogens, Fourteenth Edition_Heterocyclic Amines.

Neel, B. A., and Sargis, R. M. (2011). « [Le paradoxe du progrès : perturbation environnementale du métabolisme et épidémie de diabète] ». *Diabetes* 60, 1838-1848.

Neu, H. C. « The crisis in antibiotic resistance », *Science*, 257, 1992, p. 1064-1073.

Ohman, L. and M. Simren (2010). "Pathogenesis of IBS: role of inflammation, immunity and neuroimmune interactions." *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*7(3): 163-73.

Pais, P., Salmon, C. P., Knize, M. G., and Felton, J. S. (1999). « Formation of Mutagenic/Carcinogenic Heterocyclic Amines in Dry-Heated Model Systems, Meats, and Meat Drippings ». *J. Agric. Food Chem* 47, 1098-1108.

PANISSET, Jean-Claude, DEWAILLY, E., DOUCET-LEDUC, Hélène, et al. Contamination alimentaire. *Environnement et santé publique-Fondements et pratiques*, 2003, p. 369-395.

Pelfrène A. (2016) Bioaccessibilité des polluants métalliques. Apport à l'évaluation de l'exposition des populations vivant sur des sites contaminés. HDR, 19 juillet 2016 <http://www.ecologie.gouv.fr/ CPP-Rapport-2002-02>

Peterson, L.W., and Artis, D. (2014). « Intestinal epithelial cells: Regulators of barrier function and immune homeostasis ». *Nat. Rev. Immunol.* 14, 141–153.

Probst-Hensch, N. M. et coll. « Meat preparation and colorectal adenomas in a large sigmoidoscopy-based case-control study in California (United States) », *Cancer Causes Control*, 8, 2, 1997, p.175-183.

Qin, J Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., et al. (2010). « A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing ». *Natura* 464, 59-67.

Rao AV, Bested AC, Beaulne TM, Katzman MA, Iorio C, Berardi JM, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog* 2009;1

Rashid MU, Weintraub A, & Nord CE (2015) « [Développement d'une résistance aux antimicrobiens dans le microbiote anaérobie normal pendant un an après l'administration de clindamycine ou de ciprofloxacine] ». *Anaerobe* 31 :72-77.

Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Cheng, J., Duncan, A. E., Kau, A. L., et al. (2013). Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* (80-). 341, 1241214.

Santé Canada (2008a). Aliments et nutrition – Contaminants chimiques.

Schwarz, M. a, Lindtner, O., Blume, K., Heinemeyer, G., and Scheider, K. (2014). « Dioxin and dl-PCB exposure from food: the German LExUKon projet. *Food addit* ». *Contam.Part A* 31, 688–702.

Sekimoto H, Shimada O, Makanishi M et al. « Interrelationship between serum and fecal sterols ». *Jpn J Med* 1983; 22: 14-20.

Sekimoto H, Shimada O, Makanishi M et al. Interrelationship between serum and fecal sterols. *Jpn J Med* 1983 ; 22 : 14-20.

Sonnenburg, J.L., Xu, J., Leip, D.D., Chen, C.-H., Westover, B.P., Weatherford, J. et al. (2005) « Glycan Foraging in Vivo by an Intestine-Adapted Bacterial Symbiont ». *Science* 307: 1955-1959.

Sophie MARRE , pascal MOSONI et pierre PEYRET (2000) Effets des polluants environnementaux et alimentaires sur le microbiote intestinal. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du doctorat en toxicologie. France : Université Clermont Auvergne, INRAE, Clermont-Ferrand, p 3-5.

Stasi, C., M. Rosselli, et al. (2012). "Altered neuro-endocrine-immune pathways in the irritable bowel syndrome: the top-down and the bottom-up model." *J Gastroenterol* 47(11): 1177-85.

Stepankova R, Tonar Z, Bartova J et al. Absence of microbiota (germfree conditions) accelerates the atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed standard low cholesterol diet. *J Atheroscler Thromb* 2010 ; 17 : 796-804.

Sullivan A, Edlund C, & Nord CE (2001) « [Effet des agents antimicrobiens sur l'équilibre écologique de la microflore humaine] ». *The Lancet. Infectious Diseases* 1(2) :101-114.

Tap J, Mondot S, Levenez F, Pelletier E, Caron C, Furet JP, Ugarte E, Muñoz-Tamayo R, Paslier DL, Nalin R, Dore J, Leclerc M. (2009) Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ Microbiol.* 11(10):2574-2584.

Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., Furet, J.-P., et al. (2009). « Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core ». *Environ. Microbiol.* 11, 2574-84

Taylor DP, Burt RW, Williams MS, Haug PJ, Cannon-Albright LA. Population based family history-specific risks for colorectal cancer: a constellation approach. *Gastroenterology*. 2010 ;138(3) :877-8

Tomova, Aleksandra, Veronika Husarova, Silvia Lakatosova, Jan Bakos, Barbora Vlkova, Katarina Babinska, et Daniela Ostatnikova. 2015. « [Microbiote gastro-intestinal chez les enfants autistes en Slovaquie] ». *Physiology & Behavior* 138 (janvier) : 17987.

Tremaroli V, Backhed F. (2012) Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 489, 242-249.

Tremaroli V, Backhed F. (2012) Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 489, 242-249.

Trompette, A., Gollwitzer, E. S., Yadava, K., Sichelstiel, A. K., Sprenger, N., Ngom-Bru, C., et al. (2014). « Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis ». *Nat. Med.* 20, 159-166.

Tuomisto, J., Vartiainen, T., and Tuomisto, J.T. (2011). Synopsis on Dioxins and PCBs.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. « An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest ». *Nature* 2006; 444:1027–31.

Turnbaugh, P. J., Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Knight, R., and Gordon, J. I. (2009b). The effect of Diet on the Human Gut Microbiome: A Metagenomic Analysis in Humanized Gnotobiotic Mice. *Sci. Transl. Med.* 1, 6ra14.

Velmurugan G., Ramprasath T., Swaminathan K., Mithieux G., Rajendran J., Divakar M., et al., 2017. « Gut microbial degradation of organophosphate insecticides-induces glucose intolerance via gluconeogenesis ». *Genome Biol* [Internet],18(1) :8. Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28115022>

Verdu, E. F., Galipeau, H. J., and Jarbi, B. (2015). « Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota ». *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 12, 497-506.

Vidlock, E. J., M. Adeyemo, et al. (2009). "Childhood trauma is associated with hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness in irritable bowel syndrome." *Gastroenterology* 137(6): 1954-62.

Vuong, Helen E. et Elaine Y. Hsiao. 2017. « Rôles émergents du microbiome intestinal dans les troubles du spectre autistique ». *Biological psychiatry* 81 (5) : 41123.

- Walker, A. W., Ince, J., Duncan, S. H., Webster, L. M., Holtrop, G., Ze, X., et al. (2011). « [Groupes de bactéries dominants et sensibles au régime alimentaire au sein du microbiote colique humain] ». *ISME J.* 5, 220-230.
- Walter J, Ley R. 2011 Le microbiome intestinal humain : écologie et changements évolutifs récents. *Annu Rev Microbiol.* 2011; 65 :411-29.
- Wampach, L., Heintz-Buschart, A., Hogan, A., Muller, E. E. L., Narayanasamy, S., Laczny, C. C., et al. (2017). « *Colonization and Succession within the Human Gut Microbiome by Archaea, Bacteria, and Microeukaryotes during the first Year of life* ». *Front. Microbiol.* 8,738.
- Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ et al. « Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease ». *Nature* 2011; 472: 57-63.
- Weitz, J. r., M. Koch, J. r. Debus, T. HÄihler, P. R. Galle and M. W. BÄ¼chler (2005). "Colorectal cancer." *Lancet* 365(9454): 153-165
- WHO (1998). « Assessment of the health risk of dioxins: Re-evaluation of the tolerable daily intake (TDI) ». Doi :10.1080/713810655.
- WHO, and IARC (1993). « Some Naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins ».
- Willing BP, Russell SL, & Finlay BB (2011) « Shifting the Balance: Antibiotic Effects on HostMicrobiota Mutualism ». *Nature Reviews Microbiology* 9(4) :233-243.
- Woting, A., and Blaut, M. (2016). « [Flore intestinale dans les maladies métaboliques] ». *Nutrients* 8, 202.
- Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y., Keilbaugh, S. A., et al. (2011). « Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes ». *Science* (80-). 334, 105-108.
- Zhang, J., Guo, Z., Xue, Z., Sun, Z., Zhang, M., Wang, L., et al. (2015a). A phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities. *ISME J.* 9, 1979– 1990.
- Zivkovic, A. M., German, J. B., Lebrilla, C. B., and Mills, D. A. (2011). « [*Le glycobioime du lait maternel et son impact sur le microbiote gastro-intestinal du nourrisson*] ». *PNAS* 108, 4653-4658.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

L'effet de contaminants chimiques alimentaires sur le microbiote intestinal humain

La population humaine est exposée à de très nombreux contaminants chimiques environnementaux et alimentaires (métaux lourds, pesticides, polluants organiques persistants, additifs alimentaires et produits néoformés...). Ces expositions pourraient perturber le microbiote intestinal ; le rôle majeur de ce dernier est de maintenir l'homéostasie du tractus gastro-intestinal, et plus généralement dans celle de son hôte. À ce titre, de nombreuses pathologies humaines sont associées à une dysbiose de ce microbiote intestinal, tels que les cancers colorectaux, les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), les troubles du métabolisme ou encore les maladies auto-immunes. Ces pathologies ont une étiologie mal connue et multifactorielle dans laquelle l'environnement semble jouer un rôle clé. Parmi les différentes substances polluantes répertoriées dans ce travail, l'objectif était d'étudier les conséquences d'exposition du microbiote intestinal humain à différents types de contaminants chimiques d'origine alimentaire : pesticides, des dioxine (TCDD), des antibiotiques et une amine aromatique hétérocyclique (PhIP)

Mot clés : contaminant chimique alimentaire, microbiote intestinal, dysbiose, pathologies humaines.

Membre du jury :

Présidente du jury : *Mme. Boultifat Lynda (Maître de conférences B, UMC1)*

Rapporteur : *Mme. ARABET Dallel (MCA - UFM Constantine).*

Examinatrice : *Mlle. Bouchloukh Warda (Maître de conférences B, UMC1)*

Présentée par : Laib Maroua

Soualmia Manel

Hamada Oumaima

Année universitaire : 2020-2021

