

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – BEJAIA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Spécialité Microbiologie Fondamentale



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

**Thème :**

*Implication du microbiome humain  
dans les différents cancers*

**Présenté par :**

*BOUDJADI Chahrazed & SAADA Nedjma*

**Devant le jury composé de :**

Mr.DJOUDI F.	(MCA)	Encadreur
Mr.KECHA M.	(PR)	Président
Mme.ZENATI K.	(MCB)	Examinatrice.

**Année universitaire : 2021-2022**

# *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Le travail de recherche présenté dans ce manuscrit n'aurait pu être accompli sans l'aide, le soutien et les encouragements de nombreuses personnes que nous sommes heureuses de pouvoir remercier ici.*

*Nos profondes reconnaissances s'adressent particulièrement au professeur BEN AIBOUCHÉ et aux médecins (PR. BELKHARCHI, Dr BENKHELATE, Dr HAKIMI, Dr MOUSSI, Dr KEZZOUL...) pour leur engagement et l'accompagnement dont on a bénéficié durant notre période de stage, ainsi qu'à tout le personnel de l'hôpital.*

*Nos sincères et intenses remerciements s'adressent aux membres de jury qui ont accepté de juger ce travail.*

*On remercie également notre promoteur Mr Ferhat DJOUDI de nous avoir initiées, accompagnées et encadré tout au long de ce travail, ainsi que ça doctorante.*

*Plus largement on tient à remercier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, ainsi tous nos collègues de la promotion 2021 /2022, qui ont fait de cette année une expérience très enrichissante.*



*B. Chahrazed & S. Nedjma -*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A toi ma sœur, ma meilleure amie, celle qui a toujours été là pour moi et de m'avoir supporté et encouragé durant tout notre parcours d'étude et de vie et d'avoir su être toujours là pour moi mon binôme de cœur et de vie ma djimou d'amour.*

*A ma chère MAMAN, la prunelle de mes yeux, merci pour tout ton amour, ton soutien et tes encouragements et une pieuse pensée a mon cher défunt PAPA chéri parti trop tôt.*

*A mes sœurs chéries CYRIA et AMIRA et mon petit neveu ISHAQ LYES qui ont toujours été là pour moi et mon soutenu et encourager à devenir la meilleure version de moi-même.*

*A mes chers grands parents qui ont éclairé mon chemin et qui m'ont encouragé et soutenu tout au long de mes études, ainsi qu'a tout mes oncles et tantes, cousins et cousines.*

*A ma deuxième famille ma tata chérie HAYET, mes sœurs de cœur LYDIA et MELISSA, merci pour l'encouragement, le soutien et l'amour que vous m'apporter.*

*A mes meilleures amies d'amour AMIRA et LITICIA qui ont toujours été là pour moi.*

*A LAMINE, mon meilleur merci d'avoir toujours été là a mes cotés, a trouver les bon mots pour m'encourager et me soutenir dans toutes les épreuves.*



*B. Chahrazed -*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A La personne la plus chère à mon cœur qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de notre parcours, ma sœur et meilleure amie, ma petite CHARLOTTE, les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi, merci pour ces belles années et ces bons souvenirs.*

*A mes chers Parents, je vous dois ma réussite, mon éducation, ma fierté et ma réussite, que Dieu tout puissant vous bénisse et vous garde.*

*A mes chers frères SAMIR et KARIM et RIAD, pour votre amour, soutien et sacrifices que vous avez déployés.*

*À mes chères sœurs MELISSA et LYDIA et son mari FARES qui m'ont accompagné, et soutenu dans les bons et les mauvais moments, ainsi qu'à mes belles sœurs NADIA et NOUNOU, merci pour votre présence. Sans oublier mes petits neveux chéris AMINE, AMIR et ISLAM.*

*A mes chers grands parents, qui ont contribué à ma réussite et qui ont toujours cru en moi.*

*A mes tantes chéries, cousins et cousines merci d'avoir toujours été à mes côtés pour m'encourager, ainsi qu'à mes oncles.*

*A ma deuxième famille ma tata chérie RAZIKA, mes sœurs de cœur CYRIA et AMIRA, ainsi que ma copine AMIRA merci pour l'encouragement, le soutien et l'amour que vous m'apportez.*

*A MOURAD, merci d'avoir été là à chaque fois que j'en avais besoin et de m'avoir soutenu, encouragé et cru en moi.*



*S.Nedjma -*

# *Sommaire*

# Sommaire

---

## Remerciements

## Dedicace

## Sommaire

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Introduction generale ..... 1

### Partie theorique

#### Chapitre I

#### Microbiome humain

I.1. Définitions et généralités.....	5
I.2. Constitution du mimicrobiome .....	5
I.2.1. Le mode d'accouchement.....	6
I.2.2. Âge gestationnel à la naissance .....	6
I.2.3. Modes d'allaitement .....	7
I.2.4. Les antibiotiques .....	7
I.2.5. Environnement et mode de vie.....	8
I.2.6. La Génétique de l'hôte.....	8
I.3. La diversité du microbiome.....	9
I.3.1. Le microbiote intestinal.....	12
I.3.2. Le microbiote intestinal normale.....	12
I.3.3. La flore intestinale et son évolution chez les humains.....	14
I.3.3.1. L'âge.....	14
I.3.3.2. L'alimentation .....	14
I.3.3.3. Les antibiotiques et médicaments .....	14
I.3.3.4. Mode d'accouchement à la naissance .....	15
I.3.4. Le rôle du micro biote intestinal .....	15
I.3.4.1. Effet de barrière.....	15
I.4. Le microbiome gastrique.....	16
I.4.1. Composition du microbiome gastrique sain.....	16
I.4.2. Caractérisation du microbiote gastrique.....	17
I.4.3. Le rôle du microbiote gastrique .....	18
I.4.4. Le microbiome du foie .....	18
I.4.4.1. Composition du microbiote du foie.....	18
I.4.4.2. Le rôle du microbiote du foie.....	19

# Sommaire

---

## Chapitre II

### Cancers et microbiomes

II.1. Cancer définitions et rappels.....	21
II.1.1. Quelle est la différence entre une tumeur et un cancer.....	21
II.1.2. Cancer de l'estomac.....	21
II.1.3. Cancer colorectal.....	22
II.1.3.1. Cancer du foie.....	22
II.2. Infections et cancer.....	23
II.3. Le microbiome et cancers.....	24
II.3.1. Dysbiose bactérienne dans la cancérogénèse.....	24
II.3.1.1. Dysbiose bactérienne dans la cancérogénèse foie.....	24
II.3.1.2. Dysbiose bactérienne dans la cancérogénèse gastrique.....	25
II.3.1.3. Dysbiose bactérienne dans la cancérogénèse colorectale.....	26
II.4. Implication du microbiote dans les différents cancers.....	27
II.4.1. Microbiome et cancer du foie.....	27
II.4.2. Microbiote et carcinome hépatocellulaire.....	28
II.4.3. Conclusion et perspectives.....	28
II.4.4. Microbiome et cancer de l'estomac.....	28
II.4.4.1. Caractérisation du microbiome gastrique.....	28
II.4.4.2. Relation entre le cancer de l'estomac et le microbiote.....	29
II.4.4.3. <i>Helicobacter pylori</i> et cancer gastrique.....	30
II.4.4.4. Conclusion et perspectives.....	30
II.4.5. Microbiome et cancer colorectal.....	30
II.4.5.1. Flore impliqué dans le cancer colorectal.....	30
II.4.5.2. Microbiote intestinal et cancer colorectal.....	31
II.4.5.3. Conclusion et perspectives.....	32

### Partie pratique

## Chapitre III

### Matériels et methodes

III.1. Matériels et méthodes.....	35
III.2. Méthodes.....	36
III.2.1. Echantillonnage.....	36
III.2.2. La biopsie.....	36
III.2.3. Prélèvement par biopsie.....	37

## *Sommaire*

---

III.2.4. Les prélèvements par écouvillonnage.....	39
III.2.4.1. Protocole.....	39
III.2.4.2. Test chromagar.....	39
III.2.4.3. Purification.....	41
III.2.5. Coloration de gram.....	41
III.2.5.1. Principe et technique.....	41
III.2.5.2. Technique.....	41
A. Kit de coloration de Gram.....	41
B. Les étapes de la coloration de Gram.....	42
C. Lecture.....	43
III.2.6. Identification biochimique par la galerie API 20.....	43
III.2.6.1. Principe et technique des galeries API 20.....	43
III.2.6.2. Préparation de l'inoculum.....	43
III.2.6.3. Préparation de la galerie.....	43
III.2.6.4. Lecture des galeries API 20.....	44
A. Galerie API 20 E.....	45
B. Principe.....	46
III.2.6.5. Lecture des galeries API 20 E.....	46
III.2.6.6. La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture,.....	48
A. Interprétation.....	48
B. Galerie d'identification API 20 NE.....	48
III.2.6.7. Les différents tests de la galerie API 20 NE.....	48
III.2.6.8. Lecture de la galerie API 20NE.....	49
III.2.6.9. Galeries d'identification API 20 staph.....	50
III.2.6.9.1. Lecture de la galerie API 20STAPH.....	52
III.2.6.9.2. Les résultats d'identifications bactériennes des patients atteints du cancer de l'estomac.....	56
III.2.6.9.3. Les résultats d'identification bactériennes des patients atteints des cancers du colon, foie et lynch dégénéré :.....	57
III.2.6.9.4. Les résultats d'identification bactériennes des patients atteints Du cancer du rectum.....	61
III.2.6.9.5. Identification par galerie API 20.....	62
A. Galerie API 20 E.....	62
B. Souche (P18/TC).....	63

## *Sommaire*

---

C. Souche (P11/FECALE).....	63
D. Souche (P16/PC).....	64
E. Souche (P6/PC).....	65
F. Souche (P1/GC).....	65
III.2.6.10. Galerie API 20NE.....	66
A. Souche (P12/ECO) .....	66
B. Souche (P2/TC).....	67
C. Souche (P10/TC).....	67
D. Souche (P5/GC).....	68
E. Souche (P13/TC FOIE).....	69
III.2.6.11. Galerie API 20 STPH .....	69
A. Souche (P10/ECO TUMEUR).....	69
B. Souche (P3/PC).....	70
C. Souche (P17/ECO/GC).....	71
D. Souche (P6/TS).....	71
E. Souche (P5/GC) .....	72
III.3. Discussion.....	73
<b>Conclusion generale.....</b>	<b>75</b>
<b>Reference bibliographiques.....</b>	<b>77</b>

**Liste des tableaux**

<b>Tableau 1:</b> La diversité des recherches récentes sur le microbiome, qui se sont concentrées principalement sur l'intestin .....	10
<b>Tableau 2:</b> Matériels utilisés .....	35
<b>Tableau 3:</b> Les appareils et produits utilisés .....	35
<b>Tableau 4:</b> D'identifications bactériennes.....	40
<b>Tableau 5:</b> Les différents tests dans l'API 20E.....	45
<b>Tableau 6:</b> liste des réactifs utilisés pour la galerie API 20E.....	46
<b>Tableau 7:</b> Lecture de la galerie miniaturisée API 20 <sup>E</sup> .....	47
<b>Tableau 8:</b> Les différents tests de la galerie API 20 NE .....	48
<b>Tableau 9:</b> Après incubation .....	49
<b>Tableau 10:</b> Lecture de la galerie miniaturisée API 20NE .....	50
<b>Tableau 11:</b> Les différents tests de la galerie API 20 Staph.....	50
<b>Tableau 12:</b> Liste des réactifs utilisés pour la galerie API 20STAPH .....	52
<b>Tableau 13:</b> Lecture de la galerie miniaturisée API 20STAPH .....	53
<b>Tableau 14:</b> Données des patients étudiés.....	54
<b>Tableau 15:</b> Identification des souches présente sur les tissus cancéreux des patients atteints du cancer de l'estomac a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.....	56
<b>Tableau 16:</b> Identification des souches présente sur les tissus sains des patients atteints du cancer de l'estomac a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.....	57
<b>Tableau 17:</b> Identification des souches présente sur les tissus cancéreux des patients atteints des cancers du côlon, foie et lynch dégénéré a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram. ....	57
<b>Tableau 18:</b> Identification des souches présente sur les tissus sains des patients atteints des cancers colon, foie et lynch dégénéré.....	59
<b>Tableau 19:</b> Identification des souches présente sur les tissus cancéreux des patients atteints de cancer du sigmoïde a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.....	60
<b>Tableau 20:</b> Identification des souches présente sur les tissus sains des patients atteints du cancer du sigmoïde a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram . ....	60
<b>Tableau 21:</b> Identification des souches présentes sur les tissus cancéreux des patients atteints du rectum a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.....	61
<b>Tableau 22:</b> Identification des souches présentes sur les tissus sains des patients atteints du cancer du rectum a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.....	62

## *Liste des tableaux*

---

<b>Tableau 23:</b> Résultat de la galerie API 20 E de la souche (P18/TC) .....	63
<b>Tableau 24:</b> Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P11/FECALE).....	63
<b>Tableau 25:</b> Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P16/PC) .....	64
<b>Tableau 26:</b> Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P16/PC) .....	65
<b>Tableau 27:</b> Résultats de la galerie API 20 de la souche (P1/GC).....	65
<b>Tableau 28:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P12/ECO) .....	66
<b>Tableau 29:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P2/TC).....	67
<b>Tableau 30:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/TC) .....	67
<b>Tableau 31:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/TC) .....	68
<b>Tableau 32:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P13/TC FOIE) .....	69
<b>Tableau 33:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/ECO TUMEUR) .....	69
<b>Tableau 34:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P3/PC) .....	70
<b>Tableau 35:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P17/ECO/GC) .....	71
<b>Tableau 36:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P3/PC) .....	71
<b>Tableau 37:</b> Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P5/GC) .....	72

## Liste des figures

---

### Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Fenêtre d'opportunité pour la modulation du microbiote de la gestation à l'enfance. .....	8
<b>Figure 2</b> : Définitions d'un microbiome sain : composition, fonction, dynamique et écologie. .....	10
<b>Figure 3</b> : Distribution de la flore intestinale humaine normale.....	13
<b>Figure 4</b> : Un graphique Krona montrant la composition taxonomique bactérienne à différents niveaux de l'estomac normal. ....	17
<b>Figure 5</b> : Le rôle des produits microbiens dans différentes maladies du foie.....	19
<b>Figure 6</b> : Fonctionnement de la dybisbiose du foie.....	25
<b>Figure 7</b> : Représentation schématique de l'altération microbienne gastrique à travers les différentes étapes de la carcinogénèse gastrique. ....	26
<b>Figure 8</b> : Photo réelle d'une colectomie (A) et photo réelle d'une gastrectomie (B). ....	36
<b>Figure 9</b> : Photo réelle d'une hépatectomie.....	37
<b>Figure 10</b> : Représentant une colectomie droite.....	37
<b>Figure 11</b> : Représentant une gastrectomie totale.....	38
<b>Figure 12</b> : Représentant une hépatectomie gauche et droite.....	38
<b>Figure 13</b> : Les prélèvements par écouvillonnage.....	39
<b>Figure 14</b> : Les étapes d'ensemencement sur milieu chromagar.....	40
<b>Figure 15</b> : Boîte d'identification bactérienne sur milieu chromagar.....	40
<b>Figure 16</b> : Kit de coloration de Gram .....	42
<b>Figure 17</b> : Méthode d'inoculation des galeries API 20.....	44
<b>Figure 18</b> : Entre le profil numérique dans l'apiweb pour obtenir l'identité.....	45
<b>Figure 19</b> : Différents tests de la galerie API 20E.....	46
<b>Figure 20</b> : lecture de la galerie biochimique API 20E .....	47
<b>Figure 21</b> : Lecture de la galerie biochimique API 20 STAPH.....	52
<b>Figure 22</b> : Secteur qui démontre la répartition des différents cancers selon l'âge.....	54
<b>Figure 23</b> : Aspect des bactéries GN sous microscope optique (grossissement GX100)...	55
<b>Figure 24</b> : Aspect des bactéries GP sous microscope optique (grossissement GX100) ...	55
<b>Figure 25</b> : Pourcentage des souches GP et GN isolées. ....	56
<b>Figure 26</b> : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P18/TC) .....	63
<b>Figure 27</b> : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P11 FECALE).....	64
<b>Figure 28</b> : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P16/PC).....	64

## *Liste des figures*

---

<b>Figure 29</b> : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P6/PC).....	65
<b>Figure 30</b> : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P1/GC) .....	66
<b>Figure 31</b> : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P12/ECO).....	66
<b>Figure 32</b> : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P2/TC).....	67
<b>Figure 33</b> : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/TC).....	68
<b>Figure 34</b> : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P5/GC) .....	68
<b>Figure 35</b> : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P13/TC FOIE).....	69
<b>Figure 36</b> : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P10/ECO) .....	70
<b>Figure 37</b> : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P3/PC) .....	70
<b>Figure 38</b> : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P17/ECO/GC).....	71
<b>Figure 39</b> : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P6/TS).....	72
<b>Figure 40</b> : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P5/GC).....	72

# *Introduction Générale*

## *Introduction Générale*

---

Le mot microbiote vient du grec et signifie “petite vie”. Il représente l’ensemble des micro-organismes vivants (bactéries, levures, champignons, virus...) présents sur ou dans le corps humain. Notre étude s’est concentré sur les microbiotes suivant : Le microbiote intestinal, le microbiote du foie, le microbiote gastrique. Le microbiote est également connu sous le nom de “deuxième cerveau”. Tout d’abord, en plus des 100 000 milliards de bactéries, il ne compte pas moins de 200 millions de neurones. L’intestin communique avec le cerveau, lorsque nous vivons une émotion telle que la peur, le stress... c’est le cerveau qui envoie un message au ventre, provoquant chez certains des sensations de “noeuds au ventre”, “d’estomac noué”, voire pour d’autres des diarrhées... Ensuite, nous savons qu’une hormone essentielle à notre bien-être psychologique, la sérotonine, est produite à 95% par nos intestins, Le microbiote augmente aussi notre vitalité. Au final on pensait que notre microbiote agissait uniquement au niveau de notre immunité et aujourd’hui on se rend compte que nos bactéries agissent à différents niveaux de notre organisme, de la digestion à la synthèse de vitamines et d’hormones en passant par la régulation de notre poids et de notre humeur.

À l’intérieur du tube digestif, les bactéries vivent en communauté. Elles restent accrochées aux parois du tube digestif grâce au biofilm. Le microbiote, unique à chaque individu, ne s’étend pas de façon homogène dans l’écosystème intestinal. Sa densité est minimale dans l’estomac et maximale dans le côlon. Le microbiote intestinal est un organe stable : une fois atteint l’âge adulte, sa composition évolue peu. C’est à la naissance, puis à partir de 65-70 ans, que la diversité d’espèces qu’il abrite varie le plus. Lorsque celui-ci est perturbé dans sa composition et/ou son fonctionnement, on parle de dysbiose. Le retour à l’équilibre est en général assez rapide. Mais cette dysbiose peut aussi être chronique et liée à une pathologie. C’est le cas par exemple lors des maladies inflammatoires chroniques de l’intestin. Le microbiote des patients renferme moins de bactéries ayant une action anti-inflammatoire, ce qui pourrait **favoriser la survenue d’un cancer du côlon**. De nombreuses études confortent le concept selon lequel le microbiote intestinal jouerait un rôle majeur dans la carcinogénèse colorectale. Le cancer colorectal n’a pas à ce jour été associé épidémiologiquement à une espèce bactérienne spécifiques. Toutefois des études récentes ont mis en évidence que des bactéries commensales du microbiote pourraient être directement pro-oncogènes[1].

## *Introduction Générale*

---

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est un cancer classique, plus communément appelé cancer du foie, celui-ci est associé à une inflammation qui survient dans un contexte de stéatose hépatique alcoolique ou non alcoolique (ALD et NAFLD, respectivement). De nombreuses preuves indiquent que le microbiote intestinal, longtemps considéré comme un déterminant clé de l'inflammation intestinale, joue également un rôle clé dans les maladies inflammatoires chroniques du foie.

De nombreuses études indiquent que les facteurs environnementaux et le mode de vie joueraient un rôle important dans l'étiologie du cancer gastrique. Le facteur de risque établi le plus important pour le cancer gastrique est l'infection à *H. pylori*. La forte prévalence de l'infection à *H. pylori* est largement reconnue comme le principal contributeur aux taux élevés de mortalité par cancer de l'estomac[2].

# *Partie théorique*

*Chapitre I*  
*Microbiome humain*

## I.1. Définitions et généralités

Le microbiote humain se compose de 10 à 100 billions de cellules microbiennes symbiotiques hébergées par chaque personne, principalement des bactéries dans l'intestin ; le microbiome humain, cependant, est constitué des gènes que ces cellules hébergent.

Les progrès du séquençage permettent aujourd'hui de caractériser la communauté bactérienne commensale humaine (microbiote). Des enquêtes menées auprès des adultes en bonne santé révèlent qu'un ensemble de bactéries caractérise chaque habitat corporel unique (par exemple, l'intestin, la peau, la cavité buccale, le vagin). Des études menées chez les personnes âgées montrent que le microbiote intestinal est en corrélation avec le régime alimentaire, le lieu de résidence et le niveau basal d'inflammation. Il existe des liens entre le microbiote et divers problèmes cliniques affectant les personnes âgées, notamment la fragilité physique, la colite à *Clostridium difficile*, l'atrophie vulvo-ovaginale, le carcinome colorectal et les maladies athérosclérotiques. La manipulation du microbiote et du microbiome des adultes âgés est prometteuse en tant que stratégie innovante pour influencer le développement des comorbidités associées au vieillissement[3].

En 1977, il a été prouvé que la sous-unité de l'acide ribonucléique (ARN) 16S pouvait classer les bactéries, y compris la flore microbienne commensale. Le séquençage du gène de l'ARN ribosomal 16S a permis de constater que dans tous les habitats corporels, la plupart des séquences appartenaient à quatre phyla bactériens : *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, et *Bacteroidetes*[4].

## I.2. Constitution du microbiome

La formation du microbiote intestinal de l'enfant est un processus complexe. L'évolution du microbiote se fait pendant les 3 premières années de la vie, avant de se stabiliser et de ne plus manifester de grands changements **Figure 1**. Les premières années semblent être décisives. Selon l'étude de Teissier et al concernant l'acquisition du microbiote intestinal du nourrisson, l'idée que le fœtus soit stérile *in utero* et que la colonisation microbienne du nouveau-né commence pendant et après la naissance a été largement acceptée. Cependant, dernièrement cette idée a été remise en question. D'après de récentes études, la constitution du microbiote démarre même *in utero*[5]. Selon Wassenaar et Panigrahi (2014), le fœtus n'évolue pas dans un milieu stérile, ce qui a été démontré récemment par la présence de micro-organismes dans le placenta, le cordon ombilical et le liquide amniotique et dans le méconium chez les grossesses saines à terme. Notamment par la mise en évidence

de la présence des *Bifidobactéries* et *Lactobacilles* (habituellement intestinales) dans le placenta. Ce dernier peut également héberger des communautés bactériennes qui, selon leur composition, affectent l'issue de la grossesse et la santé du fœtus. Parmi ces bactéries placentaires, on retrouve *Ureplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella*, *Peptostreptococcus sp.*, *Streptococcus* du groupe B et *Escherichia coli*.

Plusieurs facteurs affectent la constitution du microbiote des nourrissons[6].

### I.2.1. Le mode d'accouchement

Les nourrissons nés par voie vaginale sont en contact direct avec le microbiote vaginal et fécal maternel, ce qui entraîne la colonisation de l'intestin néonatal par des micro-organismes associés au vagin tels que *Lactobacillus* et *Prevotella*. En revanche, les nourrissons nés par césarienne sont plus susceptibles d'être colonisés par des microbes environnementaux provenant de la peau maternelle, des soignants ou de l'environnement hospitalier. Il a été suggéré que la composition du microbiote de ces nourrissons peut persister pendant des mois, voire des années. Selon Rutayisire et al. (2016), les auteurs ont conclu que l'accouchement par césarienne était associé à une abondance réduite d'*Actinobactéries* et *Bacteroidetes*. Par contre, *Bifidobacterium* et *Bacteroides* semblent être significativement plus fréquents au niveau de la colonisation chez les nourrissons nés par voie vaginale[7-8].

### I.2.2. Âge gestationnel à la naissance

L'âge gestationnel est la différence entre 14 jours avant la date de conception et le jour de l'accouchement. Ce dernier est important dans l'établissement de la communauté microbienne intestinal d'un nourrisson. La dysplasie intestinale chez les prématurés peut perturber le développement de relations saines entre l'hôte et le microbiote au début de la vie, mais elles diffèrent selon la diversité du microbiome, en fonction de l'âge gestationnel. Ces derniers ont un risque beaucoup plus élevé de complications après la naissance. Plusieurs études ont rapporté des différences entre le microbiote fécal des nourrissons prématurés et nés à terme.

Les prématurés présentent une colonisation intestinale retardée par des micro-organismes anaérobies commensaux tels que *Bifidobacterium* ou *Bacteroides*. Leurs excréments contenaient des niveaux significativement plus élevés d'entérobactéries, d'entérocoques et d'autres micro-organismes pathogènes (opportunistes) que les excréments des nouveau-nés à terme. Des bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus*,

*Enterococcus* et *Clostridium* dominent le microbiote intestinal des nourrissons très prématurés au cours du premier mois de vie. Alors que les micro-organismes à Gram négatif tels que les entérobactéries et les veillonelles peuvent exister de différentes manières[9-10].

### I.2.3. Modes d'allaitement

Une étude a démontré que la différence de composition du microbiote fécal néonatal était principalement due à l'alimentation. La composition du microbiote fécal des nouveau-nés allaités entre 11 et 22 jours d'âge, a démontré la présence de *Bifidobacterium* prédominant, suivi de *Bacteroides* et *Prevotella*, tandis que les autres espèces ne représentaient qu'une petite fraction de la composition[10], *E. coli*, *Atopobium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*. Chez les nouveau-nés nourris au lait maternisé *Bifidobacterium* est relativement moins abondant, suivi d'un nombre important de *Bacteroidetes*, *d'Atopobium*, *staphylocoques*, *clostridia*, *entérocoques* et entérobactéries[11].

Chez les nouveau-nés allaités la diversité du microbiote a été constatée en très grande diversité, hébergeant un microbiote fécal caractérisé par un nombre deux fois plus élevé de *Bifidobacterium* par rapport aux nourrissons nourris au lait maternel et possédant un écosystème intestinal moins diversifié. L'allaitement maternel présente un mélange de nutriments et d'agents pro-microbiens et antimicrobiens, ce qui facilite le développement d'un «microbiote laitier ». Ce lait maternel se compose des oligosaccharides qui peuvent façonner de manière sélective la croissance et la fonction des microbes bénéfiques et des IgA qui privilégie un système immunitaire régulateur et plus « tolérogène ». Toutefois l'alimentation au biberon réforme le microbiome intestinal du nourrisson au profit des taxons pro-inflammatoires et augmente la perméabilité intestinale et la charge bactérienne[12].

### I.2.4. Les antibiotiques

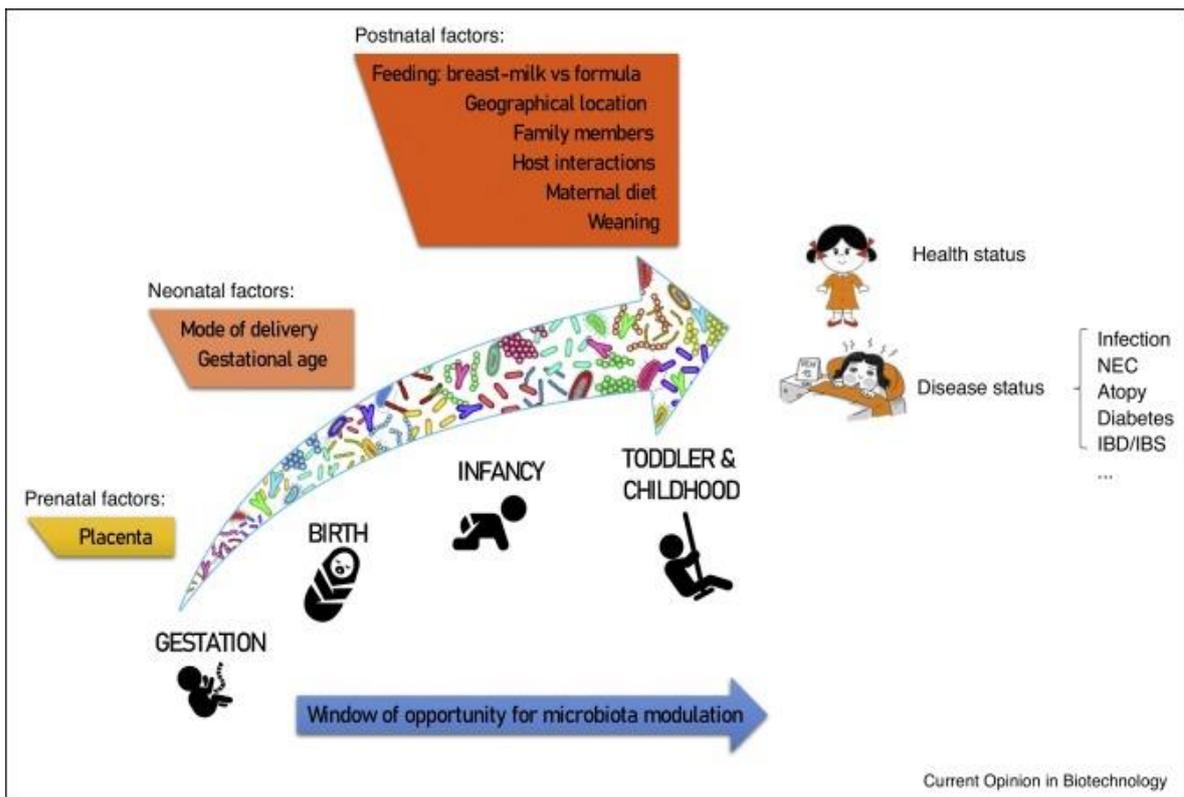
Il a été établi que les antibiotiques prénataux et postnataux perturbent le développement intestinal du nourrisson et limitent la diversité du microbiote. Les nourrissons prématurés sont automatiquement traités avec des antibiotiques, ce qui permet l'enrichissement de microorganismes pouvant croître en présence d'antibiotiques[13]. De plus, 85% des nourrissons de très faible poids à la naissance (<1000 g) reçoivent au moins une cure d'antibiotiques, et même si un nourrisson n'est pas exposé aux antibiotiques, environ 37% des femmes enceintes utilisent des antibiotiques au cours de leur grossesse[14].

**I.2.5. Environnement et mode de vie**

La famille et les proches parents ont aussi été décrits comme un facteur environnemental considérable influençant la colonisation du microbiote intestinal des nourrissons. De plus, une exposition précoce aux animaux de compagnie a été également associée à une augmentation de la richesse et de la diversité bactériennes du microbiome intestinal du nourrisson. La localisation géographique a lui aussi une influence sur le microbiote, car les différences de microbiote sont liées aux habitudes alimentaires et au mode de vie dans une zone spécifique (ville, village, pays, religion) [15-16].

**I.2.6. La Génétique de l'hôte**

Il existe actuellement des preuves claires que le génotype de l'hôte influence l'appropriation et le développement du microbiote intestinal du nourrisson. Même la mutation d'un seul gène capable de conduire à des altérations de la composition du microbiote[17-18].



**Figure 1 :** Fenêtre d'opportunité pour la modulation du microbiote de la gestation à l'enfance.

La représentation schématique montre une liste de facteurs prénatals, néonataux et postnatals qui contribuent à la composition bactérienne intestinale chez les nourrissons.

### 1.3. La diversité du microbiome

Les études initiales ont cherché à identifier la communauté microbienne qui colonise les personnes en bonne santé, essentiellement dans l'intestin, par la culture et la caractérisation des propriétés physiologiques. Un résumé de quatre grandes études de cette époque portant sur des échantillons de selles de 141 Américains suivant différents régimes a révélé que les bactéries du genre *Bactéroïdes* et *Cocci* anaérobies étaient à la fois répandues et abondantes, tandis que le genre *Clostridium* était ubiquiste en plus faible abondance, bien qu'aucune espèce unique n'ait été observée chez tous les sujets[19]. D'autres bactéries répandues mais de plus faible abondance comprenaient des membres du genre *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*, ainsi que des anaérobies facultatifs tels que *Escherichia*[20-21].

On suspectait déjà qu'un grand nombre d'espèces microbiennes associées à l'homme n'avaient pas été découvertes vu les exigences fastidieuses de certains micro-organismes et la nature actif du travail requis pour les cultiver. Une étude a estimé la présence de quelque 400 espèces microbiennes dans un côlon sain. De nouvelles méthodes étaient nécessaires pour étudier les différents aspects et compositions du microbiome humain sain. Les techniques indépendantes de la culture telles que l'hybridation in situ par fluorescence (FISH) et le séquençage de l'ADN sont maintenant répandues. Les premières études utilisant FISH ciblant le gène de l'ARN ribosomique 16S ont suggéré qu'au moins les deux tiers des bactéries intestinales pourraient être attribués à un ensemble de six groupes: *Bactéroïdes*, *Clostridium*, *Streptococcus / Lactococcus* et *Eubacterium rectale*[23].

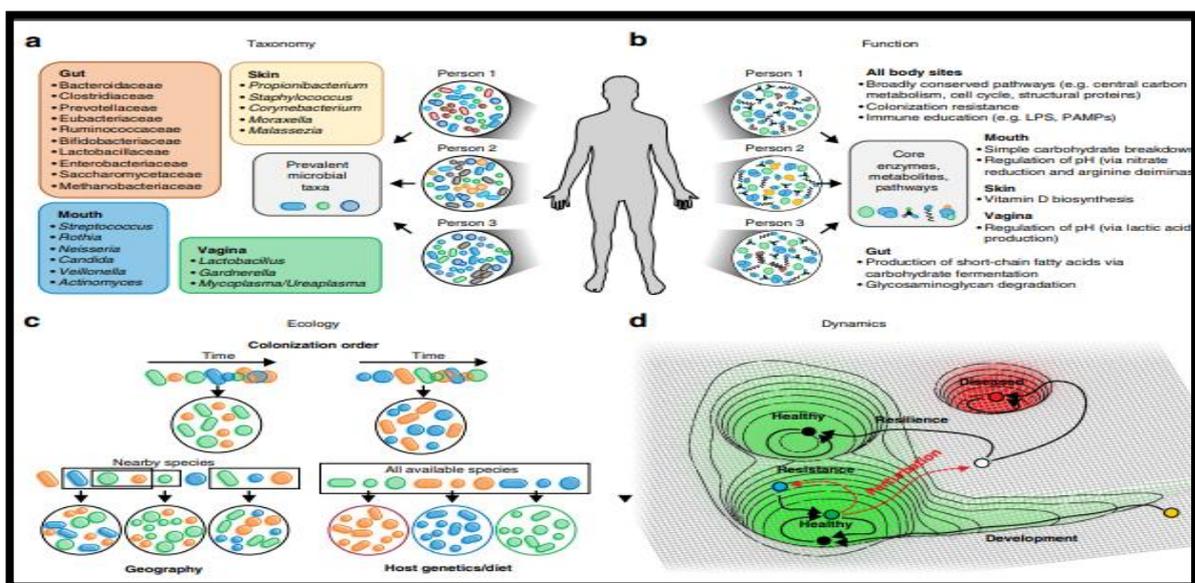
Cependant, certaines des premières études (visant à séquencer les gènes de l'ARNr 16S directement à partir d'échantillons) ont montré que 85 à 95 % de l'abondance bactérienne correspondant aux espèces connues pouvait être attribuée à trois groupes bactériens liés à *Bacteroides*, *Clostridium* cluster XIVa et *Clostridium* cluster IV. Les études 16S ont également montré une grande diversité dans la composition taxonomique à la fois entre les personnes en bonne santé et parmi les sites biogéographiques étroitement liés au sein d'une seule personne (tels que les échantillons de muqueuses et de selles) [24].

Toutefois, dans toutes ces études, la majorité (75-80 %) des grappes de séquences ne correspondaient à aucune espèce documentée à l'époque ce qui explique en grande partie la sous-estimation de la diversité dans les travaux précédents[25].

**Tableau 1:** La diversité des recherches récentes sur le microbiome, qui se sont concentrées principalement sur l'intestin

Petits caractères	Publications	
	Tout	2011-2016
intestinale   du côlon intestinal	17,546	10,707
Oral    buccale langue    dentaire   sous-gingival supragingival	4843	2089
urogénitale   vaginale pénien	1477	706
de la peau cutané	1372	754
des voies respiratoires poumon	764	12*
placenta   lait maternel	702	426
oculaire oeil	152	82

L'écosystème du côlon a été l'habitat le plus étudié (tableau 1). On estime que 1000 à 1150 espèces bactériennes étaient répandues dans les microbiomes intestinaux dont chaque personne porte en moyenne environ 160 espèces[26]. Bien que même en considérant ce niveau général de classification, les individus varient d'un ordre de grandeur dans leurs rapports *Firmicutes/Bacteroidetes*. Les bactéries prédominantes dans les matières fécales qui ont été identifiées par des techniques moléculaires ont élargi les listes ci-dessus pour inclure les bactéries d'au moins huit familles (Fig.2) [27].



**Figure 2 :** Définitions d'un microbiome sain : composition, fonction, dynamique et écologie.

a- Les premières définitions d'un microbiome « sain » se focalisaient généralement sur des ensembles de taxons que l'on pourrait s'attendre à trouver de façon prédominante chez les personnes en bonne santé. Tandis que les noyaux purement taxonomiques de tout type soient restés insaisissables, même dans des populations étroitement définies, chaque habitat du site du corps possède de forts enrichissements phylogénétiques[28].

b- Les mesures méta génomiques ont permis de juger le potentiel fonctionnel du microbiome sur différents sites. Ces études ont donné des noyaux fonctionnels partagés de manière plus cohérente de voies spécifiques à l'échelle du corps et à une niche qui sont maintenues en santé. Lipopolysaccharide (*LPS*), modèle moléculaire associé à l'agent pathogène *PAMP*[29].

c- Les modèles d'assemblage écologique fournissent une autre définition du microbiome sain, vu que chaque hôte peut puiser dans une métapopulation de microbes potentiels par un mélange de processus partiellement aléatoire. Ces processus peuvent impliquer l'ordre dans lequel les microbes colonisent leur habitat humain respectif (affecté par la géographie et les expositions précoces, par exemple), la disponibilité prolongée de chaque microbe dans l'environnement local de l'hôte et la sélection de l'hôte (par le régime alimentaire ou la génétique, adapté de la Fig 1[30].

d- Le microbiome sain peut également être caractérisé en termes de dynamique, décrite ici dans un modèle simplifié comme un paysage énergétique conceptuel. Le microbiome du nourrisson (*point jaune*) commence dans un état instable et descend progressivement vers l'un des nombreux états d'attracteurs adultes potentiellement sains. Les perturbations (*flèches rouges pointillées*) peuvent être résistées (*point vert*) ou peuvent déplacer le microbiome hors de l'état sain, après quoi un microbiome résilient reviendra à un état sain (pas nécessairement l'état sain d'origine) ou tombera dans un état malsain (*rouge*) [31].

Bien que moins bien étudiés, de nombreux autres habitats corporels chez les individus en bonne santé sont occupés par des communautés microbiennes. Les sites buccaux abritent un microbiome particulièrement diversifié d'une complexité similaire à celle du microbiome de l'intestin, et a tendance à être dominé par *Streptococcus* spp. Les sites cutanés diffèrent principalement par les propriétés locales de la peau (sèche versus humide versus sébacée, et sont colonisés principalement par *Corynebacterium*, *Propionibacterium* et *Staphylococcus*.

Le vagin sain contient l'un des écosystèmes microbiens les plus remarquablement structurés, avec au moins cinq types de communautés reproductibles, ou « types d'état communautaire », chacun dominé par une seule espèce de *Lactobacillus* (*L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* ou *L. gasseri*) ou par un mélange d'autres microorganismes, dont *Gardnerella*[32].

### I.3.1. Le microbiote intestinal

Le microbiote intestinal a été lié à un large éventail de maladies humaines allant des maladies lumenales telles que le syndrome du côlon irritable (SCI) et les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI) et des maladies métaboliques telles que le diabète et l'obésité, des maladies allergiques aux maladies neuro-développementales. Le microbiote intestinal est essentiellement composé d'anaérobies stricts, qui sont jusqu'à 100 fois plus nombreux que les anaérobies facultatifs. Bien que la présence de plus de 50 phyla bactériens ont été détectée dans l'intestin humain à ce jour, le microbiote n'est dominé que par 2 phyla importants : les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes*[33].

### I.3.2. Le microbiote intestinal normale

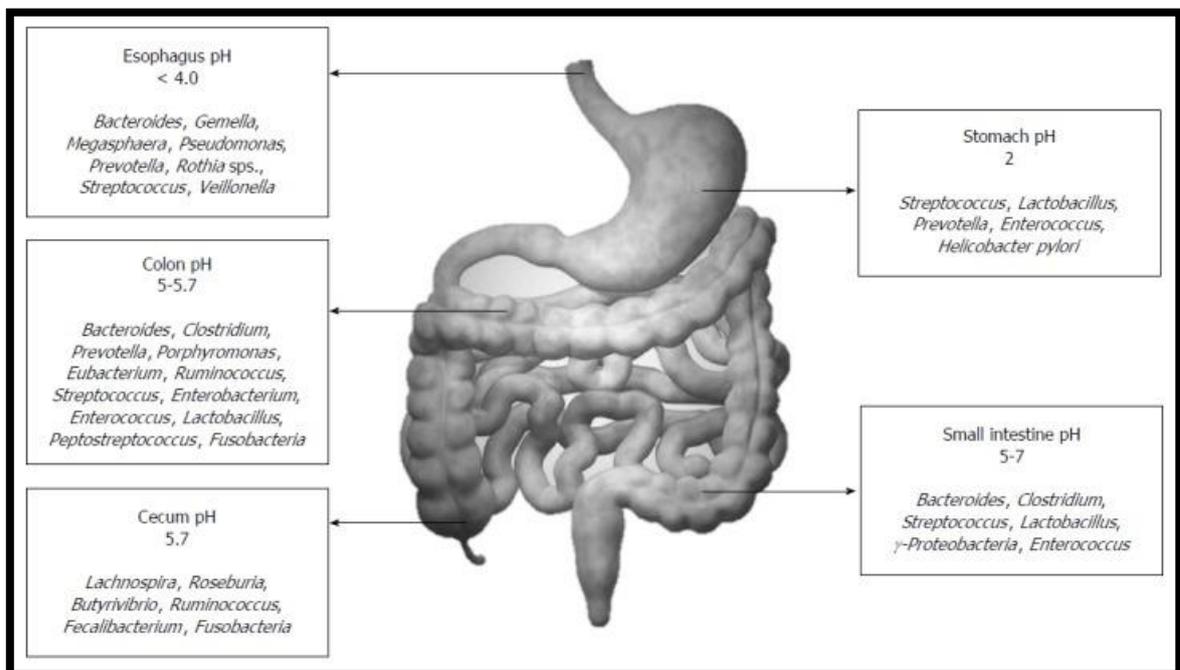
Dans l'ensemble, le microbiote intestinal sain est principalement constitué par les **phyla** *Firmicutes* et les *Bacteroidetes*. Viennent après les phyla *Actinobacteria* et les *Verrucomicrobia*. Même si ce modèle général est resté le même, la distribution du microbiote intestinal au niveau du genre et au-delà a montré des différences temporelles. lorsqu'une personne passe de l'œsophage distal au rectum, la diversité et le nombre de bactéries varient considérablement, allant de 10 par gramme de contenu dans l'œsophage et l'estomac à 10 par gramme de contenu dans le colon et le tractus intestinal distal. La **Figure 3** décrit la diversité temporelle du microbiote intestinal lorsque l'on se déplace de l'œsophage distalement au côlon[35].

*Streptococcus* paraît être le genre dominant dans l'œsophage distal, le duodénum et le jéjunum. *Helicobacter* est le genre dominant présent dans l'estomac et détermine l'ensemble du paysage microbien de la flore gastrique, c'est-à-dire que lorsque *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) habite l'estomac comme commensal, il existe une riche diversité constituée par d'autres genres dominants tels que *Streptococcus* (le plus dominant), *Prevotella*, *Veillonella* et *Rothia*. Le gros intestin constitue plus de 70% de tous les microbes présents dans le corps. Les phyla prédominants qui habitent le gros intestin comprennent *Firmicutes* et *Bacteroidetes*[36].

Toutefois, la variabilité significative même chez les individus en bonne santé qui a été observée dans des études récentes rend la pertinence de ce ratio discutable. Outre les genres de phyla *Firmicutes* et *Bacteroidetes*, le côlon humain refuge également des agents pathogènes primaires, par exemple des espèces telles que *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholera* et *Escherichia coli* (*E. coli*), et *Bacteroides fragilis*, mais avec une faible abondance (0,1% ou moins de l'ensemble du microbiome intestinal) [37-38].

L'abondance du phylum *Proteobacteria* est nettement faible ; et son absence ainsi qu'une grande abondance de genres caractéristiques tels que *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus* suggèrent un microbiote intestinal sain. En plus de cette différence longitudinale, il existe également une différence axiale entre la lumière et la surface muqueuse de l'intestin. Alors que les *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Ruminococcus* sont les genres microbiens lumineux prédominants (peuvent être identifiés dans les selles), seuls *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Akkermansia* sont les genres membres prédominants à la muqueuse et au mucus (détectés dans la couche de mucus et les cryptes épithéliales de l'intestin grêle) [39-40].

La **Figure 3**, décrit la diversité temporelle du microbiote intestinal lorsque l'on se déplace de l'œsophage distalement au côlon.



**Figure 3 :** Distribution de la flore intestinale humaine normale.

### I.3.3. La flore intestinale et son évolution chez les humains

#### I.3.3.1. L'âge

Les enfants et les jeunes adultes ont une abondance plus élevée de *bifidobactéries* et de *clostridies*, et une diversité microbienne plus faible que les adultes. Globalement, les adultes en bonne santé présentent des niveaux élevés de *Bacteroidetes* et de *Firmicutes*, et de faibles niveaux de *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* et *Verrucomicrobia*. Le passage d'un adulte en bonne santé à un âge avancé en bonne santé se caractérise par une diminution de la diversité microbienne, ainsi qu'une accumulation de microbes potentiellement pro-inflammatoires et une diminution des microbes bénéfiques[41].

#### I.3.3.2. L'alimentation

Les pratiques d'alimentation des nourrissons ainsi que l'alimentation habituelle des adultes jouent un rôle important dans la formation du microbiome intestinal. Les nourrissons allaités ont un microbiome dominé par les *lactobacilles* et *prévotelles*[42]. Le lait maternel humain joue également un rôle important dans l'ensemencement du microbiome intestinal d'un nourrisson, contenant une variété de bactéries bénéfiques, notamment des *lactobacilles* et des *bifidobactéries*. Alors que les nourrissons nourris au lait maternisé présentent une population microbienne plus diversifiée, dominée par les *entérocoques*, les *entérobactéries*, les *bactéroïdes*, les *clostridies* et les *streptocoques*. Il a été constaté que la restriction calorique peut ralentir le déclin du microbiome lié à l'âge[43-44].

#### I.3.3.3. Les antibiotiques et médicaments

Bien qu'ils se soient révélés être un traitement efficace contre de nombreuses maladies bactériennes, leur action antimicrobienne affecte profondément la composition et la fonction du microbiome intestinal, provoquant une dysbiose en tuant à la fois les bactéries pathologiques et bénéfiques et en permettant l'expansion des microorganismes résistants. Les effets des antibiotiques sur le microbiome intestinal sont potentiellement durables et leur utilisation au début de la vie a été associée à un risque de développer plusieurs affections. Les antibiotiques peuvent diminuer considérablement, voire éliminer entièrement, les espèces bactériennes anaérobies bénéfiques telles que les *bifidobactéries*, les *lactobacilles*, les *bactéroïdes* et les *clostridies*[45]. Les effets des antibiotiques sur le microbiome dépendent cependant du type d'antibiotique utilisé. Une méta-analyse récente a révélé qu'en plus des antibiotiques, les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP), la metformine et les laxatifs présentent les effets les plus importants sur la composition et la fonction du

microbiome intestinal. Les IPP réduisent la diversité microbienne et provoquent des changements taxonomiques dans l'intestin[46].

#### I.3.3.4. Mode d'accouchement à la naissance

Il a été démontré que les bébés nés par césarienne ont une abondance de bactéries *Klebsiella* et *Enterococcus* potentiellement pro-inflammatoires. Et que ces derniers présentaient une diversité microbienne intestinale totale plus faible, une colonisation retardée par *Bacteroidetes* et un déséquilibre ultérieur du système immunitaire au cours des 2 premières années de vie[47].

#### I.3.4. Le rôle du microbiote intestinal

Le microbiome joue un rôle important dans le maintien de la santé humaine. Les surfaces muqueuses, en particulier dans l'intestin, sont hautement adaptées pour pouvoir tolérer une grande population de micro-organismes tout en étant capables de produire une réponse immunitaire rapide et efficace contre l'infection[48]. Le microbiome intestinal n'est pas fonctionnellement indépendant de la muqueuse de l'hôte et peut, par la présentation de modèles moléculaires associés aux microbes (MAMP) et la génération de métabolites dérivés de microbes, influencer fondamentalement l'intégrité de la barrière muqueuse et moduler l'immunité de l'hôte. Dans un intestin sain, il existe une abondance de bactéries bénéfiques qui aident à préserver l'homéostasie intestinale, favoriser les réponses immunitaires protectrices et limiter l'inflammation excessive. La dysbiose ou la perte de cette population microbienne finement équilibrée peut entraîner un dysfonctionnement de la barrière muqueuse, des réponses immunitaires aberrantes et une inflammation chronique qui augmente le risque de développement de la maladie. Les améliorations dans notre compréhension du microbiome offrent des opportunités d'exploiter les membres d'un microbiote sain pour aider à inverser la dysbiose, réduire l'inflammation et, finalement, prévenir la progression de la maladie[49-50].

##### I.3.4.1. Effet de barrière

Le microbiote de l'intestin joue un rôle de barrière protectrice contre des pathogènes ingérés. Plusieurs mécanismes participent à cet effet, l'exclusion compétitive de micro-organismes entre eux ; la stimulation des défenses innées ou immuno modulation avec renforcement des sécrétions de défensives ou d'immunoglobulines par exemple ; la modulation de sécrétion du mucus. Les cellules humaines sont en effet des récepteurs aux molécules microbiennes qui reconnaissent des signaux microbiens des micro-organismes

pathogènes et non pathogènes et régulent les réactions inflammatoires et immunes, via entre autres la voie NFB. Des travaux expérimentaux et des études cliniques randomisées chez l'homme ont montré que la fonction de barrière peut être renforcée par des micro-organismes exogènes thérapeutiques[51].

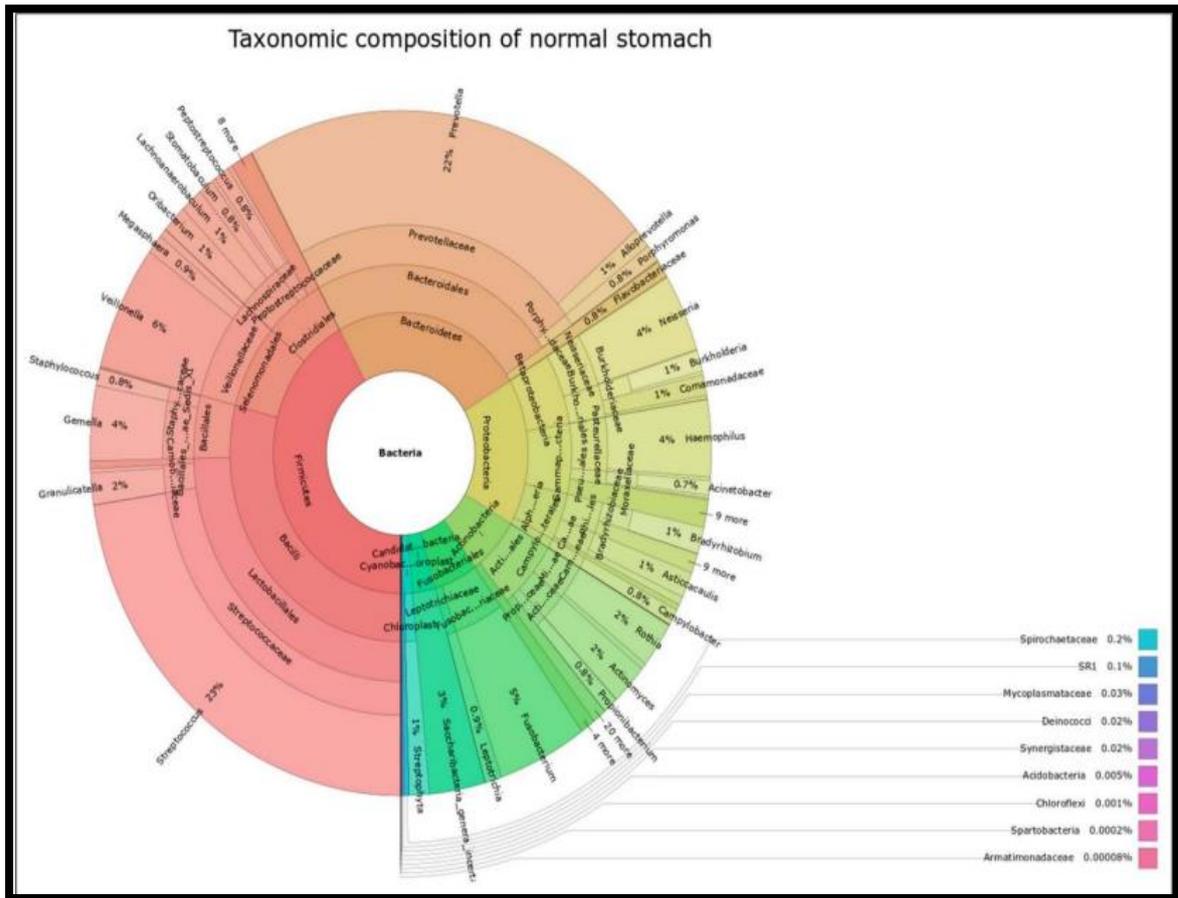
## I.4. Le microbiome gastrique

### I.4.1. Composition du microbiome gastrique sain

L'environnement gastrique est particulièrement rude sa colonisation reste difficile, son faible pH reste la principale raison (pH médian de 1,4). Ce qui explique que dans l'estomac la charge microbienne est beaucoup plus faible que dans le côlon ou l'intestin grêle (10<sup>2</sup>-10<sup>4</sup>) unités formant colonie (UFC)/ml de bactéries dans l'estomac) [52].

A l'aide de méthodes conventionnelles la présence de microorganismes autres que *H. pylori* dans l'estomac humain a été documentée. D'après l'analyse des cultures, les bactéries les plus représentées dans l'estomac humain étaient *Clostridium sp*, *Lactobacillus sp* et *Veillonella sp* dans des conditions saines. Environ 80 % des microorganismes ne sont pas cultivables, par conséquent, seule l'application d'approches moléculaires indépendantes de la culture pour l'analyse du microbiote gastrique peut nous fournir des informations fiables. Les bactéries prédominantes dans des conditions saines, appartiennent aux phyla d'*Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, et *Proteobacteria* (qui comprennent *H. pylori*); le genre prédominant est *Streptococcus*. Récemment la présence de Streptocoques a été associée à l'ulcère gastro-duodéal. Selon des rapports occidentaux le microbiote gastrique des sujets négatifs à *H. pylori* présente une plus grande diversité que celui des patients positifs à *H. pylori*[53-54].

Toutefois, en Malaisie une étude récente menée sur 215 personnes a montré que la présence d'*H. pylori* n'influence pas la diversité des taxons microbiens du microbiote gastrique. La présence de différences géographiques dans la diversité du microbiote gastrique humain est suggérer pour ces résultats, ce qui peut entraîner des variations dans les interactions entre *H. pylori* et les autres microbes commensaux résidant dans la muqueuse gastrique. Un dialogue croisé réel et actif entre *H. pylori* et les autres composants du microbiote gastrique a été observée dans plusieurs rapports récents[55].



**Figure 4 :** Un graphique Krona montrant la composition taxonomique bactérienne à différents niveaux de l'estomac normal.

Les cercles concentriques partent du niveau du royaume (cercle le plus à l'intérieur) jusqu'au niveau du genre (cercle le plus à l'extérieur).

#### I.4.2. Caractérisation du microbiote gastrique

Il est devenu possible de mieux caractériser le microbiote gastrique grâce à l'avènement de nouvelles techniques de séquençage. Peut-être plus important encore, il est également devenu possible d'explorer la différenciation de la composition du microbiote à travers le spectre d'un gastrique sain muqueuse à GC. Bik et al. ont cherché à caractériser les bactéries présentes dans l'estomac de 23 adultes par voie gastrique par biopsies muqueuses obtenues au cours de l'endoscopie. Suite à la PCR des échantillons de biopsie et l'analyse des séquences à l'aide du logiciel ARB, 128 phototypes bactériens ont été identifiés[56]. Cette étude a révélé que les phyla *Protéobactéries*, *les Firmicutes*, *Bactéroïdes*, *Actinobactéries* et *Fusobactéries* dominés la communauté bactérienne gastrique. Sur les 128 phylotypes identifiés dans cette étude, 64 étaient non

cultivables par culture traditionnelle. Malgré les limites de cette étude, c'était une des premières études réalisées mettant en évidence la diversité importante du microbiote gastrique. Cette dernière a aussi mis en évidence la présence de *H pylori* chez des patients diagnostiqués *H pylori*-négatifs. Ce constat suggère que la présence de *H. pylori* chez les patients atteints de la maladie peut en fait être sous-estimée par les tests de diagnostic conventionnels[57-58].

### I.4.3. Le rôle du microbiote gastrique

L'estomac est d'une part une première ligne de défense contre des souches pathogènes externes et d'autre part la première étape digestive de par la sécrétion acide. Lors d'une dyspepsie, ou d'une gastrite mais aussi d'ulcères ou de cancers gastriques souvent liés à la présence de *H.pylori* cet équilibre peut être perturbé, L'ingestion d'antibiotiques ou d'inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) sur du long terme peut également être source de dysbiose du microbiote gastrique. Cette dysbiose doit être corrigée et rééquilibrée, car un estomac sain serait la porte d'entrée d'un hôte en bonne santé. Ces facteurs peuvent affecter la comparabilité entre les études, et bien que les premiers résultats soient essentiels à notre compréhension du rôle des bactéries dans l'estomac, ils doivent être élargis et confirmés dans des études plus vastes basées sur des plans d'étude basés sur la population[59-60].

Dans cette étude, nous avons collecté des échantillons de brosse cytologique au cours d'une endoscopie gastro-intestinale supérieure dans le but de caractériser la population générale non-*Helicobacter pylori* pour caractériser le microbiote associé à la muqueuse dans l'estomac normal, en comparant les lésions précancéreuses et d'autres états pathologiques, et pour évaluer si Le statut d'*Helicobacter pylori* affecte la diversité bactérienne[61].

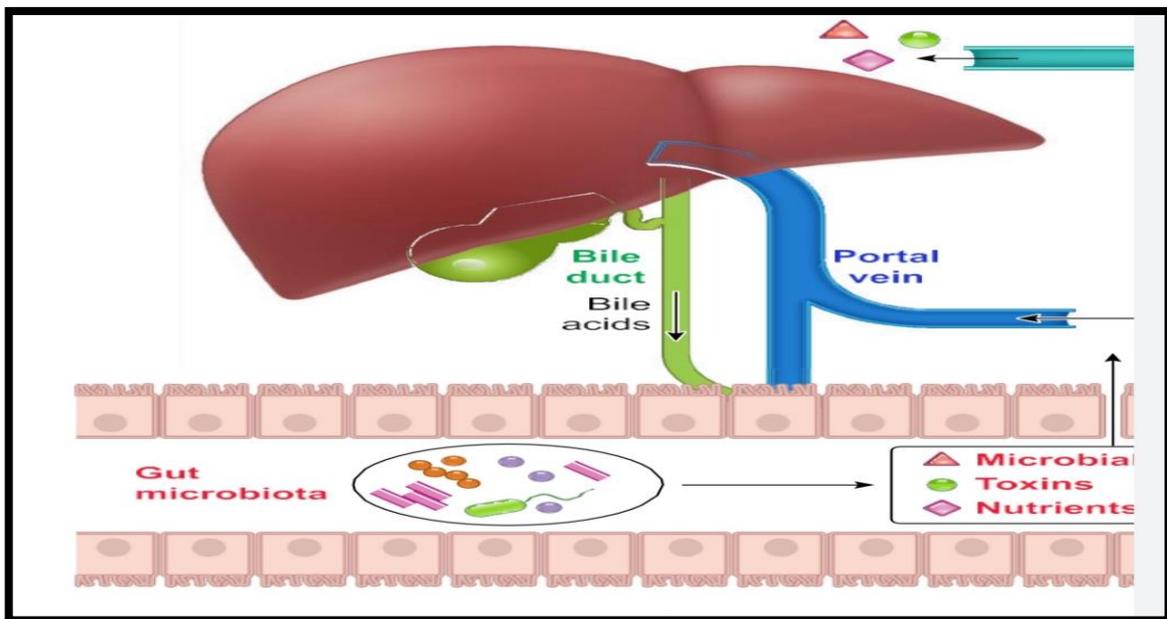
### I.4.4. Le microbiome du foie

#### I.4.4.1. Composition du microbiote du foie

Il existe une communication bidirectionnelle entre l'intestin et le foie. Ces deux organes communiquent par le canal cholédoque et la veine porte. Les produits hépatiques peuvent affecter la composition du microbiome intestinal, mais le microbiome intestinal peut également affecter la santé du foie. Un microbiote intestinal altéré peut bouleverser l'équilibre entre les acides biliaires primaires et secondaires, ce qui peut altérer la signalisation hépatique et le métabolisme du cholestérol[62].

#### I.4.4.2. Le rôle du microbiote du foie

Le foie et le microbiote ont une communication bidirectionnelle (148). Le sang veineux de l'intestin va directement au foie par la veine porte. Les nutriments, les produits et métabolites microbiens et les toxines intestinales atteignent le premier organe du corps, le foie. Les nutriments et les produits microbiens sont également drainés dans les lymphatiques et par le canal thoracique et la circulation systémique vers le foie (5). Le foie est relié à l'intestin par le système biliaire[63]. La bile, les composants biliaires et les acides biliaires sont sécrétés par le foie et voyagent à travers les voies biliaires jusqu'à l'intestin grêle (Figure4).



**Figure 5 :** Le rôle des produits microbiens dans différentes maladies du foie

Une dysbiose intestinale est observée dans la maladie du foie associée à l'alcool (ALD), la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) et la cholangite biliaire primitive (PBC). A et B : la dysbiose associée à l'ALD et à la NAFLD augmente le Lipopolysaccharide (LPS) et les acides biliaires secondaires, ce qui entraîne une augmentation des acides biliaires primaires. L'ALD augmente également le 13-glucan fongique et réduit le niveau de butyrate. Dans la NAFLD, une augmentation de l'éthanol et une diminution de la choline sont également observées. C : dans la CBP, des augmentations de la choline sérique et du LPS sont observées en plus des diminutions de la choline hépatique et des acides biliaires secondaires-primaires. Rapport d'acide biliaire[64-65].

## *Chapitre II*

### *Cancers et microbiomes*

## II.1. Cancer définitions et rappels

### II.1.1. Quelle est la différence entre une tumeur et un cancer

La tumeur est un terme utilisé dans le domaine de la médecine pour qualifier l'augmentation de la taille d'un tissu. Cela veut dire qu'il y a, une surproduction au niveau de la croissance cellulaire, entraînant un dérèglement. Après analyse, les médecins sont capables de déterminer s'il s'agit d'une tumeur de type bénin (sans conséquence grave sur la santé) ou malin (dangereux pour la santé) [66-67].

La tumeur est déterminée par plusieurs facteurs : la croissance, la taille, la différenciation, le déroulement du développement, l'altération des cellules et leur concentration. Tous les tissus peuvent être concernés par ce type de déformation. Ainsi, une tumeur peut se déclarer chez les êtres humains, mais aussi chez les animaux et les plantes. Par contre, Le cancer est une maladie qui provient d'une surproduction cellulaire au sein d'un tissu. On est également sur une tumeur maligne. Une cellule se divise indéfiniment jusqu'à devenir problématique dans l'organisme empêchant les organes de fonctionner normalement. Un cancer peut être provoqué par des facteurs internes, externes ou par un agent infectieux[68].

### II.1.2. Cancer de l'estomac

Le cancer gastrique était la cinquième tumeur maligne la plus répandue dans le monde en 2020 avec environ 1,1 million de nouveaux cas, et est la quatrième cause de décès par cancer. Dans le monde, l'incidence et la mortalité du cancer de l'estomac sont corrélées à l'âge et sont relativement rares chez les personnes des deux sexes de moins de 45 ans. La fréquence du cancer de l'estomac chez les hommes est environ le double de celle chez les femmes[69].

Le cancer gastrique est une maladie multifactorielle, comprenant à la fois des facteurs de risque liés au mode de vie, la génétique et à l'environnement. Cependant, l'étiologie du cancer de l'estomac n'a pas encore été suffisamment élucidée[70]. Topographiquement, le cancer de l'estomac est classé en deux sous-sites : le cancer de l'estomac cardiaque (provenant de la partie supérieure de l'estomac) et le cancer de l'estomac non cardiaque (provenant des autres parties de l'estomac), qui diffèrent par leurs schémas épidémiologiques et leur étiologie. La majorité de tous les cancers de l'estomac (environ 90%) sont des adénocarcinomes, tandis que les autres types (y compris les lymphomes, les sarcomes et les tumeurs neuroendocrines) sont rares. Les deux principaux types histologiques

d'adénocarcinomes du cancer de l'estomac sont diffus et intestinaux, qui diffèrent par des particularités épidémiologiques, telles que l'âge au moment du diagnostic, le sex-ratio, etc[71].

### **II.1.3. Cancer colorectal**

Le cancer colorectal (CCR) est la troisième cause de décès par cancer dans le monde, avec plus de 550 000 décès annuels. La survie à cinq ans du CCR dépasse 90% si la maladie est diagnostiquée à un stade précoce, mais la survie n'est que d'environ 60% pour les patients atteints de tumeurs avec atteinte des ganglions lymphatiques et moins de 10% si des métastases sont présentes. Des syndromes génétiques associés à un risque élevé de CCR ont été identifiés. Les personnes ayant plusieurs parents au premier degré atteints de CCR, ou tout parent au premier degré atteint de CCR diagnostiqué avant l'âge de 60 ans, ont un risque accru de développer un CCR, par rapport à la population générale. La prise en charge du cancer du rectum, qui représente environ 35 % de tous les CCR, diffère au stade précoce, car les conditions anatomiques sont distinctes du reste du côlon et la récurrence locale est un problème majeur de morbidité et de qualité de vie. Le pronostic après chirurgie est dépendant de la marge de résection circonférentielle, soulignant l'importance de la qualité chirurgicale[72].

Les stratégies de prévention primaire du CCR sporadique comprennent une consommation accrue de grains entiers et de fruits et légumes, une activité physique accrue et, pour les patients adipeux, une réduction de poids. En raison de résultats d'études incohérents, aucune recommandation concernant la nutrition ne peut être faite. Bien que la chimio-prévention des polypes colorectaux avec de l'aspirine à faible dose ou d'autres inhibiteurs de la COX2 se soit révélée efficace, aucune réduction du taux d'incidence du CCR n'a pu être établie[73].

#### **II.1.3.1. Cancer du foie**

Le cancer du foie était le sixième cancer plus souvent diagnostiqué et quatrième cause de mortalité liée au cancer dans le monde en 2018, avec 841 000 cas incidents et 782 000 décès. Le type de cancer le plus courant est le carcinome hépatocellulaire, suivi du cholangiocarcinome trahépatique et d'autres types plus rares (coma sar, hémangioendothéliome, etc.). Le pronostic du cancer du foie est faible, avec un taux de survie global à 5 ans de seulement 19,6 %. De plus, le fardeau du cancer du foie continue d'augmenter malgré des efforts substantiels pour la prévenir. Les étiologies du cancer du foie

comprennent l'hépatite B (VHB), virus de l'hépatite C (VHC), consommation d'alcool, stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), et d'autres causes (aflatoxines et microcystines). Parmi eux, le VHB et le VHC étaient les principaux facteurs de risque de cancer du foie[74-75].

## **II.2. Infections et cancer**

Il est affirmé que les patients des services d'oncologie sont plus susceptibles de développer des infections. Le cancer et la chimiothérapie prédisposent ces patients à l'infection. L'infection est habituellement rencontrée chez les patients cancéreux, entraînant des perturbations dans le schéma thérapeutique, une hospitalisation prolongée, une augmentation du coût des soins de santé et une réduction de la survie[76].

La prise en charge des infections est basée sur l'utilisation d'une thérapie antimicrobienne empirique appropriée avec une compréhension globale des agents pathogènes couramment rencontrés et des schémas de sensibilité aux antibiotiques. Les infections bactériennes gram-négatives ont diminué au cours des 20 dernières années, mais les bactéries gram-positives sont plus fréquemment observées. L'utilisation empirique des antimicrobiens a réduit la mortalité chez les patients, mais a également conduit à la menace des bactéries multi-résistantes[77].

Les bactéries multi-résistantes sont fréquemment rencontrées chez les patients immunodéprimés. Pour prévenir, identifier et traiter avec succès les infections, une bonne connaissance du spectre en constante évolution des infections est nécessaire. Par contre dans les infections virales, les virus ont de petits génomes par rapport aux cellules hôtes, ils ont évolué pour être efficaces pour détourner les processus métaboliques de l'hôte. Des protéines virales spécifiques peuvent recâbler plusieurs processus métaboliques, et certaines de ces protéines virales sont oncogènes. Peu de temps après la découverte des premiers oncogènes viraux, des analogues humains d'ncogènes viraux se sont avérés surexprimés ou dérégulés dans le cancer, améliorant la compréhension de la base génétique du cancer[78-79].

Des travaux plus récents ont montré que les oncogènes humains peuvent agir comme des oncogènes viraux pour augmenter l'anabolisme nécessaire à la croissance tumorale. Le métabolisme similaire des cellules tumorales et des cellules infectées par des virus dévoile une vulnérabilité prometteuse qui peut être exploitée comme agent thérapeutique contre le cancer, où les virus peuvent être spécifiquement conçus pour cibler et se répliquer dans les tumeurs, conduisant à une réponse immunitaire contre la tumeur[80].

Les lymphocytes T CD4 ont un impact considérable sur l'évolution des infections virales, et le rôle des lymphocytes T CD4 dans les réponses anti-tumorales fait l'objet d'une attention croissante[81]. Les lymphocytes T CD4 sécrètent de multiples cytokines qui peuvent avoir des fonctions effectrices directes, mais aussi activer d'autres cellules immunitaires. Étant donné que les lymphocytes T CD8 et les lymphocytes B dépendent de l'aide du CD4 pour des réponses optimales, les lymphocytes T CD4 ont le rôle unique de coordonner les réponses cellulaires et humorales. Contrairement aux infections aiguës qui sont résolues par des réponses immunitaires efficaces, lors d'infections chroniques et de cancers, les cellules T perdent progressivement leur fonction et s'épuisent[82-83].

L'épuisement des lymphocytes T a été mieux décrit dans les lymphocytes T CD8, mais les lymphocytes T CD4 s'épuisent également en raison d'une stimulation antigénique persistante. En conclusion, les lymphocytes T CD4 assurent des réponses optimales des lymphocytes T CD8 et l'aide du CD4 apparenté est particulièrement nécessaire lors d'infections chroniques, lorsque les conditions d'amorçage des lymphocytes T CD8 sont sous-optimales. Les lymphocytes T CD4 sont nécessaires aux réponses des lymphocytes B. Les anticorps jouent un rôle essentiel dans la prévention de la plupart des infections virales.

## II.3. Le microbiome et cancers

### II.3.1. Dysbiose bactérienne dans la cancérogénèse

Dès la naissance, l'être humain est colonisé par un ensemble de micro-organismes, dont des bactéries, des champignons, virus et archées, qui sont 10 fois plus nombreux que nos cellules humaines et en fournissent 100 fois plus de gènes que l'on trouve dans notre génome humain. Alors que plusieurs de nos tissus sont colonisés par un microbiote spécifique[84].

#### II.3.1.1. Dysbiose bactérienne dans la cancérogénèse foie

Le microbiote intestinal altéré, accompagné d'une prolifération bactérienne de l'intestin grêle (SIBO), sont observés dans les maladies inflammatoires chroniques du foie, la cirrhose et CHC, et des signatures métagénomiques du microbiome intestinal ont été identifiées chez des patients avec NAFLD, cirrhose et CHC. Par exemple, Boursier et al. Signalé que les *Bacteroides* fécaux et *Ruminococcus* étaient indépendamment associés à la NASH et fibrose (stade 2 ou plus), respectivement, alors que *Prevotella* était épuisée dans ces conditions. Loomba et ses collègues ont montré une abondance accrue de *Bacteroides vulgatus* et *Escherichia coli* chez les patients NAFLD atteints de fibrose avancée. Dans HCC,

l'expansion de *Bacteroides* pour l'homéostasie intestinale et hépatique, ainsi que la physiologie de l'hôte en général. Le microbiome intestinal instruit également la zonation du foie. Détection microbienne par les récepteurs de type péage (TLR) sur le foie sinusoidal et *Ruminococcaceae* est en corrélation avec les concentrations de calprotectine et l'inflammation systémique. Enfin, outre les bactéries, l'intestin peut être considéré comme un outil non invasif qui peut prédire la cirrhose et le CHC précoce, comme l'a démontré une large cohorte de patients infectés par le VHB en Chine[85].

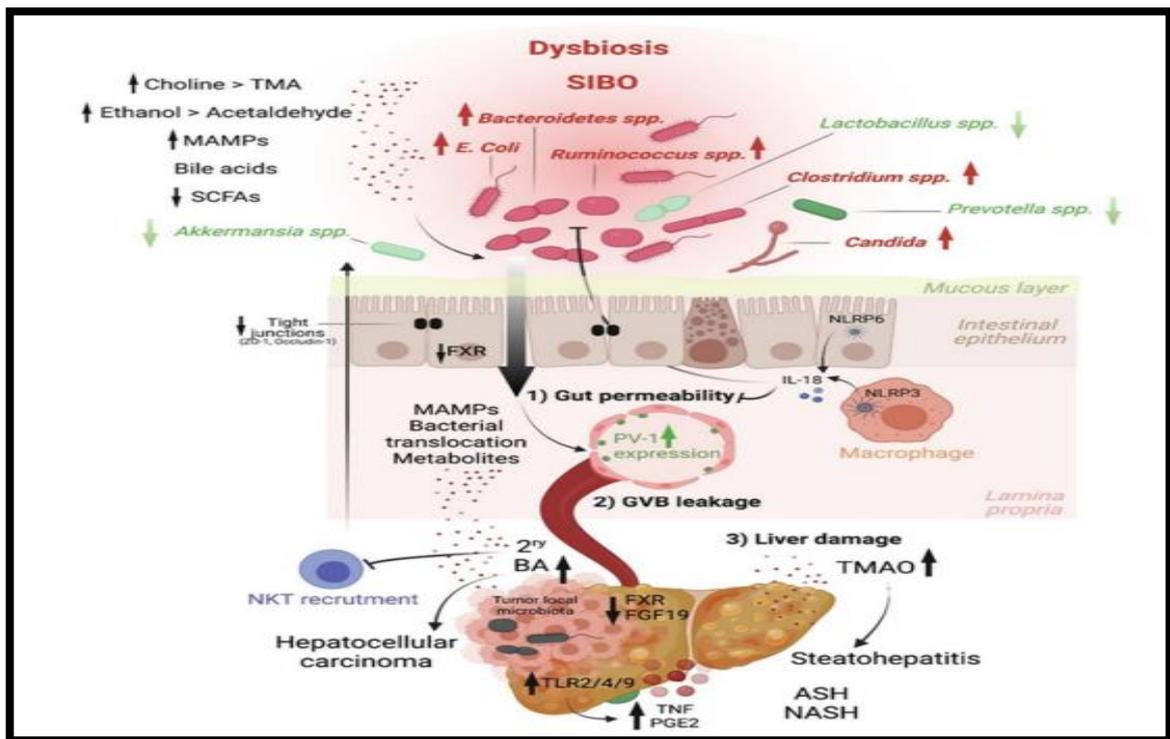
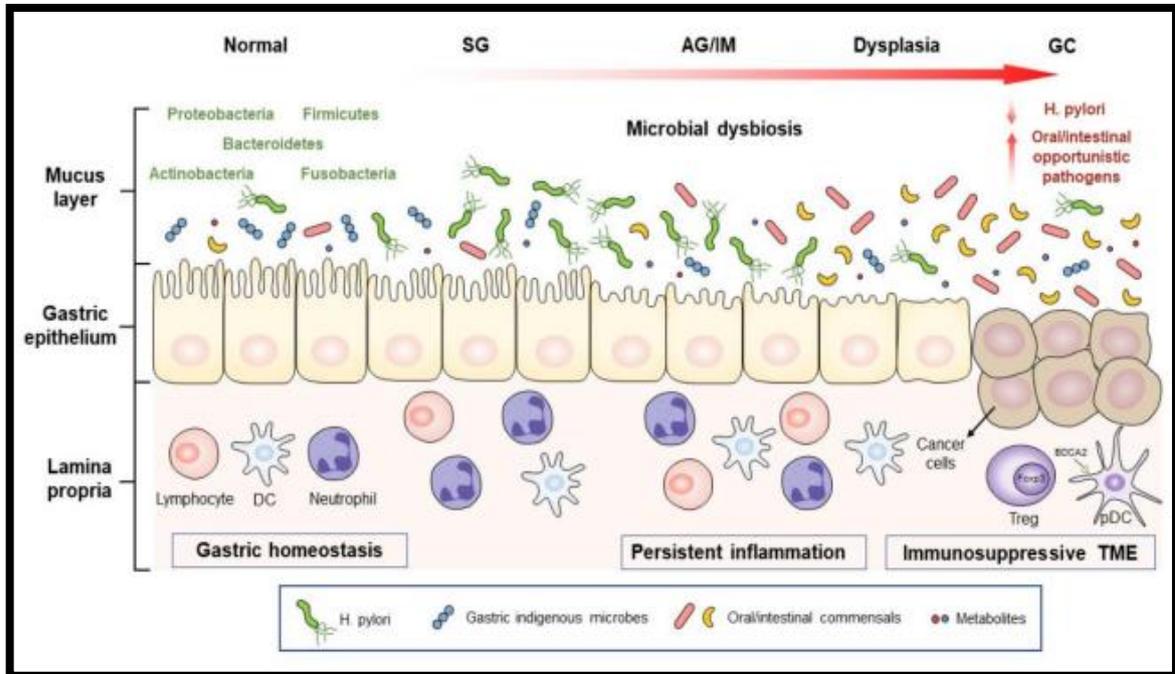


Figure 6 : Fonctionnement de la dybisiobse du foie.

### II.3.1.2. Dysbiose bactérienne dans la cancérogenèse gastrique

La fonction et le réseau d'interaction du microbiote gastrique existent entre les différentes étapes de la cancérogenèse gastrique, y compris les lésions précancéreuses (gastrite atrophique (AG), métaplasie intestinale (IM) et dysplasie), et CG. Dans cette section, les preuves des altérations dynamiques et progressives du microbiote gastrique, ainsi que leurs corrélations avec la progression du GC, sont discutées et résumées dans la **figure6**. L'enrichissement en microbes provenant de la cavité buccale ou des intestins a été constamment détecté dans le microbiote gastrique des patients GC, et ces résultats sont cohérents avec les ensembles de données précédents utilisant techniques de non-séquençage telles que l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminale et les microréseaux. Curieusement, *H. pylori* a été fréquemment observé comme

significativement appauvri ou même complètement absent dans les derniers stades de la tumorigenèse gastrique, en particulier chez les patients atteints de dysplasie. De plus, des études épidémiologiques ont montré l'association de l'abondance de *H. pylori* avec différents sous-types de GC[86-87].



**Figure 7 :** Représentation schématique de l'altération microbienne gastrique à travers les différentes étapes de la carcinogenèse gastrique.

### II.3.1.3. Dysbiose bactérienne dans la cancérogenèse colorectale

Des preuves convaincantes récentes dans des études humaines et des modèles animaux suggèrent que les infections par des agents pathogènes bactériens, la dérégulation microbienne commensale et les altérations résultantes des produits microbiens sont impliquées dans le développement du CCR. On pense que les interactions entre les habitudes de vie de type occidental (par exemple, l'obésité, une mauvaise alimentation), la génétique de l'hôte et les réponses immunitaires induisent des modifications du microbiome, conduisant éventuellement à une dysbiose bactérienne et modifiant l'équilibre de la fonction métabolique de bénéfique à néfaste[88].

La barrière intestinale est un environnement dynamique et complexe et agit comme une barrière physique et chimique qui supprime l'accès des pathobiontes, des antigènes et d'autres bactéries invasives à l'hôte. La couche externe de mucus contient les bactéries commensales qui produisent des protéines antimicrobiennes et des immunoglobulines

sécrétoires A (IgA). Dans la lumière, les bactéries et les antigènes sont dégradés par l'action des sucs gastrique, pancréatique et biliaire tandis que les bactéries commensales produisent des bactériocines, modifient le pH du contenu luminal et entrent en compétition pour les nutriments afin d'inhiber la colonisation des agents pathogènes.

Dans la couche épithéliale, les cellules épithéliales contiennent des complexes de jonction serrés essentiels pour sceller les espaces paracellulaires entre les colonocytes, maintenir la perméabilité sélective et l'intégrité de la barrière. De plus, les cellules épithéliales peuvent transporter le contenu luminal et produire des antimicrobiens pour éliminer les micro-organismes et potentialiser l'action des monocytes et des macrophages. La lamina propria contient des cellules de la réponse immunitaire et adaptative capables de sécréter des immunoglobulines et des cytokines[89].

Le maintien d'une barrière muqueuse colique fonctionnelle est essentiel pour garantir un état sain et le confinement luminal des bactéries est l'un des rôles clés de l'intestin muqueuse. Au fil du temps, la capacité protectrice de la barrière muqueuse colique est affectée, permettant une plus grande translocation bactérienne et l'entrée de produits microbiens toxiques, tels que les endotoxines pro-inflammatoires et les métabolites bactériens, à travers l'épithélium colique[90].

## II.4. Implication du microbiote dans les différents cancers

### II.4.1. Microbiome et cancer du foie

Le cancer du foie est classé comme la quatrième cause de mortalité liée au cancer. Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la principale forme de cancer du foie. Outre les infections chroniques par les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C, qui sont les principales causes du CHC, la contamination des denrées alimentaires par les aflatoxines, un groupe de mycotoxines produites par les champignons *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*, contribue de manière importante au fardeau du CHC chez de nombreux pays à faible revenu. Le deuxième type de cancer du foie le plus important est le cholangio carcinome, dont la principale cause connue est l'infestation par les douves du foie, *Opisthorchis viverrini* et *Clonorchis sinensis*, qui est fréquente dans certaines régions d'Asie du Sud-Est. L'angiosarcome est une forme rare de cancer du foie dont la survenue est liée à une exposition professionnelle au chlorure de vinyle[91].

### **II.4.2. Microbiote et carcinome hépatocellulaire**

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) se classe au cinquième rang des cancers et représente la troisième cause de mortalité par cancer dans le monde. La répétition d'épisodes inflammatoires, dont l'origine peut être virale (virus des hépatites B et C), alcoolique et métabolique, et le développement d'hépatopathies chroniques associées, telles que la stéatohépatite (NASH) et la cirrhose, sont des causes majeures de carcinogenèse hépatique. Les cycles successifs d'agression du foie qui précèdent la survenue du carcinome hépatocellulaire conduisent à un véritable remodelage de l'organe (nodules de régénération hépatocytaire). Ce dernier est associé, sur le plan moléculaire, à de profondes altérations des voies de signalisation régulant la prolifération, la mort cellulaire, la migration/invasion cellulaires et l'angiogenèse. Il est, par ailleurs, bien connu que la cirrhose s'accompagne fréquemment d'une altération de l'intégrité de la barrière intestinale associée à une sensibilité accrue des patients cirrhotiques aux infections bactériennes issues du tube digestif[91-92]. La translocation de produits bactériens, comme le Lipopolysaccharide (LPS, composant de la paroi des bactéries Gram négatif), par le système veineux portal contribue ainsi à la pérennisation des lésions inflammatoires du foie. S'il a été montré que la composition du microbiote de patients cirrhotiques était différente de celle de sujets sains, avec notamment une surreprésentation de bactéries Gram négatif, il est impossible de distinguer la cause de la conséquence[93].

### **II.4.3. Conclusion et perspectives**

Les patients atteints d'un cancer du foie lié à la NAFLD présentent un profil de microbiome intestinal distinctif et caractéristique, différent de celui de personnes atteintes d'une simple maladie du foie. C'est donc une véritable signature du cancer du foie[94].

### **II.4.4. Microbiome et cancer de l'estomac**

#### **II.4.4.1. Caractérisation du microbiome gastrique**

Le profil des patients atteints du cancer gastrique présente un microbiote gastrique distinct de celui observé chez les patients sains. Il a été constaté que 6 genres bactériens étaient spécifiquement enrichis dans les échantillons de tissus du cancer gastrique par rapport aux échantillons du gastrique sain, tandis que 18 genres étaient appauvris dans ces mêmes échantillons. Sur la base de l'abondance différentielle de ces bactéries, nous avons pu calculer les valeurs de l'indice de dysbiose microbienne (MDI), qui étaient significativement plus élevées chez les patients atteints du cancer gastrique que chez les patients du gastrique

sain. Le microbiote gastrique a été caractérisé pour la première fois chez des enfants avec et sans *H. pylori* et avons observé que lorsque *H. pylori* est présent, il a tendance à dominer la communauté microbienne. Chez les patients *H. pylori* -négatifs, il y avait plus d'abondance relative des classes gamma-protéobactéries, bêta-protéobactéries, *bactéroïdes* et *clostridies* et une plus grande richesse et diversité bactérienne[95-96].

#### II.4.4.2. Relation entre le cancer de l'estomac et le microbiote

En considération de la nature complexe et dynamique du microbiote gastro-intestinal humain, il est récemment considéré comme un organe métaboliquement actif et sa nature complexe régule évidemment l'homéostasie gastro-intestinale en interagissant avec les cellules immunitaires. La flore normale du tractus gastro-intestinal prend en charge plusieurs processus, notamment la réponse immunitaire de la muqueuse de l'hôte, le métabolisme énergétique, l'élimination des agents pathogènes et le développement du cancer. Il est largement impliqué que les bactéries intestinales humaines jouent un rôle crucial dans l'étiologie des cancers gastro-intestinaux, en particulier les cancers gastriques dus à la dysbiose. La dysbiose est une affection caractérisée par un déséquilibre du microbiote gastro-intestinal, qui entraîne par conséquent plusieurs conditions pathologiques, notamment le cancer gastrique. De plus, le profilage de la communauté microbienne gastrique a révélé que la dysbiose du microbiote intestinal est associée à des lésions du cancer gastrique ou précancéreuses[97].

Il ya une relation entre les agents pathogènes microbiens particuliers et la carcinogénèse qui a fait l'objet d'explorations dans le contexte de l'épidémiologie des systèmes[98-99]. Un nombre considérable d'études se sont concentrées sur des agents pathogènes individuels, tels que *H. pylori*, et leur capacité à initier des conditions pathologiques, telles que la gastrite ou cancer gastrique. Parmi les nombreux facteurs de risque associés à la survenue du cancer gastrique l'infection à *H. pylori* joue un rôle central, Notamment, l'identification d'espèces microbiennes spécifiques associées à diverses maladies, en particulier les cancers du tractus gastro-intestinal, ont été réalisés grâce à l'expansion des technologies de séquençage avancées. Il a été suggéré que la colonisation de bactéries autres que *H. pylori* dans l'estomac peut également stimuler le risque du cancer gastrique. Ainsi, comprendre comment la dysbiose influence les réactions métaboliques de l'hôte et les réponses inflammatoires essentielles pour définir les rôles que jouent des composants spécifiques du microbiote dans la carcinogénèse[100].

#### II.4.4.3. *Helicobacter pylori* et cancer gastrique

Le facteur de risque du cancer gastrique le mieux établi est l'infection à *H. pylori*. Seuls 1 à 2 % des patients infectés par *H. pylori* développent éventuellement un cancer gastrique. D'autres facteurs, y compris la virulence de diverses souches de *H. pylori*, la durée de l'infection et les facteurs environnementaux (p. ex., l'alimentation), jouent tous un rôle. L'influence directe de *H. pylori* sur la carcinogénèse s'exerce principalement à travers deux facteurs de virulence : VacA et CagA. VacA, une protéine porogène multimérique de poids moléculaire élevé, est présente dans toutes les souches de *H. pylori*, et sa persistance dans l'estomac humain est facilitée par la formation de pores dans la membrane épithéliale (et la sortie ultérieure d'urée[101], permettant à *H. pylori* pour catalyser l'hydrolyse de l'urée comme moyen de protection contre l'acidité gastrique) ainsi que la suppression des macrophages et des lymphocytes T. CagA, une protéine spécifique à la souche qui sert de marqueur du risque accru de maladie peptique et du cancer gastrique, inhibe la voie apoptotique des cellules épithéliales et provoque des aberrations morphologiques, y compris la diffusion et l'allongement des cellules, et la perte de polarité cellulaire. *H. pylori* favorise également indirectement la cancérogénèse en modifiant la composition du microbiote gastrique[102-103].

#### II.4.4.4. Conclusion et perspectives

Le cancer de l'estomac est une maladie multifactorielle. Le facteur de risque établi le plus important pour le cancer gastrique est l'infection à *H. pylori*. Cependant, le cancer de l'estomac reste un problème de santé mondial en tant que cinquième cancer et quatrième cause de décès liés au cancer dans le monde. Une mise en lumière plus poussée des facteurs de risque peut aider à identifier diverses opportunités de prévention[104-105].

#### II.4.5. Microbiome et cancer colorectal

##### II.4.5.1. Flore impliqué dans le cancer colorectal

Le cancer colorectal (CCR) est le troisième cancer chez l'homme et la quatrième cause la plus fréquente de décès liés au cancer. Les causes de l'apparition et du développement du cancer colorectal ne sont pas claires, mais on pense qu'il résulte d'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. La flore intestinale et ses métabolites, en tant que facteurs environnementaux, jouent un rôle important dans le cancer colorectal en régulant les gènes apparentés. Le microbiote intestinal symbiotique se caractérise par une diversité, une stabilité, une résistance et une résilience élevées, tandis que les troubles du microbiote intestinal sont associés à une perte de symbiose et de diversité. La flore normale présente

dans l'intestin est constituée de *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Escherichia coli* et *Enterococcus*. Parmi les microbes intestinaux, les *Bacteroides* et les *Absidia* sont les plus abondants, représentant plus de 90 % des microbes[106].

La microflore intestinale favorise la maturation du système immunitaire humain et maintient l'intégrité de la barrière naturelle. Chez un individu sain, la structure et la fonction immunitaire de l'épithélium colorectal entretiennent une relation bénéfique entre le microbiote et l'hôte. Les modifications de l'intestin affectent le fonctionnement du système immunitaire, qui participe à la régulation de la localisation et de la composition du microbiote intestinal[107].

#### II.4.5.2. Microbiote intestinal et cancer colorectal

Le microbiote intestinal peut contribuer au développement du cancer colorectal par la production de métabolites microbiens qui interagissent avec le système immunitaire de l'hôte et induisent la libération de facteurs de virulence génotoxiques. Des travaux récents ont rapporté que les patients atteints du cancer colorectal présentent une diversité et une richesse bactériennes inférieures dans les échantillons fécaux et la muqueuse intestinale par rapport aux individus sains[108]. De plus, les patients atteints du cancer colorectal présentent des altérations significatives dans des groupes bactériens spécifiques avec un impact potentiel sur la réponse immunitaire muqueuse par rapport aux témoins sains. En particulier, les patients atteints de CCR présentent une augmentation significative de *Bacteroides fragilis*, *Fusobacteriumnucleatum*, *Enterococcaceae* ou *Campylobacter*, *Peptostreptococcus*, *Enterococcusfaecalis*, *Escherichia coli*, *Shigella* et *Streptococcus gallolyticus*, et une diminution de *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* et *Roseburia*[109].

Ces changements pourraient produire un enrichissement en pathogènes opportunistes pro-inflammatoires et une diminution des bactéries productrices de butyrate, ce qui peut entraîner un déséquilibre de l'homéostasie intestinale (dysbiose) pouvant finalement conduire à la formation de tumeurs. Ont décrit une diminution de la diversité bactérienne dans les échantillons fécaux de patients atteints du cancer colorectal, avec une augmentation de *Fusobacteriumnucleatum* et de *Porphyromonaset* une diminution des *Clostridia* fermentant les fibres a Gram positifs. De plus, il a été montré que les patients atteints de tumeurs colorectales à un stade précoce (adénome avancé)ont une composition de microbiote différente de ceux atteints de tumeurs à un stade avancé (cancer colorectal

définitif) suggérant que le microbiote intestinal pourrait participer à la progression tumorale[110-111].

#### **II.4.5.3. Conclusion et perspectives**

Les liens entre la colonisation microbienne et le risque de CCR commencent à être démêlés. Les preuves à l'appui d'un lien direct entre les bactéries intestinales et leurs facteurs de virulence et le CCR sporadique humain sont encore limitées. De nouvelles preuves ont montré l'agent pathogène unique et ses rôles dans la promotion du CCR, dans le contexte de la microécologie dans la physiopathologie du CCR. Les données accumulées suggèrent que le risque associé à cette infection affecte les individus de manière disproportionnée[112].

# *Partie Pratique*

## *Chapitre III*

### *Matériels et méthodes*

III.1. Matériels et méthodes

Tableau 2: Matériels utilisés

Les verreries	Le matériel utilisé
-Pipettes graduées -Eprovettes graduée -Erlenmeyer -pipette pasteur - Lames -Becher - Ependorf	-pipette pasteur -Tubes à essai -Anse de platine -Anse en plastique -Micropipette -Portoirs -Ecouvillon stériles -Papier aluminium -Feutre permanent -Papier -Kit de coloration de gram -Ciseaux -Parafilm -Seringue

Tableau 3: Les appareils et produits utilisés

Les appareils utilisés	Les solutions et produits utilisés
-Balance analytique -Plaque chauffante -Etuve -Agitateur a barreau magnétique -Hotte -Microscope optique -PH mètre -Vortex -Bec Bunsen	- Eau distillée - Eau physiologique - Acétone (90 %) - Eau de Javel - Cristal violet (violet de gentiane) - Lugol - Solution décolorante – safranine - Gélose nutritif - BHIB (Brain Heartinfusion) - MH (Mueller – Hinton) – Chromagar - Glycérol - Huile a immersion

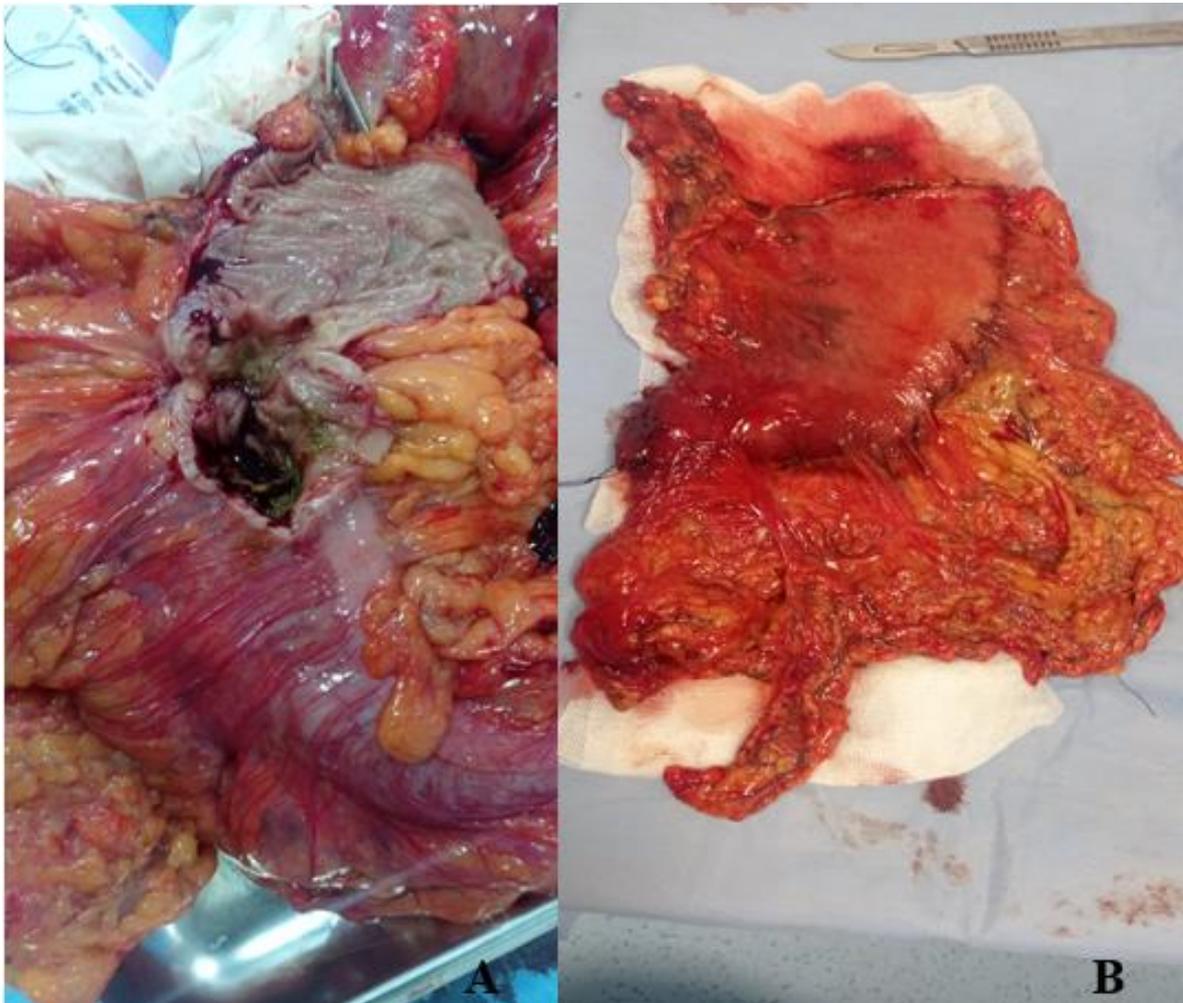
## III.2. Méthodes

### III.2.1. Echantillonnage

Notre stage s'est déroulé au niveau de l'hôpital CHU-KHELIL AMRANE –BEJAIA, service de médecine interne. Sous la supervision des Professeurs et médecins, on a pu accéder au bloc opératoire et assister aux interventions chirurgicales des patients atteints des cancers suivant : Colorectal/ Sigmoides, Gastrique, Hépatique. Afin d'effectuer des prélèvements tissulaires « biopsie » et des prélèvements par écouvillonnage.

### III.2.2. La biopsie

C'est le prélèvement d'une très petite partie d'un organe ou d'un tissu pour effectuer des examens concernant un être vivant. Elle peut être effectuée au moyen d'une aiguille ou par frottis sur tout type de tissu humain.



**Figure 8** : Photo réelle d'une colectomie (A) et photo réelle d'une gastrectomie (B).

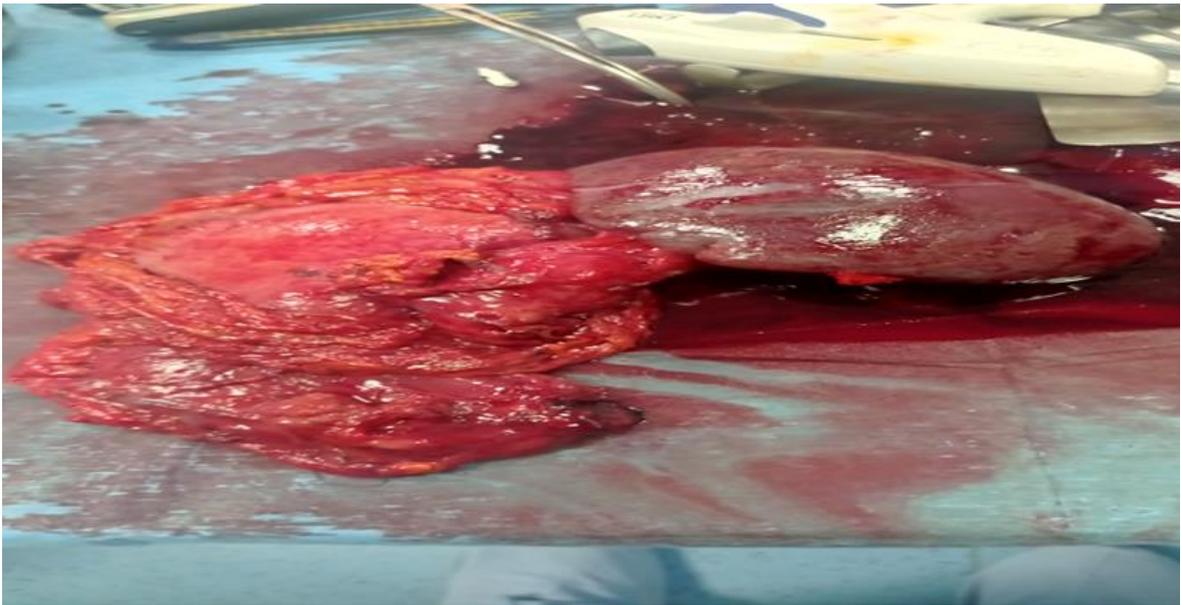


Figure 9 : Photo réelle d'une hépatectomie

### III.2.3. Prélèvement par biopsie

Il se réalise après une :

-Une **colectomie** : qui est l'ablation d'une partie du colon (sigmoïde) ou de la totalité.

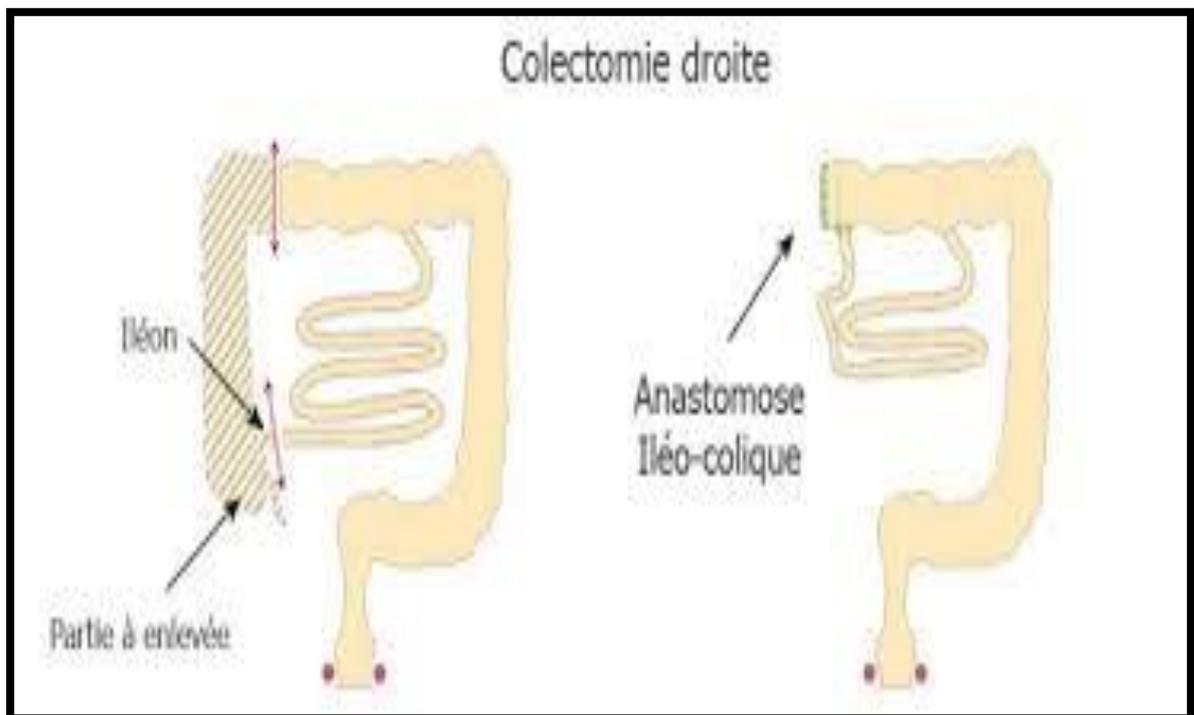
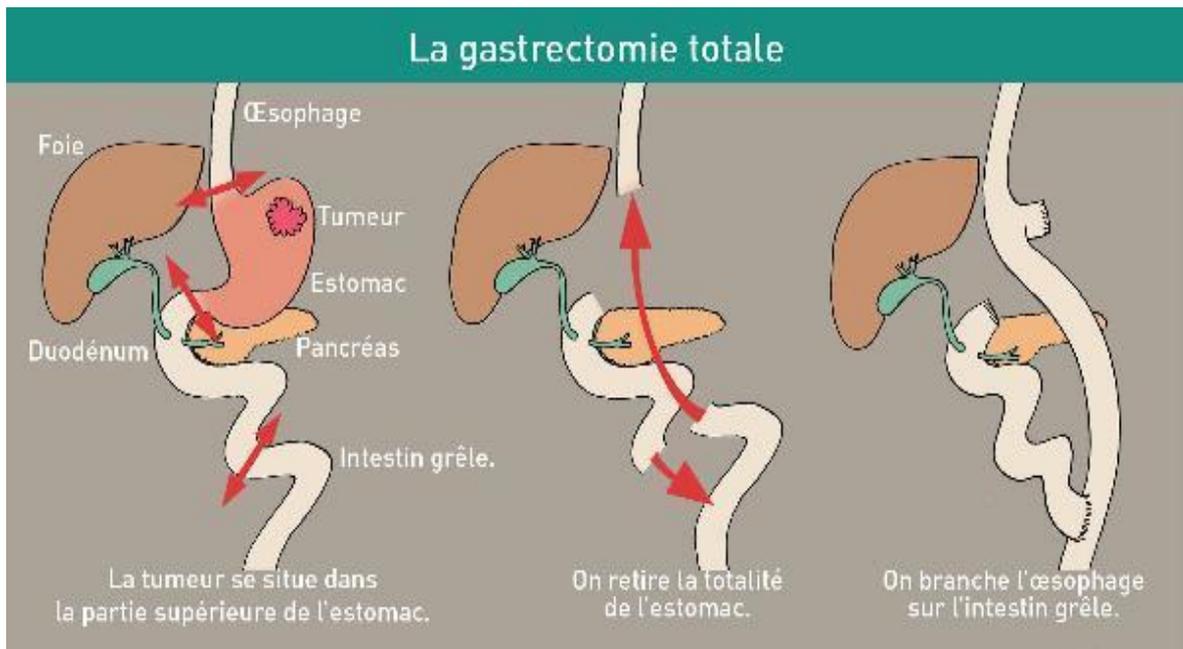


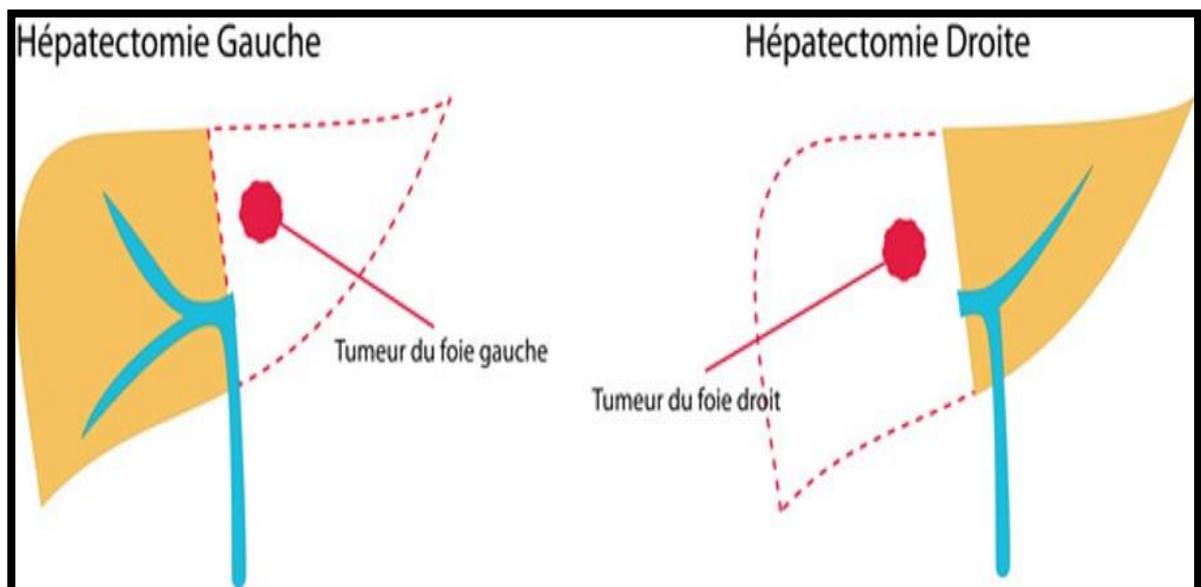
Figure 10 : Représentant une colectomie droite.

-Une **gastrectomie** : qui est l'ablation totale de l'estomac.



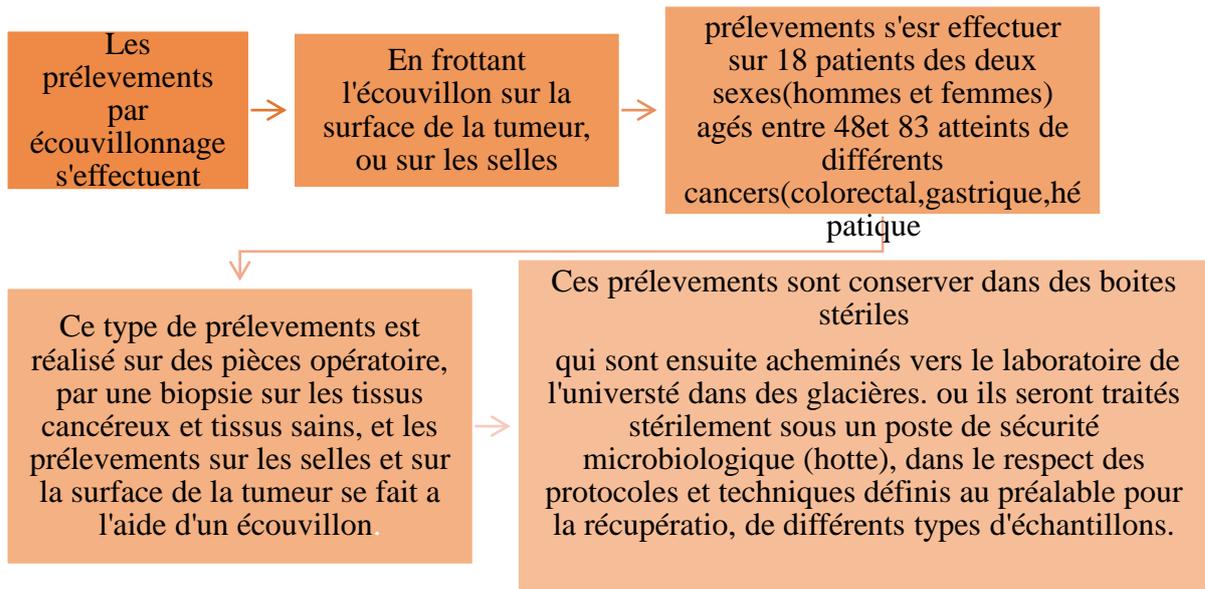
**Figure 11** : Représentant une gastrectomie totale.

-Une **hépatectomie** : qui est l'ablation d'une partie du foie.



**Figure 12** : Représentant une hépatectomie gauche et droite

### III.2.4. Les prélèvements par écouvillonnage



**Figure 13** : Les prélèvements par écouvillonnage

#### III.2.4.1. Protocole

**BHIB** : le bouillon cœur-cerveille (BHIB pour Brain Heart infusion) est un milieu de culture microbiologique non sélectif, il est utilisé pour la culture d'un grand nombre de microorganismes.

**a-** Les tissus cancéreux et sains ont été mis dans des tubes contenant du BHIB (Brain Heart Infusion), et incubé à 37°C pendant 24H.

Après 24H on a repiqué sur milieu MH (Mulher Hinton) et incubé 24H/37°C, après apparition des colonies on passe à la conservation dans des Eppendorfs remplie de BHIB+Glycérol .

#### III.2.4.2. Test chromagar

**Principe du chromagar** : technique de différenciation basée sur la couleur, qui permet l'identification et la confirmation des microorganismes.

Les étapes d'ensemencement sur milieu chromagar :



Figure 14 : Les étapes d'ensemencement sur milieu chromagar

Tableau 4: D'identifications bactériennes

Symboles	Apparence des colonies	Nom de la culture
A	Rose –violet	Escherichia coli
B	Bleu	Enterococcus faecalis
C	Jaune ou aspect blanchâtre	Staphylococcus aureus
D	Incolore (Pigment verdâtre peut être observé)	Pseudomonas aeruginosa
E	Bleu avec auréole violet	Klebsiella pneumoniae

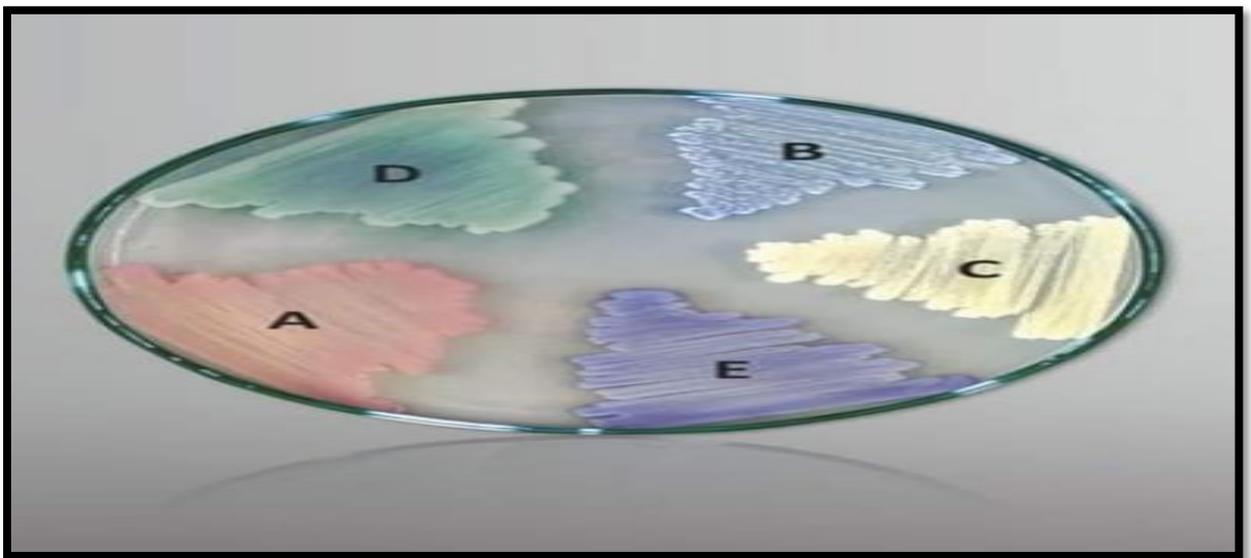


Figure 15 : Boîte d'identification bactérienne sur milieu chromagar

### **III.2.4.3. Purification**

Après les 24H d'incubation il peut y'avoir des colonies différentes selon, la taille (petite, moyenne, grande), Et la couleur (une couleur claire et foncée, ex : rose claire et rose foncé ...). Ce qui nous mène à purifier toutes les souches. On a obtenue 66 souches pures.

Pour s'assurer de la fiabilité des résultats obtenus sur chromagar on procède aux tests suivant : **COLORATION DE GRAM** et **GALERIE API**. Ces méthodes vont nous permettre d'identifier les différentes bactéries présentes.

### **III.2.5. Coloration de gram**

#### **III.2.5.1. Principe et technique**

La coloration de Gram est la coloration de base de la bactériologie. C'est une coloration double qui permet de différencier les bactéries non seulement d'après leur forme et leur disposition, mais surtout d'après leur affinité pour les colorants liée à la structure de la paroi.

La coloration de Gram se base sur la propriété du Cristal Violet et se combine avec l'iode, formant des composés n'étant pas décolorables avec l'alcool ou avec le mélange alcool-acétone. Certaines bactéries ont une affinité spéciale pour cette réaction et, une fois colorées avec le cristal violet, elles ne perdent pas la couleur, si elles sont traitées avec l'alcool ou avec le mélange alcool-acétone, restant colorées en bleu (bactéries Gram positives). D'autres perdent la couleur bleue et se colorent avec la Safranine, prenant une coloration rouge (bactéries Gram négatives).

#### **III.2.5.2. Technique**

On a utilisé le kit de coloration de Gram

##### **A. Kit de coloration de Gram**

C'est un kit pour la coloration des micro-organismes, qui permet de les différencier en deux catégories : Gram positifs (Gram +) qui se colorent en bleu et Gram négatifs (Gram) qui se colorent en rouge. Cette coloration constitue, avec l'observation directe de la morphologie cellulaire, le premier niveau de classement taxonomique des procaryotes. il contient 4 flacons en plastiques.

Chaque emballage contient :

- 1 flacon contenant 250 ml de Solution Cristal Violet.

- 1 flacon contenant 250 ml de Solution Lugol-PVP.
- 1 flacon contenant 250 ml de Solution Décolorante.
- 1 flacon contenant 250 ml de Solution Safranine.



**Figure 16 :** Kit de coloration de Gram

### **B. Les étapes de la coloration de Gram**

Les colonies à soumettre à la coloration de Gram doivent être prélevées de cultures jeunes (18-24 heures) de préférence de milieux gélosés (elles sont doncensemencées sur milieu MH a partir des eppendorfs conservés).

- Etape de fixation : en utilisant des lames propres, on a effectuer un frottis de la culture. Laisser sécher à l'air et fixer à la chaleur par des passages rapides sur la flamme(a l'aide d'un bec bunsen).la fixation de l'échantillon est effectué en évitant un excès de chaleur. En passe ensuite a la coloration.
- Recouvrir la lame de la Solution Cristal Violet. Attendre 1 minute et laver délicatement avec de l'eau.
- Recouvrir la lame de la Solution Lugol-PVP. Attendre 1 minute et laver délicatement avec de l'eau.
- Décolorer avec la Solution Décolorante jusqu'à ce que la préparation libère un colorant (environ 30-60 secondes) et laver délicatement avec de l'eau.
- Recouvrir la lame de la Solution Safranine. Attendre 30-60 secondes et laver délicatement avec de l'eau.
- Essuyer avec du papier.
- Observer la préparation au microscope avec un objectif à immersion (x100).

**C. Lecture**

- Observer au microscope à l'objectif x 100 à immersion
- Les micro-organismes Gram négatifs (-) apparaissent de couleur rouge.
- Les micro-organismes Gram positifs (+) apparaissent de couleur bleue.

**III.2.6. Identification biochimique par la galerie API 20****III.2.6.1. Principe et technique des galeries API 20**

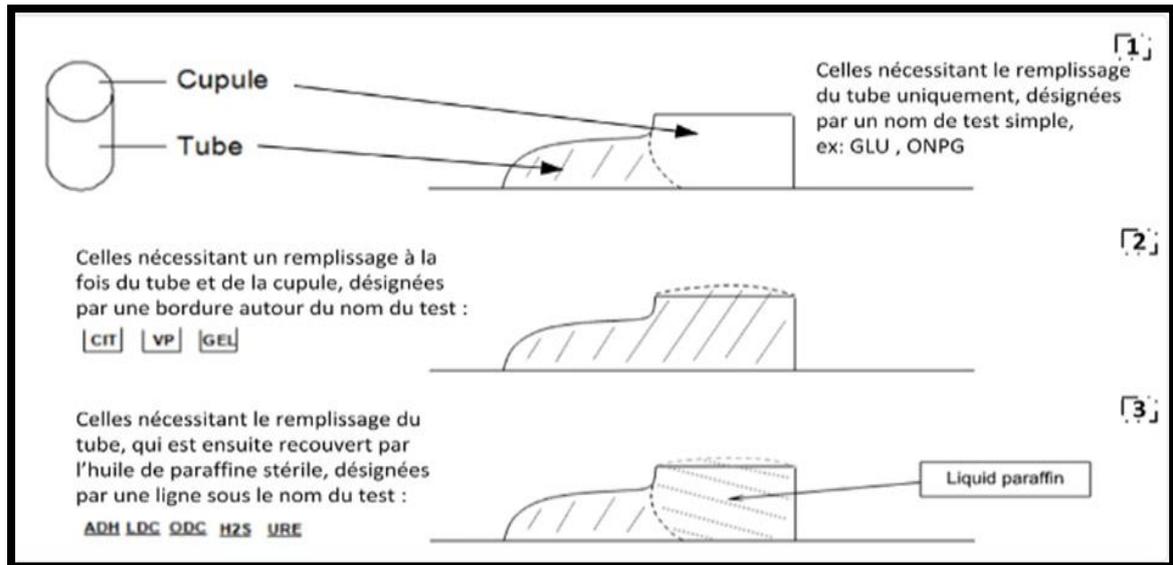
Galerie API (analytical profile index) est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes de l'API 20E (20 caractères pour les entérobactéries), l'API 20NE (est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries) et l'API 20 staph (système d'identification des staphylocoques)

**III.2.6.2. Préparation de l'inoculum**

Préparer une suspension bactérienne dense dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h

**III.2.6.3. Préparation de la galerie**

- Prendre une seule colonie isolée (à partir d'une culture pure) et faites une suspension bactérienne dans de l'eau distillée stérile (0,5 McFarland).
- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Puis déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.
- Prendre une pipette pasteur et remplissez ces compartiments avec la suspension bactérienne comme suite (photo) :



**Figure 17 :** Méthode d'inoculation des galeries API 20

- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Incubez le plateau à 37° C pendant 18 à 24 heures.

#### III.2.6.4. Lecture des galeries API 20

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture :

- Avec le tableau d'identification : comparer les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau : chaque cellule de ce tableau contient les pourcentages de positivité.
- Avec le catalogue analytique : les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée pour chacun, additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs, on obtient un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification
- Avec un logiciel d'identification

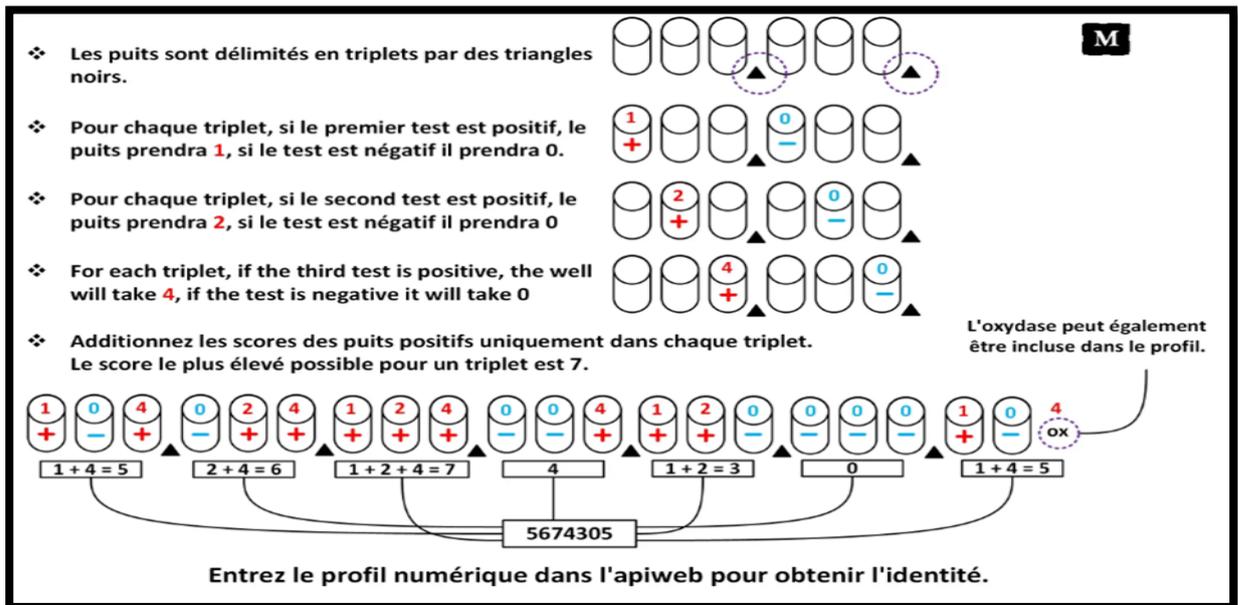


Figure 18 : Entre le profil numérique dans l’apiweb pour obtenir l’identité

A. Galerie API 20 E

Tableau 5: Les différents tests dans l’API 20E

Microtube	Substrat
1-ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside
2-ADH	Arginine
3-LDC	Lysine
4-ODH	Omithine
5-CIT	Citrate
6-H2S	Thisulfate de sodium
7-URE	Urée
8-TDA	Tryptophane
9-IND	Tryptophane
10-VP	Pyruvate de sodium
11- GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon
12- GLU	Glucose
13- MAN	Mannitol
14- INO	Inositol
15- SOR	Sorbitol

<b>16- RHA</b>	Rhamnose
<b>17- SAC</b>	Saccharose
<b>18- MEL</b>	Melibiose
<b>19- AMY</b>	Amygdaline
<b>20- ARA</b>	Arabinose

### B. Principe

Le Système d'Identification API 20E est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatif qui poussent facilement. Le système consiste en une galerie de 20 micro-tubes contenant les substrats déshydratés. Les micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne.

Dans l'API 20E, la bande de plastique contient 20 mini-chambres (Puits) de test contenant des milieux déshydratés ayant des compositions chimiquement définies pour chaque test. Ils détectent généralement une activité enzymatique, principalement liée à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés par les organismes inoculés.

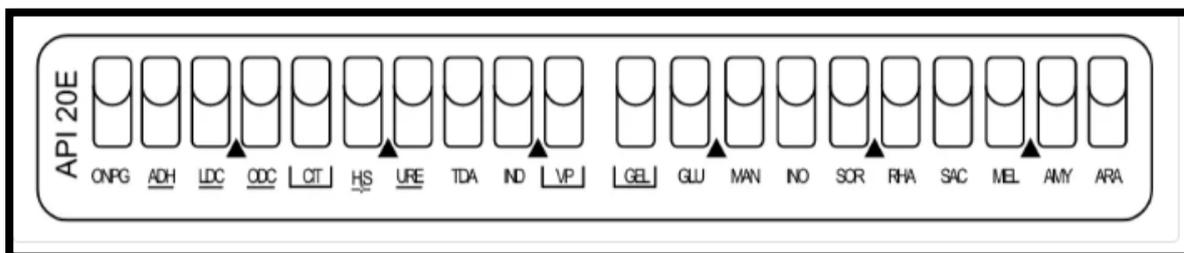


Figure 19 : Différents tests de la galerie API 20E

#### III.2.6.5. Lecture des galeries API 20 E

Après incubation on ajoute les réactifs comme suit :

Tableau 6: liste des réactifs utilisés pour la galerie API 20E

Puits	Réactifs
TDA	Une goutte de réactif TDA
IND	Une goutte de réactif de kovax
VP	Une goutte de réactif VP1 puis VP2



### III.2.6.6. La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture,

#### A. Interprétation

L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne).

#### B. Galerie d'identification API 20 NE

##### Principe :

La galerie API 20NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation et une base de données.

La galerie API 20 NE comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

La préparation de la galerie et de l'inoculum a été effectués comme précédemment décrits pour l'API 20

### III.2.6.7. Les différents tests de la galerie API 20 NE

**Tableau 8:** Les différents tests de la galerie API 20 NE

Microtube	Substrat
1-NO3	Potassium nitrate
2-TRP	Tryptophane
3-GLU	Glucose
4-ADH	Arginine
5-URE	Urée

<b>6-ESC</b>	esculine citrate
<b>7-GEL</b>	Gélatine
<b>8-PNPG</b>	nitrophényl-ED galactopyranoside
<b>9-GLU</b>	Glucose
<b>10-ARA</b>	Arabinose
<b>11-MNE</b>	Mannitol
<b>12-MAN</b>	Mannose
<b>13-NAG</b>	N-acétyl-glucosamine
<b>14-MAL</b>	Maltose
<b>15-GNT</b>	potassium gluconate
<b>16-CAP</b>	acide caprique
<b>17-ADI</b>	acide adipique
<b>18-MLT</b>	acide malique
<b>19-CIT</b>	trisodium citrate
<b>20-PAC</b>	acide phénylacétique

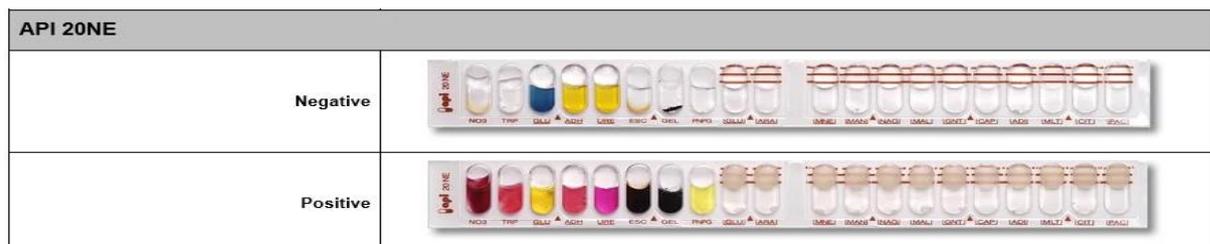
**III.2.6.8. Lecture de la galerie API 20NE**

Après incubation on ajoute les réactifs comme suit :

**Tableau 9:** Après incubation

Puits	Réactifs
<b>NO3</b>	Une goutte de réactif NIT1 puis NIT2
<b>TRP</b>	Une goutte de réactif de JAMES

La lecture de ces réactions (positives ou négatives) se fait en fonction des variations des couleurs.



**Figure :** .....

Tableau 10: Lecture de la galerie miniaturisée API 20NE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolore	rose-rouge
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptophane)	Zn / 5 min	
				incolore vert pâle / jaune	rose incolore
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	incolore	jaune
[GLU]	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
[ARA]	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
[MNE]	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
[MAN]	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
[MAL]	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
[GNT]	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
[CAP]	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
[ADI]	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
[MLT]	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
[CIT]	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
[PAC]	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble

**Interprétation**

L'identification a été réalisée à l'aide du logiciel d'identification.

**III.2.6.9. Galeries d'identification API 20 staph**

Tableau 11: Les différents tests de la galerie API 20 Staph

Microtube	Substrat
1-0	témoin négatif
2-GLU	Glucose
3-FRU	Fructose
4-MNE	Mannose
5-MAL	Maltose
6-LAC	Lactose

<b>7-TRE</b>	Tréhalose
<b>8-MAN</b>	Mannitol
<b>9-XLT</b>	Xylitol
<b>10-MEL</b>	Mélibiose
<b>11-NIT</b>	nitrate de potassium
<b>12-PAL</b>	$\beta$ -naphtyl phosphate
<b>13-VP</b>	sodium pyruvate
<b>14-RAF</b>	Raffinose
<b>15-XYL</b>	Xylose
<b>16-SAC</b>	Saccharose
<b>17-MDG</b>	méthyl- $\alpha$ D- glucopyranoside
<b>18-NAG</b>	N-acétyl-glucosamine
<b>19-ADH</b>	Arginine
<b>20-URE</b>	urée

### Principe :

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

Une suspension bactérienne est utilisée pour réhydrater chacun des puits et les bandelettes sont incubées. Pendant l'incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, le métabolisme bactérien produit des changements de couleur qui sont soit spontanés, soit révélés par l'ajout de réactifs.

III.2.6.9.1. Lecture de la galerie API 20STAPH

Après incubation on ajoute les réactifs comme suit :

Tableau 12: Liste des réactifs utilisés pour la galerie API 20STAPH

Puits	Réactifs
NO3	Une goutte de réactif NIT1 puis NIT2
VP	Une goutte de réactif de VP1 puis VP2

La lecture de ces réactions (positives ou négatives) se fait en fonction des variations des couleurs :

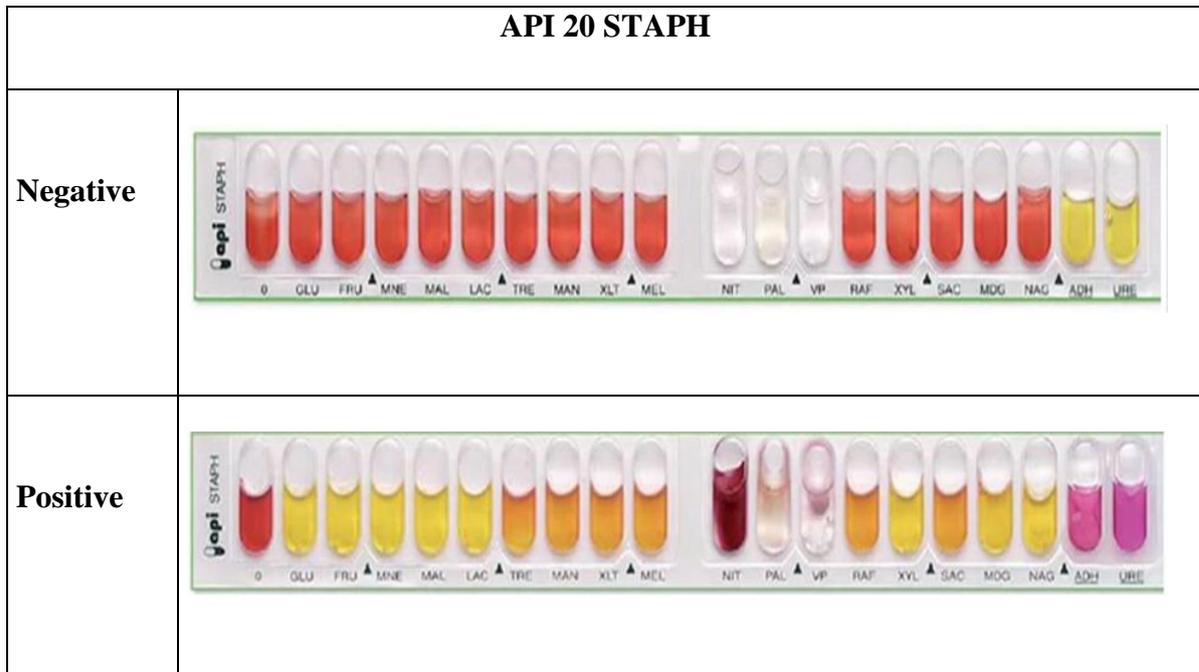


Figure 21 : Lecture de la galerie biochimique API 20 STAPH

**Tableau 13:** Lecture de la galerie miniaturisée API 20STAPH

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> incolore, beige-rosé, violet très pâle   Violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle   violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD-glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture,

**Interpretation :**

L'identification a été réalisée à l'aide du logiciel d'identification.

**Prélevements :**

Au cours de cette étude, des prélèvements sur 16 patients atteints de différents cancers ont été effectués (Figure1) dont des prélèvements par écouvillonnages et biopsie, comme l'indique le tableau qui suit (Tableau).

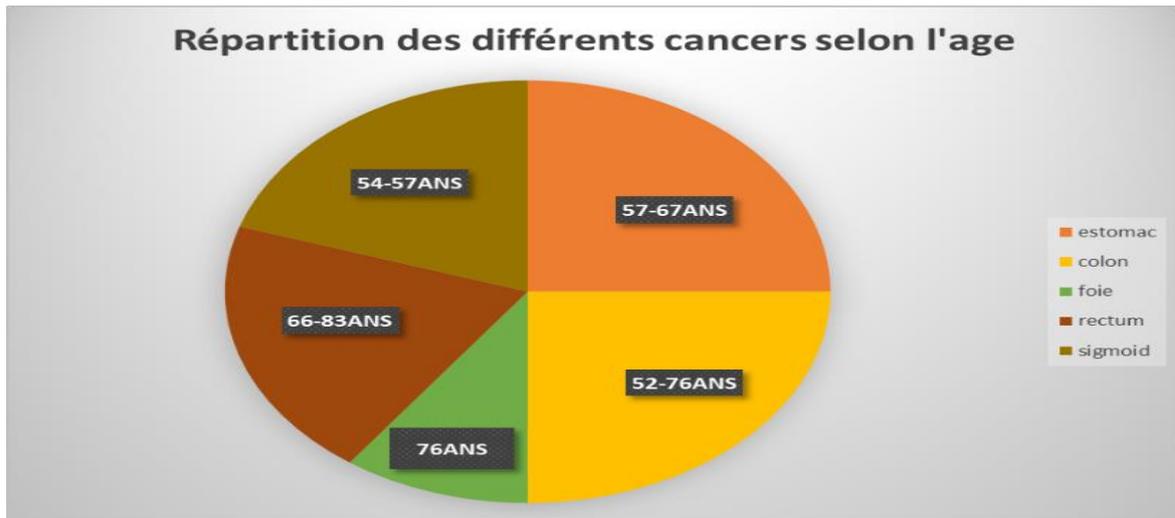


Figure 22 : Secteur qui démontre la répartition des différents cancers selon l'âge

Tableau 14: Données des patients étudiés

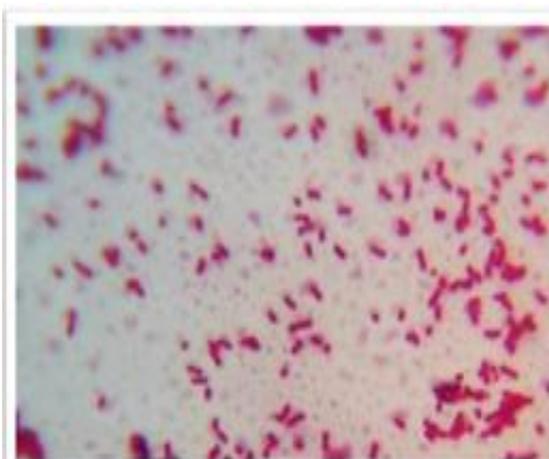
nombre de patients	Age	Groupe Sanguin	Région	Date du prélèvement	Type de cancer	Type de prélèvement			Prise d'antibiotique
						Par biopsie	Par écouvillonnage		
							sur tissus	sur selles	
1	62	AB+	Bejaia	06-03-2022	Estomac	oui	oui	non	oui
2	57	A+	Bejaia	09-03-2022	Sigmoïde	oui	oui	oui	oui
3	65	O+	Bejaia	13-03-2022	Estomac	oui	oui	non	oui
4	57	A+	Bejaia	16-03-2022	Lynch Dégénéré	oui	oui	oui	oui
5	62	O+	Bejaia	10-04-2022	Colon Grele	oui	oui	oui	oui
6	68	O+	Bejaia	11-04-2022	Colon Droit	oui	oui	oui	oui
7	83	A+	Bejaia	08-05-2022	Rectum	oui	oui	oui	oui
8	72	B+	Bejaia	09-05-2022	Rectum	oui	oui	oui	oui
9	57	A+	Bejaia	15-05-2022	Estomac	oui	oui	non	oui
10	76	O+	Bejaia	16-05-2022	Colon+Foie	oui	oui	oui	oui
11	66	O+	Bejaia	17-05-2022	Colon Droit	oui	oui	non	oui
12	67	O+	Bejaia	18-05-2022	Estomac	oui	oui	non	oui
13	66	O+	Bejaia	22-05-2022	Rectum	oui	oui	oui	oui
14	58	O+	Bejaia	24-05-2022	Sigmoïde	oui	oui	oui	oui
15	52	AB+	Bejaia	25/05/2022	Colon	oui	oui	oui	oui
16	54	O+	Bejaia	26/05/2022	Sigmoïde	oui	oui	oui	oui

### Souches bactériennes

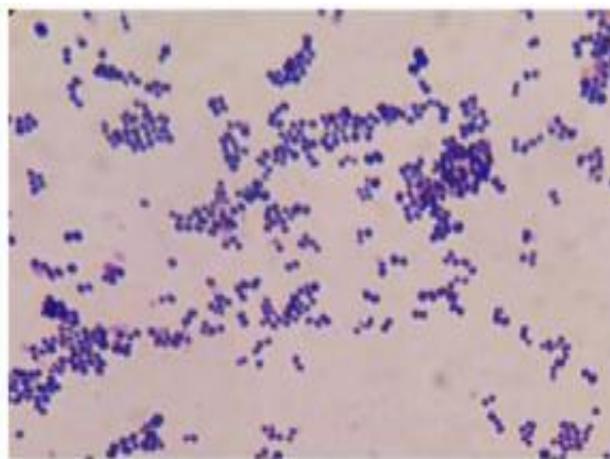
Sur un total de 16 prélèvements, 66 souches en été isolées et étudiées. Les différents tests utilisés au laboratoire à savoir : chromagar, coloration de gram et galeries API, nous ont permis de faire l'identification des souches et de déterminer les bactéries impliquées dans les différents cancers.

### Examen microscopique :

Les résultats obtenus par observation microscopique après coloration de Gram, ont montré que les souches se présentent sous forme :



**Figure 23 :** Aspect des bactéries GN sous microscope optique (grossissement GX100)



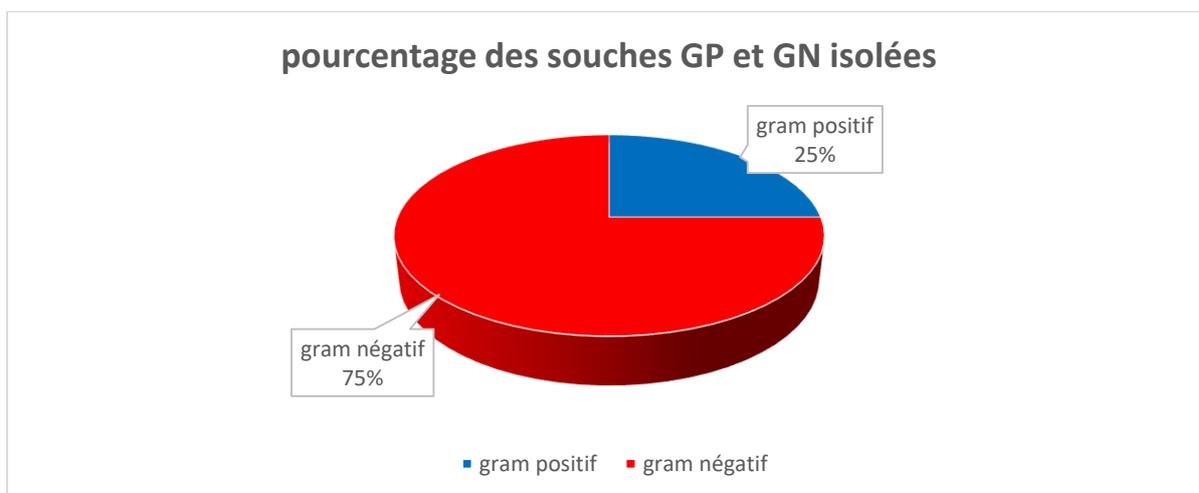
**Figure 24 :** Aspect des bactéries GP sous microscope optique (grossissement GX100)

### Aspect macroscopique des isolats :

Les isolats bactériens ont montré divers aspects culturels, en fonction du milieu de culture, permettant de suspecter leur appartenance à un groupe bactérien ou à un autre (*entérobactéries*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* et autre groupe bactéries). L'aspect des colonies sur le milieu solide permet de déterminer la forme, le relief, la taille, la consistance et la couleur (fermentation) sur boîte de Pétri. Sur la gélose nutritive : nous avons obtenu des colonies blanchâtres, rondes, bombées, de différente taille.

L'aspect des cultures sur gélose nutritive et les tests chromagar et coloration de gram ont donné les résultats évoqués dans les tableaux suivants :

Pourcentage des souches isolées :



**Figure 25 :** Pourcentage des souches GP et GN isolées.

Le résultat de la **Figure 16** montre qu'à partir de 66 souches isolées la plupart des souches sont des gram négatif qui représente 49(75%) alors que 17(25%) représente les Gram positif.

### III.2.6.9.2. Les résultats d'identifications bactériennes des patients atteints du cancer de l'estomac

**Tableau 15:** Identification des souches présente sur les tissus cancéreux des patients atteints du cancer de l'estomac a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.

<b>Tissus cancéreux des patients atteints du cancer de l'estomac</b>				
Souches	Croissance des colonies	Orientation sur chromagar	Orientation sur coloration de gram	Identification
P1 PC	Petites	Blanches	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P1 GC	Moyennes	Bleu foncé	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
P1 PC	Petites	Bleu vert	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P3 PC	Petites	Rose	+	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
P3 PC	Moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P9 ECO/PC	Moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>

Les résultats du **tableau IX** représente les souches des patients atteints du cancer de l'estomac, ils démontrent que les staphylocoques sont présentés chez les 2 cas citer à savoir « *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* », suivis de la bactérie *E. coli* qu'on retrouve également sur la surface de la tumeur. On a aussi obtenu 2 autres genres de bactéries « *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* ». Toutes ces bactéries ont été retrouvées sur la petite partie de la tumeur prélevée et sur la surface de l'estomac des patients.

**Tableau 16:** Identification des souches présente sur les tissus sains des patients atteints du cancer de l'estomac a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.

TISSUS SAINS DES PATIENTS ATTEINTS DU CANCER DE L'ESTOMAC					
Souches	croissance des colonies	orientation sur chromagare	orientation sur coloration de gram	Identification bactériennes	
P3	petites a moyennes	bleu avec auréoles violet	-	<i>klebsiella pneumoniae</i>	
P3/GC	moyennes	rose claire	-	<i>Escherichia.coli</i>	
P9/PC	moyennes	rose foncé	+	<i>StapylOCOCCU saprophytiUS</i>	
P12/PC	moyennes	rose	-	<i>Escherichia.coli</i>	

Dans la partie saine des mêmes patients interpellé dans **Le tableau X**, une nouvelle bactérie a été retrouver, on cite donc « *klebsiella pneumoniae* » plus les bactéries qu'on a déjà trouvé dans la partie cancéreuse d'un des patients (*E.coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *E.coli*)

### III.2.6.9.3. Les resultats d'identification bactériennes des patients atteints des cancers du colon, foie et lynch dégénéré :

**Tableau 17:** Identification des souches présente sur les tissus cancéreux des patients atteints des cancers du côlon, foie et lynch dégénéré a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.

Tissus cancéreux des patients atteints des cancers colon foie et lynch degenere				
Souches	Croissance des colonies	Orientation sur chromagar	Orientation sur coloration de gram	Identification
P4 PC	petites	Blanches	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P4 GC	petites	Blanches	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P4 PC	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P4 GC	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>

P5 GC	petites	Blanches	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P5 PC	petites	Bkanches	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P6	petites	bleu vert	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P6	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P10 COLON	petites	Blanches	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P10 FOIE	moyennes	Rose	+	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
P10 FOIE	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P10 COLON	moyennes	blanc,milieu coplètement marron	-	<i>Proteus mirabilis</i>
P10 ECO	moyennes	rose foncé	-	<i>E.coli</i>
P11	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P14	petites a moyennes	bleu vert	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P15 ECO	Moyennes	bleu vert	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Les résultats du **tableau XI** représentent les souches retrouvées chez les patients atteints des cancers « colon, foie et lynch dégénéré », dans cette partie 6 genres de bactéries en été identifier qui sont « *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ». Ces bactéries ont été retrouvées après les tests d'identification cité sur le tableau, ils ont été réalisés à partir des petites parties du cancer obtenu par biopsie, et des tests effectuer par écouvillonnage sur la surface des organes cités.

**Tableau 18:** Identification des souches présente sur les tissus sains des patients atteints des cancers colon, foie et lynch dégénéré.

Les tissus sains des patients atteints des cancers du côlon foie et lynch dégénères				
Souches	croissance des colonies	orientation sur chromagar	orientation sur coloration de gram	Identification
P5/GC	Petites	Blanche	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P5/PC	petites	Blanche	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P6	moyennes	Rose	-	<i>Escherichia.coli</i>
P6/GC	Petites	Rose	+	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
P6/PC	moyennes	Rose	-	<i>Escherichia.coli</i>
P10	Grand	bleu foncé	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
P10/GC	petites	Blanche	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P10/PC	petites	Blanche	+	<i>Staphylococcus aureus</i>
P11/PC	moyennes	Rose	-	<i>Escherichia.coli</i>
P15	moyennes	rose foncé	-	<i>Escherichia.coli</i>
P4/PC	petites moyennes <sup>a</sup>	Blanche	+	<i>Staphylococcus aureus</i>

Le **tableau XII** représente les résultats de l'identification effectué sur les prélèvements des tissus sains des patients atteints des cancers « colon, foie et lynch dégénéré », les mêmes bactéries que les tissus cancéreux ont été retrouvé ici aussi, sauf un seul nouveau genre a été détecter chez le patient qui a subit une ablation du colon et foie en même temps mentionné par « P10 » dans le tableau.

**Tableau 19:** Identification des souches présente sur les tissus cancéreux des patients atteints de cancer du sigmoïde a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.

Tissus cancéreux des patients atteints du cancer du sigmoïde				
Souches	Croissance des colonies	Orientation sur chromagar	Orientation sur coloration de gram	Identification
P2 GC	moyennes	rose	-	<i>E.coli</i>
P2 PC	moyennes	rose	-	<i>E.coli</i>
P14 ECO	petites	rose	-	<i>E.coli</i>
P14 ECO GC	petites a moyennes	bleu vert	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
P16 ECO	moyennes a grandes	bleu foncé avec auréole violet	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
P16 ECO ST	moyennes	bleu vert	+	<i>Eenterococcus faecalis</i>
P16 ECO ST	moyennes	rose	-	<i>E.coli</i>
P16	moyennes	rose	-	<i>E.coli</i>

Les résultats d'identification bactérienne des patients atteints du cancer du sigmoïde sont interpellé dans le **tableau XIII**, les souches suivantes « *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* » ont été retrouvé dans les parties cancéreuses (rapporté par biopsie) et sur les surfaces de l'organe enlever (rapporté par écouvillonnage).

**Tableau 20:** Identification des souches présente sur les tissus sains des patients atteints du cancer du sigmoïde a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram .

Tissus sans des patients atteints du cancer du sigmoïde				
Souche	croissance des colonies	orientation sur chromagare	orientation sur coloration de gram	identificaion bactérienne
P2/GC	moyennes	rose foncé	+	<i>Esherichia coli</i>
P2/PC	moyennes	rose foncé	+	<i>Esherichia coli</i>

Pour les tissus sains des mêmes patients les résultats ont été mentionné dans le **tableau XIV**, on y retrouve qu'une seule espèce qui est *E. coli*, cette bactérie a été identifiée a partir de la petite partie de la tumeurs récupéré par biopsie.

#### III.2.6.9.4. Les résultats d'identification bactériennes des patients atteints Du cancer du rectum

**Tableau 21:** Identification des souches présentes sur les tissus cancéreux des patients atteints du rectum a l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.

Tissus cancéreux des patients atteints du cancer du rectum				
Souches	Croissance des colonies	Orientation sur chromagar	Orientation sur coloration de gram	Identification
P7 ECO N	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P7	moyennes	bleu foncé	-	<i>Kklebsiella pneumoniae</i>
P7 PC	moyennes a grandes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P7 ECO	moyennes	bleu avec auréole violet	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
P8 GC	petites a moyennes	Bleu	-	<i>Kklebsiella pneumoniae</i>
P8 PC	moyennes	Rose	-	<i>E.coli</i>
P8 ECO GC	petites	Bleu	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P8 RF	Petites	rose foncé	+	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

Le **tableau XV** représente les résultats d'identification des souches bactériennes qu'on a retrouver dans la petite partie du tissus cancéreux des patients atteints de cancer du rectum, les bactéries retrouver sont les suivantes « *E. coli*, *Kklebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus* »

**Tableau 22:** Identification des souches présentes sur les tissus sains des patients atteints du cancer du rectum à l'aide de l'orientation chromagar et coloration de gram.

Les tissus sains des patients atteints du cancer du rectum				
Souches	croissance des colonies	orientation sur chromagar	orientation sur coloration de gram	Identification bactériennes
P7/GC	moyennes a grandes	rose focé	-	<i>Eschericha.coli</i>
P7/GC	moyennes a grandes	rose focé	-	<i>Eschericha.coli</i>
P7/PC	moyennes a grandes	rose focé	-	<i>Eschericha.coli</i>
P8/GC	Petites	Blanche	+	<i>Staphilococcus aureus</i>
P8/PC	Petites	Blanche	+	<i>Staphilococcus aureus</i>
P13/PC	moyennes	bleu-vert	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Les genres suivants « *Eschericha.coli*, *Staphilococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* » représenté dans le **tableau XVI**, ont été retrouvé chez les mêmes patients dans le tableau qui précèdes, mais cette fois dans la partie saine de la pièce prélevé.

### III.2.6.9.5. Identification par galerie API 20

#### A. Galerie API 20 E

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20 E nous a permis de mettre en Évidence les principaux caractères biochimiques de cinq (5) souches. Les résultats obtenus après incubation sont les suivants :

**B. Souche (P18/TC)**

**Tableau 23:** Résultat de la galerie API 20 E de la souche (P18/TC)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODH	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Vibrio parahaemolyticus*.



**Figure 26 :** Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P18/TC)

**C. Souche (P11/FECALE)**

**Tableau 24:** Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P11/FECALE)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODH	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Serratia odorifera*.



Figure 27 : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P11 FECALE)

D. Souche (P16/PC)

Tableau 25: Résultats de la gellerie API 20 E de la souche (P16/PC)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODH	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Serratia liquefacien*.

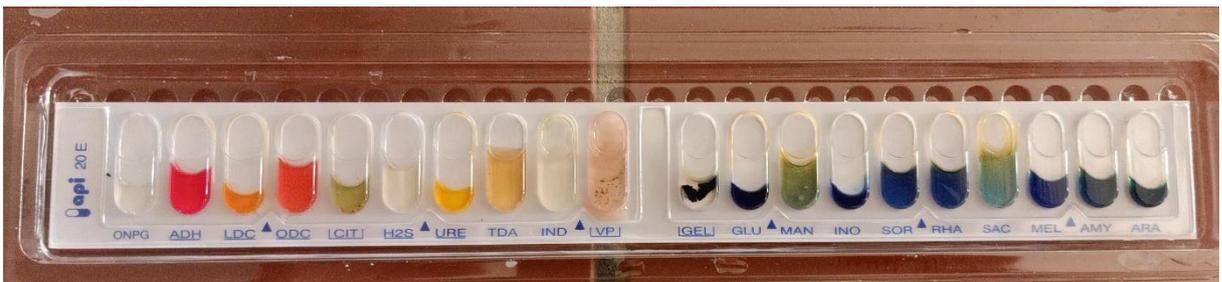


Figure 28 : Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P16/PC)

**E. Souche (P6/PC)**

**Tableau 26:** Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P16/PC)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODH	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Citrobacter koseri*.



**Figure 29 :** Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P6/PC)

**F. Souche (P1/GC)**

**Tableau 27:** Résultats de la galerie API 20 de la souche (P1/GC)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODH	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultats	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
Test	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Serratia odorifera*.



**Figure 30 :** Résultats de la galerie API 20 E de la souche (P1/GC)

**III.2.6.10. Galerie API 20NE**

L’identification bactérienne réalisée par galerie API 20 NE nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des cinq souches.

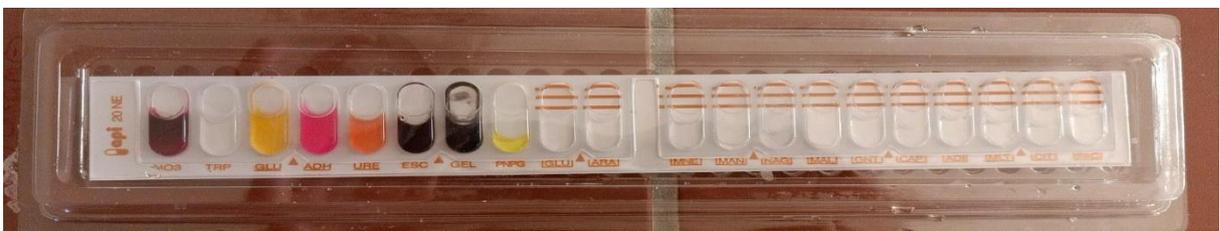
Les résultats obtenus après l’incubation sont les suivants :

**A. Souche (P12/ECO)**

**Tableau 28:** Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P12/ECO)

Tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA
Résultats	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-
Test	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique il s’avère que la souche correspond à l’espèce *Moraxella lacunata*.



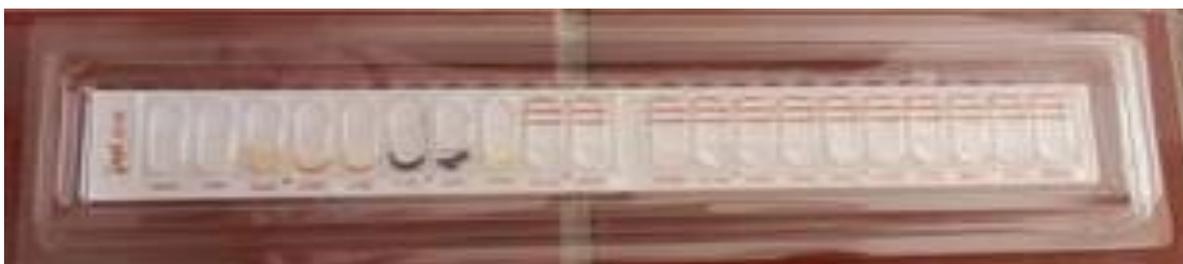
**Figure 31 :** Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P12/ECO)

**B. Souche (P2/TC)**

**Tableau 29:** Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P2/TC)

Tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA
Résultats	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Test	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Pasteurella spp*



**Figure 32 :** Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P2/TC)

**C. Souche (P10/TC)**

**Tableau 30:** Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/TC)

Tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA
Résultats	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
Test	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Photobacterium damsella*.



Figure 33 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/TC)

D. Souche (P5/GC)

Tableau 31: Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/TC)

Tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA
Résultats	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
Test	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Moraxella lacunata*.



Figure 34 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P5/GC)

E. Souche (P13/TC FOIE)

Tableau 32: Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P13/TC FOIE)

Tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA
Résultats	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Test	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Moraxella lacunata*.



Figure 35 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P13/TC FOIE)

III.2.6.11. Galerie API 20 STPH

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20 STAPH nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des cinq souches.

Les résultats obtenus après l'incubation sont les suivants :

A. Souche (P10/ECO TUMEUR)

Tableau 33: Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P10/ECO TUMEUR)

Tests	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
Résultats	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-
Test	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Résultat	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Staphylococcus spp.*

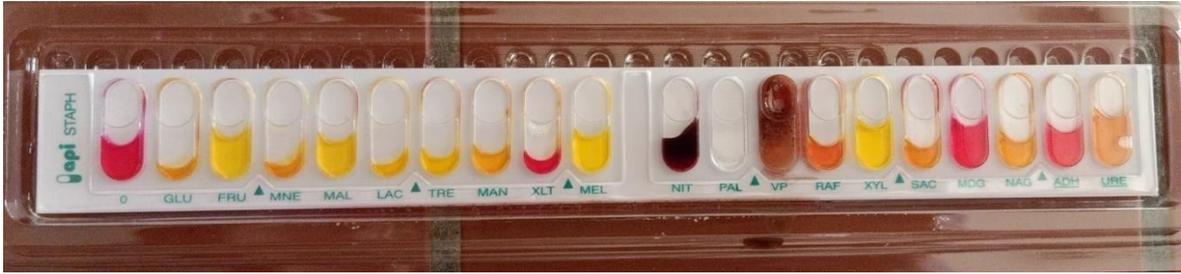


Figure 36 : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P10/ECO)

**B. Souche (P3/PC)**

Tableau 34: Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P3/PC)

Tests	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
Résultats	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Test	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Résultat	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Staphylococcus spp.*



Figure 37 : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P3/PC)

C. Souche (P17/ECO/GC)

Tableau 35: Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P17/ECO/GC)

Tests	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Test	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Résultat	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Micrococcus spp*

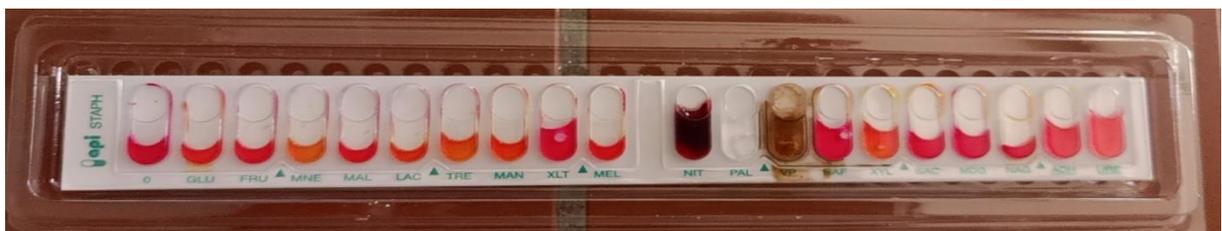


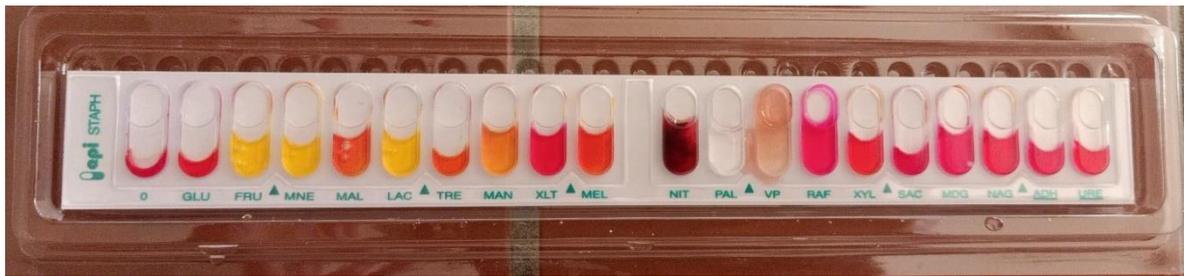
Figure 38 : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P17/ECO/GC)

D. Souche (P6/TS)

Tableau 36: Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P3/PC)

Tests	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
Résultats	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Test	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Staphylococcus spp.*



**Figure 39** : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P6/TS)

**E. Souche (P5/GC)**

**Tableau 37:** Résultats de la galerie API 20 NE de la souche (P5/GC)

Tests	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL
Résultats	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Test	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
Résultat	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+

A partir du catalogue analytique il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Staphylococcus spp.*



**Figure 40** : Résultats de la galerie API 20 STAPH de la souche (P5/GC)

### III.3. Discussion

Le microbiote humain est défini par l'ensemble des microbes habitant un site corporel en particulier. Les différents microbiotes de l'Homme, notamment le microbiote intestinal qui est le plus étudié, peuvent moduler de nombreux mécanismes biologiques dont le métabolisme et la réponse immunitaire. Un déséquilibre du microbiote au niveau des espèces qui le composent, ou dysbiose, a été associé à plusieurs maladies inflammatoires comme le diabète, l'obésité, mais aussi divers types de cancer. De plus, il a été démontré que les bactéries pouvaient avoir un impact sur la réponse des patients aux thérapies contre le cancer. La présence de micro-organismes dans de différents endroits est connue depuis plus d'un siècle et on a vite supposé qu'il existait une symbiose entre notre organisme et ces *flores*. Mais les moyens techniques disponibles pour étudier les détails de cette interaction étaient limités. En effet, seule une minorité d'espèces bactériennes du microbiote peut être facilement cultivée *in vitro*.

Selon l'étude de « N. Wu, X. Yang, R. Zhang et al. » [113], le microbiote fécal chez les patients atteints de CCR appartient aux deux principaux phylums *Bacteroidetes* (principalement *Porphyromonas* et *Prevotella*) et *Firmicutes* (Principalement *Enterococcus* et *Streptococcus*). Les échantillons de selles de patients atteints de CCR présentent des proportions plus élevées de bactéries *Escherichia* et *Fusobacterium* que les témoins sains, En particulier, les patients atteints de CCR présentent une augmentation significative de *Bacteroides fragilis*, *Fusobacteriumnucleatum*, *Enterococcaceae* ou *Campylobacter*, *Peptostreptococcus*, *Enterococcusfaecalis*, *Escherichia coli* et *Streptococcus spp*.

Les résultats que nous avons obtenu dans notre étude et qui sont mentionné dans le tableau 3 nous montre également la présence élevée de *E. coli* comme l'indique l'étude de ces auteurs, mais aussi la présence d'autres genres de bactéries qui sont *Proteus mirabilis* et *staphylococcus aureus* et qui ne sont pas cité dans les autres études.

l'identification d'espèces microbiennes spécifiques associées à diverses maladies, en particulier les cancers du tractus gastro-intestinal, sont réalisée grâce à l'expansion des technologies de séquençage avancées, tandis que, dans notre étude nous avant utiliser les méthodes classiques qu'on a déjà citer dans la partie résultat (l'orientation chromagar, coloration de gram, et galerie API) qui nous ont menée a l'obtention des résultats suivant : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeroginosa*. La présence des genres *E. coli* et *Staphylococcus* présentes une

augmentation plus élevée que les autres genres. En ce qui concerne la recherche d'*h. pylori*, elle se réalise sur les biopsie par PCR et séquençage de l'ARN 16s, c'est pour cela qu'on a pas pu l'identifier. Les résultats du tableau 3 montre la présence de *E. coli* et *Staphylococcus saprophyticu* dans les tissus cancéreux des patients atteint de cancer du foie, les memes résultats ont été retrouvé par Loomba et ses collègues, ou ils ont montré une abondance accrue de *Bacteroides vulgatus* et *Escherichia coli* chez les patients NAFLD atteints de fibrose avancée Dans HCC.

## *Conclusion Générale*

## *Conclusion Générale*

---

Les derniers progrès scientifiques ont permis la valorisation et la prise en compte de l'importance du microbiote humain. Ce dernier n'était pas connu de tous, on savait peu de choses sur l'existence et l'importance des microbiomes qui colonisent différentes parties du corps. Mais dernièrement, beaucoup d'efforts ont été fait pour mieux comprendre ces communautés microbiennes qui sont devenus un axe majeur de recherche et ont rendu plusieurs questions accessibles.

Il est maintenant bien connu que le microbiote humain joue un rôle important dans le bien-être et la santé de l'hôte. Il est aussi essentiel dans la digestion mais pas seulement, Il participe également au bon fonctionnement de l'organisme et permet d'avoir un système immunitaire efficace. C'est un des leviers de santé les plus intéressants, car il est modulable, fortement lié à nos autres organes. Les modifications du microbiote, du métabolome microbien et de leurs interactions avec le système immunitaire provoques des infections et diverses maladies celui-ci est aussi impliqué dans différents cancers, si ce n'est tous.

Le domaine de recherche se basant sur le microbiote pourrait contribuer à l'essor d'une médecine plus préventive et prédictive. Le microbiote peut ainsi constituer un réservoir de molécules innovantes. Un faisceau d'arguments plaide pour voir la montée en puissance du microbiote comme une tendance structurelle.

## *Référence bibliographiques*

## *Référence bibliographiques*

---

1. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Bjorksten B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy*. 2014;44(6):842-50
2. Ahn, J.; Sinha, R.; Pei, Z.; Dominianni, C.; Wu, J.; Shi, J.; Goedert, J.J.; Hayes, R.B.; Yang, L. Microbiome intestinal humain et risque de cancer colorectal. *J. Natl. Cancer Inst.* 2013, 105, 1907-1911.
3. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS un.* 2008; 3:e2836.
4. Aviles-Jimenez, F. ; Vazquez-Jimenez, F.; Medrano-Guzman, R.; Mantille, A.; Torres, J. La composition du microbiote de l'estomac varie entre les patients atteints de gastrite non atrophique et les patients atteints de cancer gastrique de type intestinal. *Sci. Rep.* 2014, 4, 4202.
5. Aviles-Jimenez, F. ; Vazquez-Jimenez, F.; Medrano-Guzman, R.; Mantille, A.; Torres, J. La composition du microbiote de l'estomac varie entre les patients atteints de gastrite non atrophique et les patients atteints de cancer gastrique de type intestinal. *Sci. Rep.* 2014, 4, 4202.
6. Avital I, Stojadinovic A, Pisters PWT, Kelsen DP, Willett CG. Cancer de l'estomac. DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. DeVita, Hellman et Cancer de Rosenberg: principes et pratique de l'oncologie. 10e éd. Crème Philadelphia, AP : Wolters Kluwer ; 2015, 613-642
7. Bezirtzoglou, E., Tsiotsias, A. and Welling, G. W. (2011) 'Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH)', *Anaerobe*, 17(6), pp. 478–482. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.03.009.
8. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, François F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA Analyse moléculaire du microbiote bactérien de l'estomac humain. *Proc Natl Acad Sci US A*. 2006;103 (3):732–737. doi:10.1073/pnas.0506655103
9. Bisgaard H, Li N, Bonnelykke K, Chawes BL, Skov T, Paludan-Müller G, Stokholm J, Smith B, Krogfelt KA. La diversité réduite du microbiote intestinal pendant la petite enfance est associée à un risque accru de maladie allergique à l'âge scolaire. *J Allergie Clin Immunol*. 2011; 128:646-652.e1-5.
10. Blaser MJ. Hypothèse: les relations changeantes d'*Helicobacter pylori* et de l'homme: implications pour la santé et la maladie. *J Infect Dis*. 1999; 179:1523-1530.

## *Référence bibliographiques*

---

11. Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, Badani R, Stein EM, Lazarev MG, et al. Le gène de la toxine bacteroides fragilis est répandu dans la muqueuse du côlon des patients atteints de cancer colorectal. *Clin Infect Dis* (2015) 60(2):208–15. doi: 10.1093/cid/ciu787
12. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Statistiques mondiales sur le cancer 2018 : estimations GLOBOCAN de l'incidence et de la mortalité dans le monde pour 36 cancers dans 185 pays. *CA Cancer J Clin* 2018; 68(6): 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322 / caac.21492]
13. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Statistiques mondiales sur le cancer 2018: Estimations GLOBOCAN des incidence et de mortalité dans le monde pour 36 cancers dans 185 pays. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
14. Burt RW, Bishop DT, Lynch HT et al. Risque et surveillance de personnes présentant des facteurs héréditaires de cancer colorectal. *OMS Bulletin OMS* 1990;88:655–65.
15. C. Mowat, C. Williams, D. Gillen et coll. Oméprazole, statut *Helicobacter pylori* et altérations du milieu intragastrique facilitant la N-nitrosation bactérienne *Gastroenterol*, 119 (2) (2000), p. 339 à 347
16. C. Williams, K.E.L. McColl Article de synthèse : inhibiteurs de la pompe à protons et prolifération bactérienne *Aliment Pharmacol Ther*, 23 (1) (2005), pp. 3-10
17. cancer dans le cancer colorectal familial sans polypose. *Intesti* 2002;50:228–34
18. Cenit MC, Sanz Y, Codoñer-Franch P. Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders. *World J Gastroenterol*. 2017;23(30):5486-98.
19. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. Le microbiote commensal et les entéropathogènes dans la pathogenèse des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.2- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Écologie microbienne: microbes intestinaux humains associés à l'obésité. *Nature* 2006; 444: 1022-1023
20. Chelakkot C, Ghim J, Ryu SH. Mécanismes régulant l'intégrité de la barrière intestinale et ses implications pathologiques. *Exp Mol Med* (2018) 50(8):1–9. doi: 10.1038/s12276-018-0126-x
21. Chen, W.; Liu, F.; Ling, Z.; Tong, X.; Xiang, C. Human Intestinal Lumen and Mucosa-Associated Microbiota in Patients with Colorectal Cancer. *PLoS ONE* 2012, 7, e39743
22. Choi J, Han S, Kim N, Lim YS. Augmentation du fardeau du cancer du foie malgré l'utilisation intensive d'agents antiviraux dans une population endémique au virus de l'hépatite B. *Hépatologie (Baltimore, MD)*. 2017;66(5):1454-1463.

## *Référence bibliographiques*

---

23. Cipe, G.; Idiz, U.O.; Firat, D.; Bektasoglu, H. Relation entre le microbiote intestinal et le cancer colorectal. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2015, 7, 233-240.
24. Coelho, T.R.; Almeida, L.; Lazo, P.A. JC virus dans la pathogenèse du cancer colorectal, un agent étiologique ou un autre composant dans un processus en plusieurs étapes? *Virolog. J.* 2010, 7, 42
25. Coker, OOÿ; Dai, Z.; Nie, Y.; Zhao, G.; Cao, L.; Nakatsu, G.; Wu, WK; Wong, SH; Chen, Z.; Chanté, JJY; et coll. Microbiote muqueux dysbiose dans la carcinogenèse gastrique. *Gut* 2018, 67, 1024-1032.
26. Collatuzzo G, Pelucchi C, Negri E, López-Carrillo L, Tsugane S, Hidaka A, Shigueaki Hamada G, Hernández-Ramírez RU, López-Cervantes M, Malekzadeh R, Pourfarzi F, Mu L, Zhang ZF, Lunet N, La Vecchia C, Boffetta P. Interactions entre l'infection à *Helicobacter pylori* (Hp) et d'autres facteurs de risque de cancer gastrique : une analyse groupée dans le Projet de mise en commun du cancer de l'estomac (StoP). *Int J Cancer* 2021ÿ; 149ÿ: 1228-1238 [PMIDÿ: 33990950 DOIÿ: 10.1002/ijc.33678]
27. Consortium du projet sur le microbiome humain. Structure, fonction et diversité du microbiome humain sain. *La nature.* 2012 ;486 : 207–14
28. Consortium du projet sur le microbiome humain. Structure, fonction et diversité du microbiome humain sain. *La nature.* 2012 ;486 : 207–14.
29. Consortium du projet sur le microbiome humain. Structure, fonction et diversité du microbiome humain sain. *Nature.* 2012; 486:207-214.
30. Dahmus JD, Kotler DL, Kastenberg DM, Kistler CA. Le microbiome intestinal et le cancer colorectalÿ: un examen de la pathogenèse bactérienne. *J Gastrointest Oncol* (2018) 9(4):769–77. doi : 10.21037/jgo.2018.04.07
31. Deng W, Jin L, Zhuo H, Vasiliou V, Zhang Y. Consommation d'alcool et risque de cancer de l'estomac : une méta-analyse. *Chimie Biol Interact* 2021; 336ÿ: 109365 [PMIDÿ: 33412155 DOIÿ: 10.1016/j.cbi.2021.109365]
32. Département d'hématologie et d'oncologie, Hôpital universitaire Grosshadern, Université de Munich, Marchioninistraße 15, 81377 Munich, Allemagne, *Rapports F1000Prime* 2014, 6:108 (doi:10.12703/P6-108)
33. Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, Enroth H, Jansson JK, Engstrand L. Caractérisation moléculaire du microbiote gastrique chez les patients atteints de cancer gastrique et chez les témoins. *JMed Microbiol.* 2009;58(Pt 4):509–516. doi:10.1099/jmm.0.007302-0.

## *Référence bibliographiques*

---

34. Dicksved, J. ; Lindberg, M.; Rosenquist, M.; Enroth, H.; Jansson, JK; Engstrand, L. Caractérisation moléculaire du microbiote de l'estomac chez les patients atteints de cancer gastrique et chez les témoins. *J. Med. Microbiol.* 2009, 58, 509-516.
35. E.M. Bik, P.B. Eckburg, S.R. Gill, et al. Analyse moléculaire du microbiote bactérien dans l'estomac humain, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103 (3) (2006), p. 732-737
36. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversité de la flore microbienne intestinale humaine. *La science.* 2005;308:1635–8
37. Eun, CS; Kim, BK; Mains; Kim, SY; Kim, KM; Choi, PAR; Chanson, KS; Kim, YS; Kim, JF Différences dans le profilage du microbiote de la muqueuse gastrique chez les patients atteints de gastrite chronique, de métaplasie intestinale et de cancer gastrique à l'aide de méthodes de pyroséquençage. *Helicobacter* 2014, 19, 407–416.
38. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Statistiques du cancer pour l'année 2020 : Un Aperçu. *Int J Cancer* 2021; Epub avant impression [PMID: 33818764 DOI: 10.1002/ijc.33588]
39. Ferreira CM, Vieira AT, Vinolo MA, Oliveira FA, Curi R, Martins Fdos S. Le rôle central du microbiote intestinal dans les maladies inflammatoires chroniques. *J Immunol Res.* 2014; 2014:689492.
40. Ferreira, R. M. et al. Le profilage de la communauté microbienne gastrique révèle un microbiote dysbiotique associé au cancer. *Intestin.* 67, 226-236 (2018).
41. Ferreira, RM; Pereira-Marques, J.; Pinto-Ribeiro, I.; Costa, JL; Carneiro, F.; Machado, JC; Figueiredo, C. Microbien gastrique le profilage communautaire révèle un microbiote dysbiotique associé au cancer. *Intestin* 2018, 67, 226-236.
42. Ferreira, RM; Pereira-Marques, J.; Pinto-Ribeiro, I.; Costa, JL; Carneiro, F.; Machado, JC; Figueiredo, C. Microbien gastrique le profilage communautaire révèle un microbiote dysbiotique associé au cancer. *Intestin* 2018, 67, 226-236.
43. Ferreira, RM; Pereira-Marques, J.; Pinto-Ribeiro, I.; Costa, JL; Carneiro, F.; Machado, JC; Figueiredo, C. Microbien gastrique profilage communautaire révèle un microbiote dysbiotique associé au cancer. *Intestin* 2018, 67, 226-236.
44. Fichorova, R. N. *et al.* (2011) 'Maternal Microbe-Specific Modulation of Inflammatory Response in Extremely Low-Gestational-Age Newborns', *mBio*, 2(1). doi: 10.1128/mBio.00280-10.
45. Fock, K. M. et al. Deuxième ligne directrice consensuelle Asie-Pacifique pour l'infection à *Helicobacter pylori*. *J Gastroenterol Hepatol.* 24, 1587-1600 (2009).

## *Référence bibliographiques*

---

46. Franks AH, Harmsen HJ, Raangs GC, Jansen GJ, Schut F, Welling GW. Variations des populations bactériennes dans les matières fécales humaines mesurées par hybridation fluorescente in situ avec des sondes oligonucléotidiques ciblées par ARNr 16S spécifiques au groupe. *Appl Environ Microbiol.* 1998;64:3336–45.
47. Gao R, Gao Z, Huang L, Qin H. Microbiote intestinal et cancer colorectal. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2017) 36(5):757–69. doi: 10.1007/s10096-016-
48. Garrett, W. S. Le cancer et le microbiote. *Science.* 348, 80-86 (2015).
49. Gianluca Ianiro, 1 Javier Molina-Infante<sup>2</sup> et Antonio Gasbarrini<sup>1</sup> *Helicobacter* ISSN 1523-5378 doi: 10.1111 / hel.12260
50. Gillespie JJ, Wattam AR, Cammer SA, Gabbard JL, Shukla MP, Dalay O, Driscoll T, Hix D, Mane SP, Mao C, et coll. PATRIC: the comprehensive bacterial bioinformatics resource with a focus on human pathogenic species. *Infecter Immun.* 2011; 79:4286-4298.
51. H.J. Jo, J. Kim, N. Kim, et al. Analyse du microbiote gastrique par pyroséquençage : rôle mineur de bactéries autres qu'*Helicobacter pylori* dans la cancérogenèse gastrique *Helicobacter*, 21 (5) (2016), p. 364 à 374
52. Hillman, E. ; Lu, H.; Yao, T.; Nakatsu, CH Écologie microbienne le long du tractus gastro-intestinal. *Microbes Environ.* 2017, 32, 300–313.
53. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Composition et caractéristiques fonctionnelles du microbiome gastro-intestinal et leurs effets sur la santé humaine. *Gastro-entérologie.* 2014; 146:1449-1458.
54. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell.* 2013;155(7):1451-63.
55. I. Yang, S. Woltemate, M.B. Piazuelo, et al. Compositions différentes du microbiote gastrique dans deux populations humaines présentant un risque élevé et faible de cancer gastrique en Colombie *Sci Rep*, 6 (2016), p. 18594
56. Ibáñez-Sanz G, Díez-Villanueva A, Alonso MH, et al. Risk model for colorectal cancer in Spanish population using environmental and genetic factors: results from the MCC-Spain study. *Sci Rep.* 2017; 7:43263.
57. *J Am Geriatr Soc* 63 :776-781, 2015
58. Jemal, A. et al. Statistiques mondiales sur le cancer. *CA Cancer J Clin.* 61, 69-90 (2011).

## *Référence bibliographiques*

---

- 59.** Jiménez, E. et al. (2005) 'Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section', *Current Microbiology*, 51(4), pp. 270–274. doi: 10.1007/s00284-005-0020-3..
- 60.** K.M. Brawner, C.D. Morrow, P.D. Smith Microbiome gastrique et cancer gastrique *Cancer J*, 20 (3) (2014), p. 211-216
- 61.** Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Évaluation du microbiote intestinal humain dans les maladies métaboliques. *Diabète*. 2013; 62:3341-3349.
- 62.** Keita ÅV, Söderholm JD. La barrière intestinale et sa régulation par des facteurs neuro-immuns. *Neurogastroenterol Motil* (2010) 22(7):718–33. doi: 10.1111/ j.1365-2982.2010.01498.x
- 63.** Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G. Syndrome du côlon irritable: un trouble de l'axe microbiome-intestin-cerveau? *World J Gastroenterol*. 2014; 20:14105-14125.
- 64.** Kostic, A.; Chun, E.; Robertson, L.; Glickman, J.N.; Gallini, C.A.; Michaud, M.; Clancy, T.E.; Chung, D.C.; Lochhead, P.; Hold, G.L.; et coll. *Fusobacterium nucleatum* potentialise la tumorigenèse intestinale et module le microenvironnement immunitaire tumoral. *Microbe hôte cellulaire* 2013, 14, 207-215.
- 65.** L. Wang, J. Zhou, Y. Xin, et al. Prolifération bactérienne et diversification du microbiote dans le cancer gastrique *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 28 (3) (2016), pp. 261-266
- 66.** Laursen, M. F. *et al.* (2015) 'Having older siblings is associated with gut microbiota development during early childhood', *BMC microbiology*, 15, p. 154. doi: 10.1186/s12866-015-0477-6.
- 67.** Le microbiote gastrique Auteur : Bernard Grunberg Co-auteurs : Guillaume Bonnaud, Thierry Higuero, Pierre Dalbiès. Janvier 2021
- 68.** Le profilage de la communauté microbienne gastrique révèle un microbiote dysbiotique associé au cancer *Gut*, 67 (2) (2018), p. 226-236
- 69.** Li, J. & Perez Perez, G. I. La bactérie non *Helicobacter pylori* a-t-elle un rôle à jouer dans le risque de développer un cancer gastrique? *Int J Mol Sci*. 19(5), 1353 (2018).V. Herrera, J. Parsonnet *Helicobacter pylori* et adénocarcinome gastrique *Clin Microbiol Infect*, 15 (11) (2009), p. 971-976
- 70.** Lin L, Yan L, Liu Y, Qu C, Ni J, Li H. Le fardeau et les tendances du cancer primaire du foie causé par des étiologies spécifiques de 1990 à 2017 aux niveaux mondial, régional, national, d'âge et de sexe de l'étude Global Burden of Disease Study 2017. *Cancer du foie*. 2020;9(5):563-582.

## *Référence bibliographiques*

---

71. Lv L, Liang X, Wu D, Wang F, Zhang Y, Cang H, Deng X, Li M. Le cancer du cardia est-il un type particulier de cancer gastrique ? *J Cancer* 2021; 12: 2385-2394 [PMID: 33758614 DOI: 10.7150/jca.51433]
72. M.J. Blaser, J.C. Atherton Persistence d'Helicobacter pylori : biologie et maladie *J Clin Invest*, 113 (3) (2004), p. 321 à 333
73. Mantovani A, Allavena P, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008 ; 454 : 436-44
74. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Pradilla Dieste A, Cerrada E, Rodriguez Yoldi MJ. Carcinome colorectal: un aperçu général et des perspectives d'avenir dans le cancer colorectal. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(1) pii:E197.
75. Martha, A. et al. La diapasonie microbiostatistique entre les macrophages et l'ILC3 favorise l'homéostasie intestinale. *La science*. 343 (2014).
76. Martha, A. et al. La diapasonie microbiostatistique entre les macrophages et l'ILC3 favorise l'homéostasie intestinale. *La science*. 343 (2014).
77. Microbiota and cancer Anthony Lopez\*, *La Lettre de l'Hépatogastroentérologue*, Vol. XXI - n° 1 - janvier-février 2018.
78. Monstein HJ, Tiveljung A, Kraft CH, Borch K, Jonasson J. Profilage de la flore bactérienne dans les biopsies gastriques de patients atteints de gastrite associée à Helicobacter pylori et d'individus témoins histologiquement normaux par électrophorèse sur gel à gradient de température et analyse de la séquence d'ADNr 16S. *J Med Microbiol*. 2000;49 (9):817–822. doi:10.1099/0022-1317-49-9-817
79. Moore WE, Holdeman LV. Flore fécale humaine : la flore normale de 20 Japonais-Hawaïens. *Appl Microbiol*. 1974;27:961–79
80. Morgan XC, Segata N, Huttenhower C. Biodiversity and functional genomics in the human microbiome. *Trends Genet*. 2013;29(1):51-8
81. Muranski P, Restifo NP. Adoptif immunothérapie du cancer à l'aide de CD4(+) Cellules T. *Courant. Avis. Immunol*. 21(2), 200–208 (2009).
82. Na Wu, Xi Yang, Ruifen Zhang et al. *Écologie microbienne* le volume 66, pages 462–470 (2013).
83. O'Hara AM, Shanahan F. La flore intestinale comme organe oublié. *Rép. EMBO* 2006; 7:688-693.
84. Oliver A. Stewart, Fen Wu et Yu Chen. Oliver A. Stewart, Fen Wu & Yu Chen (2020) The role of gastric microbiota in gastric cancer, *Gut Microbes*, 11:5, 1220-1230, DOI : 10.1080/19490976.2020.1762520

85. Pei Z, Bini EJ, Yang L, Zhou M, François F, Blaser MJ. Biote bactérien dans l'œsophage distal humain. *Proc Natl Acad Sci États-Unis*. 2004; 101:4250-4255.
86. Peter J. Mullen<sup>1</sup> et Heather R. Christofk<sup>1,2</sup>, *An. Tour. Cancer Biol*. 2022. 6<sup>y</sup>: 1–15 <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-070120-090423> \_
87. *PHYSIOLOGIE* 35 / 261-274, 2020. Publié le 3 juin 2020 ; doi:10.1152/physiol.00005.2020, Lu Jiang et Bernd Schnabl.
88. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. Un catalogue de gènes microbiens intestinaux humains établi par séquençage métagénomique. *La nature*. 2010 ;464 : 59–65
89. R.M. Ferreira, J. Pereira-Marques, I. Pinto-Ribeiro, et al.
90. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, et al. Microbiome vaginal des femmes en âge de procréer. *Proc Natl Acad Sci US A*. 2011;108(1):4680–7
91. Rex D, Johnson DA, Lieberman DA et al. Prévention du cancer colorectal 2000 : recommandations de dépistage de l'American College of Gastroenterology. *AmJ Gastroenterol*2000;95:868–77.
92. Ricordan SM, Williams R. The intestinal flora and bacterial infection in cirrhosis. *J Hepatol* 2006 ; 45 : 744-57.
93. Rubinstein, M.R.; Wang, X.; Liu, W.; Hao, Y.; Cai, G.; Han, Y.W. *Fusobacterium nucleatum* favorise la cancérogenèse colorectale en modulant la signalisation E-cadhérine/ $\beta$ -caténine via son adhésion FadA. *Microbe hôte cellulaire* 2013, 14, 195-206
94. Safra, A.; Mulet, C.; Regnault, B.; Amiot, A.; Tran-Van-Nhieu, J.; Ravel, J.; Sobhani, I.; Sansonetti, P.J.; Pédrón, T.; Barnich, N.; et coll. Microbiotes de base associés à la crypte et à la muqueuse chez l'homme et leur altération chez les patients atteints d'un cancer du côlon. *mBio* 2019, 10, 1315-1319.
95. Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens J, Liersch T, Schmidberger H, Raab R : Chimioradiothérapie préopératoire versus postopératoire pour cancer rectal. *N Engl J Med* 2004, 351<sup>y</sup>: 1731-40
96. Scott AJ, Alexander JL, Merrifield CA, Cunningham D, Jobin C, Brown R, et al. Déclaration consensuelle de l'International Cancer Microbiome Consortium sur le rôle du microbiome humain dans la cancérogenèse. *Gut* (2019) 68(9):1624– 32. doi<sup>y</sup>: 10.1136/gutjnl-2019-31855
97. Sender R, et al. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*. 2016;14:e1002533.

## *Référence bibliographiques*

---

- 98.** Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *bioRxiv*. 2016
- 99.** Shu-Chun Chuang, Carlo La Vecchia, Paolo A. Boffetta, et al. *Cancers Letters* 1 December 2009, Pages 9-14
- 100.** Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, Dore J. L'analyse directe des gènes codant pour l'ARNr 16S de communautés complexes révèle de nombreuses nouvelles espèces moléculaires dans l'intestin humain. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65:4799–807.
- 101.** Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM Étendre les rôles des lymphocytes T CD4(+) dans l'immunité aux virus. *Nat. Rév. Immunol*. 12(2), 136–148 (2012).
- 102.** Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Organisation spatiale de la flore bactérienne dans l'intestin normal et enflammé: une étude d'hybridation in situ par fluorescence chez la souris. *World J Gastroenterol*. 2005; 11:1131-1140.
- 103.** Thursby, E. & Juge, N. Introduction au microbiote intestinal humain. *Biochem J*. 474(11), 1823-36 (2017).
- 104.** Tilg H, Adolph TE, Gerner RR, Moschen AR. Le microbiote intestinal dans le cancer colorectal. *Cellule cancéreuse* (2018) 33(6):954–64. doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.004
- 105.** Tissier, H. *et al.* (1900) 'Recherches sur la flore intestinale des nourrissons : (état normal et pathologique)'. Paris, France : Georges Carré et C. Naud.
- 106.** Tomlinson, M. S. *et al.* (2017) 'Microorganisms in the human placenta are associated with altered CpG methylation of immune and inflammation-related genes', *PLoS ONE*, 12(12). doi: 10.1371/journal.pone.0188664.
- 107.** Justesen T, Nielsen OH, Jacobsen IE, Lave J, Rasmussen SN. La microflore cultivable normale dans le liquide jéjunal supérieur chez les adultes en bonne santé. *Scand J Gastroenterol*. 1984; 19:279-282.
- 108.** Vancamelbeke M, Vermeire S. La barrière intestinale : un rôle fondamental dans la santé et la maladie. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* (2017) 11(9):821–34. doi: 10.1080/17474124.2017.1343143
- 109.** Viljoen, K.S.; Dakshinamurthy, A.; Goldberg, P.; Blackburn, J.M. Le profilage quantitatif des bactéries associées au cancer colorectal révèle des associations entre *Fusobacterium* spp., *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis* (ETBF) et clinicopathological Features of Colorectal Cancer. *PLoS ONE* 2015, 10, e0119462

## *Référence bibliographiques*

---

- 110.** Wade WG. Le microbiome oral dans la santé et la maladie. *Pharmacol Res.* 2013 ;69:137–43
- 111.** Waldum HL, Fossmark R. Types de carcinomes gastriques. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 30567376 EST CE QUE JE: 10.3390/ijms19124109]
- 112.** Wang, T.; Cai, G.; Qiu, Y.; Fei, N.; Zhang, M.; Pang, X.; Jia, W.; Cai, S.; Zhao, L. Ségrégation structurelle du microbiote intestinal entre les patients atteints de cancer colorectal et les volontaires sains. *ISME J.* 2011, 6, 320-329.
- 113.** Wen (Jess) LI 1,2, Yunfei Wang 1,3, Ruifang, et al, MicroARN-34 : Tumeur puissante suppresseur, cellule souche cancéreuse inhibiteur et anti cancéreuse potentiel thérapeutique 8 mars 2021
- 114.** *World J Gastroenterol* 2022 28 mars ; 28(12): 1187-1203, Épidémiologie du cancer de l'estomac. DOI: 10.3748/wjg.v28.i12.1187. Auteur correspondant: Milena Ilic, MD, PhD, professeur.
- 115.** Yao Q, Qi X, Xie SH. Différence entre les sexes dans l'incidence du cancer gastrique cardiaque et non cardiaque aux États-Unis, 1992-2014. *BMC gastro -entérol* 2020; 20: 418 [PMID: 33308167 DOI: 10.1186/s12876-020-01551-1]
- 116.** Yu LCH. Dysbiose du microbiote et dysfonctionnement de la barrière dans les maladies inflammatoires de l'intestin et les cancers colorectaux: exploration d'une hypothèse commune. *J Biomed Sci* (2018) 25(1):79. doi : 10.1186/s12929-018-0483-8
- 117.** Zackular, J.P.; Baxter, N.; Iverson, K.D.; Sadler, W.D.; Petrosino, J.F.; Chen, G.Y.; Schloss, P.D. Le microbiome intestinal module la tumorigenèse du côlon. *mBio* 2013, 4, 692-713.
- 118.** Zhang HL, Yu LX, Yang W, et al. Profound impact of gut homeostasis on chemically induced pro-tumorigenic inflammation and hepatocarcinogenesis in rats. *J Hepatol* 2012 ; 57 : 803-12.
- 119.** Zhen-Feng Wu, Kun zou, Guan-Nan Wu, et al. *Digestive Diseases and Sciences.* 66, 1673-1682 ;(2021)

# *Implication du microbiome humain dans les différents cancers*

## *Résumé*

Cette étude a pour objectif de rassembler les connaissances actuelles sur le microbiote à savoir sa physiologie, sa dysbiose, et son implication *dans les différents cancers*. *L'organisme humain héberge toute une communauté de microorganismes, aujourd'hui regroupés sous le terme de « microbiote », ils participent à de nombreuses fonctions biologiques, nous avons ainsi développé un véritable mutualisme avec eux. Nous hébergeons des microorganismes dans des différents endroits au niveau de notre corps, notre étude c'est basé sur le microbiote intestinal, gastrique et hépatique, et surtout sur leurs implications dans les différents cancers.*

De nombreuses preuves suggèrent que les bactéries jouent un rôle important dans la pathogenèse des cancers. En raison de la complexité du microbiome, l'identification des agents microbiens spécifiquement responsables reste difficile, ainsi que la recherche de l'agent causal qui entraîne une tumorigenèse ou une infection bactérienne et le cancer.

L'accumulation progressive de données est nécessaire pour confirmer l'hypothèse et pour prévenir le cancer, et pour une prévention plus efficace des recherches plus approfondies sur les facteurs de risque peuvent aider à identifier diverses opportunités.

## *Abstract*

This study aims to bring together current knowledge on the microbiota, namely its physiology, its dysbiosis, and its involvement in different cancers. The human body hosts a whole community of microorganisms, today grouped under the term "microbiota", they participate in many biological functions, we have thus developed a real mutualism with them. We host microorganisms in different places in our body, our study is based on the intestinal, gastric and hepatic microbiota, and especially on their implications in different cancers.

Much evidence suggests that bacteria play an important role in the pathogenesis of cancers. Due to the complexity of the microbiome, the identification of the specifically responsible microbial agents remains difficult, as well as the search for the causative agent that leads to tumorigenesis or bacterial infection and cancer.

Gradual accumulation of data is needed to confirm the hypothesis and to prevent cancer, and for more effective prevention further research into risk factors can help identify various opportunities.