

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/20

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

Domaine : SNV Filière : Biotechnologies
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par :

HAMID Sarah & HIDOUCHE Hadjer

Thème

*Pré-étude sur l'identification et la caractérisation de la
flore intestinale des patients atteints d'un
dysfonctionnement neurologique*

Soutenu le : 22 / 09 / 2020

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

M. REMINI Hocine

MCB

Univ. de Bouira

Président

Mme. DJOUAHRA Djamilia

MAA

Univ. de Bouira

Examinatrice

Mme. DJENADI. Katia

MAB

Univ. de Bouira

Promotrice

Mlle. MEHLLEB. Dalila

Doctorante

Univ. de Béjaïa

Co-promotrice

Année Universitaire : 2019/2020.

Remerciements

« Nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail ».

En guise de reconnaissance, nous tenons à témoigner nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail.

*On commence par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à notre promotrice **Dr. DJENADI Katia**, qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour tous les efforts qu'elle a consenti tout au long de l'élaboration de ce travail. Ses encouragements et ses précieux conseils. Nous remercions aussi chaleureusement et avec sincères gratitude notre Co-promotrice **Mlle MEHLLEB Dalila**, pour ses conseils et l'intérêt incontestable qu'elle a porté et on exprime pour eux notre respect et nous nous trouvons incapable de formuler nos remerciements à eux.*

*Nos chaleureux remerciements vont aux **Dr. REMINI Hocine** et **Dr. DJOUAHRA Djamila** pour l'honneur d'accepter de juger notre travail.*

*Nous remercions particulièrement **Pr. TLIBA** le directeur de laboratoire de recherche en Génie Biologique des Cancer de la faculté Médecine Université Abderrahmane Mira de Béjaia, **Dr. GHIDOUCHE. Z** et **Dr. AIT-ALI. Dj** pour nous avoir accueilli au sein de leur laboratoire. Qu'ils soient assuré de notre profonde gratitude.*

*Sans oublier d'adresser nos remerciements à **M. LAHDIRI Nassim** et **M. MADAOUI Menad** pour leurs aides précieuses et leurs disponibilités.*

*Nous remercions également **Pr. ADJA** le chef de service psychiatrie du CHU Frantz Fanon de Béjaia, particulièrement **Dr. DJELLALI** et **Dr. ABASSI** du même service pour leur aide et soutien à fin de réalisé ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi à **Dr. KHECHFOUD** du service Neurochirurgie
CHU Khelil Amrane de Béjaia pour son aide.*

*Merci également à Monsieur **le directeur** de l'Epsp Sor El Ghozlane de Bouira,
à le chef de service et tout le personnel de cet établissement.*

*Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères reconnaissances vont à
tous ceux et celles, qui ont permis par leurs conseils et leurs compétences la
réalisation de ce mémoire.*

Merci à tous...

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers Parents, j'aimerai toujours vous remercier pour tous ce que vous avez fait jusqu'à notre jour-là pour assurer notre éducation et formation, et c'est grâce à vous que je dois ma réussite. Que dieu vous procure bonne santé et longue vie, je vous aime...

*A mes très chers poussins **Latifo et Moumen**, c'est à vous mes adorables anges, ma joie et mon trésor que maman dédie ce travail pour vous dire que vous resterez pour toujours ma force. Je vous aime et je vous souhaite tous le bonheur de monde*

*A celui qui m'a donné une belle vie, aucun mot ne aurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour et tendresse dont tu m'as entouré.
Cher mari, grâce à ton aide et ta patience avec moi que je pourrai avancer, que dieu nous accorde un avenir meilleur.*

*A mes frères, mes amis et mon soutien : **Hamza, Slimane et Younes**.*

A ma chère belle-mère qui m'a toujours encouragé, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.

*A la mémoire de **mon beau-père**, qui nous a quitté trop tôt, tu m'as toujours appelé ma fille et je le senti vraiment, merci pour les jolies souvenirs que tu m'a offert.*

*A ma chère binôme **Sarah** le ange que j'ai rencontré durant cette année d'étude, pour son soutien, sa présence et sa compréhension tout au long de ce travail.*

A toute ma famille.

Hadjer

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect :
mon cher père **Ahmed**.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Houria**.*

*A mes frères **Azzedine** et **Ali**, en témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A mes cousins **Bicha**, **Moha**, **Omar**, **Rabah** et ma cousine **Hassiba**, aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.*

*A toute **ma famille** sans exception et la mémoire de **mes grands-parents**.*

*A mon ami **Hocine**, en souvenir de notre sincère et profonde amitié. Tu trouveras dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*A la personne la plus douce, gentille et modeste au monde, ma promotrice,
Dr DJENADI Katia, aucun mot ne pourra exprimer votre valeur pour moi. Votre rencontre est un grand honneur.*

*A tous **mes enseignants** généralement est à mon très cher enseignant **Dr REMINI Hocine** spécialement, pour le soutien, l'encouragement et les précieux conseils que vous m'avez donné tout au long de mon cursus universitaire.*

*A mes amis **Sarra**, **Manel**, **Nourelhouda**, **Thilleli**, **Khalef**, **Slimane** et **Yacine** que j'ai vécu avec eux des beaux moments au cours de mon parcours.*

*A ma binôme **Hadjer** et sa famille qui nous a encouragé tout au long de notre travail, sans oublier ses petits anges **Latifo** et **Moumen** que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A mon gérant **Imad** et ma gérante **Imane** et leur famille que je respecte énormément et ma chère complice **Ihsène** à qui je tiens beaucoup.*

*A tous **les membres** et **les adhérents** du club scientifique « **Young Scientists** » qui ont éclairé mes années universitaire.*

*A mes collègues de **la promo BTM** que je porte un grand respect pour eux.*

Sarah

Table des matières

Liste des abréviations	<i>i</i>
Liste des figures	<i>ii</i>
Liste des tableaux	<i>iii</i>
Introduction	1

Partie Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Le microbiote intestinal	3
1. Généralités	3
1.1. Composition de de la flore intestinal humaine	3
1.1.1. Flore dominante	3
1.1.2. Flore semi-dominante	3
1.1.3. Flore résiduelle	3
1.1.4. Flore fécale	4
1.2. Répartition de la flore	4
2. Les facteurs influençant la flore	5
2.1. Facteurs lié à l'individu	5
2.2. Le terme de la naissance	5
2.3. Le mode d'accouchement	6
2.4. L'alimentation	6
2.4.1. Le lait maternel et le lait infantile	6
2.4.2. L'alimentation de l'adulte	6
2.5. Antibiothérapie	6
2.6. L'environnement	7
3. Les fonctions du microbiote	7
3.1. Fonction de barrière et protection	7
3.2. Fonction métaboliques	8
3.2.1. Synthèse des molécules indispensables	8
• Synthèse des vitamines	8
• Synthèse des neurotransmetteurs	8
3.2.2. Métabolisme digestif	9
• Métabolisme des glucides	9
• Métabolisme des protéines	9

• Métabolisme des lipides	9
• Métabolisme des gaz	10
4. La dysbiose	10
5. Le syndrome de l'intestin irritable	10
Chapitre II : Le système nerveux humain	12
1. Généralités	12
2. Structure et organisation des différentes parties du système nerveux	12
2.1. Sur le plan anatomique	12
2.1.1. Système nerveux central	12
• L'encéphale	12
• La moelle épinière	12
2.1.2. Système nerveux périphérique	12
• Nerfs crâniens	13
• Nerfs spinaux	13
2.2. Sur le plan fonctionnel	13
2.2.1. Le système nerveux somatique	13
2.2.2. Le système nerveux autonome	13
• Système nerveux sympathique	13
• Système nerveux parasympathique	14
• Système nerveux entérique	14
3. Les pathologies neurologiques principales.....	15
3.1. La maladie d'Alzheimer	15
3.2. La maladie de Parkinson	15
3.3. La sclérose en plaques	16
3.4. L'épilepsie	16
3.5. L'accident vasculaire cérébral (AVC)	17
4. Les pathologies psychiatrique principales et troubles de comportement	17
4.1. Dépression	17
4.2. Anxiété	18
4.3. Autisme	18
4.4. Schizophrénie.....	19
Chapitre III : Relation microbiote-intestin-cerveau	20
1. Les différentes voies de communication entre le microbiote intestinal et le cerveau	20

1.1. Voie sanguine	20
1.2. Voie nerveuse	21
1.3. Voie immune	21
1.4. Voie endocrine	21
2. Mode d'action du microbiote intestinal sur le système nerveux central	21
2.1. Activation du système nerveux entérique	21
2.2. Effet des métabolites libérés par le microbiote	23
• Les amines bactériennes	23
• L'acide lactique	23
• Les acides gras à chaîne courte	24
• L'indole	24
2.3. Microbiote et modulation du système immunitaire	25

Partie Pratique

Chapitre I : Matériel et méthodes	26
1. Durée et lieu de stage	26
2. Population étudiée.....	26
3. Echantillonnage	26
4. Etude de la qualité des excréments	26
4.1. Etude macroscopique	26
• La texture.....	27
• La couleur	27
• Présence parasitaire	27
• Résidus alimentaires	27
• Autres	27
5. Etude microscopique la flore bactérienne	27
5.1. L'observation à l'état frais	27
5.2. Coloration de Gram	27
6. Mise en culture des cellules du microbiote intestinal	28
6.1. Préparation de la solution mère et série des dilutions	28
6.2. Ensemencement et dénombrement	28
6.3. Isolement et purification.....	28
7. Identification des souches bactérienne de la flore intestinale	29

7.1. Méthodes classiques	29
7.1.1. Appréciation macroscopique	29
7.1.2. Observation microscopique	29
• L'état frais	29
• Coloration de Gram	29
7.1.3. Identification biochimique	29
• Test de catalase	29
• La Galerie biochimique	30
7.2. Méthodes moléculaires	31
7.2.1. Identification avec la méthode MALDI-TOF-SM	31
7.2.2. Identification moléculaire (PCR 16S ARN)	31
Chapitre II : Résultats et discussion	32
1. Caractéristiques de la population étudié	32
2. Les points principaux de l'examen macroscopique	32
3. Les points principaux de l'observation microscopique.....	32
3.1. Résultats de l'examen à l'état frais	32
3.2. Répartition des souches selon la coloration de Gram	33
4. Durée et lieu de stage	35
5. Résultats de l'ensemencement à partir des dilutions.....	35
6. Identification et isolement des souches	37
6.1. Sélection des souches	37
6.2. Résultats de l'isolement et la purification des souches sélectionnées	37
Discussion générale	39
Conclusion	42
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations**5-HT** : 5-Hydroxytryptamine (Sérotonine)**AGCC** : Acide Gras a Chaine Courte**BHE** : Barrière Hémato-Encéphalique**CCK** : Cholésystokinine**CEE** : Cellules Entéro-Endocrines**GABA** : Gamma-Amino Butyric Acid**GLP** : Gluagon-Like Peptide**GPCR** : G Protein-Coupled Reseptor**IL** : Interleukine**LB** : Lurai Bertani**LPS** : Lipopolysaccharides**MA** : Maladie d'Alzheimer**MP** : Maladie de Parkinson**NaCl** : Chlorure de Sodium**NaOH** : Hydroxyde de Sodium**NPOG** : Neurones Post-Ganglionnaires**NPRG** : Neurones Pré-Panglionnaires**NPY** : Neuropeptide Y**OMS** : Organisme Mondiale de la Santé**pH** : Potentiel d'Hydrogène**PYY** : Peptide Pancréatique**SEP** : Sclérose En Plaque**SI** : Système Immunitaire**SII** : Syndrome de l'Intestin Irritable**SN** : Système Nerveux**SNA** : Système Nerveux autonome**SNC** : Système Nerveux central**SNE** : Système Nerveux Entérique**SNP** : Système Nerveux périphérique**SNPS** : Système Nerveux parasympathique**TA** : Troubles Anxieux**TLR** : Toll-Like Receptor**TNF- α** : Tumor Necrosis Factor alpha**TSA** : Troubles du Spectre de l'Autisme**UFC** : Unité Formant Colonie

Liste des figures

Figure 01 : Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores.....	4
Figure 02 : les différentes voies de communications entre le microbiote intestinal et le cerveau.....	20
Figure 03 : la Galerie de tests biochimiques miniaturisés.....	30
Figure 04 : les éléments non parasitaires observés dans l'examen à l'état frais de l'échantillon EPM1.....	33
Figure 05 : La différence dans la charge microbienne entre l'échantillon d'une personne saine (a) et une personne malade (b) après coloration du Gram.....	34
Figure 06 : Résultats après incubation de l'ensemencement en strie sur milieu LB à partir des solutions mères dont (a) EPS1, (b) EPM1, (c) EPM2 et (d) EPM3.....	35
Figure 07 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPS1 après incubation.....	36
Figure 08 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPM1 après incubation.....	36
Figure 09 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPM2 après incubation.....	36
Figure 10 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPM3 après incubation	37
Figure 11 : Sélection des souches à partir des boîtes ensemencées en strie.....	37
Figure 12A : Résultats de l'isolement des souches sélectionnées par ensemencement en cadrans sur gélose LB de l'échantillon EPS1 (a) souche 01, (b) souche 02, (c) souche 03.....	38
Figure 12B : Résultats de l'isolement des souches sélectionnées par ensemencement en cadrans sur gélose LB de l'échantillon EPM1 (a) souche 01, (b) souche 02, (c) souche 03.....	38

Liste des tableaux

Tableau I : Tableau représentatif des neurotransmetteurs, des espèces productrices et leurs effets physiologiques.....	8
Tableau II : Résultats obtenues de l'observation microscopique des échantillons recueillis.....	32
Tableau III : résultats de l'examen à l'état frais des échantillons.....	33
Tableau IV: Les différentes espèces bactériennes selon le type de Gram, la forme et le mode d'arrangement présentes dans les échantillons.....	34

Introduction

Introduction

L'être humain vit continuellement en association avec une population diversifiée et complexe de microorganismes habitant son tractus gastro-intestinal appelé « microbiote intestinal ». Ce dernier regroupe un nombre significatif de microorganismes qui ont un impact important sur le métabolisme et la physiologie de l'hôte dont l'un de ces principaux effets bénéfiques est la protection et l'amélioration de la résistance de l'hôte aux maladies infectieuses. Le déséquilibre et l'altération quantitative et qualitative de cette flore peuvent mener vers le développement de plusieurs pathologies (**Clavel, 2019**).

Parmi ces pathologies, on cite les maladies de dysfonctionnements du système nerveux central, le cancer et le diabète. Une étude récente a montré qu'une différence entre le microbiote intestinal des patients atteints de la maladie de Parkinson et les sujets sains. L'étude a révélé une diminution de la famille *Prevotellaceae*. Cette diminution peut être liée à la diminution de la thiamine et de folates l'un des signes physiologiques de la maladie de Parkinson (**Descoins, 2017**).

L'étude de Vogt *et al* sur les rongeurs suppose que l'altération du microbiote intestinal peut mener à un dépôt d'amyloïde quoique les espèces associées à ce dysfonctionnement restent méconnu. Le microbiote intestinal des patients atteints de la maladie d'Alzheimer est caractérisé par la présence significative de certaines espèces bactériennes telles que les *Firmicutes* et les *Bacteroides* avec une faible présence d'autres comme les *Bifidobacterium* (**Vogt et al., 2017**). La diversité du microbiote intestinal est associée à différents facteurs liés à l'individu qui peuvent influencer leur activité métabolique y compris l'état de l'individu, l'âge, l'antécédent clinique, l'environnement et l'alimentation (**Corthier et al., 2007**).

Des investigations récentes ont montré que les souris exemptes de microbiote (souris nées par césarienne et sans microbiote) développent des troubles de comportement sévères, anxiété, dépression, des troubles de sommeil, des perturbations dans l'alimentation. De plus en plus, les études montrent l'existence d'une interaction entre le microbiote intestinal, l'intestin et le système nerveux central (SNC). Ces données ont motivé les chercheurs à mettre en évidence cette association émergente en nouvelles solutions et thérapies pour les maladies psychiatriques (**Fond et Boyer, 2019; Simpson et al., 2020**).

L'ensemble de ces investigations qui met la lumière sur la présence de dysbiose chez les personnes atteintes d'un dysfonctionnement du système nerveux central et la variation de la diversité entre les personnes saines et malades nous a motivé à nous lancer dans l'identification et caractérisation du microbiote intestinal chez les patients atteints de dysfonctionnement neurologiques. Pour cette étude nous avons choisi des patients hospitalisés au niveau du service psychiatrique de CHU Frantz Fanon de Béjaia, du service neurochirurgie de CHU Khellil Amrane de Béjaia et de l'EPSP Sor EL-Ghozlane de Bouira afin de mettre en évidence la diversité microbienne chez les patients atteints de différentes pathologies neurologiques.

A défaut de la situation sanitaire de COVID 19 qui a touché le monde et notre pays, nous n'avons pas pu poursuivre la démarche expérimentale telle qu'elle a été programmée au début de l'année universitaire. De ce fait, nous nous sommes limités à une synthèse bibliographique et une pré-étude dans laquelle on va vérifier l'hypothèse : la présence d'une dysbiose chez les sujets atteints d'un dysfonctionnement au niveau du système nerveux central en comparaison avec les personnes saines. Et la contribution des facteurs environnementaux et sociaux, de l'alimentation et de l'âge dans la modélisation de la diversité du microbiote intestinale, ainsi que son influence sur l'état psychiatrique des personnes.

Partie Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Le microbiote intestinal

1. Généralités

La flore intestinale ou nouvellement appelée microbiote, englobe les micro-organismes qui colonisent le tractus digestif et vivent en harmonie avec l'organisme humain. Elle est également considérée comme un organe supplémentaire, en vue de sa constitution importante en bactéries 100 000 milliards c'est-à-dire 100 fois plus que nos propres cellules eucaryotes humaines, qui possèdent ses propres moyens de communication avec l'ensemble de l'organisme. Aujourd'hui, nombreux documents ont révélé qu'en plus du rôle de la digestion des aliments, le microbiote est constitué d'un écosystème complexe impliquant une relation symbiotique mutualiste avec son hôte et contribue à différentes pathologies humaines (**Yang et al., 2020**).

Le microbiote est caractérisé principalement par trois types de flore : bactéries symbiotiques, bactéries commensales et bactéries opportunistes (**Descoins, 2017**).

Les premières colonisations bactériennes chez le fœtus sont lors de l'accouchement et l'allaitement. Le microbiote adulte se stabilise fonctionnellement à partir de l'âge de 2-4 ans et son évolution diffère d'un individu à un autre en fonction de plusieurs facteurs dont l'individu lui-même, son régime alimentaire, son environnement et son mode de vie (**Cotillard et al., 2013; Lagier et al., 2013**).

1.1. Composition de de la flore intestinal humaine

1.1.1. Flore dominante

Elle est composée de ($N > 10^9$ UFC/g) des espèces strictement anaérobies tel que les *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Propionibacterium* (**Jaglin, 2013**).

1.1.2. Flore sous dominante

Elle est composée de ($10^6 > N > 10^8$ UFC/g), *Escherichia coli* et plusieurs espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* et certains genres comme les *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter* (**Jaglin, 2013**).

1.1.3. Flore résiduelle

Elle est composée de ($N < 10^6$ UFC /g), la flore dominante empêche le développement des bactéries de cette flore (**Debré et Le Gall, 2014**).

1.1.4. Flore fécale

L'analyse de cette flore permet d'identifier un nombre important des espèces mortes en donnant une vue limitée sur l'ensemble des micro-organismes qui constitue la flore intestinal totale ainsi que certaines souches pathogènes pour l'hôte (Debré et Le Gall, 2014).

1.2. Répartition de la flore

La répartition de la flore (figure 01) dépend de la teneur en oxygène du milieu, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments apportés par l'alimentation et la vitesse de transit (rapide de la bouche au caecum et lente jusqu'au rectum) (Debré et Le Gall, 2014) :

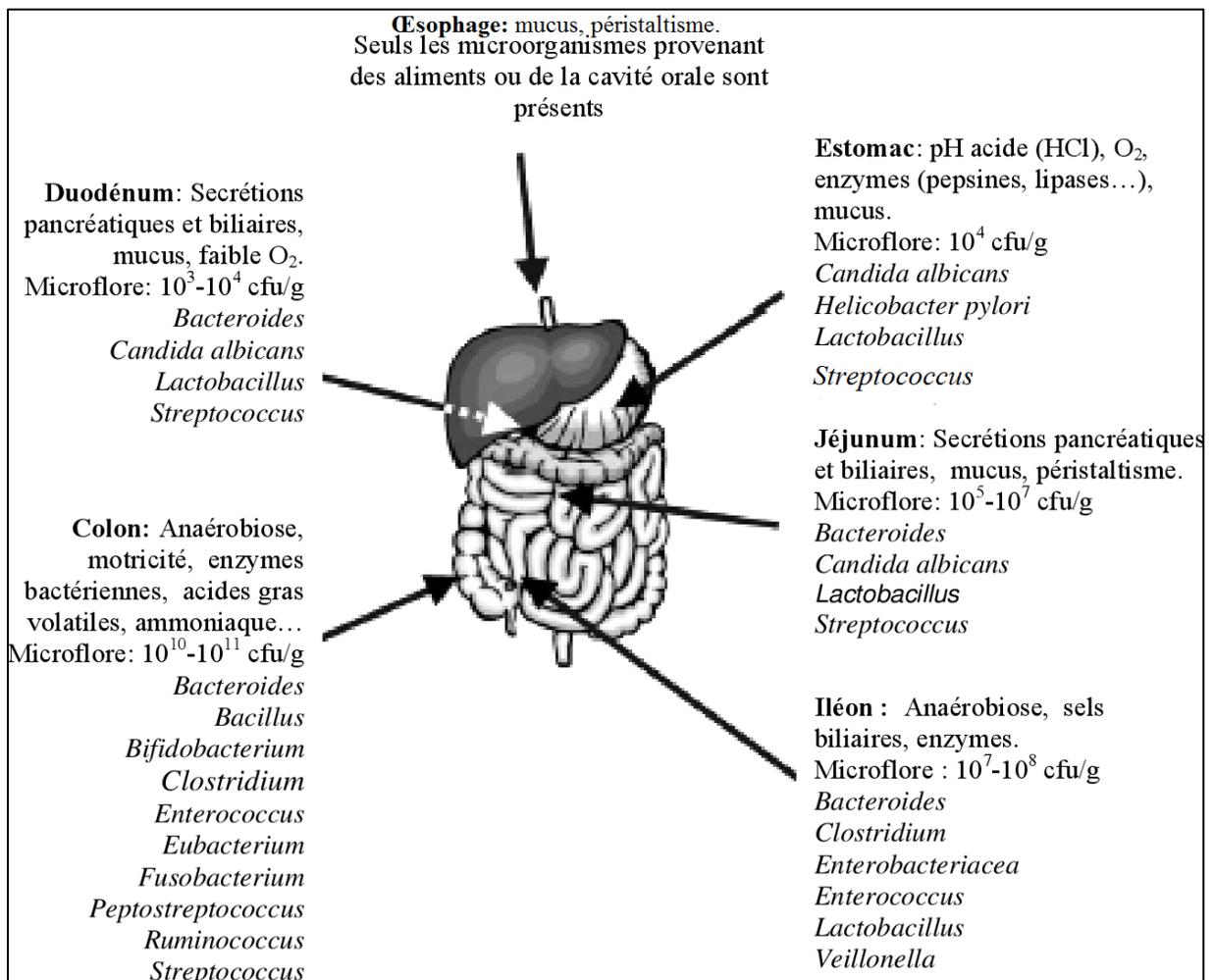


Figure 01 : Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores. Adapté et modifié par Ouwehand et Vesterlund, 2003.

- **Au niveau de l'estomac**

L'estomac est une cavité d'une forme de (L) et caractérisée par un pH acide après l'alimentation. De ce fait on ne trouvera que les espèces dites acidophiles telle que *Helicobacter pylori* (figure 01).

- **Au niveau de l'intestin grêle**

Une variation quantitative est observée entre le duodénum (10^3 - 10^4 UFC/g), le jéjunum (10^4 - 10^6 UFC/g), et l'iléon (10^6 - 10^8 UFC/g) (figure 01). Ainsi qu'une variation qualitative caractérisée par une diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies strictes.

- **Au niveau du côlon**

Qui est un endroit important de la fermentation et un siège de très nombreuses biotransformations des aliments non assimilés dans le grêle, la vitesse de transit extrêmement ralentie est à l'origine d'une stase intestinale (stagnation des selles) d'où l'augmentation importante de la population bactérienne (10^9 à 10^{11} UFC/g). La flore microbienne anaérobie colonisant cette zone d'une manière permanente et produisent un nombre important des métabolites (figure 01).

2. Les facteurs influençant la flore

La vitesse de la colonisation et la composition de la flore sont influencée par plusieurs facteurs :

2.1. Facteurs liés à l'individu

Une étude sur des jumeaux monozygotes a montré que la composition du microbiote serait en partie due à notre génétique. Les personnes qui partageant le même environnement et vivant dans des conditions de vie semblables présentaient un microbiote similaire mais génétiquement moins proche (cas des frères et sœurs) (**Fond et al., 2015**).

2.2. Le terme de naissance

Un retard important de la colonisation de la flore protectrice est observé chez nourrissons prématurés à cause de la grande perméabilité intestinale de ces derniers. Ceci est en relation avec un séjour plus ou moins long dans un environnement aseptisé et souvent une

antibiothérapie prophylactique. De même, une naissance prématurée présente les premiers risques de la dysbiose (**Mahmoudi, 2014**).

2.3. Le mode d'accouchement

Le mode d'accouchement joue un rôle important dans la composition de la flore intestinale chez les nouveau-nés. Cette différence a été démontrée par certains chercheurs. En effet, lors de la grossesse, le fœtus baigne dans le liquide amniotique stérile et selon la voie d'accouchement que les premières colonisations apparaissent. Lors de l'accouchement par voie basse (vaginale), les bactéries de la flore maternelle vaginale, fécale et cutanée qui viendront coloniser le nourrisson. Par contre, si la voie d'accouchement étant la césarienne le nourrisson ne sera colonisé que par la flore maternelle cutanée et les bactéries de la salle d'accouchement (**Debré et La Gall J, 2014 ; Frayssinhes, 2017**).

2.4. L'alimentation

2.4.1. Lait maternel et lait infantile

La composition du lait maternel est naturellement riche en bactéries commensales (*Staphylocoques*, *Streptocoques* et *Bifidobactéries*). Les nourrissons allaités au sein présentent un microbiote riche en ces bactéries par rapport à *Escherichia coli* et *Clostridium difficile*. La composition du lait infantile est proche de celle du lait maternel mais les enfants qui se nourrissent par ce type possèdent un microbiote complexe avec la présence d'une faible quantité des Bifidobactéries et une domination des *Bacteroides*, *Clostridium* et *Staphylococcus* (**Frayssinhes, 2017**).

2.4.2. L'alimentation de l'adulte

La composition initiale du microbiote tend vers la disparition en fur et à mesure de la variation dans l'alimentation et la flore intestinale devient plus complexe et stable vers l'âge de 2-4 ans avec une augmentation en *Bacteroides*, *Enterocoques*, et *Streptocoques* (**Yatsunenko et al., 2012**).

2.5. Antibiothérapie

Penders *et al*, ont montré qu'une diminution dans la présence de *Bifidobactérium* et de *Bacteroides fragilis* est observée lors de l'administration d'antibiotiques chez l'enfant durant le premier mois de vie. Le microbiote intestinal est énormément altéré par l'effet nocif de l'antibiothérapie. En outre, la perturbation du microbiote par l'effet de cette antibiothérapie peut

stimuler la colonisation des espèces pathogènes opportunistes résistantes aux antibiotiques (**Penders *et al.*, 2006**).

2.6. L'environnement

L'exposition de l'enfant aux bactéries présentes dans l'environnement joue un rôle important dans le développement de sa flore intestinale. L'enfant est exposé à un nombre faible des micro-organismes en vue des règles strictes d'hygiène établies dans les maternités ce qui entraîne une colonisation retardée par les *Bacteroidetes* et par les *Bifidobacterium* (**Campeotto *et al.*, 2007**).

Un environnement de type ferme et en présence d'animaux lors de l'enfance favorise la diversité du microbiote (**Penders *et al.*, 2006**).

3. Les fonctions du microbiote

Le microbiote intestinal assure de nombreuses fonctions physiologiques et bénéfiques à l'hôte :

3.1. Fonction de barrière et protection

La flore intestinale sert comme barrière de protection pour l'hôte lors d'une prolifération en quantité des bactéries pathogènes ou opportunistes. La perméabilité de la barrière intestinale peut être modifiée par les bactéries en réduisant les jonctions entre les cellules épithéliales pour but de limiter le passage des éléments dans la circulation sanguine. En outre, la capacité de produire des molécules essentielles pour la protection et l'hydratation de la muqueuse intestinale, telle que les mucines MUC 2 par des bactéries comme l'espèce *Lactobacillus plantarum* qui permet une reconstitution rapide du tissu épithélial (**Delzenne et Cani, 2008 ; Termaroli et Backhed, 2012 ; Gailhard et Balard, 2015**).

Des molécules antimicrobiennes (bactériocines, acide lactique) sont également synthétisées par les bactéries en induisant une compétition avec les espèces pathogènes ou bien en inhibant le point d'ancrage des sites d'adhérence épithéliales, ainsi qu'une compétition sur les besoins nutritionnels (**Gailhard et Balard, 2015**).

3.2. Fonction métabolique

3.2.1. Synthèse des molécules indispensables

- Synthèse des vitamines

La flore intestinale est constituée de bactéries responsables de la synthèse de plusieurs vitamines qui ont un rôle important à l'échelle cellulaire telle que le facteur de la coagulation sanguine (vit K), la thiamine (vit B1), la biotine (vit B8), l'acide folique (vit B9) et la cobalamine (vit B12) (Descoins, 2017).

- Synthèse des neurotransmetteurs

Les neurotransmetteurs (ou neuromédiateurs) sont des molécules chimiques qui assurent la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses. Les bactéries de cette flore fournissent également une synthèse des neurotransmetteurs similaires à celles de notre tissu épithélial qui peut agir sur le système SNC par les voies de communication entre le microbiote intestinal et le cerveau. Le tableau ci-dessous montre des neurotransmetteurs synthétisés par certaines espèces bactériennes (Descoins, 2017):

Tableau I : Tableau représentatif des neurotransmetteurs, des espèces productrices et leurs effets physiologiques (Descoins, 2017).

Neurotransmetteur	Genre microbien producteur	Effets physiologiques
GABA	<i>Lactobacillus, Bifidobacterium</i>	Anxiolytique Myorelaxant
Noradrénaline	<i>Escherichia, Bacillus, Saccharomyces</i>	Multiples
Sérotonine/Tryptamine	<i>Candida, Streptococcus, Escherichia, Enterococcus</i>	Régulation de la voie vagale Péristaltisme
Dopamine	<i>Bacillus, Serratia</i>	Multiples
Acétylcholine	<i>Lactobacillus</i>	Multiples
Glutamate	<i>Corynebacterium glutamycum, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, Lactococcus lactis</i>	Multiples
Histamine	<i>Lactobacillus, Enterococcus</i>	Hypotension, allergies
Mélatonine	<i>Bifidobacterium</i>	Relaxation des muscles lisses

3.2.2. Métabolisme digestif

- **Métabolisme des glucides**

Le microbiote intestinal participe à la dégradation des glucides ingérés par l'individu en transformant les polysides en métabolites de fermentation par plusieurs étapes. Les bactéries fibrolytiques synthétisent des enzymes qui assurent l'hydrolyse des polymères glucidiques contenus dans les fibres végétales en fragments de petite taille (oses et oligosides) comme première étape qui ne peut pas être effectuée par les cellules humaines. Deuxièmement, les bactéries glycolytiques transforment les glucides en pyruvate par glycolyse puis, ce dernier sera transformé en acides gras à chaîne courte comme l'acétate, le propionate et le butyrate qui sert comme source d'énergie pour les cellules épithéliales du colon en favorisant leur renouvellement rapide et en stimulant les échanges d'eau et des minéraux (**Descoins, 2017**).

- **Métabolisme des protéines**

L'activité enzymatique de certaines bactéries (protéase, désaminase, transaminase) au niveau du colon intervient dans la dégradation des protéines en petits peptides hydrolysés par une activité protéasique. Ces derniers seront transformés en acides aminés qui seront utilisés à leur tour comme source d'énergie ou source d'azote par les bactéries qui n'utilisent pas les glucides lors de la fermentation. Les produits issus de la désamination des acides aminés sont les acides gras à chaînes courtes (AGCC) et l'ammoniaque. L'ammoniaque est considéré comme élément toxique donc il sera rapidement absorbé et transformé en urée au niveau du foie puis, sera éliminé dans les urines (**Descoins, 2017 ; Frayssinhes, 2017**).

- **Métabolisme des lipides**

Les acides gras non absorbés au niveau de l'intestin grêle seront transformés à l'aide des bactéries coliques par différents types de réactions (hydrolyse, hydroxylation, oxydation et réduction). Le coprostanol non absorbable est le produit issu du métabolisme de 70% du cholestérol par le microbiote, et sera éliminé dans les fèces. L'étude de Gerard *et al* en l'an 2007, a montré le rôle d'une souche proche de l'espèce *Bacteroides dorei* dans le métabolisme du cholestérol (**Gérard *et al.*, 2007**), quoique, les espèces bactériennes responsables du métabolisme de cette molécule restent peu connues (**Veiga *et al.*, 2005**).

- **Métabolisme des gaz**

L'hydrogène est produit en quantité importante dans le colon lors du processus de la fermentation bactérienne. Cet élément sera éliminé au milieu extérieur par voie pulmonaire ou par émission de gaz rectaux. Bien que, les bactéries hydrogénotrophes transforment une quantité importante de l'hydrogène. Le méthane peut être produit par le biais des bactéries méthanogènes comme les *Archaea* et par des bactéries sulfato-réductrices comme les *Desulfovibrio* (Descoins, 2017).

4. La dysbiose

La dysbiose est un déséquilibre quantitatif et qualitatif dans la diversité microbienne intestinale par le biais de plusieurs facteurs. Ce déséquilibre est la cause principale de certaines pathologies telles que l'obésité, le syndrome métabolique, le syndrome de l'intestin irritable, les maladies inflammatoires intestinales, les maladies auto-immunes, le cancer colorectal et hépatique, ainsi que les troubles psychiatriques dont la dépression et les troubles du spectre autistiques (TSA), etc (Mondor *et al.*, 2013 ; Descoins, 2017).

Il a été démontré que la présence d'un microbiote équilibré est abondante pour l'expression de l'alpha-synucléine qui est une protéine importante dans le cerveau humain qui se trouve dans l'extrémité des neurones (au niveau des terminaisons présynaptiques) (Sampson *et al.*, 2016).

La présence d'une dysbiose chez les patients atteints des troubles neurodégénératifs peut influencer l'état de la maladie. Ces données montrent l'effet du déséquilibre ainsi que du métabolisme de microbiote intestinal sur la communication neuronale (Grasset et Burcelin, 2019).

5. Le syndrome de l'intestin irritable

L'une des maladies digestives fonctionnelles la plus fréquente est le syndrome de l'intestin irritable (SII) ou également appelé colopathie fonctionnelle, cette pathologie est dite fonctionnelle vu qu'elle n'est pas caractérisée par des causes organiques à l'origine des troubles ou des lésions visibles à l'imagerie médicale mais elle permet d'expliquer la communication entre le microbiote et le cerveau lors du stress. Elle est traduite par une hypersensibilité viscérale ainsi qu'une perturbation de la motricité digestive associée à une diarrhée, une constipation ou les deux en même temps ce qui influence la qualité de vie des individus atteints. L'abaissement

du seuil de perception en moment de douleur est expliqué par une anomalie de la balance sympatho-vagale avec une dominance sympathique en condition de stress et un système parasympathique inhibé particulièrement par une dysfonction vagale (**Pellissier *et al.*, 2008**).

Une modification de la composition et de l'activité du microbiote intestinal y compris une activation de l'immunité avec une inflammation chronique de bas grade, une augmentation de la perméabilité intestinale et une perturbation de l'axe microbiote-intestin-cerveau sont observées au cours de cette maladie (**Descoins, 2017**).

Chapitre II

Le système nerveux humain

1. Généralités

Le fonctionnement des organes du corps est contrôlé par un système de contrôle complexe et difficile à concevoir, le cerveau, un organe mystérieux qui aide également à l'adaptation et la compréhension du milieu qui entoure l'individu. En augmentant les capacités intellectuelles et d'apprentissage, et en cours de l'évolution, notre système nerveux est devenu ardu progressivement. Par conséquent, le risque sur la vie de l'individu augmente avec tout atteinte de ce système en vue de cette complexité. Les patients qui ont des dysfonctionnements ou des troubles à ce niveau (maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, Autisme, dépression, anxiété...), ont un mode de vie différent et compliqué de celle des personnes normales (**Marfai, 2013**).

2. Structure et organisation des différentes parties du système nerveux

2.1. Sur le plan Anatomique

2.1.1. Système nerveux central

Le système nerveux central (SNC) à un rôle de réception, enregistrement et interprétation des signaux et organisation des réponses. Il est constitué de :

- **L'encéphale**

L'encéphale en entier occupe la cavité crânienne, est l'ensemble de 3 éléments principaux, le cerveau avec ses deux parties (télencéphale et diencéphale), le tronc cérébral et le cervelet.

- **La moelle épinière**

La moelle épinière est située dans le canal rachidien qui résulte de la superposition des vertèbres de la colonne vertébrale (**Site 01**).

2.1.2. Système nerveux périphérique

L'une des parties importante du système nerveux est le système nerveux périphérique (SNP), cette partie est composée des nerfs attachés à l'encéphale ou à la moelle épinière situés à l'extérieur de la cavité crânienne à l'extérieur du SNC. Son rôle est de mener les informations de la sensibilité ou de la douleur issues des récepteurs périphériques jusqu'au système nerveux central et de transférer les ordres moteurs émis par les centres nerveux. Il est composé principalement de deux nerfs, on distingue :

- **Les nerfs crâniens**

Les nerfs crâniens sont attachés au tronc cérébral au l'encéphale.

- **Les nerfs rachidiens**

Les nerfs rachidiens sont attachés à la moelle épinière, émergent du canal rachidien (Site 01).

2.2. Sur le plan fonctionnel

2.2.1. Le système nerveux somatique

Le système nerveux somatique est un système contrôlé par la volonté. Il dirige spontanément les muscles striés via des nerfs qui partent du SNC vers les organes (nerfs efférents) et des nerfs qui apportent les informations sensorielles et arrivent au SNC (nerfs afférents). Ce système permet également d'interagir avec le monde extérieur en participant à l'équilibre et la motricité (Site 02).

2.2.2. Le système nerveux autonome

Le système nerveux qui dirige les fonctions involontaires et automatiques de notre corps est le système nerveux autonome (SNA) ou également appelé végétatif, en assurant une harmonisation fonctionnelle entre la plupart des organes internes de plus de leurs fonctions indépendantes. Lors d'une perturbation de ce système, les organes gardent leurs fonctions indépendantes mais sans harmonisation entre eux. Le SNA a une organisation divalente avec deux systèmes efférents dont l'un est le système responsable sur la libération de la noradrénaline (sympathique ou orthosympathique), et l'autre responsable sur la libération de l'acétylcholine (parasymphatique) (Serratrice et Verschueren, 2005).

- **Système nerveux sympathique**

Le système nerveux sympathique ou également appelé orthosymphatique est une voie dont les organes sont indépendants les uns des autres, et à l'égard du cerveau. Son médiateur chimique est l'adrénaline, et il est constitué des neurones pré-ganglionnaires dites cholinergiques situés entre les vertèbres T12 et L2, et des axones (fibres nerveuses) qui cheminent au niveau des nerfs splanchniques thoraciques et lombaires. Ils forment une zone de contact fonctionnelle (synapse) au niveau des ganglions pré-vertébraux avec des neurones post-ganglionnaires noradrénergiques dans la corne intermedio-latérale de la moelle spinale.

Les neurones post-ganglionnaires qui élongent l'artère mésentérique inférieure interviennent dans la partie terminale du côlon transverse, descendant et sigmoïde ainsi que la partie proximale du rectum. Par contre, ceux dédiés au côlon ascendant et même transverse suivent l'artère mésentérique supérieure. La partie distale du rectum aussi bien que le sphincter anal interne sont innervés par les neurones noradrénergiques proménergés au niveau des nerfs hypogastriques (**Damak et al., 2013; Descoins, 2017**).

- **Système nerveux parasympathique**

Respiration, digestion, circulation et sexualité de notre corps sont un ensemble des fonctions végétatives régularisées par la voie parasympathique dont le modérateur chimique est l'acétylcholine. L'activité interne passive de cette régulation végétative permet la recharge des réserves énergétiques et l'anabolisme. Le système nerveux parasympathique se divise en SNPS crânien dont les axones des neurones pré-ganglionnaires (NPRG) cholinergiques qui cheminent au niveau du dixième nerf crânien (nerf vague X), et en SNPS sacré (pelvien) dont les axones des NPRG allant des racines sacrées aux nerfs pelviens. En outre, les neurones post-ganglionnaires (NPOG) des deux parties du système nerveux parasympathique sont carrément localisées dans la paroi digestive dont ils sont considérés des neurones du système nerveux entérique (**Damak et al., 2013; Descoins, 2017**).

- **Système nerveux entérique**

Le système nerveux entérique (SNE) est constitué presque de 500 millions de neurones sensibles et des interneurons situés tout au long de la paroi du tube digestif, le nerf vague est le médiateur d'une relation directe entre le SNE et le SNC dont les afférentes et les transmetteurs des informations périphériques au cerveau sont 90% des fibres de ce dernier mais aussi, la voie d'action préférée de la flore intestinale sur le SNC est constituée par neurones afférents de ce nerf (**Bienenstock et al., 2010**).

La liaison entre les corps cellulaires des neurones entériques et des cellules gliales contenues dans les ganglions, les axones des neurones entériques et les fibres du SNA donne naissance à deux plexus du système nerveux entérique, le plexus d'Auerbach (Myentérique) et le plexus de Meissner (sous-muqueux) (**Descoins, 2017**).

3. Les pathologies neurologiques principales

3.1. La maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) a été décrite pour la première fois en l'an 1906 par le médecin allemand *Alois Alzheimer*. C'est une maladie neurodégénérative inguérissable des neurones cérébraux dont le patient atteint un dysfonctionnement psychologique (démence) progressif et imbattable avec une altération de la mémoire, elle est également considérée comme un véritable problème de la santé publique (**Berchtold et Cotman, 1998**).

La MA est caractérisée par un abaissement notable dans certaines fonctions cognitives de l'individu tel que la sensibilité, l'intelligence et la volonté avec une perte éventuelle de ces souvenirs ou amnésie. Dans l'anatomie clinique, la MA est identifiée par l'association du syndrome démentiel d'évolution progressive et des lésions cérébrales caractéristiques. La présence des plaques amyloïdes, des dégénérescences neurofibrillaires avec une perte neuronale à l'examen histologique du cerveau lors d'une autopsie dont les lésions seront parfaitement visualisées, est le diagnostic de certitude pour cette maladie (**Marfai, 2013**).

3.2. La maladie de Parkinson

Avec un risque de vie entière de 1,5%, l'une des maladies neurodégénératives la plus répandue après la maladie d'Alzheimer (MA) est la maladie de Parkinson (MP) bien que, chez les personnes âgées, elle est la deuxième cause de handicap moteur après l'accident vasculaire cérébral (AVC). Une augmentation de la fréquence de cette maladie est attendue au fur et à mesure de taux du vieillissement de la population à l'échelle mondiale (**Elbaz et Moisan, 2010**).

On trouve que le sexe masculin est touché 1,5 fois plus que le sexe féminin, cette différence remarquable est due à son exposition à des facteurs environnementaux toxiques plus élevés. La MP débute entre l'âge de 55 et 65 ans mais, elle peut débuter à l'âge de 40 ans, les premières symptômes cliniques de la MP sont mise en évidence après 5 à 10 ans de l'atteinte de cette dernière. La cause principale de la MP est une destruction sélective du système dopaminergique due au stress oxydatif en produisant des radicaux libres ou à une carence dans l'élimination de ces derniers (**Finestre, 2013**).

Au cours de la MP, l'atteinte digestive fait partie de l'atteinte des systèmes nerveux autonomes périphériques qui est fréquente dont l'ensemble de l'appareil digestif est touché de l'œsophage jusqu'au rectum (**Derkinderen, 2020**).

3.3. La sclérose en plaques

La sclérose en plaques (SEP) est une inflammation d'origine auto-immune associée à une dégénérescence neuronale du système nerveux central (SNC) qui touche les individus génétiquement prédisposés (**Hausser et Oksenbe, 2006**), elle est la première cause de handicap d'origine non traumatique chez le sujet jeune, et a été définie en 1868 par *J-M Charcot* (**Murray, 2009**).

Comme son appellation l'indique, la sclérose en plaques est décrite par la formation des plaques de sclérose sur la myéline qui est la gaine d'isolation des cellules nerveuses du cerveau et de la moelle épinière. Les différentes localisations des plaques causent plusieurs carences (motrice, sensitive, visuelle, cognitive, douleurs, et des troubles de l'équilibre) pour le sujet atteint. La SEP s'évolue par épisodes sévères appelés poussées sans prévention. Le traitement des poussées et l'empêchement de leurs survenues peut contribuer à la diminution du développement du handicap et au soulagement des différents troubles liés (**Naib, 2017**).

3.4. L'épilepsie

L'épilepsie, ou également appelée mal comitial d'après l'organisation mondiale de la Santé (OMS), est la troisième affection neurologique après l'AVC et la MA qui touche les personnes âgées et plus de 50 millions de personnes à l'échelle mondiale (**Van Cott, 2002; Wallace, 1998**).

En répondant à une grande activité inhabituelle ou synchronisée du cerveau, la crise d'épilepsie est définie comme une survenue transitionnelle de signes cliniques et de symptômes selon la ligue internationale contre l'épilepsie (*International League Against Epilepsy*) (**Gauthier, 2016**).

De même, l'unité conceptuelle et pathologique de l'épilepsie est figurée par une répétition presque fréquente et longue des crises pendant la vie de l'individu, donc une crise d'épilepsie n'est pas un symptôme évidant de la maladie, par conséquent, le diagnostic de cette pathologie ne peut être assuré qu'après l'apparition de deux crises non provoquées chez l'individu (**Gauthier, 2016**).

3.5. L'accident vasculaire cérébral (AVC)

L'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) ou anciennement nommés « apoplexie » par *Hippocrate*, qui veut dire « écrasé par un coup violent » en Grec, est une affection aiguë connue comme la première cause de handicap non traumatique acquis chez l'adulte, la deuxième cause de démence après la maladie d'Alzheimer et la troisième cause de décès après l'infarctus du myocarde et les cancers, ce qui rend cette pathologie un véritable problème de la santé publique. Les sujets atteints de l'AVC reconnaissent une dégradation rapide dans leur qualité de vie en vue de la paralysation causée par cette dernière. En 1658, *Johann Jacob Wepfer* a décrit l'association de l'AVC avec les maladies vasculaires du cerveau dont il a observé une occlusion artérielle ou un saignement massif chez des patients atteints lors de l'autopsie (**Charikhi et Ouahrani, 2017**).

4. Les pathologies psychiatriques principales et les troubles de comportements

4.1. Dépression

La dépression est une pathologie fréquente qui présente multiples expressions dont elle est souvent appelée troubles dépressifs, selon l'association psychiatrique américaine (*American Psychiatric Association*), les troubles dépressifs (unipolaires) font partie des troubles de l'humeur avec deux autres types de troubles (T. bipolaires et T non classés comme troubles unipolaires ou bipolaires). Cette maladie touche les femmes deux fois plus que les hommes avec une prévalence de 5% (**Descoins, 2017**).

Le diagnostic de la pathologie s'effectue par la présence de plus d'un épisode dépressif majeur ressenti au moins deux semaines successives avec un changement dans le comportement social de l'individu.

L'individu doit ressentir une humeur dépressive ou une anhédonie dont il ne voit pas le plaisir ou l'intérêt même des activités comme une personne saine, et quatre de ses symptômes : un changement d'appétit avec la perte ou la prise de poids significatif, des troubles de comportement avec ralentissement psychomoteur, des troubles du sommeil (insomnie ou hypersomnie), des troubles de la concentration, une perte d'énergie ou fatigue, des pensées noires (idée récurrente de mort ou tentative de suicide) ou une diminution de l'estime de soi (**Jaglin, 2013**).

4.2. Anxiété

L'anxiété ou troubles anxieux (TA) est une pathologie neurologique fréquente caractérisé psychologiquement par un changement de comportement et des sentiments envahissants de peur (**Clément et Nubukpo, 2008**), et physiologiquement par des palpitations du cœur, d'une faiblesse musculaire, tension, nausée, douleur thoracique lors d'une situation du stress, et elle dépend de facteurs génétiques et environnementaux.

Cette pathologie touche le genre féminin plus que le genre masculin dans les deux stades de vie (adolescents et adultes) (**Lewinsohn et al., 1998**), bien qu'une anxiété généralisée ou des troubles de panique puissent survenir à l'adolescence ou à l'âge adulte chez les enfants traumatisés.

En l'an 1895, *Freud* a donné une description précise de l'anxiété : «*l'inquiétude chronique, l'attaque d'angoisse, les équivalents physiques, les peurs illégitimes et sélectives que l'on appelle phobies, et les obsessions* » (**Freud, 1895**).

Selon l'association psychiatrique américaine (*American Psychiatric Association*) les troubles anxieux sont classés en: attaque de panique, agoraphobie, trouble panique avec/sans agoraphobie, anxiété généralisée, phobie sociale, trouble obsessionnel compulsif, état de stress post-traumatique, état de stress aigu, trouble anxieux induit par une substance (médicament ou substance toxique) et aussi en trouble anxieux non spécifié (**Jaglin, 2013**).

4.3. Autisme

L'autisme ou également appelé trouble du spectre de l'autisme (TSA) est un trouble du neuro-développement caractérisé par une diminution des interactions sociales et de la communication avec une survenue des comportements stéréotypés, répétitifs en général accompagné avec des troubles digestifs (**Descoins, 2017**).

Le taux de diagnostic de l'autisme a augmenté d'une façon remarquable au cours des dernières décennies, sa prévalence passe de deux à cinq dans 10 000 enfants à 1 dans 59 (un garçon sur 37 et une fille sur 151), et la prévalence chez le sexe masculin est quatre fois supérieure à celle du sexe féminin (**Marotta et al., 2020**), et il a été signalé que les cas de TSA ont un taux de 0,6 à 0,8% chez les enfants d'âge préscolaire, 1,0% chez enfants scolarisés et les jeunes adultes, et environ 1,0% chez les adultes (**Carmassi et al., 2019**).

Un intérêt accru s'est développé pour les formes légères de TSA ces dernières années, qui restent souvent non diagnostiquées ou diagnostiquées à tort jusqu'à l'âge adulte (**Carmassi *et al.*, 2019**).

4.4. Schizophrénie

La schizophrénie est une maladie psychiatrique caractérisée par l'incapacité de l'individu à comprendre sa maladie et ainsi que son état et sa prise en charge, par des difficultés de communication en évitant le contact dont le patient se repliant sur lui-même, une sévérité des manifestations cliniques y compris la rupture bouleversante avec la réalité. Cette pathologie souvent nécessite une surveillance permanente (**Petitjean *et al.*, 2008**).

Elle débute chez les individus jeunes entre 18 et 25 ans et touche les hommes plus que les femmes avec une prévalence de vie entière de 1%. La schizophrénie est répartie d'une façon homogène dans le monde et n'a aucune relation avec la géographie ou la culture (**Kocak et Fangère, 2018**).

Chapitre III

Relation microbiote-intestin- cerveau

1. Les différentes voies de communication entre le microbiote intestinal et le cerveau

Les molécules issues de la fermentation et les endotoxines d'origine bactériennes agissent sur le SNC par le biais de différentes voies (figure 02) : sanguine, nerveuse, immune et endocrine.

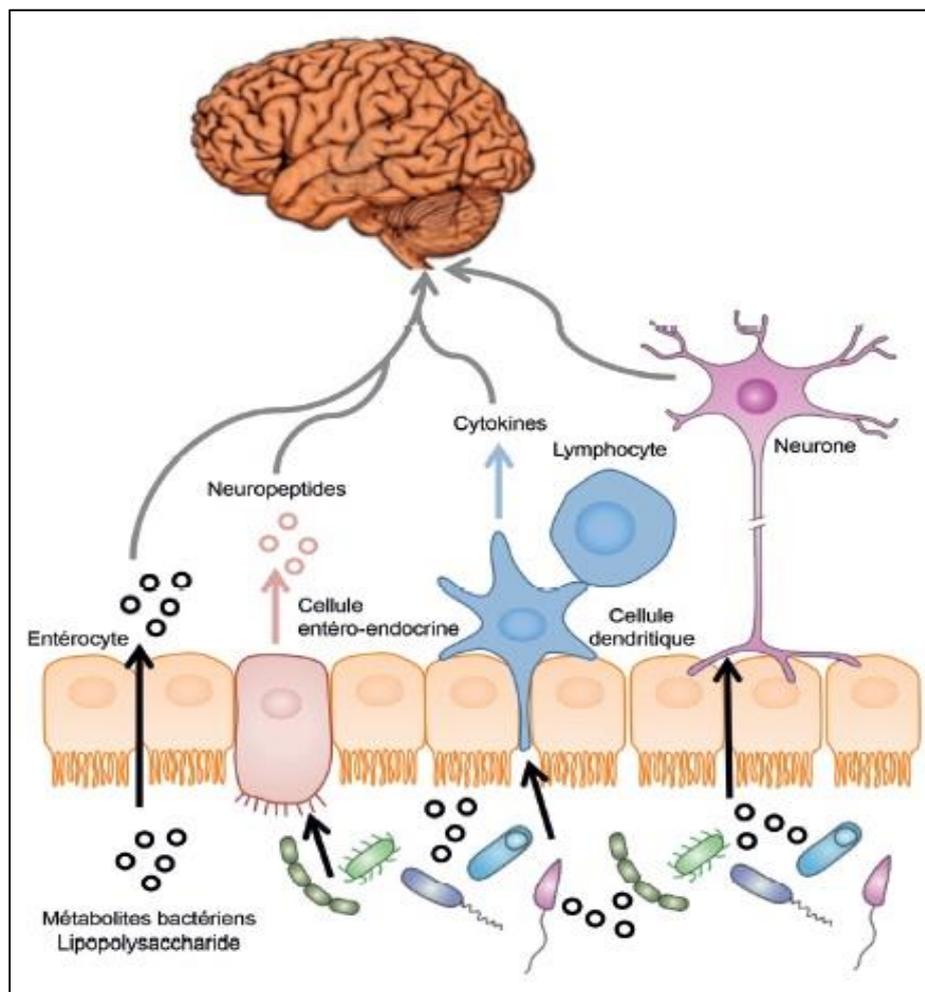


Figure 02 : les différentes voies de communications entre le microbiote intestinal et le cerveau (Rabot, 2015).

1.1. Voie sanguine

Les molécules libérées dans l'intestin (comme les produits de la fermentation et neurotransmetteurs ou les molécules constitutives de la paroi bactériennes LPS et flagelline) vont atteindre la circulation sanguine en utilisant les voies paracellulaires après absorption par les entérocytes elles vont traverser la barrière hémato-encéphalique, en entraînant des modifications dans le fonctionnement du SNC (Jaglin, 2013 ; Descoins, 2017).

1.2. Voie nerveuse

La voie nerveuse est possible pour les molécules constituant des bactéries (LPS et flagelline) plus que les molécules libérées (produits de la fermentation et neurotransmetteurs). En fait, les afférences du système nerveux entérique ont des récepteurs aux constituants des bactéries qui peuvent être activées ensuite par plusieurs molécules libérées en intégrant des messages viscéraux dans les voies cérébrales (**Jaglin, 2013 ; Descoins, 2017**).

1.3. Voie immune

La présence des molécules nocives bactériennes telles que l'ammoniaque, le phénol, l'indole, le sulfure et la hausse de la perméabilité de l'intestin permettent la stimulation des cellules immunitaires. La quantité des cytokines pro-inflammatoires augmente en vue de la modification attribuée à l'équilibre cytokinique, ces dernières vont influencer le cerveau par deux voies, soit la circulation systémique, soit, par un contact avec le SNE ou bien le tissu endocrine intestinal (**Jaglin, 2013 ; Descoins, 2017**).

1.4. Voie endocrine

La stimulation des cellules endocrines intestinales s'effectue par des substances issues du système immunitaire, et elles libèrent des neuropeptides qui agissent localement sur les afférences du SNE ou joindre le SNC utilisant la voie systémique. La sérotonine (5-HT) est un neuropeptide régulateur de l'inflammation intestinale synthétisé par les cellules entérochromaffines, bien que, d'autres cellules entéro-endocrines produisent des neuropeptides bioactifs tels que le glucagon-like peptide (GLP), le peptide pancréatique PYY et la cholécystokinine (CCK) (**Mazzoli et Pessione, 2016**).

2. Mode d'action du microbiote intestinal sur le SNC

Les molécules constitutives de la paroi bactérienne reconnues par le SNE, les cellules entéro-endocrines (CEE) et le système immunitaire et les molécules résultantes de la fermentation peuvent provoquer des modifications sur la physiologie de l'hôte.

2.1. Activation du système nerveux entérique

Le système nerveux entérique est lié d'une façon directe avec le SNC par le nerf vague, dont 80 % des fibres de ce dernier sont afférentes et émettent les informations au cerveau à

partir de l'intestin (**Bienenstock et al., 2010**). Bien que, ces neurones sont également considérés comme une voie d'action fondamentale du microbiote sur le cerveau.

Les bactéries peuvent activer le SNE directement lorsque les TLR (Toll-like receptors) présents sur la membrane des neurones afférents reconnaissent les LPS (lipo-polysaccharides) de la paroi bactérienne (**Raybould, 2010 ; Jaglin, 2013 ; Mao et al., 2013 ; Debré et Le Goll, 2014**), ou indirectement par des connexions neuro-endocrines à l'aide des cellules entéro-endocrines (CEE) qui ont des contacts pré-synaptiques en faisant remonter les sensations intestinal ressenti au SNC et des contacts post-synaptiques en faisant moduler la réponse par les neurones efférents, et par des connexions neuro-immunes à l'aide des lymphocytes qui produisent des composés neuroactifs comme l'histamine, la 5-HT, les prostaglandines et les cytokines et activent les afférences vagales. Aussi, il existe une communication dans les deux sens entre le système immunitaire et le système nerveux qui est suggéré par les récepteurs aux neuropeptides de la surface des mastocytes (les cellules présentent dans des muqueuses ou les tissus conjonctifs dont leur cytoplasme contient des granules de l'héparine, l'histamine et la sérotonine) (**Mazzoli et Pessione, 2016**).

Des études ont démontré les effets anxiolytique, antidépresseur et modulateur de l'expression des récepteurs GABA provient des probiotiques administrés à des rongeurs contrairement aux animaux vagotomisés ou les effets de ces derniers ne s'expriment pas (**Bercik et al., 2011; Bravo et al., 2011**). D'autres études suggèrent que l'espèce *Bifidobacterium longum* administré à des souris provoque une diminution dans leurs comportement de type anxieux et l'excitabilité des neurones sensoriels entériques (**Bercik et al., 2011; Khoshdel et al., 2013**).

D'après les expériences de Ma et al sur la douleur viscérale, ils ont trouvé que l'administration de l'espèce *Lactobacillus reuteri* a des rats provoque une inhibition de l'hyperexcitabilité des neurones des ganglions de la racine dorsale induite par la distension colorectale, et une augmentation de l'excitabilité des neurones intrinsèques sensoriels du colon (**Ma et al., 2009**). D'autre part, l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* entraîne l'excitabilité des neurones afférents entériques (**Mao et al., 2013**).

En outre, les études de Lyte et al en l'an 1998, Lyte et al en l'an 2006 ont montré qu'une infection par des bactéries entéropathogènes telles que *C. jejuni* ou *C. rodentium* chez les souris provoque une stimulation d'un comportement du type anxieux ce qui peut être expliqué par

l'activation du SNE et non pas par l'activation du SI en vue des taux de cytokines inflammatoires plasmatiques qui ne sont pas affectés par l'infection. Et une diminution du comportement du type anxieux ainsi que de l'excitabilité des neurones sensoriels entérique chez les souris après une administration de *Bifidobacterium longum* (Lyte *et al.*, 1998; Lyte *et al.*, 2006).

2.2. Effet des métabolites libérés par le microbiote

Les espèces bactériennes du microbiote intestinal libèrent des métabolites issus par voie fermentative dans la circulation sanguine. Une perturbation dans la biodiversité microbienne peut mener à une accumulation de ces molécules ce qui est considéré comme toxique pour le fonctionnement cérébral de l'hôte (Jaglin, 2013; Descoins, 2017). Parmi ces métabolites, on peut citer les amines bactériennes, l'acide lactique, les AGCC et l'indole :

- **Les amines bactériennes**

Le métabolisme bactérien des protéines donne plusieurs amines telles que la tyramine, l'histamine, la putrescine ou la cadavérine (dont les deux dernières sont proches structurellement) impliquées dans les maladies du SNC comme la maladie de Parkinson, l'épilepsie et la dépression. Dans une étude, des concentrations maximales de ces amines ont été trouvées chez les patients qui ont une hyperagressivité le jour de crise sauf pour l'histamine dont sa concentration augmente 3 jours après la crise (Gabastou *et al.*, 1996). Le même phénomène dans la concentration de la tyramine a été observé chez les patients souffrants d'une schizophrénie lors des crises d'hyperhostilité. En effet, ces données conduisent à penser à la relation entre l'augmentation des amines et la survenue de ces crises (Jaglin, 2013).

- **L'acide lactique**

L'acide lactique est un métabolite principalement produit par les espèces *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Un taux élevé de sa production peut causer des symptômes neurologiques tels que l'ataxie, la confusion, les troubles d'élocution, la somnolence, la léthargie et l'irritabilité (Descoins, 2017).

Une étude a montré la capacité de ce métabolite à traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE) et atteindre le liquide céphalo-rachidien (LCR) (Ewaschuk *et al.*, 2005). Ainsi que, d'autre étude chez le veau et le rat ont montré la corrélation entre le taux de l'acide

lactique présent dans la circulation sanguine et une atypie comportementale avec une perturbation de la mémoire (**Lorenz, 2004**).

- **Les Acides gras à chaîne courte**

Les acides gras à chaînes courtes jouent un rôle important dans le processus de la digestion, ils apportent l'énergie aux cellules intestinales et activent la sécrétion de neuropeptides au niveau de l'intestin. Parmi les principaux AGCC, l'acétate, le propionate et le butyrate issus de la fermentation des fibres par les bactéries. Ils sont également capables d'influencer le processus de mémoire et d'apprentissage et possèdent des propriétés anti-inflammatoires (**Descoins, 2017**).

Les GPCR41 et GPCR43 (une paire de récepteurs couplés aux protéines G exprimées dans les adipocytes humaine, les cellules épithéliales du colon et les cellules mononucléaires du sang périphérique) sont activés par les AGCC (acétate, propionate et butyrate), cette spécificité est l'intermédiaire entre l'hôte humain et le microbiote intestinal (**Ang et Ding, 2016**).

Le neuropeptide Y (NPY) est un neuropeptide digestif sécrété par les CEE (cellules entéro-endocrines) après l'activation par la liaison de GPCR41 avec les AGCC, qui a des propriétés anxiolytiques et représente un messager essentiel dans la transduction du signal contractile et dans la sécrétion digestive.

D'autre part, le propionate active un récepteur qui permet de libérer le 5-HT qui active à son tour le récepteur 5-HT4 sur la terminaison nerveuse afférente, voie de réflexe entérique péristaltique (**Guarino et al., 2016 ; Mazzoli et Pessione, 2016**).

- **L'indole**

Un nombre important des bactéries à Gram négatif et quelques Gram positifs tels que les espèces commensales *Bacteroides* et *Escherichia*, les espèces pathogènes *Vibrio*, *Haemophilus*, *Pasteurella*, *Klebsiella*, *Shigella* et *Proteus* qui ont la capacité de produire l'indole à partir du tryptophane. Une production fréquente et en grande quantité de ce métabolite stimule des comportements du type anxieux et dépressif. L'indole est une petite molécule hydrophobe qui traverse facilement les membranes de tissu épithélial et qui forme des composés oxydés après différentes réactions par des enzymes du métabolisme des xénobiotiques. Parmi les composés oxydés, l'isatine qui possède des propriétés neuroactives et

impliqué dans la physiopathologie des maladies du SNC en s'accumulant dans le cerveau (Descoins, 2017).

2.3. Microbiote et modulation du système immunitaire

De nombreuses études ont démontré la capacité des bactéries à déclencher la production de cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL-6 et TNF- α . Ces derniers agissent sur le SNC par différents moyens, par une activation des afférences du nerf vague, par une diffusion simple dans les organes circum-ventriculaires comme l'area postrema (ou également appelé aire du vomissement) car cette zone ne possède pas une barrière hémato-encéphalique (BHE), par le médiateur de transporteurs localisés sur la BHE, ou par l'activation des récepteurs situés sur des macrophages périvasculaires et sur les cellules endothéliales cérébrales, ce qui conduit à la production prostaglandines (Dantzer *et al.*, 2008). Les cytokines pro-inflammatoires sont impliquées dans plusieurs maladies issues du dysfonctionnement de SNC notamment la dépression (Jaglin, 2013 ; Descoins, 2017).

Partie Pratique

Chapitre I

Matériel et Méthodes

1. Durée et lieu de stage

Notre travail expérimental relatif à ce mémoire a été effectué durant une période de quinze jours au niveau du laboratoire de Recherche en Génie Biologique des Cancers de la faculté de Médecine, Université Abderrahmane Mira Béjaia sous la direction de Pr. Tliba.

2. Population étudiée

L'étude est effectuée sur une population de patients atteints du dysfonctionnement neurologique du service psychologique et une population de personnes saines. Chacun des patients est accompagné avec une fiche technique bien détaillée qui comporte l'ensemble des informations techniques : code du patient, âge, sexe, régime alimentaire, cause d'hospitalisation, cas psychologique, antécédent clinique telle que la prise d'antibiotique, la prise d'anti-inflammatoire ou autres molécules, le traitement en citant le type et la classe de la molécule, la posologie et la durée, y compris le lieu d'habitation, le domaine de fonction (Annexe 01). D'autre part, un formulaire de consentement est signé par chaque patient et le médecin investigateur qui le suit en assurant l'avis favorable et l'anonymat des patients pour accéder à l'étape d'échantillonnage (Annexe 02) (Wu *et al.*, 2018).

3. Echantillonnage

Les échantillons sont récupérés au moment des toilettes matinaux des patients. Dans toute discrétion les échantillons sont recueillis dans des pots de coprocultures. Après avoir mentionné la date et le lieu de la récolte, les échantillons sont conservés à 4°C jusqu'au moment d'effectuer une analyse microbiologique. Une quantité de 200 µg de chaque échantillon est conservé dans des cryotubes à -20°C après homogénéisation pour une éventuelle utilisation à long terme (Wu *et al.*, 2018) .

4. Etude de la qualité des excréments

4.1. Etude macroscopique

L'aspect macroscopique doit être effectué dès la réception des selles fraîches. En notant différents caractères à savoir : la texture, la couleur, présence de parasites, résidus alimentaires et autres (Ammhaouch, 2017).

- **La texture**

Ce teste nous permet de visualiser si les selles sont solides (cas de constipation), semi-solide ou normal (pas de constipation ou diarrhée) ou liquide (cas de diarrhée).

- **La couleur**

La couleur normale des selles est marron et parfois on constate un changement de couleur de ces derniers selon le cas (constipation ou diarrhée) donc la couleur peut être noir, marron foncé, marron clair ou jaune.

- **Présence parasitaire**

Cette observation nous permet de visualiser les parasites visibles à l'œil nus tels que les helminthes.

- **Résidus alimentaire**

La visualisation des résidus alimentaires (fibres, grains...). Nous permet d'estimer l'état du transit digestif chez nos patients.

- **Autres**

D'autres caractères tels que le sang ou les glaires intestinales, peuvent nous renseigner sur l'état du transite intestinale et du tube digestif du patient.

5. Etude microscopique de la flore bactérienne

5.1. L'observation à l'état frais

Une goutte de l'eau physiologique est mise sur une lame stérile à l'aide d'une seringue puis, avec une anse de platine, on ajoute une très faible quantité de l'échantillon à observer en réalisant des mouvements circulaires jusqu'à l'obtention d'une goutte bien homogène et sans débris. Après la mise de la lamelle l'observation se fait sous microscope optique au G x40. Cette observation permet de mettre en évidence la mobilité et la forme des microorganismes présents. En ajoutant une goutte de lugol à l'échantillon, on peut également observer les kystes de protozoaires, les amibes et les flagellés en colorant les noyaux en noir (**Ammhaouch, 2017**).

5.2. Coloration de Gram

Pour la préparation du frottis, on suit les mêmes étapes de la préparation de la lame et le mélange de l'observation à l'état frais sans ajouter la lamelle. On fait passer la lame sur le Bec Benzène quelquefois dans le but de sécher en évitant de bruler la goutte. La coloration comprend quatre principales étapes. Comme première étape, coloration du contenu des bactéries en violet en utilisant le violet de Gentiane puis fixation de la coloration par le lugol.

Deuxièmement, le cytoplasme des bactéries ayant une paroi fine de peptidoglycane est décoloré à l'aide de l'alcool pour éliminer le violet. La troisième et dernière étape est la contre-coloration par la fuchsine ou la safranine qui teint en rose les bactéries précédemment décolorées. Observation au microscope optique au G x100 après l'ajout d'une goutte de l'huile à immersion (Balédent, 1997).

6. Mise en culture des cellules du microbiote intestinal

6.1. Préparation de la solution mère et la série des dilutions

Dans des conditions d'asepsie, on procède à la préparation de la solution mère et la série des dilutions. A partir de la boîte de coproculture on prépare une solution de départ dite solution mère. Une quantité de 1g de selles est remise en suspension dans 10 ml d'eau physiologique. A partir de la solution mère on prépare une dilution de 10^{-1} . Un volume de 1 ml est remis en suspension dans un volume de 9 ml. Et à partir de cette dilution de 10^{-1} suivant la démarche précédente on peut préparer une autre série de dilutions à savoir 10^{-2} et 10^{-3} .

6.2. Ensemencement et dénombrement

A partir des dilutions 10^{-2} et 10^{-3} , on prend un inoculum de 0,1 ml et on procède à des ensemencements par la méthode d'inondation sur milieu LB gélosé (composition voir annexe 03). Le volume de la dilution est étalé à l'aide d'un râteau. Les boîtes sont incubées pendant une nuit à 37°C. La présence des colonies (UFC) diffère d'un échantillon à un autre. Le dénombrement se fait sur les boîtes selon la charge de la boîte ayant un nombre de colonies entre 30 et 300 après l'incubation.

6.3. Isolement et purification

Les souches sont sélectionnées selon leurs aspects macroscopiques (la forme, l'élévation, la taille, la chromogénèse, l'opacité, la consistance et l'aspect de la surface) sur les boîtes de dénombrement. Après la sélection, chaque souche est ensemencée en cadrans sur une autre boîte gélosée. Les boîtes des souches isolées sont incubées à une température de 37°C pendant 24 h. La purification sera élaborée suivant un repiquage répété sur un milieu gélosé sélectif pour les Gram négative (Mac Conkey, Hektoen) et les Gram positive (MRS, Chapman) et pour les souches exigeantes (Gélose au sang, Gélose au chocolat). Il est important de signaler qu'on peut faire l'ensemencement et l'incubation suivant deux séries pour respecter l'anaérobiose et l'aérobiose. Les souches nouvellement purifiées sont mises dans du glycérol et conservées à -20°C.

7. Identification des souches bactériennes de la flore intestinale

L'identification phénotypique des souches isolées sera élaborée suivant des méthodes classiques (identification macroscopique, microscopique et biochimiques), ou bien suivant la méthode de MALDI-TOF SM (*Matrix Assisted Laser Desorption And Ionisation –Time Of Flight- Spectrophotometry of Masse*). Ainsi qu'on peut également élaboré une identification moléculaire suivant des PCR (*Polymorphism Chain Reaction*) (Djenadi *et al.*, 2019).

7.1. Méthodes classiques

L'identification des souches s'effectue en s'appuyant sur les caractères morphologiques et culturaux et sur les caractères biochimiques. Le diagnostic bactériologique est réalisé en plusieurs différentes étapes :

7.1.1. Appréciation macroscopique

Cette appréciation permet une identification approximative des souches selon leurs aspects macroscopiques déjà cités dans l'étape de l'isolement et purification de plus de leur odeur vue que la souche est purifiée et il n'y aura pas un mélange avec l'odeur d'autres souches.

7.1.2. Observation microscopique

- **L'état frais**

Une parcelle de colonie est prélevée par l'ance en platine et ajoutée à une goutte de l'eau physiologique entre lame et lamelle stérile et observée sous microscope optique avec un grossissement x40 pour apprécier la mobilité ou l'immobilité de la souche, la morphologie et le mode de regroupement.

- **Coloration de Gram**

Après la réalisation des étapes de la coloration, les lames sont observées au microscope optique (G x100) avec de l'huile à immersion en identifiant le type de Gram (positive ou négative) et aussi la forme, la taille et les associations.

7.1.3. Identification biochimique

Les caractères biochimiques sont identifiés par l'utilisation des galeries biochimiques y compris d'autres tests biochimiques complémentaires comme le test de catalase :

- **Test de catalase**

Cette réaction permet la différenciation entre les cocci à Gram positif. Elle est caractérisée par un dégagement gazeux résultant de la décomposition de l'eau oxygénée. Une colonie bactérienne est prélevée avec une pipette pasteur fermée puis déposer dans une goutte

du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (eau oxygénée) préalablement déposée sur une lame stérile (Kouadri Boudjelthia, 2014).

- **La Galerie de tests biochimiques miniaturisés**

Les galeries de tests biochimiques miniaturisés sont une série de petits tubes (tubules) dont chaque tube correspond à un test biochimique spécifique. L'extrémité supérieure de chaque tubule est ouverte par une cupule et les tubes contiennent un substrat déshydraté (avec présence d'indicateurs colorés pour la lecture des tests positifs et négatifs avec lequel les micro-organismes réagissent différemment. Il existe plusieurs types de galeries biochimiques (**Site 03**)

Les étapes de cette technique d'identification sont :

- ✓ Préparation de la suspension bactérienne : 5 ml d'eau physiologique sont versé dans un tube a essai stérile, ensuite, avec une pipette pasteur, une colonie bien isolée sur milieu gélosé est prélevée et ajoutée à l'eau physiologique avec homogénéisation.
- ✓ Les suspensions bactériennes préparées sont versées dans les tubules pour certains tests, et dans les cupules des tubes dans d'autres (selon le substrat). Pour les tests en anaérobiose, les cupules sont remplies par l'huile de paraffine après le remplissage des tubules par la suspension bactérienne pour créer un milieu anaérobic.
- ✓ La lecture des résultats est réalisée après incubation de 24h dans une température adaptée en notant si la réaction est positive ou négative séparément pour chaque test par le changement de couleur due à l'indicateur coloré présent dans le substrat.
- ✓ L'interprétation des résultats se fait à l'aide d'un tableau des caractères spécifique pour chaque type de galeries.

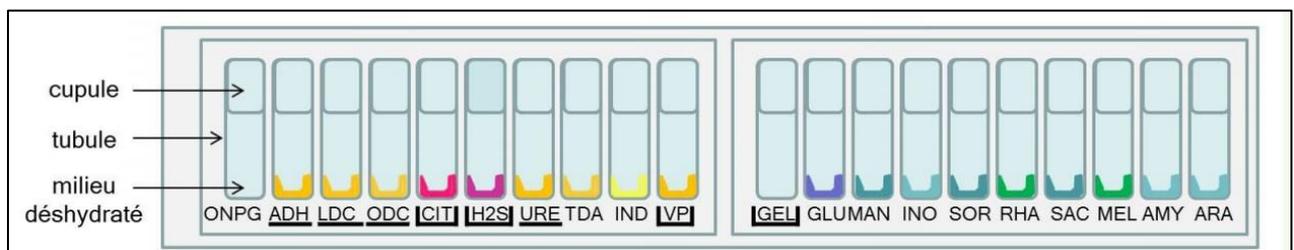


Figure 03 : la Galerie de tests biochimiques miniaturisés (**Site 03**).

7.2. Méthodes moléculaires :

7.2.1. Identification avec la méthode MALDI-TOF-SM

L'identification des souches isolées peut se faire avec la méthode de MALDI-TOF-SM (*Matrix Assisted Laser Desorption And Ionisation –Time Of Flight- Spectrophotometry Of Masse*). Les souches sont déposées sur les cibles puis co-cristallisées à l'aide de 0,5 µl de matrice constituées d'une solution saturée d'acide alpha-cyano-4-hydroxyciannamique contenant 50% d'acétonitrile et 2,5% d'acide trifluoroacétique. Une procédure d'extraction des protéines bactérienne est réalisée. Elle consiste à dissocier une colonie dans 20 µl d'acide formique à 25%. Par la suite 1 µl de la suspension est alors déposé dans un puit. Après séchage, 1 µl de matrice est additionné. Les dépôts sont effectués sur des plaques comprenant 44 puits dont deux sont réservés au dépôt de la souche de référence. Après une saisie du plan de plaque à l'aide du logiciel SIR WEB MALDI TOF, les souches sont analysées à l'aide du SM AXIMA assurance. Après 500 tirs laser ; les ions chargés positivement sont extraits puis accélérés dans un champ électromagnétique (20 Kv en mode linéaire). Le spectre généré est analysé sur un intervalle de 2000-20000 masse/charge (m/z). Puis comparé à ceux présents dans la base des données spectrale *Saramis* version 2009 (Dauwalder *et al.*, 2010).

7.2.2. Identification moléculaire par PCR de l'ARN 16S

Les souches bactériennes sont identifiées par une technique d'amplification PCR (*Polymorphism Chain Reaction*). Le mélange pour la PCR avait un volume finale de 100 µl avec 0,1 µM d'amorces (spécifique pour chaque souche), 200 µM de chaque nucléotides, 2,5 U de Taq polymérase dans 1 volume de tampon d'amplification (10 mM HCL- Tris PH8/ 3, 50 mM KCL/ 1,5 mM MgCl₂). L'amplification de l'ARN 16S est réalisée dans le thermocycleur suivant un cycle correspondant à l'amorce utilisée. Les produits de PCR vont être séquencés puis analysés avec les données de *Genbank* pour déterminer le genre et l'espèce bactérienne (Djenadi *et al.*, 2018).

Chapitre II

Résultats et Discussion

1. Caractéristiques de la population étudiée

Durant la période de stage de 15 jours, 04 échantillons sont recueillis dont 03 échantillons des personnes atteints du dysfonctionnement psychologique ont été collectés à partir du service psychiatrique du CHU Frantz Fanon de Béjaia et 01 échantillon d'une personne saine.

2. Les points principaux de l'examen macroscopique

L'examen macroscopique sous la lumière des échantillons de selles fraîches recueillis a démontré une différence entre la texture et la couleur, une présence des résidus alimentaires, une absence de formes parasitaires adultes visibles à l'œil nu ainsi qu'une absence totale de sang, du pus ou des glaires dans les différents échantillons (Tableau II) (Ammhaouch, 2017).

Tableau II : Résultats obtenues de l'observation microscopique des échantillons recueillis.

Code Echantillon	Texture			Couleur			Présence de Parasites adultes		Résidus Alimentaires		Autres
	Solide	Semi. S	Liquide	Sombre	Normal	Clair	Oui	Non	Oui	Non	
EPS1	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	Absence du sang, pus ou glaires
EPM1	+	-	-	-	+	-	-	+	++	-	Absence du sang, pus ou glaires
EPM2	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	Absence du sang, pus ou glaires
EPM3	++	-	-	++	-	-	-	+	+++	-	Absence du sang, pus ou glaires

D'après le tableau II, on note une texture et couleur normale des selles de l'échantillon EPS1 du sujet sain par rapport aux sujets hospitalisés. On note une texture solide pour l'EPM et l'EPM2 avec une couleur normale et une texture très solide et une couleur très sombre, ainsi qu'une présence massive des débris alimentaires pour l'EPM3. Ceci nous donne une vue préliminaire sur l'état du transit intestinal et le processus de la dégradation des aliments chez les patients.

Cependant que cette variation de la consistance et la couleur des selles chez les individus est expliquées par plusieurs facteurs tels que l'alimentation, la prise de médicaments, l'accélération du transit, le changement de mode de vie et aussi la présence d'un ou plusieurs agents pathogènes (bactéries ou champignon), ou des parasites intestinaux (**Site 04**).

3. Les points principaux de l'observation microscopique

3.1. Résultats de l'examen à l'état frais

Nos résultats montrent une absence de la mobilité des microorganismes présents dans les échantillons observés, une absence de toutes formes des leucocytes fécaux, des oocytes, des larves, des coccidies ou spores et une présence de certains débris d'origine alimentaire (tableau III) chez le témoin et les patients du service psychiatrique, sauf pour l'échantillon EPM1, on note une présence de certaines formes segmentés et non segmentés dites éléments non parasitaires (Figure 04).

Tableau III : résultats de l'examen à l'état frais des échantillons.

Code Echantillon	Mobilité	Leucocytes fécaux	Formes parasitaires (végétative, kyste, œuf et larve)	Débris	Autres
EPS1	-	-	-	+	/
EPM1	-	-	-	+	/
EPM2	-	-	-	+	/
EPM3	-	-	-	+	/



Figure 04 : les éléments non parasitaires observés dans l'examen à l'état frais de l'échantillon EPM1.

3.2. Répartition des souches selon la coloration de Gram

Une différence significative de la charge et la diversité microbienne a été observée après la coloration du Gram entre l'échantillon EPS1 de la personne saine et les échantillons EPM1, EPM2 et EPM3 des personnes atteintes du dysfonctionnement psychologique (Figure 05).

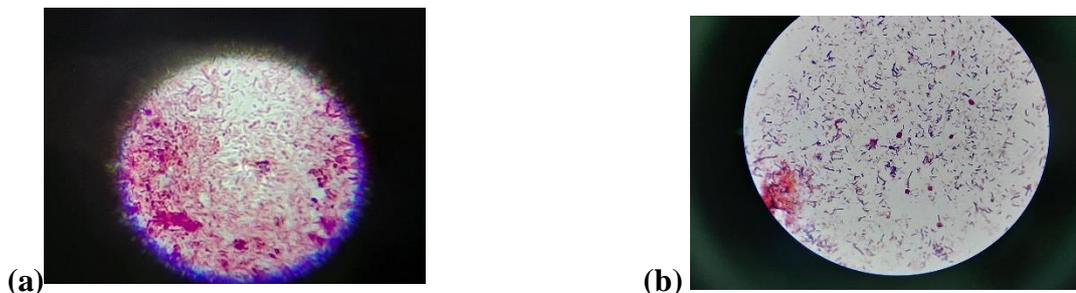


Figure 05 : La différence dans la charge microbienne entre l'échantillon d'une personne saine (a) et une personne malade (b) après coloration du Gram.

La coloration de Gram nous a permis de quantifier les espèces bactériennes à Gram positif et négatifs présents dans les échantillons selon leur forme et mode d'arrangement. Les résultats sont organisés dans le tableau IV :

Tableau IV : Les différentes espèces bactériennes selon le type de Gram, la forme et le mode d'arrangement présentes dans les échantillons.

Type de Gram	Forme et Mode d'arrangement	Code Echantillon			
		EPS1	EPM1	EPM2	EPM3
Gram Positif	Diplocoques	+	+	+	+
	Cocci en chainettes	+	+	+	+
	Cocci en chainette ramifiées	-	-	+	+
	Cocci en amas	+	-	-	-
	Coccobacilles	-	-	-	-
	Bacilles	+	-	-	-
	Bacilles en chainettes	+	-	-	-
Gram Négatif	Diplocoques	+	+	+	-
	Cocci en chainettes	+	+	+	+
	Coccobacilles	+	-	-	-
	Bacilles	+	-	-	-
	Bacilles en chainettes	+	-	-	-

Chez le sujet sain, on observe la présence d'une diversité équilibrée entre les espèces par rapport au type Gram, la forme et le mode de regroupement contrairement aux échantillons des patients, dont la diversité est réduite et une absence totale des formes bacilles avec différents modes de regroupement.

4. Résultats de l'ensemencement à partir de la solution mère

Les résultats obtenus après incubation à 37° pendant 24h des boîtes ensemencées en strie sur le milieu LB à partir des solutions mères préparées sont présentés dans les quatre parties de la figure 06 :

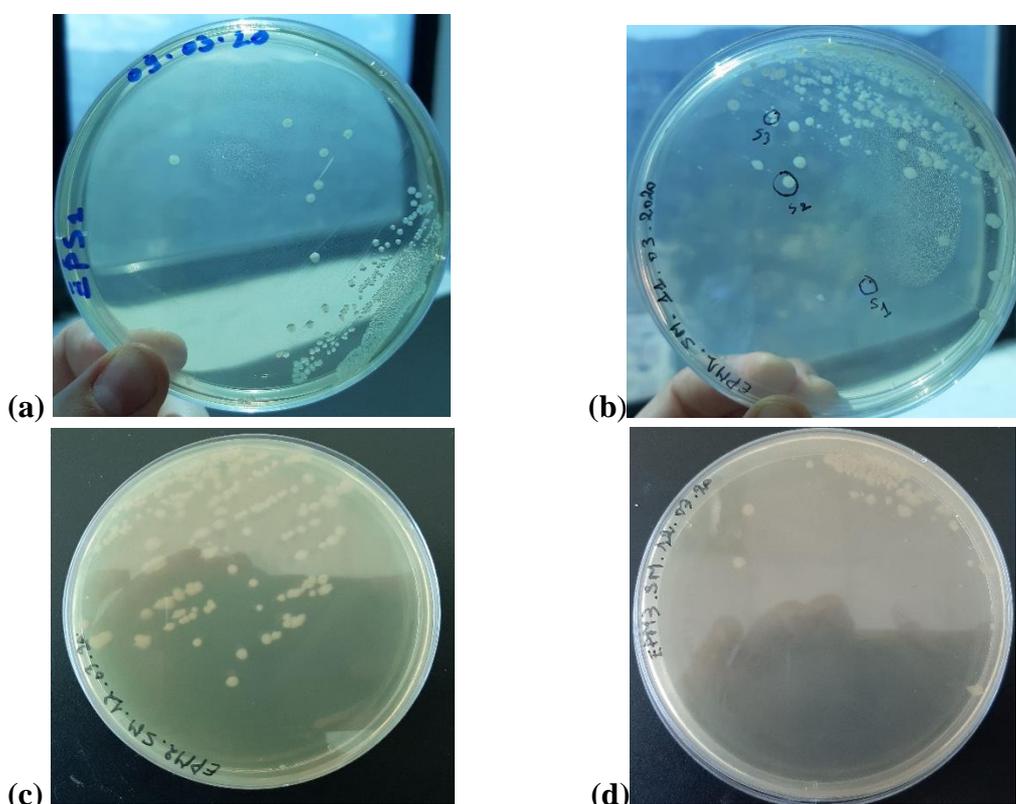


Figure 06 : Résultats après incubation de l'ensemencement en strie sur milieu LB à partir des solutions mères dont (a) EPS1, (b) EPM1, (c) EPM2 et (d) EPM3.

Ces résultats révèlent une différence remarquable dans l'aspect morphologique des colonies entre les quatre échantillons observés. Pour l'échantillon EPS1, on a trouvé des colonies de petite taille et très proches entre eux et d'autres avec une taille et un écart moyen. En outre, pour les échantillons EPM1, EPM2 et EPM3, certaines colonies de petite taille proche ou éloignée et un nombre important de grandes colonies avec un écart moyen ou éloigné ont été observées. Ce qui confirme les résultats de la coloration de Gram sur la différence de la diversité

bactérienne entre le témoin et les patients atteints d'un dysfonctionnement neurologique présentés dans le tableau IV.

5. Résultats de l'ensemencement à partir des dilutions

Les résultats obtenus après l'incubation des boîtes ensemencées par râteau sur gélose LB à partir des dilutions 10^{-2} et 10^{-3} montrent une différence de la charge microbienne (UFC) d'un échantillon à l'autre. Cette différence est présentée dans les figures (07, 08, 09 et 10) :

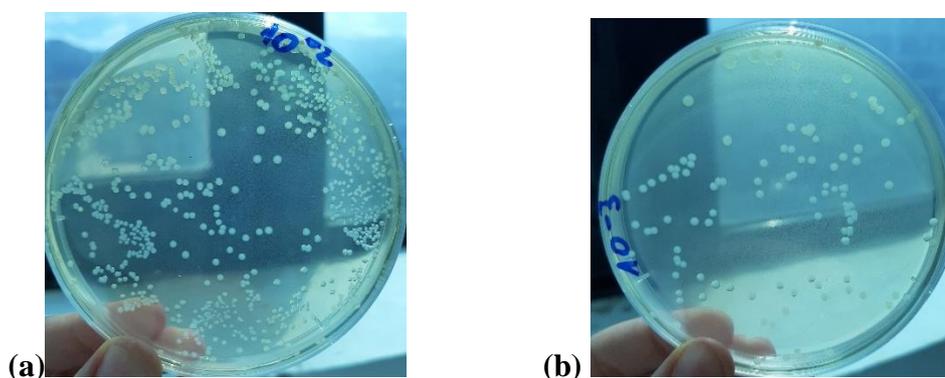


Figure 07 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPS1 après incubation.

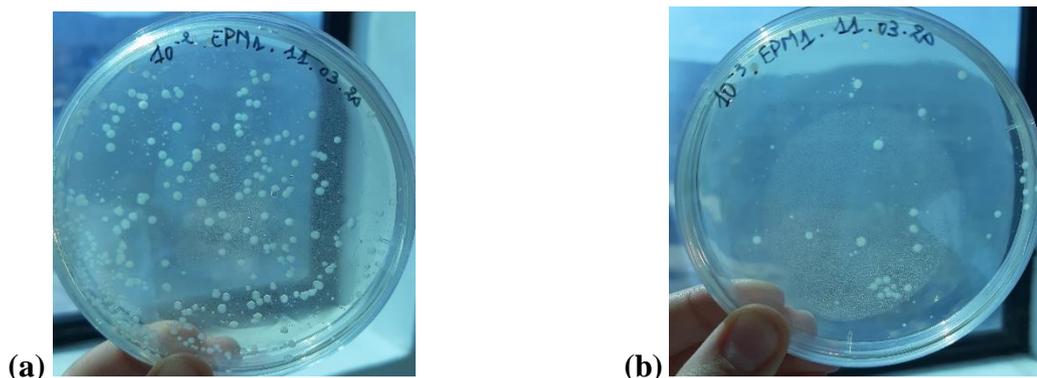


Figure 08 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPM1 après incubation.

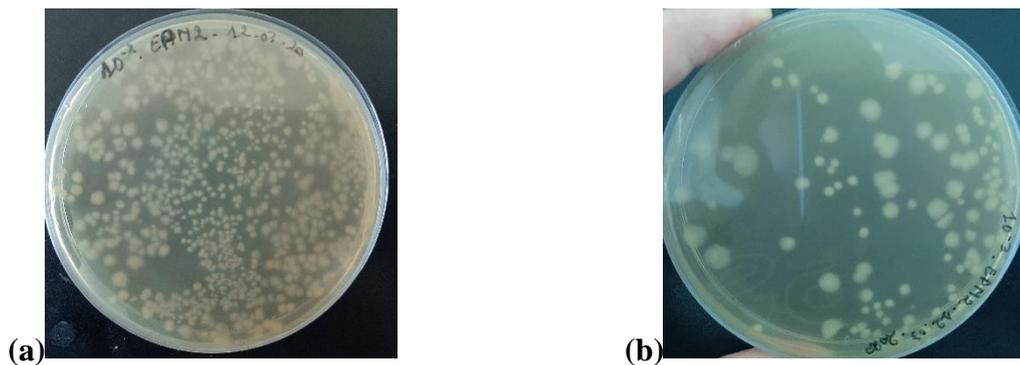


Figure 09 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPM2 après incubation.

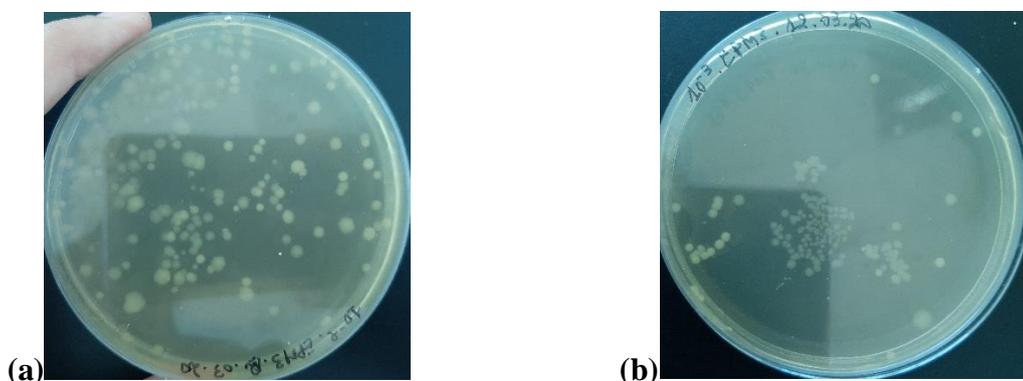


Figure 10 : Résultats de l'ensemencement par râteau de 0,1ml des dilutions 10^{-2} (a) et 10^{-3} (b) sur gélose LB de l'échantillon EPM3 après incubation.

D'après les quatre figures (07, 08, 09 et 10) de l'ensemencement par râteau des dilutions, on confirme la différence macromorphologique des colonies des échantillons observée dans les boîtes ensemencées à partir des solutions mères (figure 06). De même, la différence de la diversité entre le témoin et les patients.

6. Identification et isolement des souches

6.1. Sélection des souches

Des souches ont été identifiées et sélectionnées sur les boîtes ensemencées en strie sur gélose LB à partir des solutions mères des échantillons EPS1 et EPM1 selon l'aspect, la forme et la taille de leurs colonies (Figure 11).

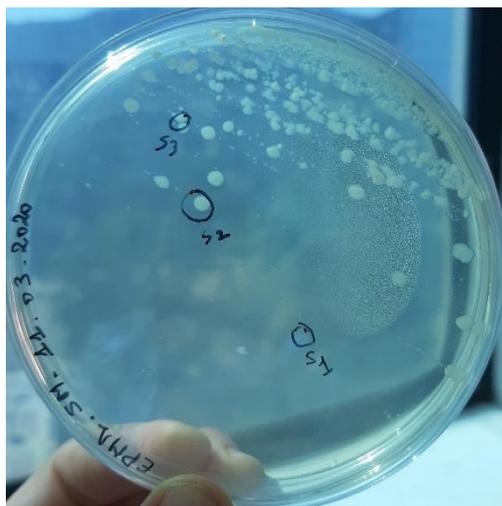


Figure 11 : Sélection des souches à partir des boîtes ensemencées en strie.

6.2. Résultats de l'isolement et la purification des souches sélectionnées

Chaque souche sélectionnée sur boîte a été isolée sur une autre boîte de gélose LB par ensemencement en cadrans dans le but d'avoir des souches pures. Les résultats obtenus après incubation pour chaque échantillon sont présentés dans les parties A et B de la figure 12, et les souches isolées n'ont pas été identifiées par les méthodes d'identification citées dans le premier chapitre à cause des conditions expliqués dans l'introduction de notre travail.

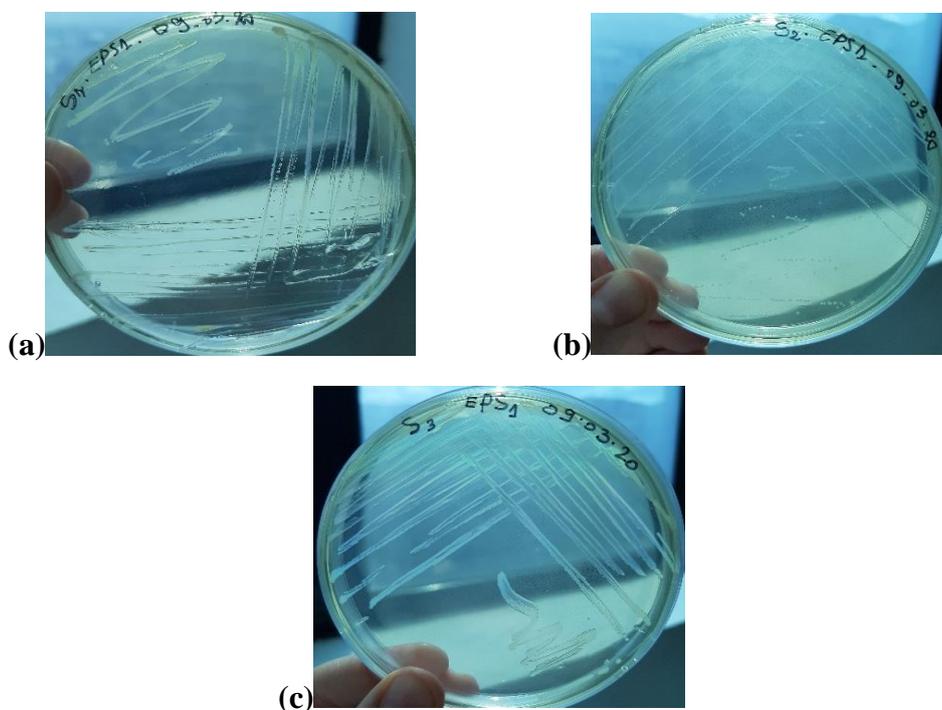


Figure 12A : Résultats de l'isolement des souches sélectionnées par ensemencement en cadrans sur gélose LB de l'échantillon EPS1 (a) souche 01, (b) souche 02, (c) souche 03.

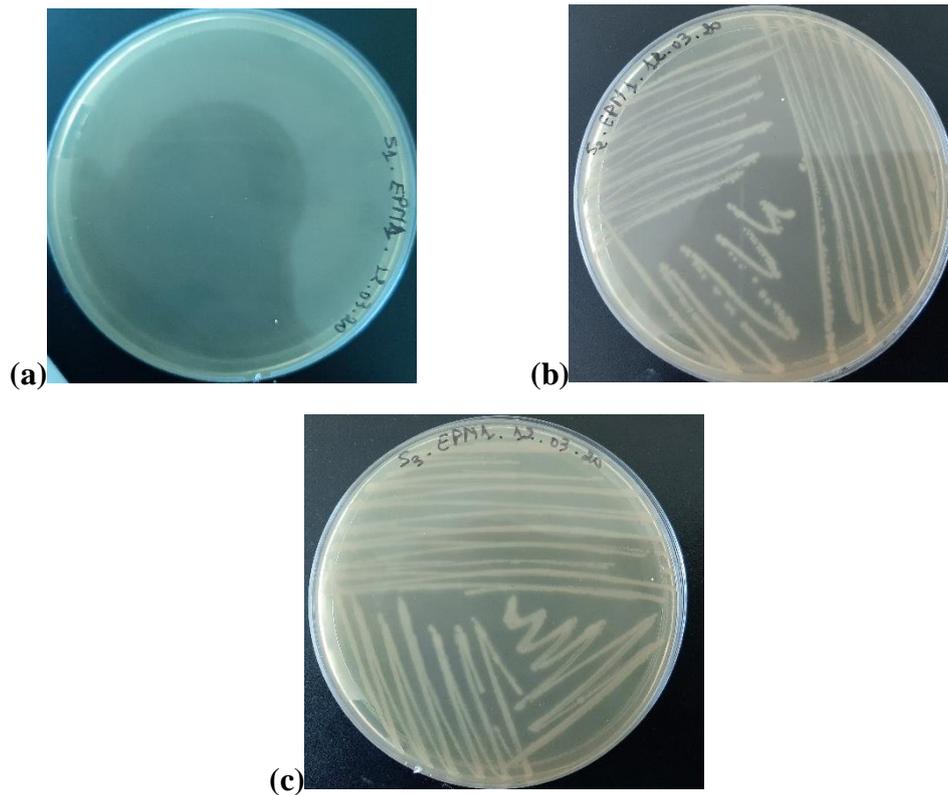


Figure 12B : Résultats de l'isolement des souches sélectionnées par ensemencement en cadrans sur gélose LB de l'échantillon EPM1 (a) souche 01, (b) souche 02, (c) souche 03.

Les souches isolées présentées dans la partie A de la figure 12 appartiennent à notre témoin sain et celles de la partie B appartiennent au patient atteint d'un dysfonctionnement neurologique hospitalisé au niveau du service psychiatrique du CHU. En comparant ces résultats, on note la différence de l'aspect morphologique des souches entre les deux individus ce qui confirme les résultats obtenus précédemment par l'observation microscopique et microscopique après l'ensemencement.

Discussion Générale :

Nombreuses sont les investigations élaborées sur la composition du microbiote intestinal et son influence sur le système nerveux. Des études élaborées sur des échantillons d'excrément ont donné une estimation de 2776 espèces isolées, affiliés à 11 différents phyla à savoir : *Protéobactéries*, *Firmicutes*, *Actinobactéries*, et *Bacteroidetes* avec une grande proportion, et *Fusobacteria* et *Verrucomicrobia* avec une faible proportion (**Rea et al., 2020**). La notation d'une dysbiose chez les patients du service psychiatrique signifie une dominance d'un ou de quelques microbes nocifs. Au côté des bactéries probiotiques à savoir : *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, d'autres espèces sont définies comme des bactéries bénéfiques pour l'hôte telle que *Eubacterium*, *Roseburia* et *Faecalibacterium* (**Karl et al., 2018**)

Les analyses des séquences de la microflore intestinale révèlent une importante diversité chez les personnes qui sont très sociales et ont une interaction positive avec les personnes, ce qui nous laisse la possibilité de confirmer notre hypothèse que l'environnement et les relations sociales peuvent contribuer à la modélisation de la microflore intestinale de l'humain. Cependant, chez des personnes souffrant de l'anxiété et le stress, l'un des dysfonctionnements psychologique de l'humain présente une diversité réduite et une modification de la microflore intestinale (**Rea et al., 2020 ; Johnson, 2020**). Au côté des facteurs environnementaux et sociaux, l'alimentation et l'âge peuvent contribuer dans la modélisation de la diversité du microbiote intestinal, ce qui peut influencer l'état psychiatrique des personnes (**Rea et al., 2020**).

Une pré-étude de la diversité bactérienne dans l'intestin humain est menée au niveau du CHU Frantz Fanon de Béjaia, Algérie nous a permis de confirmer que la diversité microbienne diffère entre un sujet sain et un autre atteint d'un dysfonctionnement du système nerveux central. Dans cette étude trois patients souffrants d'un dysfonctionnement psychologique principalement schizophrène, ont été sélectionnés pour effectuer un échantillonnage de selles et un sujet sain a été choisi comme témoin négatif. Les analyses macroscopiques nous révèlent une absence d'anomalie dans le transit digestif de nos patients (Tableau II). Et l'observation des échantillons à l'état frais, nous révèle une absence de la mobilité des microorganismes, une absence de toutes formes des leucocytes fécaux, des oocytes, des larves, des coccidies ou spores chez tous les échantillons (Tableau III) à l'exception de l'échantillon de patients (EPM1), on a noté une présence de certaines formes segmentés et non segmentés dites éléments non parasitaires et une présence de certains débris d'origine alimentaire (Figure 04). L'absence des

leucocytes fécaux révèle que les donneurs des échantillons n'ont pas une inflammation dans le tube digestif dont cette dernière peut être causée par une infection à microorganismes invasifs tels que *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* et *Campylobacter* (**Site 05**).

Les éléments non parasitaires observés dans l'examen à l'état frais de l'échantillon EPM1 correspondent aux résidus alimentaires de différentes natures comme les cristaux de monocotylédones raphides des oignons et certains fruits, les oxalates de calcium et les fibres musculaires bien ou mal digérées ce qui était bien expliqué dans les résultats de Ammhaouch (**Ammhaouch, 2017**).

D'après les observations des lames de colorations de Gram (Figure 05) on a constaté la présence d'une diversité microbienne significative dans l'échantillon EPS1 de la personne saine contrairement au reste des échantillons des personnes malades hospitalisés au niveau du service psychiatrique CHU Frantz Fanon de Béjaïa dont les formes coccobacilles et bacilles avec différents modes d'arrangement sont absents (Tableau IV). En plus de la différence de localisation environnemental et l'âge entre nos sujets malades (Entre 30-40 ans) et sain (la vingtaine). Il est important aussi de signaler que notre sujet sain exerce ses activités intellectuelles le plus normalement à la différence de nos patients qui sont affaiblis avec les psychotropes. Selon Cotillard *et al* cette différence peut être expliquée par un ensemble de facteurs qui influencent sur la charge et la diversité microbienne entre les individus dont, l'individu lui-même, son environnement et état physiologique (**Cotillard et al., 2013**).

Les boîtes ensemencées en strie sur le milieu non sélectif (Lauria Bertani) à partir des solutions mères sont présentés dans les quatre parties de la figure 06 et Les souches purifiées à partir des boîtes mères sur une gélose non sélective (Lauria Bertani) nous révèlent une diversité microbienne du microbiote chez le sujet sain en comparaison avec les sujets malades (Figure 12A et 12B). Le microbiote intestinal a des effets importants sur le cerveau et le système nerveux Il influence sur le stress, l'anxiété, les symptômes de dépression et le comportement social. Nombreux sont les mécanismes qui peuvent contrôler la relation microbiote-intestin-cerveau et influencer sur la signalisation neuronale, immunitaire et endocrinienne.

Cette microflore intestinale peut produire de nombreux composants chimiques neuroactifs et modifier les niveaux de neurotransmetteurs de l'hôte. Barrett et ses collaborateurs ont révélé que les espèces du genre *Bacteroides* synthétisent en grande quantité d'acide γ -aminobutyrique (GABA) (**Barrett et al., 2012**). La synthèse accrue de GABA peut contribuer dans le développement des signes physiologiques de la dépression. Ce qui ne ramène encore

vers l'hypothèse de la relation étroite entre le cerveau et le microbiote intestinal (**Strandwitz et al., 2019**).

D'autres espèces du microbiote intestinal peuvent produire des protéines qui peuvent influencer sur le système nerveux central tel que la dopamine, l'acétylcholine et la sérotonine. *Escherichia*, *Bacillus* et *Saccharomyces spp* produit de la norépinéphrine, *Bacillus* libère de la dopamine, *Lactobacillus* synthétise de l'acétylcholine, et *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* et *Enterococcus spp* synthétisent de la sérotonine (**Lyte, 2014**).

Conclusion

Conclusion

Le microbiote se définit par une population hétérogène non pathogène commensale composée principalement de bactéries, archées et des champignons qui colonisent le tube digestif. Ces derniers sont en relation symbiotique et mutualiste avec leur hôte. Le microbiote peut contribuer dans l'induction des dysfonctions physiologiques et pathologiques. Il a des effets importants sur le cerveau et le système nerveux. Il influence sur le stress, l'anxiété, les symptômes de dépression et le comportement social. Ce qui indique qu'il y a une relation étroite entre le système nerveux et le microbiote intestinal.

Les résultats présentés dans cette pré-étude confirme qu'il ya une difference de diversité entre le microbiote intestinal d'une personne saine et d'une personne atteinte de trouble psychologique. Confirmant ainsi la présence d'une dysbiose chez les sujets atteints de dysfonctionnements au niveau du système nerveux central et le microbiote intestinale joue un role important dans le bon fonctionnement de la physiologie de l'hôte. Une dysbiose nous fait ouvrir vers de nouvelles porte sur l'étude de la diversité de la microflore intestinale et les facteurs induisant son déséquilibre.

La connaissance du microbiote intestinal et de ses effets sur le fonctionnement et la santé physique et psychique de l'organisme humain devient plus importante de jour après jour. Cette connaissance peut être une clé principale dans la découverte de nouvelles thérapies ciblées qui aident à guérir les maladies psychologiques.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- Albrecht, E., Haberer, J.P., Buchser, E., Moret, V.** (2009). Manuel pratique d'anesthésie : 2^{ème} édition, France : Elsevier Masson, 768p.
- Ang, Z., & Ding, J. L.** (2016). GPR41 and GPR43 in Obesity and Inflammation – Protective or Causative? *Frontiers in Immunology*, 7. Doi:10.3389/fimmu.2016.00028.
- Ammhaouch, Z.** (2016). Les parasites digestives au service de parasitologie-Mycologie du CHU Hassa II-Fès. Thèse de spécialité en Médecine : Biologie Médicale, Fès : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, 46p.

B

- Balédent, F.** (1997). Coloration usuelles en Bactériologie. Revue de Développement et santé. Disponible [en ligne] sur : www.ledamed.org. [Consulté le 17 avril 2020].
- Barrett, E., Ross, R. P., O'toole, P. W., Fitzgerald, G. F., Stanton, C.** (2012). γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of applied microbiology*, 113(2), 411-417. Doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x.
- Berchtold, N. C., & Cotman, C. W.** (1998). Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiology of aging*, 19(3), 173-189. Doi 10.1016/S0197-4580(98)00052-9.
- Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., Verdu, E. F.** (2011). The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*, 141(2), 599-609.
- Bertani, G.** (2004). *Lysogeny at mid-twentieth century: P1, P2, and other experimental systems. J. Bacteriology*. 186, 595-600.
- Bertani, G.** (1951). Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic Escherichia coli. *J. Bacteriol.* 62, 293-300.
- Bienenstock, J., Forsythe, P., Karimi, K., Kunze, W.** (2010). Neuroimmune aspects of food intake. *International dairy journal*, 20(4), 253-258.
- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Cryan, J. F.** (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), 16050-16055.

C

- Campeotto, F., Waligora-Dupriet, A. J., Doucet-Populaire, F., Kalach, N., Dupont, C., Butel, M. J.** (2007). Establishment of the intestinal microflora in neonates. *Gastroenterologie clinique et biologique*, 31(5), 533-542.
- Carmassi, C., Palagini, L., Caruso, D., Masci, I., Nobili, L., Vita, A., Dell'Osso, L.** (2019). Systematic review of sleep disturbances and circadian sleep desynchronization in autism spectrum disorder: toward an integrative model of a self-reinforcing loop. *Frontiers in psychiatry*, 10, 366. Doi:10.3389/fpsyt.2019.00366.
- Charikhi, L., & Ouahrani, Y.** (2017). AVC : L'expérience du service de médecine interne du CHU de Béjaia. Mémoire de fin d'étude en Médecine. Béjaia : Université Abderrahmane Mira, 143p.
- Clavel, T.** (2019). Microbiote intestinal, lipides alimentaires et maladies métaboliques. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 54(6), 347-353. Doi: 10.1016/j.cnd.2019.07.005.
- Clément, J. P., & Nubukpo, P.** (2008). Maladie d'Alzheimer et troubles psychiatriques. *PSN*, 6(2), 76. Doi: 10.1007/s11836-008-0059-x.
- Corthier, G., Sokol, H., Doré, J.** (2007). Diversité du microbiote et de ses fonctions. *Obésité*, 2(3), 215-220. Doi: 10.1007/s11690-007-0064-6.
- Cotillard, A., Kennedy, S. P., Kong, L. C., Prifti, E., Pons, N., Le Chatelier, E., Gougis, S.** (2013). Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*, 500(7464), 585-588. Doi: 10.1038/nature12480.

D

- Damak M., Rouxville Y., Miladi M.I., Mhiri C.** (2013) *Le système nerveux. Anatomie et fonctions.* In: Rouxville, Y., (Ed), *Abrégé de physiologie à l'usage des acupuncteurs et des réflexothérapeutes.* « Médecines D'Asie — Savoirs & Pratiques », Springer, Paris, pp74-88.
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., Kelley, K. W.** (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature reviews neuroscience*, 9(1), 46-56.
- Dauwalder, O., Freydière, A. M., Meugnier, H., Benito, Y., Chomarat, M., Ginevra, C., Vandenesch, F.** (2010). Utilisation de la spectrométrie de masse pour l'identification bactérienne: évaluation du système Axima®/Saramis®/SirWeb MALDI TOF®. *Bio tribune magazine*, 37(1), 6-11. Doi: 10.1007/s11834-010-0033-5.
- Debré, P. & Le Gall, J.Y.** (2014). Le microbiote intestinal. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 198, 1667-1684.
- Delzenne, N. M., & Cani, P. D.** (2008). Implication de la flore intestinale dans le métabolisme énergétique. *médecine/sciences*, 24(5), 505-510.
- Derkinderen, P.** (2020). La maladie de Parkinson est aussi une maladie du tube digestif. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 204(1), 66-71. Doi: 10.1016/j.banm.2019.11.013.

Descoins, L. (2017). Microbiote et cerveau : corrélation avec les pathologies neurologiques et psychiatriques. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France : Université Toulouse III Paul Sablier, 86p.

Djenadi, K. (2019). Isolement, purification, identification et caractérisation phénotypique et génotypique des bacilles à Gram négatif résistant à l'imipénème isolés de divers prélèvements naturels. Thèse de Doctorat en Microbiologie, Béjaia : Université Abderrahmane Mire, p127.

Djenadi, K., Zhang, L., Murray, A. K., & Gaze, W. H. (2018). Carbapenem resistance in bacteria isolated from soil and water environments in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15, 262-267. Doi: 10.1016/j.jgar.2018.07.013.

E

Elbaz, A., & Moisan, F. (2010). Parkinson's disease: Is there a strong environmental contribution?. *Revue neurologique*, 166(10), 757-763.

Ewaschuk, J. B., Naylor, J. M., Zello, G. A. (2005). D-lactate in human and ruminant metabolism. *The Journal of nutrition*, 135(7), 1619-1625. Doi : 10.1093/jn/135.7.1619

F

Finestre, C. (2013). Le syndrome de dysrégulation dopaminergique dans la maladie de Parkinson. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France : Université de Toulouse III Paul Sablier, 185p.

Fond, G., & Boyer, L. (2019). Microbiote et dépression: une piste thérapeutique prometteuse. In : *Annales Médico-psychologiques, revue psychiatrique*, 177(7), 695-697. Elsevier Masson. Doi:10.1016/j.amp.2019.06.005.

Fond, G., Chevalier, G., Eberl, G., & Leboyer, M. (2015). The potential role of microbiota in major psychiatric disorders: Mechanisms, preclinical data, gastro-intestinal comorbidities and therapeutic options. *Presse medicale* (Paris, France: 1983), 45(1), 7-19. Doi:10.1016/j.lpm.2015.10.016.

Frayssinhes, L. (2017) Implication du microbiote intestinal dans la santé et enjeux thérapeutiques. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France : Université Toulouse III Paul Sablier, 92p.

Freud, S. (1895). Qu'il est justifié de séparer de la neurasthénie un certain complexe symptomatique sous le nom de «névrose d'angoisse». *Névrose, psychose et perversion*, 15-38.

G

Gabastou, J. M., Nugon-Baudon, L., Robert, Y., Manuel, C., Vaissade, P. (1996). Amines digestives d'origine bactérienne et troubles comportementaux: A propos d'une observation. *Pathologie et biologie*, 44(4), 275-281.

- Gailhard A. & Balard P.** (2015). *Autour des probiotiques : l'équilibre intestinal*, France : Laboratoire Nutergia, 8p.
- Grasset, E., & Burcelin, R.** (2019). The gut microbiota to the brain axis in the metabolic control. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 20(4), 427-438. Doi:10.1007/s11154-019-09511-1.
- Guarino, M. P. L., Cicala, M., Putignani, L., Severi, C.** (2016). Gastrointestinal neuromuscular apparatus: An underestimated target of gut microbiota. *World journal of gastroenterology*, 22(45), 9871. Doi:10.3748/wjg.v22.i45.9871.
- Gauthier, G.** (2016). Intégration des enfants épileptiques en milieu scolaire : vers un projet d'accueil individualisé régional. Thèse du diplôme docteur en Médecine, France : Université de Lorraine, 224p.
- Gérard, P., Lepercq, P., Leclerc, M., Gavini, F., Raibaud, P., Juste, C.** (2007). Bacteroides sp. strain D8, the first cholesterol-reducing bacterium isolated from human feces. *Applied and environmental microbiology*, 73(18), 5742-5749.

H

- Hart, T., & Shears, P.** (1997). Atlas de Poche de Microbiologie, Royaume-Uni : Flammarion Medecine-Sciences, p317.
- Hauser, S. L., & Oksenberg, J. R.** (2006). The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron*, 52(1), 61-76. Doi:10.1016/j.neuron.2006.09.011.

J

- Jaglin, M.** (2013). Axe intestin-cerveau : effets de la production d'indole par le microbiote intestinal sur le système nerveux central. Thèse du doctorat : Biologie, France: Université Paris Sud, 291p.
- Johnson, K. V. A.** (2020). Gut microbiome composition and diversity are related to human personality traits. *Human Microbiome Journal*, 15, 100069. Doi : 10.1016/j.humic.2019.100069.

K

- Karl, J. P., Hatch, A. M., Arcidiacono, S. M., Pearce, S. C., Pantoja-Feliciano, I. G., Doherty, L. A., Soares, J. W.** (2018). Effects of psychological, environmental and physical stressors on the gut microbiota. *Frontiers in microbiology*, 9, 2013. Doi: 10.3389/fmicb.2018.02013.
- Khoshdel, A., Verdu, E. F., Kunze, W., McLean, P., Bergonzelli, G., Huizinga, J. D.** (2013). Bifidobacterium longum NCC 3001 inhibits AH neuron excitability. *Neurogastroenterology & Motility*, 25(7), 478-484.

- Kocak, F., & Fagnère, C.** (2019). La schizophrénie, une psychose chronique. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(582), 48-53. Doi : 10.1016/j.actpha.2018.11.009.
- Kouadri Boudjelthia, N.** (2014). Elaboration de la flore du microbiote digestif e volaille et identification de souches de lactobacilles par l'ADNr 16S. Mémoire du Magister : Biologie, Oran : Université Es-Sénia, 122p.
- Kunze, W. A., Mao, Y. K., Wang, B., Huizinga, J. D., Ma, X., Forsythe, P., Bienenstock, J.** (2009). Lactobacillus reuteri enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *Journal of cellular and molecular medicine*, 13(8b), 2261-2270.

L

- Lagier, J. C., Million, M., Hugon, P., Armougom, F., Raoult, D.** (2012). Human gut microbiota: repertoire and variations. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 136.
- Lewinsohn, P. M., Gotlib, I. H., Lewinsohn, M., Seeley, J. R., Allen, N. B.** (1998). Gender differences in anxiety disorders and anxiety symptoms in adolescents. *Journal of abnormal psychology*, 107(1), 109-117. Doi: 10.1037/0021-843X.107.1.109.
- Lorenz, I.** (2004). Investigations on the influence of serum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis. *The Veterinary Journal*, 168(3), 323-327.
- Lyte, M.** (2014). Microbial endocrinology: host-microbiota neuroendocrine interactions influencing brain and behavior. *Gut microbes*, 5(3), 381-389.
- Lyte, M., Li, W., Opitz, N., Gaykema, R. P., Goehler, L. E.** (2006). Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia Citrobacter rodentium. *Physiology & behavior*, 89(3), 350-357.
- Lyte, M., Varcoe, J. J., Bailey, M. T.** (1998). Anxiogenic effect of subclinical bacterial infection in mice in the absence of overt immune activation. *Physiology & behavior*, 65(1), 63-68.

M

- Ma, X., Mao, Y. K., Wang, B., Huizinga, J. D., Bienenstock, J., Kunze, W.** (2009). Lactobacillus reuteri ingestion prevents hyperexcitability of colonic DRG neurons induced by noxious stimuli. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(4), G868-G875.
- MacWilliams, M. P., & Liao, M. K.** (2006). Luria broth (LB) and Luria agar (LA) media and their uses protocol. *ASM MicrobeLibrary. American Society for Microbiology*.
- Mahmoudi, F.** (2014). Les substances antimicrobiennes procuites par les Bifidobactérium et leurs effets sur les bactéries entéropathogènes. Thèse du doctorat en Biologie : Microbiologie Appliquée, Université d'Oran, 155p.

- Mao, Y. K., Kasper, D. L., Wang, B., Forsythe, P., Bienenstock, J., Kunze, W. A.** (2013). Bacteroides fragilis polysaccharide A is necessary and sufficient for acute activation of intestinal sensory neurons. *Nature communications*, 4(1), 1-10.
- Marfai, L.** (2013). Les difficultés rencontrées lors du développement de nouvelles molécules thérapeutiques dans l'indication de la maladie d'Alzheimer. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France : Université de Lorraine, 150p.
- Marotta, R., Risoleo, M. C., Messina, G., Parisi, L., Carotenuto, M., Vetri, L., Roccella, M.** (2020). The Neurochemistry of Autism. *Brain Sciences*, 10(3), 163. Doi: 10.3390/brainsci10030163.
- Mazzoli, R., & Pessione, E.** (2016). The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1934. Doi:10.3389/fmicb.2016.01934.
- Mondot, S., de Wouters, T., Doré, J., Lepage, P.** (2013). The human gut microbiome and its dysfunctions. *Digestive Diseases*, 31(3-4), 278-285.
- Murray, T. J.** (2009). The history of multiple sclerosis: the changing frame of the disease over the centuries, *J Neurol Sci*, 277(3-8). Doi: 10.1016/S0022-510X(09)70003-6.

N

- Naib, Y.** (2017). Sclérose en plaque : physiopathologie et rôle du pharmacien d'officine dans la prise en charge de la pathologie en stade. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France: Université de Lille 2, 128p.

O

- Ouwehand, A., Vesterlund, S.** (2003). Health aspects of probiotics. *IDrugs: the investigational drugs journal*, 6(6), 573-580.

P

- Pellissier, S., Dantzer, C., Canini, F., Mathieu, N., Bonaz, B.** (2010). Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology*, 35(5), 653-662. Doi: 10.1016/j.psyneuen.2009.10.004.
- Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F. F., Snijders, B., Kummeling, I., Stobberingh, E. E.** (2006). Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*, 118(2), 511-521. Doi: 10.1542/peds.2005-2824.
- Petitjean, F., Canceil, O., Gozlan, G., & Coste, E.** (2008). Dépistage précoce des schizophrénies. *EMC-Psychiatrie*, 1-12. Doi: 10.1016/s0246-1072(08)41459-1.

R

Rabot, S. (2015). Axe intestin-cerveau: comment le microbiote intestinal influence la réponse au stress. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*.

Raybould, H. E. (2010). Gut chemosensing: interactions between gut endocrine cells and visceral afferents. *Autonomic Neuroscience*, 153(1-2), 41-46.

Rea, K., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2020). Gut microbiota: a perspective for psychiatrists. *Neuropsychobiology*, 79(1-2), 50-62. Doi: 10.1159/000504495.

S

Sampson, T. R., Debelius, J. W., Thron, T., Janssen, S., Shastri, G. G., Ilhan, Z. E., Chesselet, M. F. (2016). Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease. *Cell*, 167(6), 1469-1480. Doi: 10.1016/j.cell.2016.11.018.

Serratrice, G., & Verschueren, A. (2005). Système nerveux autonome. *EMC-Neurologie*, 2(1), 55-80. Doi:10.1016/j.emcn.2004.08.003.

Simpson, C. A., Mu, A., Haslam, N., Schwartz, O. S., Simmons, J. G. (2020). Feeling down? A systematic review of the gut microbiota in anxiety/depression and irritable bowel syndrome. *Journal of Affective Disorders*, 266, 429-446. Doi: 10.1016/j.jad.2020.01.124.

Site 01 : campus.neurochirurgie.fr. Disponible [en ligne] sur <http://campus.neurochirurgie.fr/spip.php?article162> [Consulté le 06 mars 2020].

Site 02 : afblum.be. Disponible [en ligne] sur : <http://www.afblum.be/bioafb/structsn/structsn.htm> [Consulté le 06 mars 2020].

Site 03 : rfsv.fr disponible [en ligne] sur : www.rfsv.fr > 5_Milieus Selectifs et Tests Biochimiques. [Consulté le 19 avril 2020].

Site 04 : doctissimo.fr. Disponible [en ligne] sur <https://www.doctissimo.fr/sante/diaporamas/couleurs-des-selles/couleur-consistance-normales>. [Consulté le 08 juillet 2020]

Site 05 : microbiologiemedicale.fr. Disponible [en ligne] sur : <https://microbiologiemedicale.fr/examen-microbiologique-des-selles-coproculture/#:~:text=%C3%89tat%20frais,les%20recherches%20sont%20plus%20longues>. [Consulté le 10 juillet 2020].

Strandwitz, P., Kim, K. H., Terekhova, D., Liu, J. K., Sharma, A., Levering, J., Mroue, N. (2019). GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota. *Nature microbiology*, 4(3), 396-403. Doi: 10.1038/s41564-018-0307-3.

T

Tremaroli, V., & Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 489(7415), 242-249.

V

- Van Cott, A. C.** (2002). Epilepsy and EEG in the tElderly. *Epilepsia*, 43, 94-102.
- Veiga, P., Juste, C., Lepercq, P., Saunier, K., Béguet, F., Gérard, P.** (2005). Correlation between faecal microbial community structure and cholesterol-to-coprostanol conversion in the human gut. *FEMS microbiology letters*, 242(1), 81-86.
- Vogt, N. M., Kerby, R. L., Dill-McFarland, K. A., Harding, S. J., Merluzzi, A. P., Johnson, S. C., Bendlin, B. B.** (2017). Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientific reports*, 7(1), 1-11. Doi: 10.1038/s41598-017-13601-y.

W

- Wallace, H., Shorvon, S., Tallis, R.** (1998). Age-specific incidence and prevalence rates of treated epilepsy in an unselected population of 2 052 922 and age-specific fertility rates of women with epilepsy. *The Lancet*, 352(9145), 1970-1973.
- Wu, W. K., Chen, C. C., Panyod, S., Chen, R. A., Wu, M. S., Sheen, L. Y., Chang, S. C.** (2019). Optimization of fecal sample processing for microbiome study—The journey from bathroom to bench. *Journal of the Formosan Medical Association*, 118(2), 545-555. Doi:10.1016/j.jfma.2018.02.005.

Y

- Yang, Q., Liang, Q., Balakrishnan, B., Belobrajdic, D. P., Feng, Q. J., Zhang, W.** (2020). Role of dietary nutrients in the modulation of gut microbiota: A narrative review. *Nutrients*, 12(2), 381. Doi:10.3390/nu12020381.
- Yatsunenکو, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Heath, A. C.** (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222-227. Doi: 10.1038/nature11053.

Annexes

Annexe 02 : Formulaire de consentement du patient et son médecin investigateur**Formulaire de consentement écrit et éclairé des patient(e)s**

A lire attentivement avant de le signer

Ne pas hésiter à poser des questions si certains aspects semblent peu clairs ou si des précisions supplémentaires semblent nécessaires

Consentement établi en deux exemplaires dont un exemplaire à remettre à l'intéressé(e)

Intitulé du projet de recherche : Identification et caractérisation de la flore intestinale chez les patients atteints de dysfonctionnement neurologique.

Lieu de réalisation : Laboratoire de la Faculté de Médecine, Université de BEJAIA

Médecin investigateur :

Patient(e) :

Date de naissance :

Origine géographique :

Sexe :

Invitation à participer : je déclare être informé(e), oralement et par écrit, de la manière la plus simple qui soit et dans la langue ou le dialecte que je maîtrise le mieux par le médecin investigateur, des objectifs et du déroulement de l'étude concernant « ajouter l'intitulé de votre projet »; des effets présumés, des avantages et des inconvénients possibles ainsi que des risques éventuels.

Je certifie avoir lu et compris l'information orale et écrite qui m'a été remise sur cette étude.

J'ai reçu des réponses satisfaisantes aux questions que j'ai posées sur ma participation à cette étude. Je conserve l'information écrite et reçois une copie de la présente déclaration de consentement.

J'ai été informé(e) de la possibilité de poursuivre tous traitements antérieurs.

J'ai été informé(e) du caractère facultatif des analyses médicales prévues dans l'étude, que je peux accepter ou refuser sans aucune conséquence sur mon traitement et mon suivi.

Bienfaits : J'ai compris que ma participation à cette étude permettra l'avancement de la recherche et du savoir.

Confidentialité et anonymat : je sais que mes données personnelles ne pourront être communiquées que sous une forme anonyme.

Nous nous engageons à respecter la confidentialité concernant vos informations personnelles ainsi que de tout autre matériel en relation à votre soi en les protégeant de toute utilisation non conforme à l'éthique et d'endommagement.

Seules les personnes ayant une relation directe avec le projet iront droit à l'accès aux dossiers des candidats.

Conservation des données : j'ai reçu les garanties que les échantillons biologiques recueillis ainsi que les résultats des analyses seront conservés de façon sécurisée.

Participation volontaire : je prends part de façon volontaire à cette étude. Je peux à tout moment et sans avoir à fournir de justification, révoquer mon consentement à participer à cette étude, sans pour cela en subir quelque inconvénient que ce soit dans mon suivi médical ultérieur. De mon côté, je m'engage à informer le médecin investigateur de tout traitement prescrit par un autre médecin ainsi que la prise de médicaments (prescrit ou acheté par moi-même).

Je m'engage également à informer le médecin de tout phénomène inattendu pouvant survenir durant cette étude et à me conformer aux recommandations de ce médecin.

Acceptation : Je déclare, accepter de mon plein gré de participer à cette recherche et je n'ai subi aucune contrainte pour donner mon consentement. Ainsi, j'accepte que mes échantillons servent pour d'autres projets liés strictement à la recherche scientifique sans avoir recours une deuxième fois à mon consentement.

Nous ne pouvons pas vous garantir de bénéficier directement de résultats obtenus en participant à ce projet/étude.

Lieu et date :

Signature du patient/de la patiente

Attestation du médecin investigateur

En tant qu'investigateur principal, je m'engage à mener cette étude selon les dispositions éthiques et déontologiques, à protéger l'intégrité physique, psychologique et sociale des personnes (de la personne) tout au long de la recherche.

J'atteste par ma signature, avoir expliqué à cette personne la nature, l'importance et la portée de cette étude.

Je déclare satisfaire à toutes les obligations en relation avec cette étude.

Si je devais prendre connaissance, à quelque moment que ce soit durant la réalisation de l'étude, d'informations susceptibles d'influer sur le consentement de la personne à participer à l'étude, je m'engage à l'en informer immédiatement.

Lieu et date :

Signature du médecin investigateur

Annexe 03 : Composition des solutions et milieux utilisés

- **Composition des solutions utilisées :**

Solution	Composition	Mesures
Violet de Gentiane	Violet de Gentiane	10 g
	Phénol	20 g
	Ethanol (90°GL)	100 ml
	Eau distillée	1 l
Lugol	Eau q.s. ad q.s. ad 100g signifie : quantité suffisante pour avoir 100 g de solution)	100 g
Fuchsine	Fuchsine basique	10 g
	Phénol	50 g
	Ethanol	100 ml
	Eau distillée	1 l

- **Composition des milieux de culture :**

- a. **La gélose nutritive** : pour 1 l (Tony et Paul, 1997)

Composants	Mesures (g.L⁻¹)
Peptone	5
Extraits de viande	1
Extraits de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar	15
pH	7,4 (+/- 0,2)

b. Composition du milieu Luria Bertani (LB) : pour 1 l (MacWilliams et Liao, 2006)

Composition	Mesures (g.L⁻¹)
Tryptone	10
Extrait de levure	5
NaCl	10
Agar	15
pH	7,00 (+/- 0,2)

Résumé

Le microbiote intestinal est un ensemble des microorganismes hébergé dans notre tube digestif par une association considérée comme mutualiste dont on peut le considérer comme un organe supplémentaire à cause de sa grande diversité. Cet ensemble est le responsable de plusieurs fonctions essentielles pour le maintien de la santé de l'organisme humain. La dysbiose de la flore intestinale est l'une des causes principales de plusieurs pathologies digestives, métaboliques et inflammatoires qui touchent l'organisme humain et aussi les pathologies du système nerveux central. C'est dans ce contexte, nous avons lancé une étude sur la diversité de la flore intestinale chez des patients atteints d'un dysfonctionnement du système nerveux central. A travers une synthèse bibliographique et une pré-étude au niveau du service psychiatrique du CHU Frantz Fanon de Béjaia, nous avons vérifié qu'il y a une différence entre le microbiote intestinal chez ces personnes atteintes de dysfonctionnement psychologique et une autre personne saine. La notation d'une dysbiosis chez les patients du service psychiatrique signifie une dominance d'un ou de quelques microbes nocifs. Non seulement mais les facteurs environnementaux et sociaux, l'alimentation et l'âge peuvent contribuer dans la modélisation de la diversité du microbiote intestinale, ce qui peut influencer sur l'état psychiatrique des personnes.

Mots clés : microbiote, maladies psychologiques, dysfonctionnement neurologique, dysbiose.

Abstract

The gut microbiota is a set of microorganisms housed in our digestive tract by an association considered to be mutual, of which it can be considered as an additional organ because of its great diversity. This set is responsible for several essential functions for maintaining the health of the human body. Dysbiosis of the intestinal flora is one of the main causes of several digestive, metabolic and inflammatory pathologies that affect the human body and also pathologies of the central nervous system. It is in this context, we launched a study on the diversity of the intestinal flora in patients with central nervous system dysfunction. Through a bibliographical study and a pre-study at the level of the psychiatric service of the Frantz Fanon hospital of Béjaia, we verified that there is a difference between the gut microbiota of these people with psychological dysfunction and another healthy person. Scoring dysbiosis in psychiatric service patients means dominance of one or a few harmful microbes. Not only but environmental and social factors, diet and age can contribute in modeling the diversity of the gut microbiota, which can influence the psychiatric status of people.

Key words : microbiota, psychological diseases, neurological dysfunction, dysbiosis.

المخلص

المكروبيات المعوية عبارة عن مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة الموجودة على مستوى جهازنا الهضمي من خلال علاقة تعتبر متبادلة، ويمكن اعتبارها عضوًا إضافيًا بسبب تنوعها الكبير. هذه المجموعة مسؤولة عن العديد من الوظائف الأساسية للحفاظ على صحة جسم الإنسان. يعد اختلال التوازن الكمي والنوعي فالمكروبيات المعوية أحد الأسباب الرئيسية للعديد من أمراض الجهاز الهضمي والتركيب الغذائي والالتهابات التي تؤثر على جسم الإنسان وكذلك أمراض الجهاز العصبي المركزي. في هذا السياق، أجرينا دراسة حول تنوع المكروبيات المعوية لدى مرضى ضعف الجهاز العصبي المركزي. من خلال دراسة بيليوغرافية ودراسة مسبقة على مستوى خدمة الطب النفسي بمستشفى فرانس فانون في بجاية، تحققنا من وجود فرق بين المكروبيات المعوية عند الأشخاص المصابين باختلال نفسي وشخص اخر سليم. تسجيل وجود اختلال كمي ونوعي فالمكروبيات المعوية عند مرضى المصلحة النفسية يعني هيمنة واحد أو عدد قليل من الميكروبات الضارة. ليس فقط، فالعوامل البيئية والاجتماعية والنظام الغذائي والعمر يمكن أن تساهم في نمذجة تنوع ميكروبات الأمعاء، وهذا يمكن ان يؤثر على الحالة النفسية للأشخاص.

الكلمات المفتاحية: المكروبيات، الأمراض النفسية، ضعف الجهاز العصبي، الاختلال الكمي والنوعي.