

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 09 décembre 2015
Par : ORBIE Julie

L'IMPORTANCE D'UNE FLORE INTESTINALE
MATURE EQUILIBREE SUR LA SANTE DE
L'HOMME

Membres du jury

Président : NEUT Christel, Maître de conférences en Bactériologie-Virologie à la faculté de pharmacie de Lille.

Assesseur : SPECA Silvia, Attaché temporaire d'enseignement et de recherche à la faculté de pharmacie de Lille.

Membre extérieur : DUBUQUOY Laurent, chercheur à l'institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) de Lille.

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>



Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :

Vice- présidents :

Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE

Professeur Alain DUROCHER

Professeur Régis BORDET

Professeur Eric KERCKHOVE

Professeur Eric BOULANGER

Professeur Frédéric LOBEZ

Professeur Damien CUNY

Professeur Benoit DEPREZ

Professeur Murielle GARCIN

Monsieur Pierre RAVAUX

Monsieur Larbi AIT-HENNANI

Monsieur Antoine HENRY

Directeur Général des Services :

Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :

Vice-Doyen, 1^{er} assesseur :

Assesseur en charge de la pédagogie

Assesseur en charge de la recherche

Assesseur délégué à la scolarité

Assesseur délégué en charge des
relations internationales

Assesseur délégué en charge de la vie étudiante

Professeur Damien CUNY

Professeur Bertrand DECAUDIN

Dr. Annie Standaert

Pr. Patricia Melnyk

Dr. Christophe Bochu

Pr. Philippe Chavatte

M. Thomas Morgenroth

Chef des services administratifs :

Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques

M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
Mme	HOUSSIN-THUILLIER	Pascale	Hématologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DROUET	Maryline	Pharmacie Galénique
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique

Table des matières

Remerciements	10
Liste des abréviations	11
Introduction générale.....	13
I. Rappel sur la flore intestinale ou microbiote intestinal.....	14
A. Méthodes d’analyses du microbiote intestinal.	14
a. Les premières méthodes d’analyses du microbiote intestinal : les méthodes traditionnelles.....	14
b. L’avènement des méthodes moléculaires	14
c. De la phylogénétique à la métagénomique.....	16
B. Définition	16
C. Composition du microbiote intestinal	17
a. La composition en chiffres	17
b. Spécificité anatomique du microbiote intestinal	17
c. Présentation des microorganismes de notre intestin.....	18
D. Mise en place du microbiote intestinal.....	20
a. Etablissement du microbiote intestinal.....	20
b. Facteurs influançant la mise en place du microbiote intestinal.	21
E. Stabilité du microbiote intestinal.....	22
F. Fonctions du microbiote intestinal	23
a. Fonctions métaboliques	23
b. Effet barrière.....	24
c. Relation hôte-microbiote intestinal	25
d. Fonction immunitaire	26
II. Les risques de déséquilibre d’une flore intestinale normale.	28
A. Impact de l’antibiothérapie sur la flore intestinale.....	28
a. Rappels sur les différentes classes d’antibiotiques.....	28
b. Impact des antibiotiques sur le microbiote intestinal.	29
c. Conséquences physiologiques et cliniques d’une flore intestinale perturbée par les antibiotiques.....	34
d. Emergence de bactéries antibiorésistantes.	38
B. Impact de l’alimentation sur la flore intestinale.....	41
a. Les principales sources alimentaires, leurs interactions avec le microbiote intestinal et leurs conséquences physio-pathologiques.....	41

b.	Etudes d'habitudes alimentaires, effets sur le microbiote intestinal et conséquences pathologiques.....	52
C.	Impact des pathologies sur la flore intestinale.....	58
a.	Les maladies de l'intestin.....	58
b.	Les maladies métaboliques.....	67
c.	Les maladies extra intestinales.....	73
d.	Divers.....	76
III.	Rééquilibrer la flore intestinale.....	78
A.	Les probiotiques.....	78
a.	Généralités.....	78
b.	Les produits contenant des probiotiques.....	80
c.	Champs d'applications des probiotiques et effets sur la flore intestinale et sur la Santé.....	92
d.	Limites.....	117
e.	Perspectives.....	119
B.	Les prébiotiques.....	124
a.	Généralités.....	124
b.	Les produits contenant des prébiotiques.....	125
c.	Champs d'applications des prébiotiques et effets sur la flore intestinale et sur la Santé.....	131
d.	Limites.....	142
e.	Perspectives.....	143
C.	Les postbiotiques.....	146
a.	La naissance du concept de postbiotiques.....	146
b.	Définition.....	146
c.	Produits et réglementation.....	146
d.	Effets des postbiotiques et champs d'applications.....	146
D.	La transplantation fécale.....	148
a.	Rappel sur l'infection à <i>Clostridium difficile</i>	148
b.	La transplantation fécale.....	151
	Conclusion générale.....	161
	Annexes.....	162
	Bibliographie.....	175

Remerciements

A Madame Neut Christel,

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Vous m'avez été d'une aide précieuse dans le choix du sujet mais aussi dans l'élaboration de cette thèse. J'ai été touchée par votre disponibilité, votre réactivité et votre investissement tout au long de la rédaction de cette thèse. Acceptez mes sincères remerciements.

A Madame SPECA Sylvia et Monsieur DUBUQUOY Laurent,

Merci de m'honorer de votre présence et de vos compétences au sein de ce jury.

A mon Amour Benoit,

J'en vois enfin le bout!!

J'avoue j'ai un « peu » râlée, j'ai beaucoup bossée ou révisée, j'ai eu des moments de doute et quelques pleurs mais surtout beaucoup de bonheur et d'amour grâce à toi alors ;

Merci pour ton amour, ton soutien sans faille, ta patience, ton optimisme, ta bonne humeur et ton grain de folie depuis le début de ces études pharmaceutiques. Aujourd'hui la boucle est bouclée et de nouveaux projets s'offrent à nous... Je t'aime.

A mes parents,

Je vous remercie du fond du cœur pour votre aide, votre écoute, votre soutien et vos conseils tout au long de ces années. La réussite de ces études est le fruit de l'éducation et de l'amour que j'ai reçu. Merci de m'avoir permis et aidé à accomplir tous mes projets quels qu'ils soient. Je vous en serai toujours reconnaissante. Je vous aime.

A mes grands parents,

Merci pour votre aide et votre soutien mais aussi pour ces journées de détente et ces bons petits repas. Je vous aime.

A tous mes « beaux » parents, frères et sœurs,

Merci pour toute l'attention et le soutien que vous me portez. Merci pour tous ces bons moments passés en famille.

A Sylvie,

Merci de m'avoir fait partager tes précieux conseils et ton expérience tout au long de mon stage de 6^e année dans ton officine.

Je suis heureuse de faire partie de nouveau et définitivement de l'équipe de la pharmacie !!

A mes collègues,

Collègues ou plutôt amies !! Merci pour tous ces moments agréables passés à l'officine avec vous. Votre amitié m'est essentielle.

A mes amis cavaliers,

Merci pour tous les bons moments passés ensemble ainsi que ceux passés sur les terrains de concours et pour tous ceux à venir. Votre soutien et votre amitié me sont essentiels.

A mes chevaux Handy et Folamour,

Mention particulière pour ces « petites » bêtes qui compte énormément pour moi. Ils me permettent de m'évader du stress de la vie.

Merci pour tout l'amour qu'ils me portent et les résultats qu'ils me permettent d'obtenir.

Liste des abréviations

AA : Acides aminés
AAD : Diarrhées associées à l'antibiotique
AAE : Acides aminés essentiels
ADN : Acide désoxyribonucléique
AGE : Acides gras essentiels
AGMI : Acides gras mono-insaturés
AGPI : Acides gras poly-insaturés
AL : Acide linoléique
ALA : Acide alpha-linolénique
ALAT : Alanine amino transférase
AMPc : Adénosine mono phosphate cyclique
AMPK : AMP activated protein kinase = AMP activant la protéine kinase
ARN : Acide ribonucléique
ASAT : Aspartate amino transférase
ATP : Adénosine tri phosphate
AXOS : arabinoxylanes-oligosaccharides
CDAI : The Crohn's Disease Activity Index = Index de mesure de l'activité de la MC
CFU : Unité formant colonie
CIC : constipation chronique idiopathique
CRC : Cancer colorectal
CRP : Protéine C réactive
DT1 : Diabète de type 1
DT2 : Diabète de type 2
EAE : Encéphalomyélite auto-immune
eCB : Endocannabinoïdes
ECP : Electrophorèse en champ pulsé
FIAF : Fasting-induced adipocyte factor
FISH : Hybridation in situ en fluorescence
FODMAP : Oligo-,di-,monosaccharides fermentables et polyols
FOS : Fructooligosaccharides
GALT : Gut associated lymphoid tissue
GEA : Gastroentérite aiguë
GOS : Galactooligosaccharides
HDL : Lipoprotéine de haute densité
IAP : phosphatase alcaline intestinale
IBD : Inflammatory bowel diseases : Maladies inflammatoires de l'intestin
IBS : Colopathies fonctionnels = Syndrôme de l'intestin irritable
ICD : Infection à *Clostridium difficile*
IFN γ : Interféron γ
IgA : Immunoglobuline de type A
IgE : Immunoglobuline de type E
IL : Interleukine
IMC : Indice de masse corporelle
IPP : Inhibiteur de la pompe à proton
IRC : Insuffisance rénale chronique
KPC : *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénèmase

LDL : Lipoprotéine de basse densité
LGG : *Lactobacillus rhamnosus* GG
LPS : Lipopolysaccharides
MC : Maladie de Crohn
MICI : Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
NAFLD : Stéatose hépatique non alcoolique
NASH : Stéato-hépatite non alcoolique
NF κ B : Nuclear factor kappa B
NK : Natural killer
NOD : Souris diabétiques non obèse
NOS : Oligosaccharides non digestible
PAMPs : Motifs moléculaires associés aux pathogènes
PCR : Polymerase chain reaction
PLFR : Polymorphisme de longueur des fragments de restriction
RET : Ration énergétique totale
RCH : Rectocolite hémorragique
ROS : Espèces réactives de l'oxygène
SCFAs : Short-chain fatty acids = Acides gras à chaînes courtes
SRO : Solution de réhydratation orale
TG : Triglycérides
TGF β : Facteur de croissance transformant
TLR : Toll like receptors
TMAO : Oxyde de triméthylamine
TMF : Transfert de microbiote fécal
UCDAI : Ulcerative Colitis Disease Activity Index = Index de mesure de l'activité de la RCH
URTI : Infections aiguës des voies respiratoires supérieures
VRE : Entérocoque résistant à la vancomycine

Introduction générale

Tout a commencé lorsque que j'ai suivi une formation sur une gamme de probiotiques et de prébiotiques nouvellement référencée à la pharmacie. Des probiotiques et prébiotiques pour les pathologies intestinales pourquoi pas mais pour renforcer les défenses immunitaires, diminuer une réaction allergique ou encore aider à la perte de poids j'avoue avoir été un peu sceptique et surprise. Avant de conseiller ses produits j'ai bien évidemment voulu donner réponses à toutes mes questions et tous mes doutes.

« Toutes les maladies débutent dans l'intestin », cette phrase prononcée par Hippocrate, le père de la médecine, m'a interpellée et une question s'est posée : **Quel est le lien entre l'intestin et les pathologies ?**

Au cours de mes recherches j'ai ainsi découvert que le microbiote intestinal n'était pas juste une entité inerte mais qu'il interagit en symbiose avec le tissu intestinal pour permettre à l'intestin de remplir toutes ses fonctions actives et de maintenir la santé de l'organisme.

Au fil des années, le microbiote intestinal a fait l'objet de multiples recherches et les nouvelles méthodes technologiques d'études permettent de le caractériser, de déterminer sa composition et d'étudier ses fonctions sur l'organisme. De part son importance, l'intestin et son microbiote sont alors qualifiés de « deuxième cerveau » humain.

Malgré cela, ce « superorganisme » qu'est le microbiote intestinal possède sa faille et peut être fragilisé par divers facteurs entraînant une dysbiose du microbiote et un déséquilibre de l'organisme pouvant aboutir à une dégradation de l'état de santé.

Rythme de vie incessant, alimentation désorganisée et déséquilibrée, surconsommation de médicaments, présence de pathologies..., c'est ainsi qu'on observe une majorité de la population « en mal de ventre ». Mais à l'heure où le patient devient de plus en plus un acteur de sa santé, où un certain « ras-le-bol » de la chimie pure et dure se fait sentir, l'alimentation santé et la micronutrition prennent de l'ampleur.

Probiotiques, prébiotiques, postbiotiques, transplantation fécale... De multiples alternatives thérapeutiques se développent pour agir au cœur du microbiote intestinal, contrer et/ou prévenir les dysbioses et ainsi rétablir l'équilibre intestinal et la santé de l'organisme.

Maintenir le microbiote intestinal équilibré ou le rééquilibrer est-il la santé du futur ?

C'est avec passion que j'ai décidé de répondre au mieux à cette question. Cette thèse est articulée en trois parties ; la première est un rappel sur le microbiote intestinal, la deuxième explore les risques de déséquilibre du microbiote intestinal et enfin la troisième partie est axée sur l'étude des thérapeutiques permettant de maintenir et/ou de rééquilibrer le microbiote intestinal.

I. Rappel sur la flore intestinale ou microbiote intestinal.

L'existence du microbiote intestinal est connue depuis de nombreuses années. D'abord considéré comme inerte, voir parasite ce n'est que récemment avec l'apparition des nouvelles technologies d'études et la découverte de son rôle fondamental qu'il constitue un regain d'intérêt.

A. Méthodes d'analyses du microbiote intestinal.

a. Les premières méthodes d'analyses du microbiote intestinal : les méthodes traditionnelles par culture.

La recherche sur la flore bactérienne intestinale a été initiée à la fin du 19^{ème} siècle, mais ce n'est que vers le début des années 1960 que l'intérêt a grandi.

A la fin des années 70, il a été estimé que cette flore contenait 10 fois plus de cellules procaryotes (la plupart bactérienne) que de cellules eucaryotes du corps humains [1].

Les premières estimations de la composition de la flore microbienne ont été tirées des techniques traditionnelles de bactériologie telles que la culture, la microscopie et l'étude de la fermentation des sucres des bactéries isolées de selles humaines.

L'intérêt de la composition de cette flore était alors l'identification d'agents pathogènes responsables de diarrhées infectieuses (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* entérotoxigène...). Ces techniques ont pu mettre en évidence les bactéries dominantes du microbiote intestinal (4 phyla contre 30 existants) mais ont trouvé leurs limites dans la diversité des bactéries détectées conséquence en partie d'une mise en culture difficile des bactéries anaérobies.

b. L'avènement des méthodes moléculaires

L'utilisation des techniques moléculaires a permis de faciliter mais aussi de compléter la composition de cette flore étant donné qu'une proportion estimée à environ 80% de germes intestinaux était non cultivables.

Dès la fin des années 1980, diverses techniques d'études se sont succédées [2] ;

❖ Les méthodes qualitatives

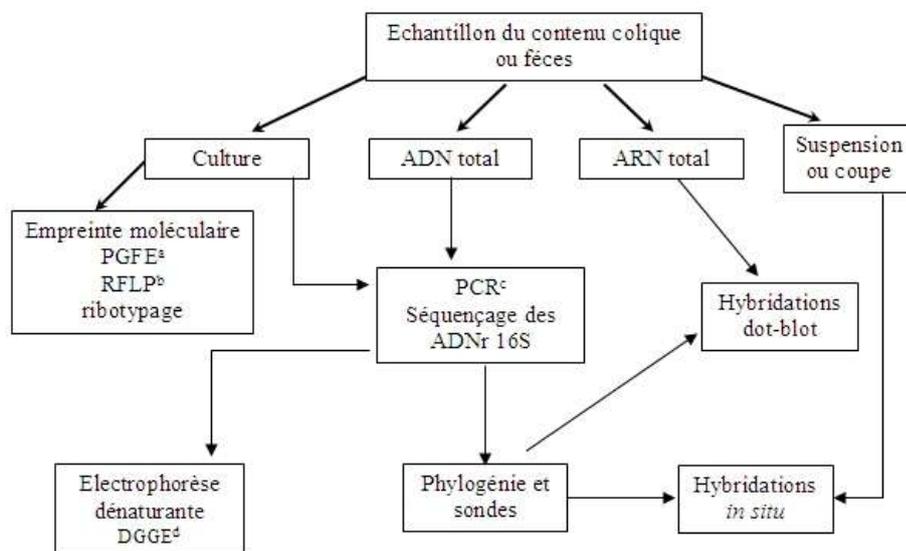
Les différentes approches dites « omiques » sont utilisées pour identifier de nouveaux marqueurs spécifiques. Génomique, transcriptomique et protéomique délivrent des informations intéressantes en matière de génotype mais des données limitées sur le phénotype. L'une des plus utilisées dans l'identification des bactéries du microbiote est l'étude de l'ARN ribosomal 16S (ARNr 16S) et l'ADN ribosomal 16S (ADNr 16S). Ces structures sont étudiées car elles présentent de nombreux avantages : l'ARNr 16S est présent dans toutes les bactéries et sa fonction ne varie pas. L'ADNr 16S se compose d'une région constante qui définit le phylum et d'une région variable qui caractérise le genre et l'espèce de la bactérie considérée. La méthode qualitative classique utilisée pour étudier ces régions est la PCR (polymerase chain reaction). En plus d'identifier les souches bactériennes, elle permet d'analyser leurs liens phylogéniques [4][5].

D'autres techniques assez courantes peuvent également être sollicitées :

***L'électrophorèse en champ pulsé (ECP)**. L'ECP implique l'amplification et la digestion de longs fragments d'ADN (50 à 1000 kB) sur un gel d'agarose soumis à un champ électrique pulsé. Elle permet de comparer le génome complet de la bactérie à identifier avec d'autres bactéries.

***Le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PLFR)**. Le PLFR a recourt à l'amplification d'une région particulière de l'ADNr 16S. Le fragment obtenu est ensuite digéré par des enzymes de restriction sélectionnées en fonction du genre bactérien étudié. Le profil PLFR est ensuite défini après migration des différents fragments de restrictions sur gel d'agarose.

* **le typage bactérien (ou « ribotyping »)**. Le ribotyping est une empreinte bactérienne qui a recours à la digestion de l'ADN bactérien entier par des enzymes de restrictions. Les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse et transférés sur une membrane de nitrocellulose sur laquelle seront hybridées des sondes correspondant à différentes régions du génome bactérien (ARNr 16S, 5S, et 23S).



^aPFGE : Pulse Field Gel Electrophoresis, ^bRFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism, ^cPCR : Polymerase Chain Reaction, ^dDGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis

Figure 1 : Techniques moléculaires d'études du microbiote intestinal [6].

❖ Les méthodes quantitatives

Les méthodes quantitatives permettent d'évaluer la proportion de chaque population bactérienne dans l'intestin. Elles regroupent 3 grandes techniques ;

***L'hybridation « dot blot »**. L'hybridation dot blot est une technique semi-quantitative. Les ADN et ARN bactériens sont dénaturés et transférés sur une membrane chargée positivement. C'est à ce niveau qu'ils seront hybridés à des sondes radioactives spécifiques de région de l'ARNr 16S.

***L'hybridation in situ en fluorescence (FISH)**. La technique FISH permet de quantifier les populations bactériennes sur des coupes de tissus ou des échantillons de selles. En effet, elle nécessite l'utilisation de sondes fluorescentes qui vont s'hybrider directement dans l'échantillon. L'intensité du signal est ensuite quantifiée par microscopie ou cytométrie en flux. Elle nous renseigne donc à la fois sur la proportion de bactéries mais également sur sa distribution au sein de l'échantillon considéré

***La PCR en temps réel**. La PCR en temps réel quantifie les fragments d'ADN d'intérêt à partir de l'intensité de fluorescence obtenue au cours de l'amplification, ceci grâce à la

présence d'agents intercalants de l'ADN marqués. L'intensité de fluorescence est proportionnelle à la quantité de fragments d'ADN étudiés.

Cependant les données de protéomiques et de métagénomiques ne fournissent pas de renseignements sur le lien entre le microbiote intestinal et le métabolisme de l'hôte utiles à l'étude de situations physiologiques ou physiopathologiques [4].

c. De la phylogénétique à la métagénomique

Il s'est avéré que l'étude phylogénétique ne répondrait pas à toutes les questions. Après la découverte de la totalité du génome humain, Julian Davies indiquait que le décodage du génome humain n'était pas suffisant pour comprendre la biologie humaine car la flore microbienne affectait de façon importante la vie humaine. En effet, il prédit que ces bactéries pourraient être porteuses de 2 à 4 millions de gènes non caractérisés additionnés aux 30 000 gènes humains. Quelques mois plus tard, Rleman and Folkow appellent à réaliser un second projet sur le génome humain pour entreprendre une étude métagénomique des communautés bactériennes de la bouche, du tractus intestinal, de l'appareil reproducteur et de la peau. Dans un même temps, Handelsman invente le terme métagénome et Joshua Lederberg (Lauréat du prix Nobel) le terme de microbiome. Ces 2 termes désignent l'ensemble du génome de tous les membres de la communauté.

Aujourd'hui, les études de métagénomiques ont permis l'identification d'un grand nombre de micro-organismes de notre tractus intestinal. C'est pourquoi l'approche métabolomique est aujourd'hui envisagée. Elle intègre des informations intéressantes sur l'état de la cellule cible (modifications géniques, post-transcriptionnelles, signalétiques...) qui vont refléter son phénotype physiologique ou pathologique. Le microbiote exerce une fonction métabolique importante dans l'intestin. La métabolomique étudie donc le profil métabolique des micro-organismes en évaluant les métabolites qu'ils produisent. Cependant, les changements de concentrations des métabolites obtenus sont soumis à des variations relatives à des agents extérieurs tels que l'alimentation ou encore les médicaments. Ceci étant considéré, l'étude du profil métabolique du microbiote intestinal reste un élément de choix pour apprécier l'interaction nutriments, métabolisme intestinal et composition du microbiote dans des conditions physiologiques et pathologiques [4][5].

L'étude du microbiote intestinal connaît un regain d'intérêt considérable depuis ces dernières années. Le développement des nouvelles techniques d'études du microbiote permet de déterminer de mieux en mieux la composition et le rôle de la flore intestinale dans les conditions physiologiques ou pathologiques même si il reste encore beaucoup de recherches à réaliser sur le sujet.

B. Définition

Le microbiote ou flore représente l'ensemble des micro-organismes qui colonisent notre tube digestif. La grande majorité des micro-organismes réside dans notre intestin et prend le nom de microbiote intestinal (flore intestinale). Il est constitué principalement de bactéries, mais aussi minoritairement d'archées, de levures et de virus. Les micro-organismes sont dix fois plus nombreux que nos cellules (10^{14} bactéries contre 10^{13} cellules). Véritable forme de commensalisme, les bactéries présentes dans notre tractus digestif perdurent par la consommation de produits alimentaires ou issus de la desquamation de nos tissus et par cela même, nous permettent d'exercer les mécanismes physiologiques nécessaires pour assurer notre bonne santé. C'est pourquoi le microbiote et plus largement l'intestin est aujourd'hui considéré comme un organe à part entière [7][8].

C. Composition du microbiote intestinal

a. La composition en chiffres

Le microbiote intestinal est constitué de plus de 100 000 milliards de bactéries, 10 fois plus que le nombre de cellules de l'organisme, plus de 1000 espèces différentes représentant un poids d'environ 1 à 2 kg et 3.3 millions de gènes (150 fois plus de gènes que le génome humain) [7][8].

b. Spécificité anatomique du microbiote intestinal

Dans le tractus intestinal humain, la distribution spatiale du microbiote s'étend selon deux axes, l'un longitudinal (de la cavité orale jusqu'au rectum) et l'autre radial (de la lumière intestinale jusqu'à la couche du mucus en contact avec les cellules épithéliales).

❖ Axe longitudinal

La densité de bactéries augmente tout le long du tractus intestinal humain si on excepte la cavité orale [9]. Au niveau de l'estomac, la densité bactérienne est de 10^{2-3} cellules/mL. Cette densité reste relativement faible tout le long du tractus intestinal proximal : 10^{3-4} cellules/mL dans le duodénum, 10^{4-5} cellules/ml dans le jéjunum et 10^{6-8} cellules/ml dans l'iléon. Cette faible densité peut-être expliquée par le faible pH gastrique, le flux luminal rapide qui limite la croissance bactérienne, les acides biliaires qui sont sécrétés dans le duodénum et qui possèdent un fort pouvoir bactéricide et la sécrétion d'immunoglobulines de type A (IgA) qui limitent la pénétration des bactéries dans le mucus et donc augmentent l'élimination des bactéries par péristaltisme [9]. Enfin, de nombreux antimicrobiens synthétisés par les cellules épithéliales exercent leurs actions sélectivement sur différentes bactéries. A l'inverse, au niveau du tractus intestinal distal, les propriétés du colon permettent la prolifération bactérienne (pH neutre, faible concentration d'acide biliaire, temps de rétention plus long...). La densité peut excéder 10^{11} cellules/mL. Cette population bactérienne n'est pas capable de remonter jusqu'à l'iléon du fait de la présence de la valve ileo-caecal qui limite le reflux [8].

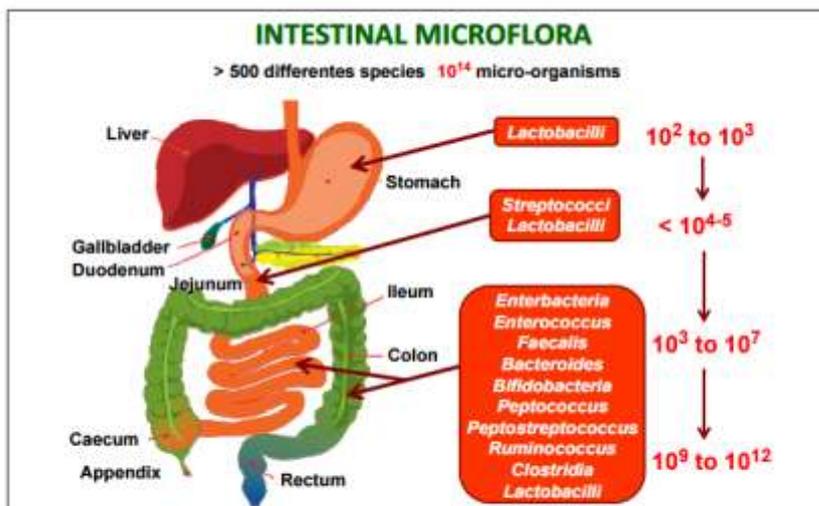


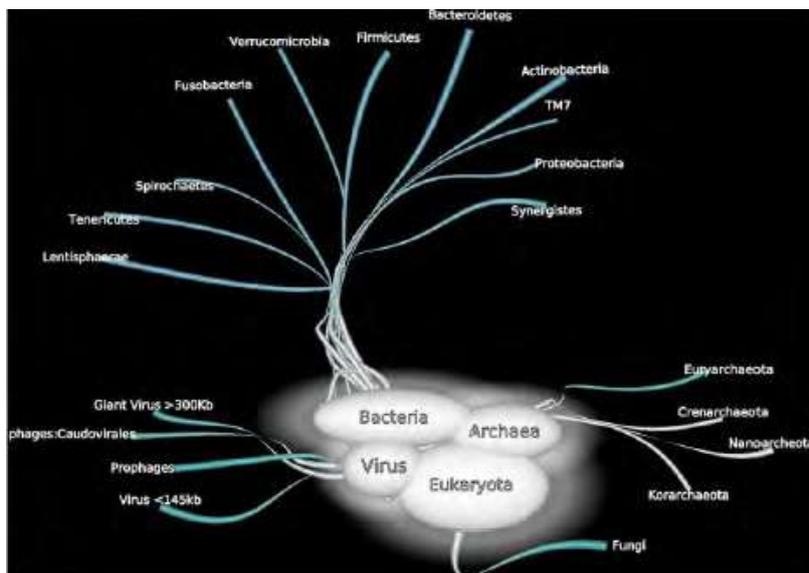
Fig. 1. Spatial and longitudinal variations in microbial numbers and composition across the length of the gastrointestinal tract. The human microbiota contains as many as 10^{14} bacterial cells, whose number that is 10 times greater than the number of human cells present in the bodies. The number of bacterial cells present in the mammalian gut shows a continuum that goes from 10^2 to 10^9 bacteria per gram of contents in the stomach and duodenum, progressing to 10^6 to 10^8 bacteria per gram in the jejunum and ileum and culminating in 10^9 to 10^{12} cells per gram in the colon.

Figure 2 : Représentation spatiale et longitudinale de la composition et du nombre de bactéries dans le tractus gastro-intestinal [8].

❖ Axe radial

L'organisation radiale pourrait permettre la détermination d'espèces résidentes étroitement liées à la couche du mucus elle-même étroitement liée aux cellules épithéliales intestinales, alors que des espèces transitoires sont localisées dans la lumière intestinale et se retrouvent au niveau des selles. L'anatomie du tractus intestinal contient d'importantes variations locales qui peuvent fournir des niches pour les espèces résidentes. Chez l'Homme, le petit intestin et le colon proximal contiennent des plis circulaires ou semi-circulaires qui se projettent dans la lumière intestinale et sont perpendiculaires au sens du courant fécal. Leurs rôles ne sont pas encore clairement connus (ralentir le transit intestinal) mais ils présentent des niches écologiques.

c. Présentation des microorganismes de notre intestin.



De manière générale, le microbiote intestinal se compose de nombreux microorganismes aux diverses origines : bactéries (92.76%), virus (5.8%), archées (0.8%), levures et fungi.

(NB : Référence de la figure 3 : [6].)

Figure 3 : Schéma synthétique des microorganismes de l'intestin.

❖ La flore bactérienne

Sa composition est la plus étudiée. Elle est principalement constituée de bactéries anaérobies mais il existe aussi des bactéries anaérobies facultatives ou aérobies. Elle peut être divisée en trois parties ; La flore dominante (99% des bactéries), la flore sous-dominante et la flore allochtone (de passage).

a) La flore dominante et sous dominante [2][8]

L'analyse en biologie moléculaire de l'ARN 16S bactérien a identifié 4 phyla majoritaires dans le tractus intestinal : Firmicutes et Bacteroidetes (> 90%), Actinobactéries (<10%), et Protéobactéries. 95% des bactéries de notre tractus digestif sont anaérobies et près de 80% sont Gram positives.

✓ Le phylum des Firmicutes (flore dominante)

Les Firmicutes sont des bactéries Gram positives et constituent l'un des principaux phylums des bactéries. Leur diversité est très importante que ce soit sur leurs formes (coccoïde, spiralé...), leurs métabolismes (aérobie, anaérobie) ou leurs formes de résistances (présence ou absence de spores). Ce phylum contient 3 classes : *Bacilli*, *Clostridia* et *Mollicutes*. Au

niveau des selles, les phylotypes les plus abondants sont représentés dans les 2 principaux groupes des *Clostridium*, le groupe IV et XIVa. Le groupe IV représente environ 20% du microbiote. L'espèce prédominante est *Faecalibacterium prausnitzii* qui possède un large éventail d'enzymes pouvant métaboliser les carbohydrates pour former du butyrate et du lactate. Le groupe XIVa représente comme le IV environ 20% du microbiote intestinal et est composé d'une collection disparate de genres et d'espèces de bactéries. Les genres les plus abondants retrouvés dans les selles sont : *Roseburia* et *Ruminococcus* ainsi que la famille des Lachnospiracées comprenant les genres *Eubacterium* et *Clostridium*.

✓ Le phylum des Bacteroidetes (flore dominante)

Ce phylum comporte 3 classes : *Bacteroidales* (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*) *Flavobacterium* et *Sphingobacterium*. Les espèces les plus représentées sont les *Bacteroides* qui représentent le groupe le plus important de bacilles Gram négatives anaérobies avec par exemple *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides caccae* et *Bacteroides thetaiotaomicron*. Cette dernière bactérie est connue pour être impliquée dans des fonctions bénéfiques pour l'hôte, tel que l'absorption des nutriments, la maturation et la maintenance des cellules épithéliales.

✓ Le phylum des Actinobactéries (flore dominante)

Les deux genres retrouvés en abondance dans les selles sont *Bifidobacterium* et *Collinsella*. Ce phylum est composé d'organismes Gram positifs. Il est composé de bactéries morphologiquement différentes, des formes coccoïdes (*Micrococcus*), cocco-bacillaire (*Arthrobacter*) et des formes pouvant présenter des hyphes (*Nocardia*).

✓ Le phylum des Protéobactéries (entérobactéries) (flore sous dominante)

Les protéobactéries sont minoritaires par rapport aux autres genres (8%) et sont représentées par les genres *Escherichia*, *Desulfovibrio* et *Helicobacter*.

✓ Autres phyla (flore sous dominante)

D'autres phyla sont représentés mais en faible quantité, il s'agit du phylum des Verrucomicrobia avec comme espèce *Akkermansia mucinophila* et du phylum des Fusobactéries.

✓ Les Archées (flore sous dominante)

Les Archées ont été découvertes vers la fin des années 70 dans des environnements extrêmes. Elles sont assez similaires en taille et en forme aux bactéries et elles appartiennent aux procaryotes. Cependant, elles possèdent des propriétés métaboliques et génétiques proches des eucaryotes. On peut citer les espèces de *Methanobrevibacter*. Ces procaryotes sont capables de produire du méthane dans des conditions d'anaérobie. Cette production est importante pour prévenir l'accumulation d'acides et de produits de fin de réaction dans l'intestin.

b) La flore allochtone

En outre, il existe des micro-organismes de passage dans notre tractus digestif. Ce sont le plus souvent des levures ou des bactéries lactiques mais aussi certains pathogènes. Les plus communes sont les levures issues des espèces *Candida* et *Saccharomyces*. Néanmoins la diversité de ces organismes est encore très sous-estimée.

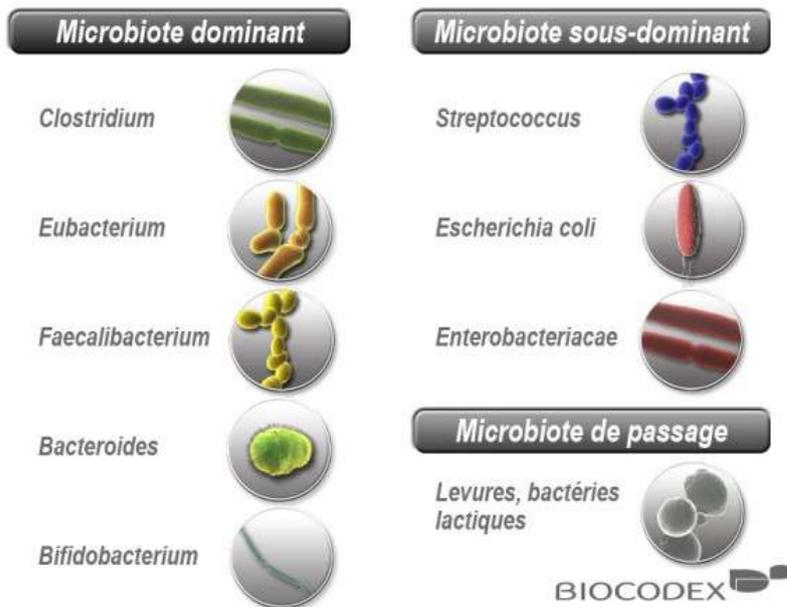


Figure 4 : Schéma synthétique des types de microbiote [6].

❖ Les virus

Après la communauté bactérienne, les virus sont considérés comme l'espèce la plus abondante au niveau intestinal. Pour l'instant, peu d'études ont été réalisées mais on retrouve la présence majoritaire de phages et de prophages. On estime le nombre de phages à 10^{12} à 10^{13} particules par microbiote qui sont répartis dans environ une centaine d'espèces dont le taxon prédominant appartient à la famille des Podoviridés [2].

❖ Autres : les eucaryotes

L'étude complète du composant eucaryote dans le microbiote intestinal n'en est qu'à son début, loin derrière l'étude des bactéries. Les premières études ont été réalisées sur les parasites présentant une pathogénicité certaine (*Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*). Chez l'adulte sain, ils représentent environ 0,5% de la flore microbienne intestinale, les champignons ainsi que le genre *Blastocystis* sont les eucaryotes dominants [2].

D. Mise en place du microbiote intestinal

a. Etablissement du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal s'acquiert à la naissance. En effet, le nouveau-né naît stérile et son tractus digestif est colonisé dès l'accouchement par la flore de sa mère : vaginale (lactobacilles) et fécale (entérobactéries et bifidobactéries). Cette colonisation est donc régie par les microorganismes de l'entourage de l'enfant (transmis lors de gestes affectifs, allaitement) mais également par des facteurs environnementaux (alimentation, hygiène). En outre, les premières bactéries qui nous colonisent sont aéro-anaérobies facultatives telles qu'*Escherichia coli*, des entérocoques ou encore des staphylocoques[4]. Elles consomment l'oxygène présent dans le tractus digestif de l'enfant favorisant ainsi l'implantation de bactéries anaérobies strictes du genre Firmicutes (*Clostridium*) ou encore des *Bifidobacterium* ou *Bacteroides*, par exemple [4]. Le nouveau-né est ensuite continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées de l'adulte. Vers l'âge d'un mois, la flore intestinale présente une majorité de bifidobactéries chez tous les enfants, ainsi que la présence d'*E.coli* et *B. fragilis*, la présence de lactobacilles

et de *C. difficile* est moins constante. C'est entre 2 et 4 ans que la composition du microbiote de l'enfant se stabilise. L'individu a alors constitué un microbiote qui lui est propre et le définit. Cependant, certaines données viennent perturber cette chronologie. En effet, la présence de bactéries dans le méconium et le liquide amniotique laisse à penser que le nouveau-né est au contact d'espèces bactériennes avant la naissance [1][3][4][10].

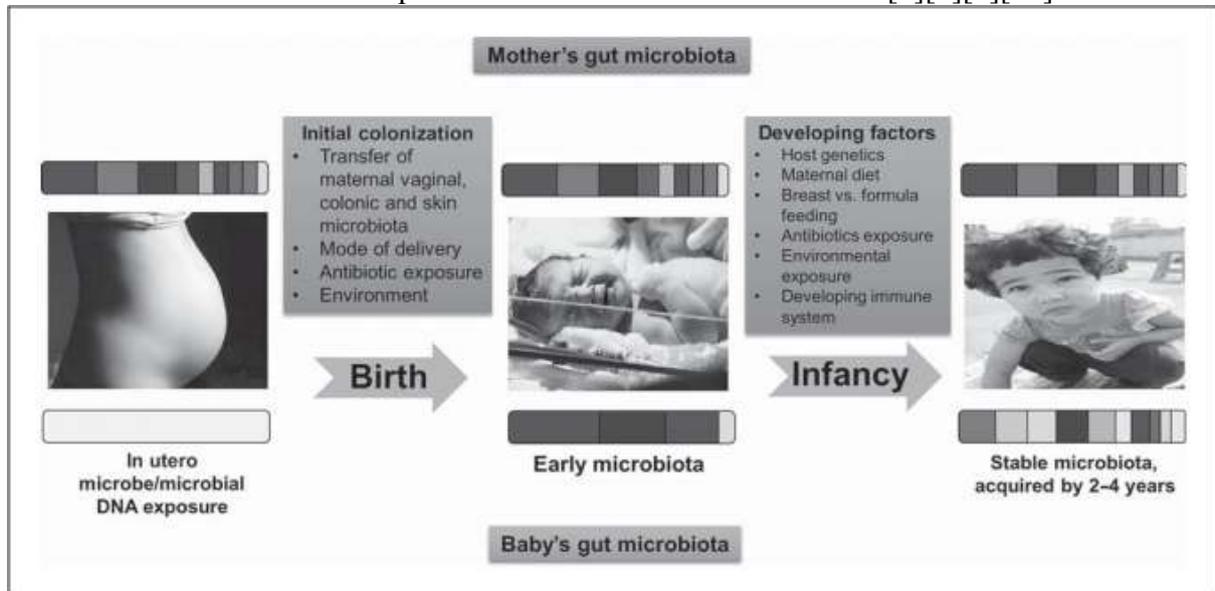


Fig. 1. Development of gut microbiota in a neonate. The fetal gut in utero is exposed to microbial DNA and potentially maternal microbes. After birth, it is rapidly colonized by bacteria transferring from maternal vaginal, colonic and skin microbiota dependent on the mode of delivery and antibiotic exposure. Environmental factors may also play a role in the acquisition of microbes including: the presence of microbial populations in the place of birth and skin microbiota of persons coming in contact with the

baby, like the father's, nurses' or doctors'. Colonization continues to increase the quantity and diversity of bacterial species in the gut and is influenced by various developing factors including: the baby's host genetics, maternal diet, breast or formula feeding, antibiotics and environmental microbial exposure, as well as the developing immune system. Such microbiota becomes more stable and is acquired by the age of 2-4 years.

Figure 5 : Développement du microbiote intestinal chez le nouveau-né.

b. Facteurs influençant la mise en place du microbiote intestinal.

❖ Les facteurs génétiques

La composition du microbiote intestinal de jumeaux monozygotes est proche et semble témoigner de l'intervention de facteurs génétiques dans l'implantation et la qualité de la flore [4].

❖ Les facteurs environnementaux

a) Influence du mode d'accouchement :

Les enfants nés par voie basse présentent une flore proche de la flore vaginale de leurs mères (*Lactobacillus*, *Prevotella*) alors que les enfants nés par césarienne présentent une communauté bactérienne proche de celle de la peau (*Staphylococcus*, *Corynebacterium* et *Propionibacterium*). Chez le nouveau-né âgé d'un mois, la différence de composition est toujours importante, l'accouchement par césarienne est associé à une plus faible colonisation par des bifidobactéries et *Bacteroides fragilis* et à une plus forte colonisation par des *Clostridium difficile* [4][10].

b) Influence de la date du terme de la grossesse :

Chez les nouveau-nés prématurés, deux observations ont pu être mises en évidence. D'une part, un retard de colonisation important par rapport aux enfants arrivés à terme ainsi qu'un nombre réduit d'espèces bactériennes. Si la flore aérobie colonise assez rapidement le

prématuré, la flore anaérobie (*Bifidobacterium* et *Bacteroides*) est retardée (environnement de soins intensifs très aseptisé et fréquemment soumis à une antibioprofylaxie à large spectre) [4][10].

c) Influence de l'environnement :

L'environnement joue un rôle important dans la mise en place de la colonisation intestinale. Certaines études ont mis en évidence une colonisation par les bifidobactéries plus fréquentes et à un niveau plus important chez les enfants nés dans les pays en voie de développement (liée aux conditions plus strictes d'hygiène dans les pays industrialisés) [4][10].

d) Influence du mode d'alimentation :

La flore qui s'implante chez le nouveau-né allaité est moins diversifiée que celle d'un nouveau-né nourri au lait artificiel. La différence la plus notable est la colonisation dominante avec le genre *Bifidobacterium* chez le nouveau-né allaité. Parallèlement, l'implantation des entérobactéries, mais surtout des *Clostridium* et des *Bacteroides* est retardée et/ou se fait à un niveau moins élevé. En revanche, dès la fin de l'allaitement, ou l'instauration d'une alimentation mixte, la flore prend rapidement un profil de flore de nouveau-né nourris au lait artificiel [4][10].

e) Influence de l'antibiothérapie :

L'administration orale d'antibiotiques (principalement l'amoxicilline) mais aussi d'antifongiques (le miconazole) à l'enfant pendant le premier mois de vie a montré une diminution du nombre de *Bifidobacterium* et de *Bacteroides fragilis* [4][10].

E. Stabilité du microbiote intestinal

La composition de la flore microbienne dominante semble constante pour un même individu dans le temps[2]. De même, les phylums majeurs sont présents chez tous les individus avec des proportions qui varient entre individus mais le plus souvent restent dans les mêmes équivalents logarithmiques. Cette stabilité de communautés est supérieure au niveau du colon comparativement à l'iléon. En revanche, en ce qui concerne les souches, la stabilité paraît moins claire et dépendra du sujet ce qui dissimulerait un taux important de renouvellement au niveau des souches. A l'inverse des flores dominantes, la stabilité des phylums faiblement représentés (tels que les *Lactobacillus*) est nettement moins grande dans le temps. Ainsi, la possibilité pour les bactéries lactiques apportées par l'ingestion d'aliments fermentés de survivre pendant le transit doit également être envisagée, conduisant à leur passage transitoire dominant dans l'intestin grêle et le colon [11][2].

Le terme d'eubiose ou normobiose est ainsi employé pour caractériser la stabilité de la flore intestinale et qualifier cette flore de saine (sans pathologie) [11].

Cependant au cours de la vie, un très grand nombre de facteurs (intrinsèques ou extrinsèques) peuvent venir perturber cette stabilité et entraîner des modifications de la composition du microbiote intestinal qu'on nomme alors dysbiose. Cette dysbiose peut alors être à l'origine de dérèglements des fonctions de l'organisme et induire ou entretenir des pathologies.

(NB : référence de la figure 6 : [6])



Figure 6 : Figure humoristique : préservons le microbiote .

F. Fonctions du microbiote intestinal

Il est paradoxal de constater que la communauté microbienne intestinale de chaque individu est fortement spécifique du sujet à l'échelon des espèces bactériennes, alors que les fonctions du microbiote sont hautement conservées entre individus.

Cette communauté microbienne joue un rôle multiple et complexe et exerce ainsi de nombreuses fonctions qui ont des répercussions importantes sur l'hôte.

a. Fonctions métaboliques

Au niveau métabolique, le microbiote possède deux rôles essentiels d'une part la dégradation et la fermentation des substrats alimentaires et d'autre part la régulation de l'extraction et du stockage de l'énergie.

❖ Digestion, absorption et métabolisme

L'une des fonctions physiologiques majoritaire de l'intestin est l'absorption des nutriments. La digestion est engagée dans l'estomac et aboutie dans le jéjunum. L'absorption des nutriments a lieu en majorité dans le jéjunum, l'iléon (vitamine B12, sels biliaires) et le côlon (eau, électrolyte). Les micro-organismes de notre tractus intestinal fournissent de nombreuses enzymes qui participent à ce processus. Ainsi ces enzymes contribuent à 3 métabolismes nécessaires à la digestion : le métabolisme des glucides, le métabolisme des lipides et le métabolisme des protéines [2] [7].

a) Le métabolisme des glucides

Il va aboutir à partir de l'hydrolyse d'amidon, de cellulose et des xylanes, à la production d'acides gras à chaînes courtes (SCFAs) (butyrate, acétate, propionate) et de gaz intestinaux. Les SCFAs permettent d'apporter de l'énergie à l'organisme et stimuler l'absorption de sodium dans le côlon. Le butyrate est directement consommé par l'entérocyte devenant sa principale source énergétique. Il va également permettre une immuno-modulation de la muqueuse. Le propionate et l'acétate sont absorbés par l'épithélium et redistribués dans la circulation générale. La fermentation bactérienne aboutit à la production d'hydrogène principalement. Il est réutilisé pour la réduction du sulfate par des souches sulforéductrices (*Desulfovibrio*), créant des sulfures toxiques pour l'épithélium intestinal (augmentation de l'apoptose, dommages à l'ADN, déplétion des cellules caliciformes, ulcérations). Le méthane est produit par des archées méthanogènes dont *Methanobrevibacter smithii*. L'élimination des gaz se fait par voie rectale ou pulmonaire [2].

b) Le métabolisme des lipides

Les lipides présents dans le côlon ont plusieurs origines : cycle entéro-hépatique (acides biliaires, hormones stéroïdes), alimentation, desquamation de l'épithélium colique ou bactéries. Les acides gras non absorbés par l'intestin grêle le seront dans le côlon. Le microbiote va participer au métabolisme des lipides, dont les stérols par la conversion de cholestérol en coprostanol, éliminé dans les fèces. Les micro-organismes responsables de cette réaction sont peu connus. Les acides biliaires proviennent du cycle entéro-hépatique et seront déconjugués par les bactéries intestinales. Cette réaction permettra leur réabsorption par la barrière intestinale grâce à l'acquisition de propriétés hydrophobes. Les hormones stéroïdes, comme certains xénobiotiques subissent les mêmes réactions que les acides biliaires sous l'action principale d'*Escherichia coli*, des *Bacteroides* et plus mineurairement des *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium* et *Peptococcus*. D'autre part, les acides gras et les triglycérides sont métabolisés par les lipases du microbiote. Les acides gras insaturés

subissent des réductions mais les acides gras à plus de 22 carbones ne sont pas métabolisés par la flore intestinale [2].

c) Le métabolisme des protéines

Le microbiote intestinal participe au métabolisme des protéines. De nombreuses protéases bactériennes hydrolysent les protéines en acides aminés réutilisés par les micro-organismes (*Veillonella*, *Peptococcus*, *Acidaminococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium*) comme source d'azote et d'énergie. L'activité de ces enzymes est régie par le pH, c'est pourquoi le côlon distal est la zone la plus favorable au métabolisme des protéines. Ces processus de dégradation et de partage des acides aminés entre microorganismes aboutissent à la production d'ammoniac (NH₃) et de SCFAs (propionate, butyrate, acétate) par des réactions de déamination, mais aussi de molécules toxiques telles que le p-crésol et des sulfures [2].

❖ Le métabolisme des xénobiotiques

Le microbiote peut participer au métabolisme de médicaments qui vont subir des processus de modifications proches de ceux des hormones stéroïdiennes. On peut citer notamment l'exemple de la sulfasalazine, pro-drogue transformée en produit actif par les bactéries coliques[12][2].

❖ Le métabolisme minéral et vitaminique

Les micro-organismes du côlon jouent un rôle dans la synthèse de facteurs vitaminiques, dans l'absorption du calcium, du magnésium et du fer. Certaines bactéries ont la capacité de synthétiser des vitamines dont la vitamine K, B2 (riboflavine), B5 (acide pantothénique), B8 (biotine), B9 (acide folique), B12 [2][13].

b. Effet barrière

❖ Protection contre les pathogènes

Le microbiote intestinal exerce des fonctions protectrices vis à vis des pathogènes extérieurs mais également des micro-organismes délétères minoritaires qui le composent (*Clostridium difficile*) via un effet de barrière. En outre, les micro-organismes commensaux vont prévenir des phénomènes de colonisation pathogène par des processus de compétition : métabolismes des nutriments, modification de pH, sécrétion de peptides antimicrobiens, effets sur les voies de signalisation cellulaire (limitation des facteurs de virulence). La production de colicine et microcine (peptides antimicrobiens) par *Escherichia coli*, la synthèse de Ruminococcine A par *Ruminococcus gnavus* dirigée contre *Clostridium difficile*; l'émissions de protéases par *Saccharomyces boulardii* qui digèrent la toxine A de *Clostridium difficile* sont de nombreux exemples de cet effet de barrière exercé par le microbiote intestinal en réponse aux pathogènes. Les effets antibactériens induits par le microbiote améliorent la réponse de l'hôte aux pathogènes [13][14].

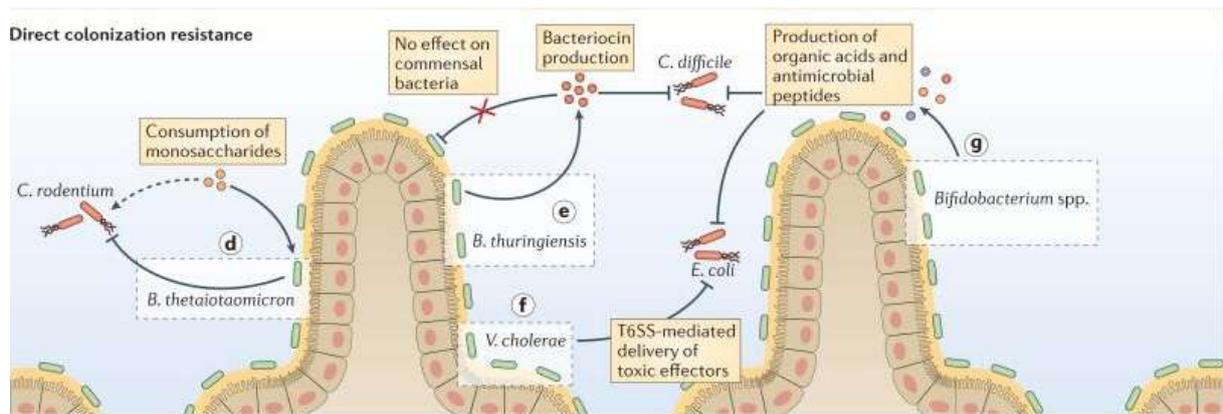


Figure 7 : Fonction de protection du microbiote [15].

❖ Maintien de l'intégrité de la barrière intestinale

D'autre part, le microbiote intestinal est également impliqué dans le maintien de la barrière intestinale. Par exemple, *Escherichia coli*, *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* protègent les cellules épithéliales des effets pro-apoptotiques de certains germes. D'autres microorganismes maintiennent l'intégrité de l'épithélium en régulant positivement des gènes impliqués dans la translocation des jonctions serrées ou le maintien des desmosomes. L'effet de consolidation de la barrière par les bactéries est également un mécanisme de défense dirigé contre les pathogènes invasifs. En effet, des lactobacilles inhibent l'adhésion épithéliale d'*Escherichia coli* entéropathogène en stimulant la synthèse de mucine, renforçant la barrière protectrice de mucus [13][14].

c. Relation hôte-microbiote intestinal

Le microbiote exerce un véritable dialogue avec l'épithélium intestinal sans générer une réaction immunitaire dirigée contre lui. Ce phénomène prend le nom de tolérance orale et s'exerce à plusieurs niveaux. L'épithélium intestinal met en place des systèmes qui font de lui une véritable barrière physique. Le renouvellement continu de la barrière épithéliale (tous les 5 jours), la production de mucus par les cellules caliciformes vont limiter la translocation bactérienne et réduire son contact avec les microorganismes. D'autre part, la présence des plaques de Peyers concourt à la régulation de la population microbienne par la production de peptides antimicrobiens. Les cellules épithéliales participent à cette modulation par les PRR. La régulation de l'expression des PRR permet la mise en place de l'immunotolérance orale. En effet, l'expression de TLR4 (avec son co-récepteur MD2) et de TLR2 est diminuée, la localisation de TLR5 est au pôle basolatéral des cellules épithéliales de l'intestin. De plus, les cellules épithéliales de l'intestin mettent en œuvre des molécules inhibitrices de leur TLR. Par ailleurs, la tolérance orale sollicite des populations régulatrices dans les diverses classes de cellules de l'immunité : les macrophages, les cellules dendritiques, les Lymphocytes B et les Lymphocytes T. Les cellules dendritiques sont des acteurs importants de cette immunorégulation car elles favorisent la réponse lymphocytaire T régulatrice par la production de TGF β . Les cellules dendritiques émettent des dendrites trans-épithéliales qui évaluent la composition du microbiote intestinal et produisent à sa rencontre du rétinol (oxydation de la vitamine A), puissant immuno-modulateur (inhibition de IFN γ , IL-4 et IL-21). Le microbiote intestinal favorise également la réponse T régulatrice. Certaines souches de lactobacilles et bifidobactéries déséquilibrent la balance T helper/T régulateurs au profit des T régulateurs. Le polysaccharide A de *Bacteroides fragilis* inhibe la réponse Th17 et stimule la sécrétion d'IL-10. Le microbiote intestinal maintient l'immuno-régulation par la production de butyrate qui down-régule la synthèse de certaines cytokines pro-inflammatoires

et participe à la protection de la barrière intestinale. De la même manière, des protéases bactériennes inactivent des cytokines pro-inflammatoires en les clivant. C'est le cas de *Porphyromonas gingivalis* qui émet des protéases inhibitrices de l'IL-1 et IL-6. D'autres bactéries du microbiote exercent leur fonction immuno-régulatrice par la modulation des voies de signalisation cellulaire. Par exemple, la co-incubation de *Salmonella enterica* avec *Bacteroides thetaiotaomicron* a montré que *Bacteroides thetaiotaomicron* peut empêcher la translocation de NF- κ B induite par *Salmonella enterica* réduisant ainsi l'inflammation intestinale. La pérennité du commensalisme requiert le développement d'une tolérance immunitaire de l'hôte à la flore commensale. Cet équilibre peut être rompu et donner lieu à l'émergence de pathologies [16][9].

d. Fonction immunitaire

❖ Maturation du système immunitaire

L'étude de souris axéniques et la gnotobiologie ont permis de mettre en évidence la participation du microbiote dans la maturation du système immunitaire. En effet, ces modèles naissent avec des altérations de structures et de fonction du système immunitaire intestinal qui seront rétablies par l'inoculation d'un microbiote. Ces altérations concernent : une accumulation du mucus, un manque de diversification des immunoglobulines, une phagocytose et un chimiotactisme des macrophages diminués, une hypoplasie des plaques de Peyers, une baisse des lymphocytes intraépithéliaux, de faibles niveaux cytokiniques et une angiogenèse perturbée. Il en résulte une intolérance aux antigènes alimentaires chez ces souris. Certaines espèces ont été identifiées comme bénéfiques dans les processus de maturation du système digestif. Ainsi, *Bacteroides thetaiotaomicron* est une bactérie commensale qui a montré des propriétés pro-angiogéniques bénéfiques dans le développement des villosités intestinales ; le polysaccharide A de *Bacteroides fragilis* inhibe les lymphocytes Th17 et augmente la production d'IL-10.

❖ L'interaction système immunitaire-microbiote intestinal [9]

Cette interaction est le reflet de l'effet immunomodulateur que joue la flore intestinale sur le GALT, (Gut-Associated Lymphoid Tissue). Le microbiote possède trois rôles primordiaux sur les systèmes immunitaires intestinal et périphérique :

***Un rôle d'activation du système immunitaire**

***Un rôle de modulation des réponses immunes**

***Un rôle de régulation des réponses permettant à court et long termes une bonne adaptation de celles-ci par rapport à leur environnement.**

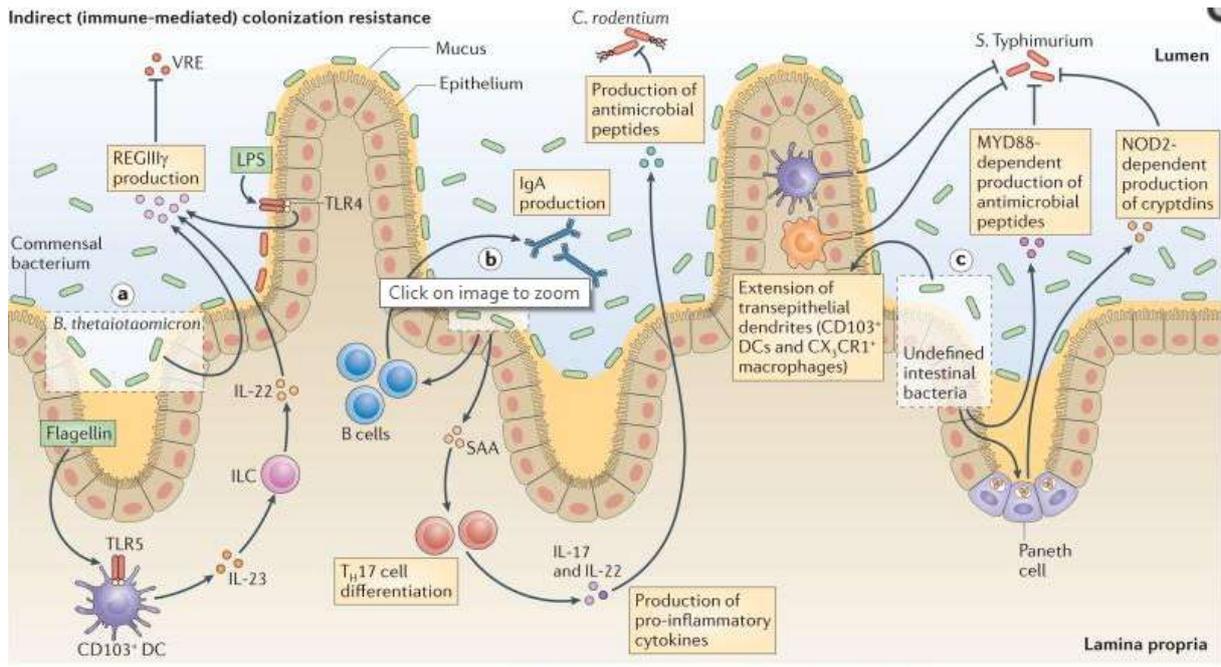


Figure 8 : Interaction entre le système immunitaire et le microbiote dans la protection contre les pathogènes [15].

Ces interactions entre le système immunitaire et le microbiote intestinal seront étayées tout au long de la thèse.

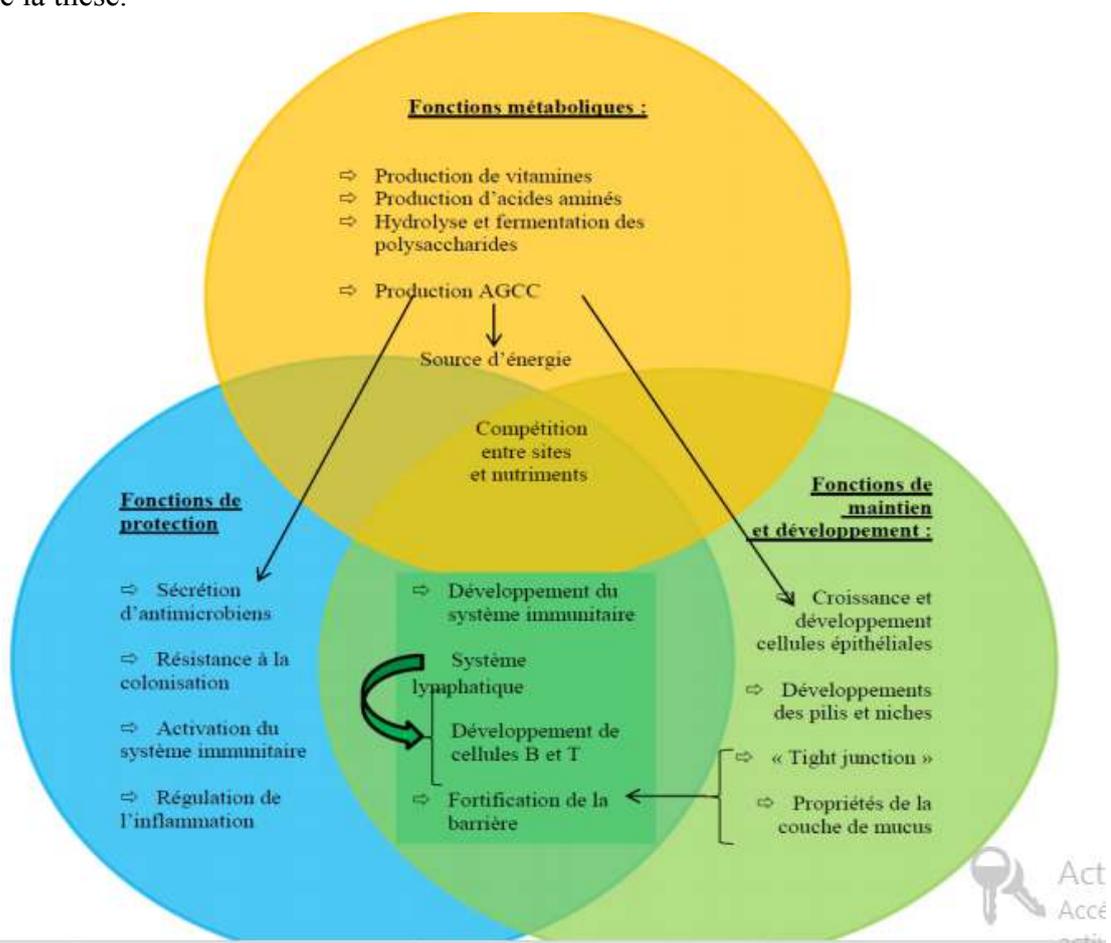


Figure 9 : Représentation schématique des fonctions du microbiote intestinal [6].

II. Les risques de déséquilibre d'une flore intestinale normale.

A. Impact de l'antibiothérapie sur la flore intestinale

Les antibiotiques sont utilisés depuis le début du XXe siècle pour traiter les infections bactériennes. Ainsi ils ont permis de réduire la mortalité et d'augmenter l'espérance de vie de l'homme. Cependant les antibiotiques ayant une action sur les bactéries que ce soit les bactéries néfastes (action recherchée) mais aussi les bactéries commensales (action non recherchée) peuvent déstabiliser la flore intestinale et être à l'origine d'effets indésirables physiologiques, métaboliques et cliniques. Plus grave encore l'usage généralisé des antibiotiques en préventif ou en curatif voir l'usage abusif de certains antibiotiques (agriculture, alimentation animale...) a favorisé l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques posant un problème majeur de Santé Publique, surtout à l'hôpital avec une augmentation du risque nosocomiale.

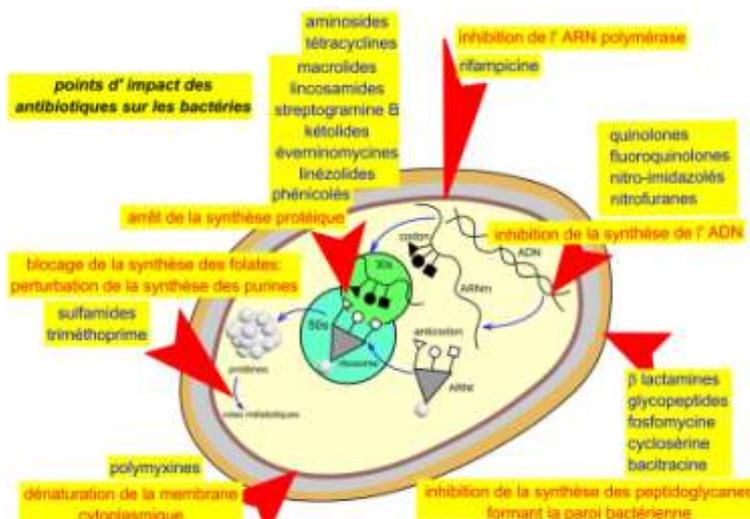
A travers ce chapitre nous ferons un rappel sur les différentes classes d'antibiotiques, nous montrerons les impacts des antibiotiques sur la flore intestinale ainsi que leurs conséquences physiologiques et cliniques et pour finir nous expliquerons l'apparition de ces bactéries antibiorésistantes.

a. Rappels sur les différentes classes d'antibiotiques.

Les antibiotiques sont des molécules bloquant ou détruisant la croissance des bactéries (effet bactériostatique/effet bactéricide) par une action spécifique sur le processus de synthèse de la bactérie. Ils ciblent de préférence des axes métaboliques absents chez les eucaryotes pour ne pas avoir d'effets sur les cellules humaines. Les antibiotiques sont alors regroupés par classes en fonction de leur structure, de leur effet, de leur mode d'activité antibactérienne et de leur spectre d'action ce que nous avons synthétisé dans le tableau A en annexe.

Ce tableau synthétique permet de mettre l'accent sur différents points.

Les antibiotiques représentent un vaste arsenal thérapeutique et sont regroupés en un grand nombre de classes. La majorité des antibiotiques ont un effet bactéricide (β lactamines, Aminosides, Glycopeptides, Macrocycliques, Quinolones, Rifampicine, Isoniazide, Pyrazinamide, Nitroimidazolés, Fosfomycine, Lipopeptides, Polypeptides), les autres étant bactériostatiques (Cyclines, Macrolides, Sulfamides, Ethambutol, Fusidanines).



Au niveau du mode d'action antibactérien on retrouve principalement trois actions, les inhibiteurs de la synthèse protéique (Cyclines, Aminosides, Macrolides...), les inhibiteurs de la réplication cellulaire (Quinolones, Lipopeptides...) et les inhibiteurs de la synthèse de l'enveloppe cellulaire (β lactamines, Glycopeptides...). Ainsi ces

Figure 10 : Mode d'action des antibiotiques.

différentes propriétés confèrent aux différentes classes et sous-classes d'antibiotiques des spectres d'action très variable allant d'un spectre d'action étroit (Glycopeptides, Fusidanes) à un spectre d'action large (Aminopénicillines, Céphalosporines 1° et 2° génération) voir très large (Céphalosporines 3° et 4° génération, Fluoroquinolones) et pour certaines un spectre d'action original (Nitroimidazolés, Macrolides apparentés).

Les antibiotiques ont donc des actions sur les bactéries pathogènes permettant ainsi la guérison d'infections diverses et variées. **Mais qu'en est-il de l'action de ces antibiotiques sur les bactéries commensales et notamment sur la flore intestinale ?**

b. Impact des antibiotiques sur le microbiote intestinal.

L'utilisation des antibiotiques est une stratégie thérapeutique intéressante pour le traitement des infections causées par des bactéries notamment par leur spécificité antimicrobienne. Cependant l'apparition des antibiotiques à large spectre et leurs utilisations massives par les cliniciens pour traiter toutes sortes d'infections quand la bactérie en cause n'est pas clairement définie peut déséquilibrer la flore intestinale commensale.

Rappelons que l'une des actions de la flore intestinale est de protéger l'organisme des agents pathogènes et par conséquent un déséquilibre de cette flore pourrait compliquer la guérison voir faire apparaître des effets néfastes.

Différentes études ont donc été réalisées dans le but de montrer l'action de différents types d'antibiotiques sur la flore intestinale commensale. Ainsi nous avons résumé les principaux impacts des antibiotiques sur la flore intestinale.

❖ Variations de la composition totale et active du microbiote par les antibiotiques.

La composition de la flore intestinale commensale des individus est globalement similaire, bien qu'il existe de nombreuses variations interindividuelles influencées par divers facteurs comme l'âge, la génétique, l'état de santé de l'individu, l'alimentation...

Mais cette flore intestinale initiale, propre à l'individu, va être plus ou moins déstabilisée par les traitements antibiotiques.

Une première étude (étude 1) utilisant une approche méta « omics » (métagénomique, métatranscriptomique, métabiotomique) permet de montrer les effets de différents antibiotiques sur la composition totale et active et la diversité du microbiote intestinal. Les selles de quatre patients sont collectées avant, pendant et après le traitement par antibiotique. Le patient A est traité par moxifloxacine, une fluoroquinolone de 4° génération à très large spectre ayant un effet bactéricide par inhibition de la réplication cellulaire, pendant 13 jours. On observe dans le microbiote total et actif, une grande présence des familles des Lachnospiracées et des Ruminococcacées, une action néfaste sur les *Bacteroides* (par l'effet bactéricide) mais avec une ré-augmentation à la fin du traitement (acquisition de résistance). D'autres sont affectées comme *Faecalibacterium*, *Subdoligranulum*, d'autres résistent comme *Blautia*, *Coprococcus*, *Coprobacillus*, *Collinsella* [17]. Le patient B est traité par clindamycine + pénicilline G à J1 et par clindamycine seule de J2 à J7. La clindamycine est un antibiotique bactériostatique de la classe des Lincosamides, inhibant la synthèse protéique. La clindamycine affecte les bactéries anaérobies (*Bacteroides*, *Blautia*) ce qui entraîne une augmentation de la présence des entérobactériacées (*Escherischia*, *Salmonella*). Mais après 5 jours de traitements les *Bacteroides* sont abondantes (acquisition de résistance) dans le microbiote actif [17]. Le patient C est traité par céfazoline + ampicilline/sulbactam et le patient D par amoxicilline [17]. Ces antibiotiques appartiennent à la famille des β lactamines ayant une activité bactéricide par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. Chez le

patient C on observe une abondance des Oscillibacteriacées, des Ruminococcacées, des Rikenellacées et des Bacteroidacées dans le microbiote totale. On note aussi une augmentation des *Parabacteroides* dans le microbiote actif après six jours de traitements et une augmentation des entérobactériacées (*Escherichia*, *Klebsiella*) après dix jours de traitements (création de pathogènes opportunistes). Chez le patient D on a une diminution des genres présents initialement au profit des *Bacteroides* [17].

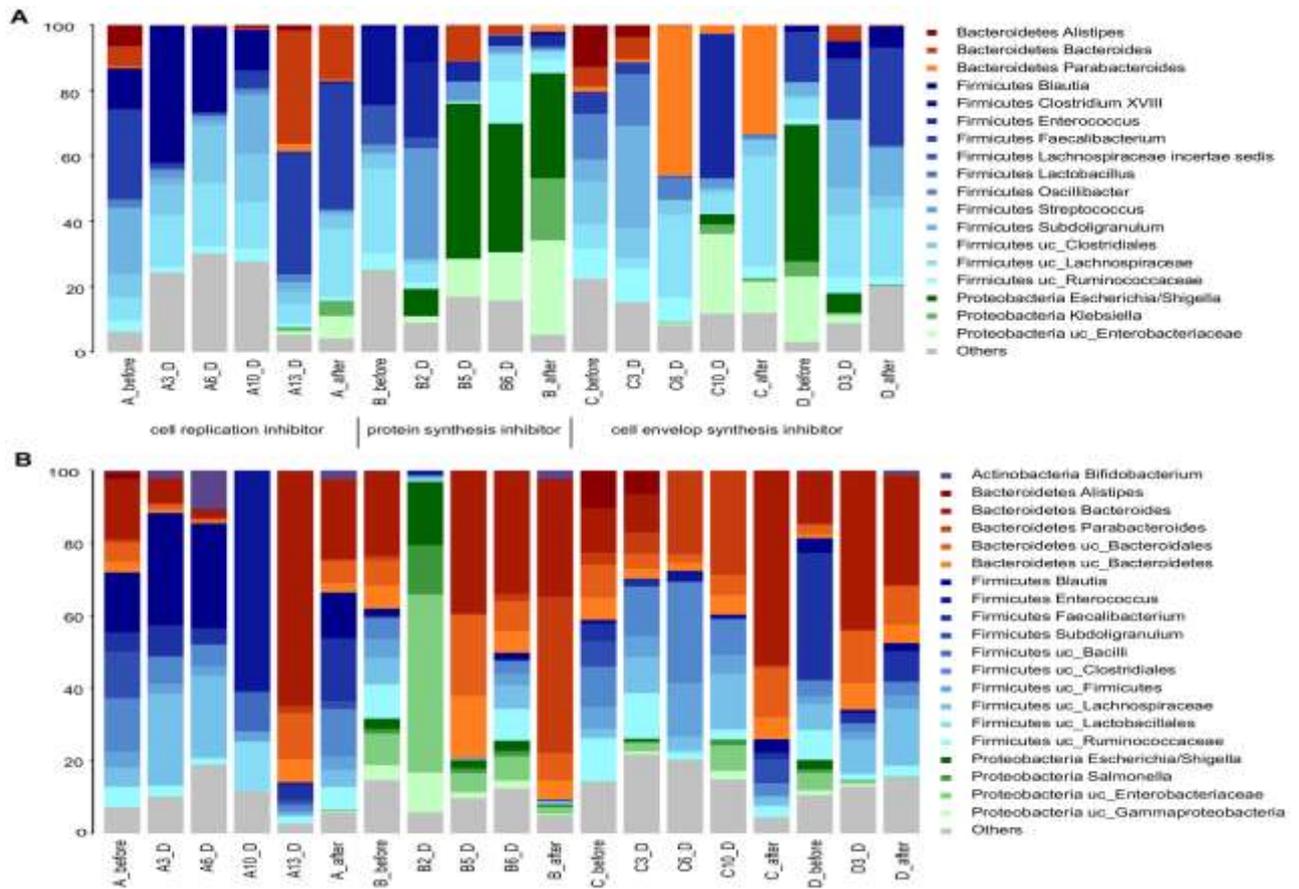


Figure 11 : Composition du microbiote des patients A, B, C et D. (A) microbiote total (B) microbiote actif [17].

D'après cette première étude on voit clairement que les antibiotiques affectent le microbiote total et actif intestinal entraînant l'apparition d'une flore intestinale transitoire.

Une autre étude (étude 2) est réalisée sur un homme de 68 ans, poly-médicamenté, atteint d'une infection du stimulateur cardiaque. On lui administre ampicilline/sulbactam + cefazoline le jour de l'admission puis céfazoline seule pendant 14 jours. Les selles sont collectées aux jours 3, 6, 11 et 14 du traitement antibiotique et au jour 40 après l'admission [18].

Les premiers jours du traitement, la flore intestinale totale est majoritairement constituée du phylum des Firmicutes jusqu'au jour 11 où les Firmicutes disparaissent au profit des Bacteroidetes (*Parabacteroides* et *Bacteroides*) et des β -protéobactéries. Les Lachnospiracées et Ruminococcacées sont les familles abondantes aux jours 3 et 6. Les Firmicutes représentent le phylum le plus actif au début du traitement mais à partir du 14^e jour les Bacteroidetes deviennent le phylum le plus actif. On voit ici que ces deux antibiotiques de la famille des β -lactamines, antibiotiques bactéricides inhibant la synthèse du peptidoglycane de la paroi cellulaire entraînent un remaniement important de la flore intestinale totale et active [18].

Une troisième étude (étude 3), randomisée, double aveugle, placebo contrôlé, réalisée sur 34 jeunes volontaires âgés de 19 à 37 ans étudie les effets de l'administration d'une dose de 40

mg de doxycycline par jour pendant 16 semaines sur la flore intestinale. La doxycycline est un antibiotique bactériostatique à large spectre inhibant la synthèse protéique des bactéries [19]. Au niveau de la flore intestinale aérobie on note un changement dans le nombre des entérocoques et d'*Escherichia coli* pendant les 16 semaines dans le groupe doxycycline. Le reste des microorganismes n'étant pas affecté. Dans le groupe placebo on a un changement dans le nombre des entérocoques pendant 4 semaines, aucune variation dans les entérobactéries et *Candida*, par contre les autres micro-organismes augmentent au cours des 8 premières semaines. Au niveau de la flore intestinale anaérobie on ne note pas de changement significatif dans les deux groupes sur les *Lactobacillus*, les *Bifidobacterium*, *Clostridium* et les *Bacteroides* [19]. Ici l'impact écologique de l'antibiotique reste mineur.

On ne pourrait pas citer toutes les études mais on voit déjà à partir de ces exemples que l'utilisation d'un antibiotique modifie la flore intestinale initiale commensale au profit d'une flore intestinale transitoire avec une abondance de certaines espèces voir l'apparition de nouvelles espèces et la diminution d'autres espèces voir la disparition de certaines espèces. On remarque que les antibiotiques à large spectre entraînent globalement des changements similaires dans le microbiote actif avec des changements dans le rapport Firmicutes/Bacteroidetes, la diminution d'une famille étant au profit de l'autre famille. Il est à noter aussi que la diversité bactérienne diminue ainsi que l'abondance de ces bactéries au cours du traitement. Ces variations de la flore intestinale sont plus ou moins importantes allant d'un impact écologique mineur (doxycycline) à majeur (céfazoline).

❖ Influence de facteurs propres à l'antibiotique.

Les antibiotiques sont regroupés par classes en fonction de leur effet antimicrobien, leur mode d'action, leur structure... Voyons si les caractéristiques des antibiotiques ont un effet commun sur les modifications de la flore intestinale.

Sur l'étude 1, il est montré que les facteurs propres à l'antibiotique influençant le microbiote sont l'effet antimicrobien (bactériostatique ou bactéricide) et le mode d'action. Il a été trouvé que le mode d'action affecté certains organismes plus que d'autres donnant cette flore intestinale transitoire [17].

La clindamycine affecte plus la composition du microbiote que les autres agents ceci étant dû à son effet bactériostatique comparé à l'effet bactéricide des autres agents antimicrobiens.

Au niveau du microbiote actif, c'est-à-dire les communautés survivantes, la composition bactérienne est plus affectée par le mode d'action que par l'effet antimicrobien distinguant les trois modes d'action (inhibition de la synthèse de l'enveloppe cellulaire, inhibition de la synthèse protéique et inhibition de la réplication cellulaire) (annexe B). Au niveau fonctionnel, le profil de la communauté microbienne est plus conduit par l'effet antimicrobien que par le mode d'action [17].

Ainsi les propriétés spécifiques de l'antibiotique comme le mode d'action ou l'effet antimicrobien sont des forces puissantes pour la sélection du microbiote intestinal et donc partiellement responsables des changements de la composition bactérienne durant l'antibiothérapie.

❖ Transformation de la flore intestinale en un réservoir de souches résistantes.

Suite à un traitement antibiotique, les bactéries pathogènes vont être logiquement éliminées (si elles sont sensibles à l'antibiotique), il en est du même sort pour certaines bactéries commensales. Cependant certaines ne le seront pas possédant des gènes de résistances à l'antibiotique ou d'autres réapparaîtront par acquisition de mécanismes de résistance à l'antibiotique.

Si on analyse de plus près l'étude 1, on voit apparaître chez les patients A, B et C des profils de résistances et des souches résistantes à la fin du traitement voir après le traitement. (annexe C) [17].

Il en est de même avec l'étude 3, on observe une augmentation de micro-organismes résistants à la doxycycline comme *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* dans la flore aérobie et comme les cocci et bifidobactéries dans la flore anaérobie par rapport au groupe placebo [19]. Si on regarde l'étude 2 on voit apparaître en fin de traitement une abondance des *Parabacteroides* et des *Bacteroides*, en effet ces souches de bactéries résistent aux β -lactamines par développement de β -lactamases (enzyme permettant d'inactiver l'antibiotique) [18].

Les traitements antibiotiques courts (étude 1 et 2) ou longs (étude 3) sélectionnent des souches résistantes aux antibiotiques et font apparaître des mécanismes de résistance chez d'autres souches bactériennes. Ceci sera plus approfondi dans la suite.

❖ Promotion de pathogènes opportunistes.

L'utilisation d'antibiotiques permet une action sur une vaste communauté de bactéries pathogènes mais n'épargne pas les bactéries commensales. Le problème est que la suppression de ces membres protecteurs de la flore intestinale par les antibiotiques peut conduire à la croissance de pathogènes opportunistes. En effet certaines bactéries sont présentes dans l'organisme mais ne représentent habituellement aucun danger pour l'homme. Cependant dans certaines conditions comme un état immunodéprimé ou une diminution de la résistance immunitaire de l'hôte ces bactéries opportunistes se développent et deviennent alors néfastes voir dangereuses pour la Santé de l'homme.

Les antibiotiques à large spectre sont dans le collimateur comme la clindamycine, l'ampicilline, l'amoxicilline, l'augmentin, les céphalosporines et les fluoroquinolones en modifiant la flore intestinale commensale peuvent conduire à la croissance de pathogènes opportunistes comme *Clostridium difficile*.

Le patient C de l'étude 1 traité par céfazoline et ampicilline/sulbactam montre une augmentation de la famille des entérobactériacées dont des pathogènes opportunistes comme *Escherichia* ou *Klebsiella* [17].

Une étude (étude 4) examine l'effet de différents antibiotiques sur l'établissement et l'élimination intestinale de *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase (KPC) chez la souris. Il en ressort qu'un traitement par clindamycine ou piperacilline/tazobactam ou tigecycline est promoteur d'une croissance de KPC résistants. En contraste ertapénème, céfépime ou ciprofloxacine ne sont pas promoteur de cette croissance. Cette étude montre que la croissance de KPC résistants est due à une inhibition des bactéries anaérobies de la flore intestinale par les antibiotiques (clindamycine, piperacilline/tazobactam et tigecycline) [20].

On conclue donc que la suppression de certaines souches protectrices de la flore commensale lors d'une antibiothérapie peut conduire au développement de pathogènes opportunistes à l'origine d'effets cliniques pouvant être graves.

❖ Effet des antibiotiques sur la diversité, la richesse et la restauration de la flore intestinale post traitement.

Il est maintenant établi que les antibiotiques modifient la composition de la flore bactérienne intestinale au cours du traitement. Mais il est intéressant d'étudier cette flore transitoire après le traitement.

En regardant l'étude 2, un prélèvement 40 jours après l'arrêt du traitement antibiotique montre que la flore intestinale totale et active a une tendance générale à redevenir comme la flore initiale J0 avec cependant certaines disparitions chez les Actinobactéries (*Slackia* et *Bifidobacterium*), les β -protéobactéries (*Gemmiger*), les Streptocoques (*Streptococcus*), les Lachnospiracées (*Roseburia*), les Porphyromonadacées (*Barnesiella*) et les Clostridiales (*Eubacterium* et *Subdoligranulum*). La diversité bactérienne diminue durant le traitement antibiotique et atteint un minimum au jour 11. La diversité et la richesse de la flore intestinale redevient uniforme après le traitement antibiotique mais certaines espèces bactériennes ont quand même disparues [18].

(NB : Source de la figure 12 : [18])

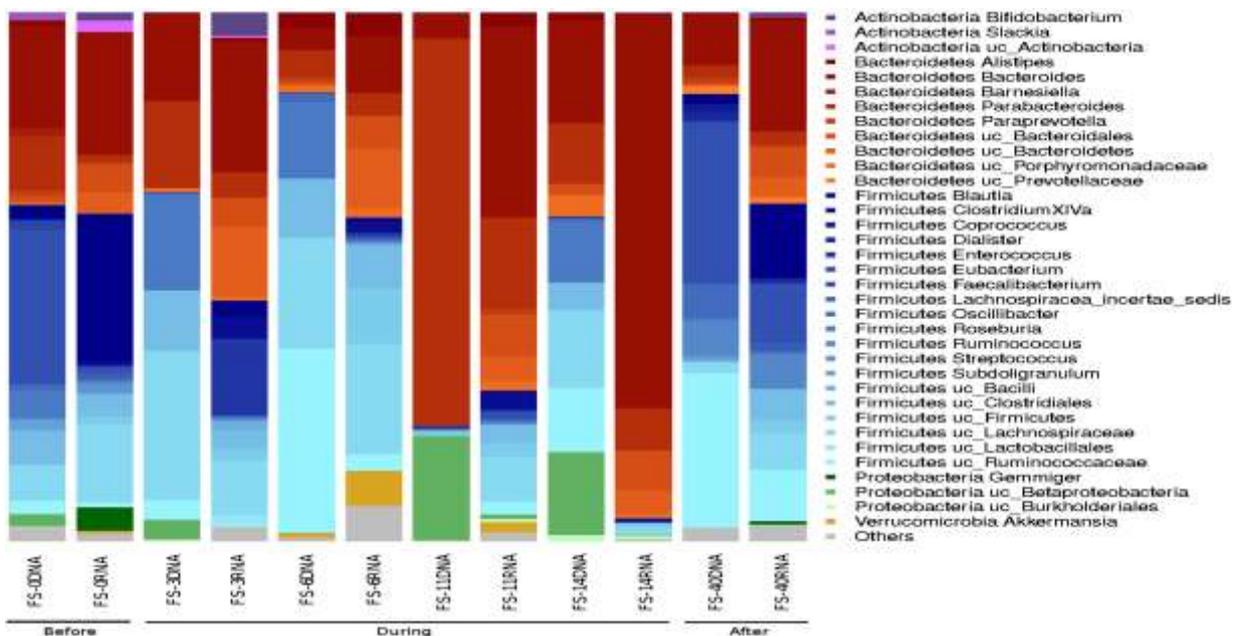


Figure 12 : Composition bactérienne active et totale des selles collectées à J0, J3, J6, J11, J14 et J40.

D'autres études ont montrées que l'administration d'un cocktail d'antibiotiques (amoxicilline, métronidazole, bismuth) une fois par jour pendant 10 jours entraînait des modifications dans les communautés microbiennes avec une restauration de la flore intestinale 2 semaines après le traitement. A l'inverse un traitement avec céfoperazone a un effet long terme sur la communauté microbienne avec une réduction de la diversité bactérienne [7].

Dans l'étude 3, suite au traitement par la doxycycline la flore anaérobie et aérobie redeviennent normales à la semaine 20 (4 semaines post traitement), mais avec une colonisation émergentes de microorganismes résistants à la doxycycline [19].

Les antibiotiques peuvent donc entraîner des modifications dans les communautés microbiennes réduisant ainsi la richesse et la diversité au cours du traitement. Dans la plupart des cas ces modifications sont restaurées après les traitements antibiotiques par contre dans certains cas on observe des effets à long terme voir la disparition de certaines espèces ou encore l'apparition d'espèces résistantes.

Les antibiotiques utilisés dans diverses infections bactériennes pour éliminer les pathogènes bactériens ont aussi un impact sur la flore commensale. En effet au cours d'une antibiothérapie on observe une modification plus ou moins importante du microbiote intestinale. Ces effets sont influencés par différents facteurs, certains propres à l'individu et son environnement mais d'autres dépendant directement de l'antibiotique (effet bactéricide ou bactériostatique, mode d'action...). Ainsi au cours du traitement certains groupes de microorganismes disparaissent et d'autres apparaissent aboutissant à une flore transitoire moins riche et dense que la flore initiale et par conséquent moins protectrice et défensive. Cette flore transitoire peut alors conduire à la sélection ou l'émergence de souches résistantes à l'antibiotique voir à la croissance de pathogènes opportunistes. Après le traitement antibiotique la flore intestinale est restaurée à plus ou moins long terme, selon les antibiotiques et selon les facteurs propres à l'individu, à son état initial mais on observe souvent la disparition des certaines espèces bactériennes.

Mais quelles sont les conséquences physiologiques et cliniques d'une perturbation de la flore intestinale au cours d'un traitement antibiotique ?

c. Conséquences physiologiques et cliniques d'une flore intestinale perturbée par les antibiotiques.

La flore intestinale d'un individu sain est équilibrée, interagit avec l'hôte et possèdent ainsi diverses propriétés comme la protection contre les agents pathogènes, la digestion des polysaccharides, la production de vitamines essentielles, la modulation du système immunitaire... Les antibiotiques perturbent ainsi cette homéostasie en déséquilibrant la flore intestinale commensale initiale aboutissant à une flore intestinale transitoire au cours du traitement. On peut alors se demander quelles sont les répercussions sur les fonctions physiologiques et métaboliques de l'individu et quelles sont les conséquences cliniques.

❖ Modification des fonctions physiologiques et métaboliques au cours d'un traitement antibiotique.

L'étude 1 a étudié l'impact de l'antibiothérapie sur les fonctions métaboliques bactériennes chez les 4 patients. En ce qui concerne les principales fonctions métaboliques, on observe des profils homogènes chez tous les patients. Les catégories les plus abondantes avant, pendant et après le traitement étant la « synthèse protéique », « processus cellulaire », « transport et liaison des protéines », soulignant ainsi l'importance de ces fonctions réalisées par la flore intestinale. Cette homogénéité s'explique par une forte redondance fonctionnelle qui caractérise le microbiote [17].

Cependant si on analyse de plus près les sous rôles métaboliques on trouve une variation de 51% correspondant aux variations inter individuelles, représentant une réponse spécifique au traitement antibiotique. Au total 53 sous rôles diffèrent significativement chez les patients.

En détaillant un peu les analyses, on s'aperçoit que deux sous rôles changent significativement ; « Menaquinone et ubiquinone » sont sous représentés pendant le traitement sauf chez le patient B. « carbohydrates, alcools organiques et acides » sont surreprésentés chez les patients A, B et C et sous représentés chez le patient D. En continuant l'analyse on voit que « PTS : phosphotransférase système » permettant la translocation des carbohydrates est surreprésenté chez les patient A et C. Ce système augmente dans certaines conditions comme le stress bactérien (traitement antibiotique) conférant un avantage lors du traitement en facilitant le métabolisme énergétique et ainsi contrecarrer l'effet néfaste de l'antibiotique sur la croissance des bactéries. Perez-Cobas et son équipe ont aussi montré une augmentation des protéines impliquées dans le métabolisme du pyruvate et la glycolyse et un

meilleur taux d'expression des gènes impliqués dans le métabolisme énergétique pendant un traitement sous β -lactames. On retrouve aussi d'autres changements dans les sous rôles [17]. L'effet bactériostatique de l'antibiotique confère un profil intestinal bactérien spécifique qui est reflété par les changements fonctionnels. En effet chez le patient B la sur représentation de certaines fonctions sont consécutives à l'augmentation des entérobactériacées. Par exemple on a une augmentation de la synthèse des lipopolysaccharides qui sont des composants principaux de la membrane pour beaucoup de bactéries Gram- ce qui leur confèrent une résistance contre l'antibiotique [17]. En ce qui concerne les patients A, C et D qui ont un traitement par un antibiotique bactéricide, ils présentent une grande abondance de Gram + (Ruminococcacées, Lachnospiracées) et de ce fait une augmentation des gènes de formation de l'endospore, un mécanisme typique de résistance des bactéries Gram+ [17] [1].

La nouvelle communauté microbienne formée au cours du traitement antibiotique s'accompagne de changements dans les sous rôles métaboliques favorisant ainsi certaines fonctions métaboliques par rapport à d'autres. Ces fonctions métaboliques sur exprimés sont une réponse au stress bactérien et ont pour but de conférer une résistance à certaines bactéries commensales pour contrecarrer l'effet destructeur de l'antibiotique. Cependant on observe aussi une sous expression d'autres fonctions métaboliques aux conséquences néfastes pour d'autres bactéries. Les fonctions métaboliques modifiées sont le reflet des changements de la communauté microbienne au cours de l'antibiothérapie.

L'étude 2 montre aussi des changements métaboliques. En effet le traitement antibiotique changeant les profils microbiens contribue à l'apparition de profils fonctionnels et métaboliques distincts. L'expression des protéines apparait décroître, une conséquence du traitement antibiotique. Cependant certaines protéines impliquées dans la glycolyse, la décarboxylation du pyruvate, le cycle de l'acide tricarboxylique, le métabolisme du glutamate, la consommation du fer, l'hydrolyse de la GTP et la translation terminale voient leur taux améliorés au début du traitement antibiotique (J6) pour ainsi faire face à un apport de nutriments intermittents et au stress causé par l'antibiothérapie. Ces taux diminuant à la fin et après le traitement. Au cours de traitement il a aussi été montré une diminution de la synthèse de métabolites par les bactéries comme les dérivés d'acides biliaires, de cholestérol et d'hormones, ainsi qu'une diminution de la production de vitamine B12. Ces diminutions pouvant affecter la recirculation entéro-hépatique et le métabolisme des lipides (émulsification, absorption et transport des graisses alimentaires). Ces mécanismes sont rétabli à la fin du traitement [18].

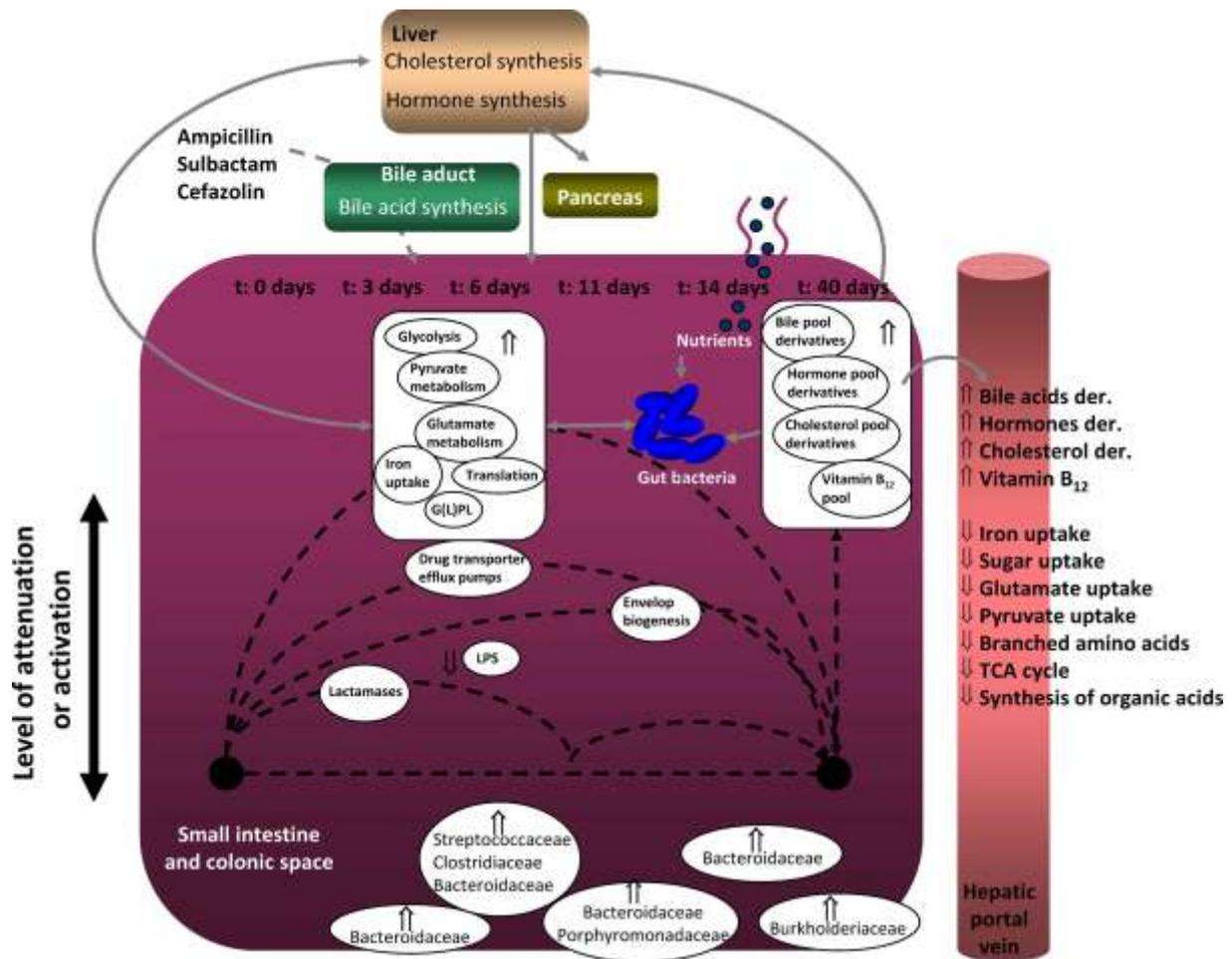


Figure 13 : Modèle présomptif de l'effet des antibiotiques sur la composition microbienne et la fonction métabolique de l'intestin humain [18].

Le traitement antibiotique conduit à l'apparition d'une flore bactérienne transitoire. En réponse à ce stress bactérien induit, certaines fonctions métaboliques vont se développer notamment celle impliquées dans le métabolisme énergétique, l'apport de nutriments et le développement de défenses bactériennes conduisant au maintient d'un profil bactérien spécifique qui reflète ces fonctions sur exprimées. D'autres fonctions métaboliques au contraire seront diminuées entraînant des effets néfastes comme la perte de communautés bactériennes, la diminution de la synthèse de métabolites ou encore la diminution des fonctions bactériennes de réponse immunitaire adaptative.

Il est à noter que ces fonctions sont rétablies progressivement à la fin du traitement antibiotique.

❖ Conséquences cliniques de la perturbation de la flore intestinale.

La flore intestinale est plus ou moins perturbée au cours d'un traitement antibiotique. Dans la plupart des cas les conséquences cliniques sont nulles voir minimales, les signes cliniques disparaissent après le traitement mais dans d'autres cas les conséquences cliniques peuvent être beaucoup plus graves voir récurrentes et difficiles à traiter.

a) Conséquences nulles à modérées

Le déséquilibre de la flore intestinale survenant au cours des traitements antibiotiques peut n'entraîner aucune conséquence clinique. Cependant dans d'autres cas la flore intestinale déséquilibrée va être à l'origine d'effets cliniques non graves mais invalidants comme des effets gastro-intestinaux (douleurs abdominales, nausées, vomissements, diarrhées non sévères, gastralgies) et des candidoses digestives. On retrouvera ces symptômes surtout avec les β -lactamines et les macrolides. Ces symptômes cesseront après l'arrêt de l'antibiotique et un traitement approprié si nécessaire [19].

b) Conséquences sévères à graves

Dans certains cas, notamment chez des personnes immunodéprimées ou à l'hôpital et avec certains antibiotiques comme l'augmentin, le déséquilibre de la flore intestinale et l'apparition de bactéries antibiorésistantes peuvent avoir des conséquences cliniques plus graves.

Prenons l'exemple de quelques bactéries antibiorésistantes ;

Clostridium difficile, une fois dans l'organisme, produit des toxines qui envahissent l'épithélium intestinal à l'origine de diarrhées sévères voir de colite pseudomembraneuses pouvant aller jusqu'au mégacolon toxique. *Clostridium difficile* peut aussi être à l'origine d'infections récurrentes [7][15].

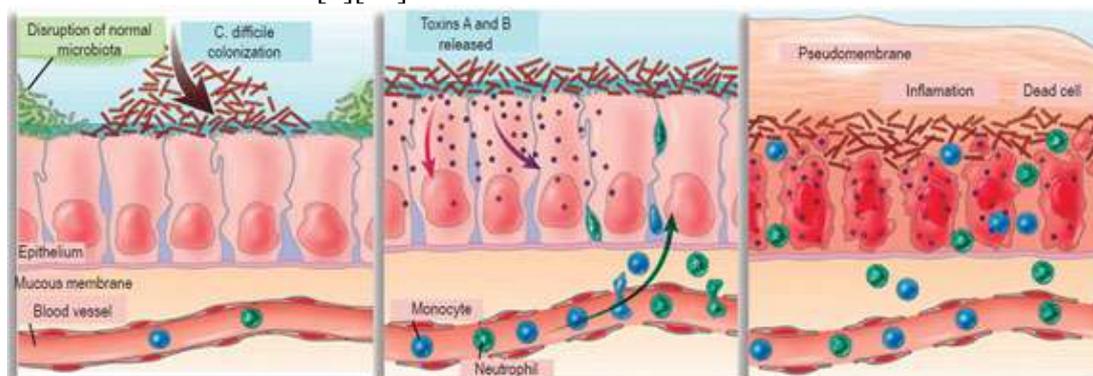


Figure 1. Pathogenesis of *C. difficile* infections. Taken and modified from Reference 2.

Figure 14 : Pathogénicité de l'infection à *Clostridium difficile* [6].

Enterococcus faecium, bactérie opportuniste, va proliférer à haute densité dans certaines conditions, sera transloquée dans les tissus et la circulation sanguine provoquant ainsi une infection sanguine. Les entérobactéries peuvent aussi proliférer et provoquer une bactériémie comme *E.coli* ou *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémases. En effet KPC est à l'origine d'infections communautaires (urinaires et respiratoires) et d'infections opportunistes chez les malades hospitalisés (infections urinaires, broncho-pulmonaires, septicémies avec choc, ...). D'autres peuvent produire des facteurs de virulence provoquant des pathologies assez sévères comme avec *Salmonella enterica* ou *E. coli* entérohémorragique [15].

Au cours du traitement antibiotique, on assiste à la création d'un profil bactérien particulier. Cette communauté transitoire va être à l'origine d'une part de perturbations des fonctions métaboliques et physiologiques de la flore intestinale. Ainsi certaines fonctions seront sur exprimées et d'autres sous exprimées reflétant ce profil bactérien. D'autre part ce déséquilibre

de la flore commensale associé à la diminution de la défense bactérienne commensale peut conduire à l'apparition de symptômes cliniques. Dans la plupart des cas les conséquences cliniques sont minimales se limitant à des troubles gastro-intestinaux non sévères mais dans certains cas et surtout chez des personnes à l'état de santé fragile ou à l'hôpital les conséquences cliniques peuvent être beaucoup plus graves et difficiles à traiter notamment lors de l'apparition de pathogènes antibiorésistants et de la prolifération de pathogènes opportunistes.

Mais par quels mécanismes ces bactéries contrent-elles les effets de l'antibiotique ?

d. Emergence de bactéries antibiorésistantes.

Le traitement antibiotique agit contre les bactéries pathogènes mais aussi contre les bactéries de la flore commensale entraînant un déséquilibre de celle-ci. Hormis les bactéries naturellement résistantes à l'antibiotique, les communautés bactériennes vont décroître au fil du traitement antibiotique. Cependant on assiste à une réapparition de certaines communautés au cours du traitement, ces dernières ayant acquises une résistance à l'antibiotique.

❖ De la résistance naturelle à la résistance acquise.

La résistance aux antibiotiques peut s'exprimer au travers de plusieurs mécanismes : production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique, modification de la cible de l'antibiotique ou encore, imperméabilisation de la membrane de la bactérie.

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques. On parle de résistance innée. Leur patrimoine génétique les rend insensibles à un certain nombre d'agents. C'est par exemple le cas des *Escherichia coli* vis-à-vis de la vancomycine, ou encore de *Pseudomonas aeruginosae* face à l'ampicilline [15].

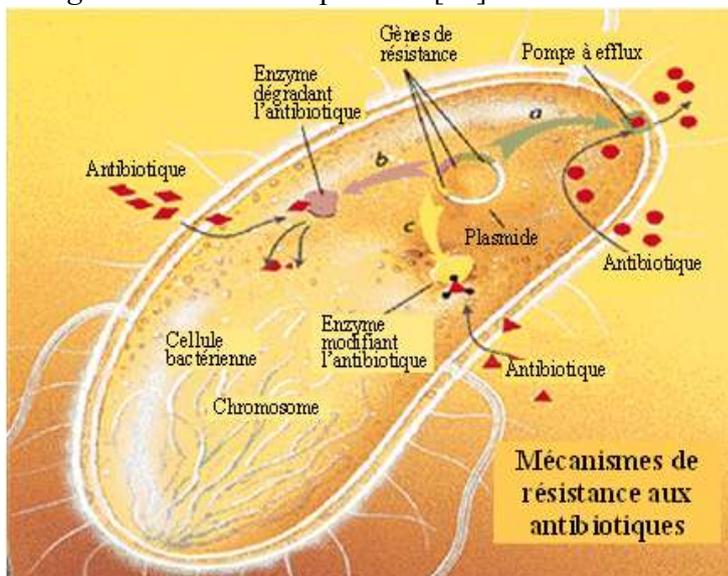


Figure 15 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Plus préoccupant, le phénomène de résistance acquise entraîne l'apparition subite d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était auparavant sensible. Ces résistances peuvent survenir via une mutation génétique affectant le chromosome de la bactérie, permettant à cette dernière de contourner l'effet délétère de l'antibiotique. Elles peuvent aussi être liées à l'acquisition de matériel génétique (plasmide) porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance, en

provenance d'une autre bactérie.

Les résistances chromosomiques ne concernent en général qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotiques. Les résistances plasmidiques peuvent quant à elles concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques. Elles représentent le mécanisme de résistance le plus répandu, soit 80 % des résistances acquises [17][18][19].

❖ Quelques exemples de pathogènes résistants.

L'antibiothérapie diminue le microbiote intestinal créant ainsi un environnement immunodéficient. Cette faille crée va alors être exploitée par les pathogènes antibiorésistants et les bactéries opportunistes ce qui est souvent rencontré à l'hôpital.

a) L'infection à Clostridium difficile.

C.difficile est une bactérie gram+ capable de former des endospores qui sont résistants à un environnement stressé et aux mesures de stérilisation ce qui facilite sa transmission surtout en milieu hospitalier. *C.difficile* est résistant à beaucoup d'antibiotiques qui entraînent un déficit dans la composition et la diversité de la flore intestinale. Les patients recevant un traitement antibiotique, ingèrent les spores de *C.difficile*, ces derniers peuvent se développer en bactéries végétatives productrices de toxines causant ainsi la pathogénicité [15].

b) Les entérocoques résistants à la vancomycine VRE (ex Enterococcus faecium)

Les *enterococcus* sont des bactéries commensales non pathogènes quand elles sont confinées dans la lumière intestinale. Cependant si elles prolifèrent à une haute densité dans l'intestin, les souches antibio-résistantes peuvent provoquer des maladies par translocation des bactéries dans les tissus et la circulation sanguine. Prenons l'exemple d'*E.faecium* qui est une cause fréquente d'infection sanguine difficile à traiter. En effet beaucoup de souches d'*E.faecium* sont résistantes aux antibiotiques à large spectre et en particulier aux glycopeptides de vancomycine. Les entérocoques sont normalement des composants mineurs du microbiote intestinal. Le traitement par des antibiotiques inhibant les bactéries anaérobies comme le métronidazole peut entraîner la prolifération d'entérocoques résistants à la vancomycine dans l'intestin et peut ainsi provoquer une infection sanguine [15].

c) Les entérobactéries Gram-

Comme dans le cas du VRE, la prolifération de bacilles Gram- antibio-résistantes comme *E.coli* ou *K.pneumoniae* se produit après le traitement par certains antibiotiques pouvant conduire à une bactériémie. Certaines entérobactéries produisent des facteurs de virulence et par conséquent des pathologies intestinales comme *Salmonella enterica* ou *E.coli* entérohémorragique [15].

d) Cas particulier de Klebsiella pneumoniae producteur de carbapénèmase KPC

Klebsiella pneumoniae est une bactérie commensale de la flore intestinale de l'homme. Au cours d'un traitement antibiotique inhibant la flore intestinale anaérobie en particulier (clindamycine, pipéracilline/tazobactam), des souches résistantes vont être sélectionnées et vont proliférer. Ces souches ont acquises un gène de résistance entraînant la production d'une enzyme. C'est le cas pour KPC qui grâce à la production d'une carbapénèmase (β -lactamase) détruit les antibiotiques comme les β -lactamines les rendant inefficaces. KPC est une souche bactérienne multi-résistante et la plupart des antibiotiques comme les β -lactamines (céphalosporines, β lactamine/ β lactamase), les aminoglycosides ou encore les fluoroquinolones sont inactifs [20][15].

KPC est responsable d'infections nosocomiales.

Certaines bactéries commensales par divers mécanismes protègent la flore intestinale de la colonisation par les pathogènes antibiorésistants comme *C.difficile*, VRE ou les entérobactéries pathogènes. Cependant le traitement antibiotique affaiblit cette flore

protectrice donnant un avantage considérable aux pathogènes antibiorésistants. Ces derniers pouvant alors se développer et être à l'origine de pathologies.

Conclusion

A travers ce chapitre nous avons donc pu observer qu'un traitement antibiotique entraînait une modification transitoire de la flore bactérienne commensale à l'origine de perturbations des fonctions métaboliques et physiologiques bactériennes et de conséquences cliniques plus ou moins graves. Dans la plupart des cas la flore bactérienne commensale retrouve plus ou moins son état initial une fois le traitement antibiotique terminé et par conséquent un rétablissement des fonctions physiologiques et métaboliques bactériennes et une régression des symptômes cliniques. Il est quand même à noter qu'on voit apparaître des souches résistantes et qu'on voit disparaître d'autres souches. Mais dans un certain nombre de cas et surtout chez des personnes fragiles (âgées, immunodéprimées, hospitalisées..) le déséquilibre de la flore intestinale peut être à l'origine d'apparition de pathogènes opportunistes ou antibiorésistants aux conséquences cliniques graves posant un problème de santé publique.

Les antibiotiques représentent les molécules les plus dévastatrices au niveau de la flore intestinale commensale d'où ce chapitre dédié aux antibiotiques. Cependant d'autres molécules comme les IPP (Inhibiteurs de la pompe à protons) ou encore les laxatifs sont aussi mis en cause dans les déséquilibres de la flore intestinale commensale.

L'utilisation des antibiotiques doit donc être limitée au maximum et réservée au cas indispensables. Ainsi on limitera les déséquilibres de la flore intestinale commensale, celle-ci ayant un rôle protecteur et un rôle de défense contre les pathogènes mais surtout on évitera l'apparition de pathogènes résistants voir de conséquences cliniques graves.

Par ailleurs lorsque le traitement antibiotique s'avère nécessaire il serait intéressant de trouver des moyens de limiter les déséquilibres de cette flore intestinale commensale.

B. Impact de l'alimentation sur la flore intestinale.

L'alimentation est un besoin primaire de l'être humain, il est vital pour lui de se nourrir afin d'assurer les fonctions physiologiques de l'organisme comme la production d'énergie. Mais l'alimentation a aussi un rôle psycho-social, l'aliment étant source de plaisir et un aspect culturel par la variété des habitudes alimentaires selon les différents pays du monde. Dans le cadre du maintien de la Santé, un équilibre alimentaire a été établi basé sur l'équilibre entre les apports alimentaires (glucides, lipides, protéines, fibres, vitamines, minéraux...) en proportions définies et les dépenses énergétiques.

Ainsi certains aliments ou résidus alimentaires seront utilisés par les bactéries de la flore intestinale pour leur propre développement mais aussi pour produire des substances nécessaires au maintien de la Santé et au fonctionnement de l'organisme. Cependant une mauvaise alimentation (déséquilibrée, restrictive, riche en graisses d'origine animale ou en protéines..) peut être à l'origine de dysbioses entraînant des perturbations physiologiques et être un facteur de risque de développer des pathologies.

D'une part nous expliquerons les principales sources alimentaires, leurs actions sur la flore intestinale et leurs possibles impacts physiologiques et pathologiques. D'autre part nous étudierons des exemples précis d'habitudes alimentaires, leurs effets sur le microbiote intestinal et leurs potentiels risques sur la santé.

a. Les principales sources alimentaires, leurs interactions avec le microbiote intestinal et leurs conséquences physio-pathologiques.

Le régime alimentaire équilibré est constitué par trois principales sources alimentaires en proportions définies, les glucides (50-55% de l'apport énergétique total), les lipides (30-35%) et les protéines (10-15%). Les fibres, les vitamines, les oligo-éléments, l'eau et les minéraux sont aussi nécessaires au bon fonctionnement, à l'équilibre et au maintien de la Santé de l'organisme. Les bactéries de la flore intestinale vont alors prendre en charge les composants alimentaires provenant de ces différentes sources. Ces aliments sont d'abord dégradés par les

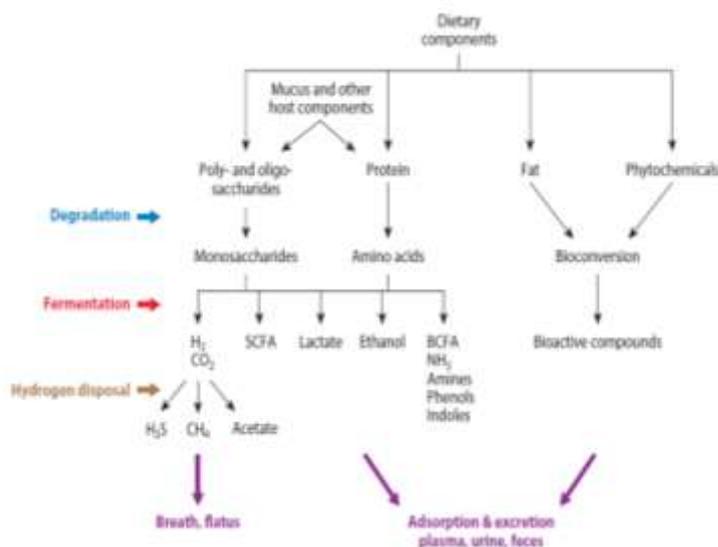


Figure 16 : Dégradation des glucides et protéines et bioconversion des lipides.

enzymes bactériennes impliquant principalement les *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus* puis ils seront fermentés impliquant principalement les Lachnospiracées et les Ruminococcacées (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Akkermansia*). Une dernière étape de production d'hydrogène peut intervenir pour certains produits. Certains aliments subissent simplement une bioconversion formant des composants bioactifs. Ainsi les produits terminaux formés et les composants bioactifs sont absorbés et excrétés dans le

plasma, les urines ou les selles et agissent sur différentes fonctions de l'organisme comme le système immunitaire, la croissance cellulaire, les réponses métaboliques pour le maintien de la Santé de l'individu [2]. Voyons plus en détails ces sources alimentaires et leurs effets. (NB : Source du schéma 16 : [2].)

❖ Les glucides

a) Généralités

✓ Structure

Les glucides sont une classe de molécules contenant un groupement carbonyle (aldéhyde ou cétone) et plusieurs groupements hydroxyle (-OH).

Les glucides sont habituellement répartis en deux familles, les oses ou sucres simples et les osides ou sucres complexes.

Les oses sont des molécules simples, non hydrolysables, formant des cristaux incolores. Ils comprennent les monosaccharides tels que le glucose, le galactose ou le fructose et trois disaccharides tels que le saccharose (glucose+fructose), le maltose (glucose+glucose) et le lactose (galactose+glucose).

Les osides, hydrolysables, sont des polymères d'oses liés par une liaison osidique (polysaccharides). Ils comportent les polysaccharides amylicés (amidon, glycogène et inuline) et les polysaccharides non amylicés (fibres alimentaires) [2]. A noter que les fibres seront détaillées dans un chapitre dédié.

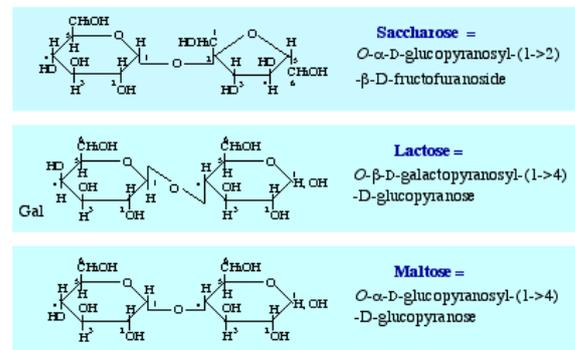


Figure 17 : Exemples de glucides.

✓ Fonctions

Les glucides sont des fournisseurs d'énergie, principalement sous forme d'ATP (Adénosine Tri-Phosphate) à tout l'organisme et surtout au cerveau qui en est un grand consommateur.

Ils entrent dans la structure de base de l'ADN et de l'ARN, supports de notre capital génétique [2]

Ils forment la partie glucidique de certaines protéines (formant les glycoprotéines) et de certains lipides (glycolipides) qui ont des rôles essentiels dans la communication et la reconnaissance entre les cellules [2].

Ils sont par ailleurs stockés sous forme de glycogène puis utilisés comme source d'énergie dans les réactions métaboliques en cas de besoins [2].

✓ Sources et besoins

Les glucides totaux doivent représenter 50 à 55% de la ration énergétique totale. Les glucides simples devraient ne représenter que 30% des glucides totaux, dont 10% de produits sucrés (sucre, confiture, pâtisserie, miel..) et le reste en fruits et légumes.

Naturellement, les glucides simples se trouvent dans les fruits, le miel, en petite quantité dans la plupart des plantes, dans les betteraves, la canne à sucre, les sirops d'érable et d'agave, et le lait. Après transformation, on en trouve dans la pâtisserie, la viennoiserie, les glaces, les confiseries, les sodas et jus de fruits, les plats cuisinés, le ketchup et les sauces industrielles.

Les sources alimentaires en glucides complexes sont les céréales (maïs, blé, riz, épeautre), les tubercules (pommes de terre, manioc, patate douce), les légumineuses (pois, haricots, lentilles,

sarrasin) et certains fruits (banane, mangue, pomme). Le glycogène est présent dans le foie des animaux et l'inuline dans la chicorée.

b) Métabolisme des glucides et action du microbiome intestinale.

L'absorption des glucides par les entérocytes se fait uniquement sous forme de monosaccharides, ce qui implique une digestion complète. Selon la structure chimique des substances, la digestion peut se faire de deux façons.

Soit elle se fait directement par les enzymes digestives spécifiques (lactase, sucrase et isomaltase) de l'individu au niveau de l'intestin grêle. Ces enzymes coupent les liaisons glucidiques pour former les monosaccharides qui pourront être absorbés par les entérocytes, être transportés par la circulation sanguine afin d'alimenter l'organisme en énergie ou être stockés dans certains organes comme le foie ou les muscles sous forme de glycogène.

Soit elle se fait par les bactéries de la flore intestinale dans le cas des oligosaccharides ou polysaccharides qui échappent à la digestion humaine. Ainsi les oligo- ou polysaccharides subissent une première étape de dégradation par les enzymes bactériennes pour former les monosaccharides. Ces derniers subiront alors l'étape de fermentation bactérienne qui produira divers composés (Figure 16) et majoritairement des SCFA (short-chain fatty acids = les acides gras à chaînes courtes), du dihydrogène (H₂) ou du dioxyde de carbone (CO₂) [2].

Les principaux SCFAs (acétate, propionate et butyrate) sont une source d'énergie provenant des aliments inutilisables par l'hôte. Le butyrate est utilisé par les cellules épithéliales du colon (les colonocytes) comme source d'énergie. Par ailleurs, le butyrate est impliqué dans le maintien de l'intégrité de l'intestin et plus globalement de la Santé. Diverses documentations montrent un effet anti-carcinogène et anti-inflammatoire de cette molécule. Le propionate et l'acétate sont quand à eux absorbés et transportés vers le foie, les muscles et d'autres tissus périphériques. L'acétate joue aussi un rôle dans la synthèse de novo des lipides dans le foie et sert aussi de substrats aux bactéries productrices de butyrate. Le propionate, lui, est aussi un important substrat de la néoglucogénèse au niveau du foie. Le dihydrogène et le dioxyde de carbone produits par la fermentation subiront une transformation finale avec la production de méthane (CH₄) par les bactéries productrices de méthane comme *Methanobrevibacter smithii*, d'hydrogène sulfuré (H₂S) par les bactéries sulfato réductrices comme *Desulfovibrio* et d'acétate par les bactéries productrices d'acétate comme *Blautia* [2]. Ces trois molécules sont à l'origine des flatulences. A noter que le dihydrogène a un rôle central dans le control thermodynamique de la fermentation.

c) Modification du microbiome intestinal induit par les glucides et effets physio-pathologiques.

Diverses études ont été menées et ont montrés le comportement de la flore intestinale en fonction de l'apport quantitatif et qualitatif de glucides et du type de glucides. Voyons plus en détails quelques résultats d'études.

Si on augmente la part en glucides complexes de provenance végétale dans l'alimentation (polysaccharides), on observe une augmentation des Bacteroidetes et une diminution des Firmicutes et des entérobactéries [7]. On remarque aussi une richesse en certains types de bactéries comme *Prevotella* ou *Xylanibacter*. En effet *Prevotella* a une forte capacité de récupérer de l'énergie provenant de ce type de polysaccharides et *Xylanibacter* permet d'hydrolyser le xylane [2]. Ainsi une alimentation riche en glucides complexes favorise le transit intestinal et augmente la production de SCFAs [7].

Si on augmente la part en glucides simples, on observe au niveau buccal une augmentation des bactéries cariogènes et par conséquent une augmentation des maladies dentaires [1].

Si on enrichie l'alimentation avec un mélange de chocolats sans saccharose, de maltitol, d'agents gonflants (polydextrose) et d'amidon résistant, on remarque une augmentation des *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* entraînant une production améliorée de SCFAs (propionate et butyrate) [1].

Si on supplémente l'alimentation en pain enrichie en oligosaccharides d'arabinoxylane, on voit une augmentation des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* permettant la production de butyrate mais diminuant la production d'isovalérate et d'acides gras associés à la fermentation des protéines [1].

L'augmentation de la consommation de grains complets (riz complet) chez des jeunes adultes britanniques et américains entraîne une augmentation des Firmicutes (*Blautia*, *Roseburia*) et des Bifidobactéries [2].

Une alimentation restreinte en FODMAP (oligo-,di-,monosaccharides fermentables et polyols) chez des patients IBS (Syndrome de l'intestin irritable) montre une diminution des Bifidobactéries et parallèlement une diminution des ballonnements après 4 semaines de restriction de FODMAP. En effet les Bifidobactéries ne produisant donc plus de gaz pendant leur croissance avec les fructanes ou autres substrats. A noter que cette restriction n'a pas d'incidence sur les autres bactéries notamment les producteurs de butyrate (*Eubacterium rectale*, *Roseburia*, *Faecalibacterium prausnitzii*) ou la production de SCFAs [2].

Si on réduit la part de glucides de l'alimentation, on observe une diminution des *Bifidobacterium*, de *Roseburia* et *Eubacterium rectale* [7].

Ces quelques études permettent de conclure qu'une modification de la portion en glucides de l'alimentation, quelle soit quantitative (augmentée ou diminuée) ou qualitative (glucides simples, complexes..) entraînent une modification de la flore intestinale. En règle générale l'augmentation des glucides complexes est corrélée à une augmentation de la production de SCFAs et du transit intestinal mais aussi par conséquent des flatulences. L'augmentation de la part de glucides simples voir la diminution totale de la part des glucides est plutôt corrélée à des pathologies que l'on détaillera plus loin. A noter aussi que le type de glucide consommé influence la croissance de bactéries spécifiques pouvant dégrader certains types de glucides comme *Prevotella* ou *Xylanibacter*.

❖ Aparté sur les fibres

a) Généralités

Les fibres font partie du groupe des glucides. Elles sont des composés qu'on trouve essentiellement dans les végétaux. Il existe deux catégories : les fibres solubles (pectines, gommés et mucilages) et les fibres insolubles (cellulose, hémicellulose et lignine).

Les fibres solubles se trouvent la plupart du temps au cœur des végétaux. Dans l'intestin grêle, les résidus alimentaires s'agglutinent sur les fibres solubles pour être ensuite évacués hors de l'organisme. Dans le côlon, les fibres solubles sont attaquées par les bactéries. Au contact des liquides, ces fibres deviennent visqueuses et favorisent ainsi le glissement des résidus. Le son d'avoine, les légumineuses et les agrumes sont riches en fibres solubles.

Les fibres insolubles font généralement partie de l'enveloppe des végétaux. Elles sont moins facilement attaquées par les bactéries et fermentent donc moins bien. Elles présentent la



Figure 18 : Aliments contenant de fibres.

particularité de fixer l'eau et ont un pouvoir de gonflement très élevé. Elles augmentent ainsi le volume des selles et accélèrent le transit intestinal en stimulant les mouvements du tube digestif. De nombreux aliments contiennent des fibres insolubles : le son de blé, de nombreux fruits et légumes tels que les choux, sans oublier les pains et les céréales.

Un apport d'au moins 30 g par jour de fibres est recommandé. Il est facilement atteint en suivant une alimentation variée, comprenant des crudités, des légumes verts cuits et des fruits, complétés par des céréales et des légumineuses.

b) Action sur le microbiome intestinal et effets physio-pathologiques.

Si on réduit la part de fibres dans l'alimentation notamment par une diminution de la consommation de fruits et légumes, on observe une réduction de la richesse en bactéries de la flore intestinale pouvant avoir comme conséquences une augmentation de la résistance à l'insuline, des taux de triglycérides et de LDL cholestérol plus élevés et une inflammation [7].

La supplémentation en inuline et choux de Bruxelles entraîne une augmentation des *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* corrélée à une augmentation de butyrate et d'acétate chez des rats [1]. Par ailleurs, la consommation de kiwi montre une augmentation des *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas* ayant pour conséquences une augmentation des glycosidases microbiennes et de la production de SCFAs [1].

Une augmentation de fibres dans l'alimentation entraîne une régulation positive de groupes bactériens comme les bifidobactéries, les *Enterococcus*, les *Ruminococcus*, les *Lactobacillus*, les *Clostridium* clusters XIV et de *Faecalibacterium prausnitzii*. De ce fait on observe une augmentation de la fermentation bactérienne et donc de la production de SCFAs. Cette augmentation revient à son état initial à l'arrêt de la supplémentation en fibres [2].

Ces quelques exemples permettent de conclure sur l'importance de la consommation de fibres dans le maintien d'une flore intestinale équilibrée. Ces fibres peuvent être assimilées au terme plus général de prébiotique, c'est-à-dire des substrats potentiels pour l'hydrolyse et la fermentation bactérienne intestinale. Un mauvais apport en fibres est à l'origine d'une diminution de la richesse bactérienne pouvant avoir des conséquences pathologiques. Par contre un apport en fibres permet la croissance de certains types de bactéries (fonction des types de fibres) pouvant hydrolyser ces fibres et conduire à la formation de SCFAs facteur de bonne santé de l'organisme.

❖ Les Protéines

a) Généralités

✓ Structure

La structure des protéines est complexe et influe sur le rôle qu'elles jouent dans la vie de la cellule. Une protéine est une macromolécule biologique composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques (chaîne polypeptidique). A noter qu'il existe vingt acides aminés (AA) dont huit essentiels (AAE) c'est-à-dire non synthétisés par notre organisme (valine, leucine, isoleucine, phénylalanine, méthionine, tryptophane, thréonine, lysine et deux autres sont semi essentiels : arginine et histidine).

En général, on parle de protéine lorsque la chaîne contient au moins 40 acides aminés, et de peptides pour des assemblages de plus petites tailles.

Les protéines sont assemblées à partir des acides aminés en fonction de l'information présente dans les gènes. Leur synthèse se fait en trois étapes : la transcription (la séquence d'ADN est transcrite

en ARN pré-messager), la maturation (l'ARN pré-messager subit des modifications) et la traduction (l'ARN messager est traduit en protéine). Après sa synthèse par le ribosome, la protéine peut subir des modifications post-traductionnelles (clivages, maturations). Elle peut se replier, prendre une forme spécifique, s'associer à d'autres protéines et ainsi déterminer des structures dans l'espace très complexes et de tailles variables. Ces structures (secondaire, tertiaire et quaternaire) définissent les propriétés biologiques des protéines.

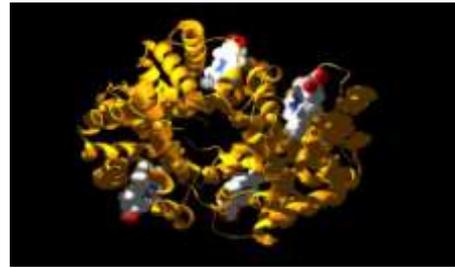


Figure 19 : Hémoglobine, protéine de transport de l'oxygène.

✓ Fonctions

Les protéines sont des éléments essentiels de la vie de la cellule, l'immense majorité des fonctions cellulaires est assurée par des protéines. Elles remplissent donc des fonctions très diverses au sein de la cellule et de l'organisme. Il existe les protéines de structure (maintien de l'organisation de la cellule dans l'espace ex : le collagène), les protéines de transport (transfert des différentes molécules ex : l'hémoglobine), les protéines régulatrices (modulent l'activité d'autres protéines ou contrôlent l'expression des gènes), les protéines de signalisation (capture des signaux extérieurs et transmission dans la cellule ou l'organisme, ex : les protéines hormonales : insuline), les protéines réceptrices (détection des molécules messagères et des autres signaux pour que la cellule agisse, ex : les protéines sensorielles, les récepteurs d'hormones), les protéines motrices (permettent la mobilité ou la déformation, ex : l'actine et la myosine pour la contraction musculaire), les protéines de défense (protection de la cellule, ex : les anticorps), les protéines de stockage (mise en réserve d'acides aminés), les enzymes (modifient la vitesse des réactions chimiques dans la cellule ex : catalase).

✓ Sources et besoins

Les besoins en protéines doivent couvrir les pertes azotées. Les apports quotidiens en protéines de bonne qualité (facilement absorbables et bien équilibrées en AA) doivent être, pour des adultes en bonne santé, de l'ordre de 0,9 gramme par kilo et par jour et ne doivent pas excéder 10 à 15 % de la ration énergétique totale de la journée.

Ces apports augmentent en cas de dépenses énergétiques (activité physique intense et prolongée, stress, maladie...). Les apports sont discrètement plus élevés pour les jeunes enfants, les femmes enceintes et allaitantes et les personnes âgées.

Il y a deux sources d'apport en protéines : les protéines animales et les protéines végétales. Leur qualité dépend de leur composition en AA et surtout en AAE.

Les protéines animales proviennent de la viande, des poissons, des crustacés, des œufs, du lait et des



Figure 20: Exemples d'aliments contenant des protéines.

produits laitiers. Les protéines végétales proviennent essentiellement des céréales (blé, avoine, seigle, maïs...) et des légumineuses (pois chiches, lentilles, soja, fèves). Mais d'autres sources ne sont pas à négliger : légumes (brocoli, pomme de terre), fruits oléagineux (noix de cajou, amande), certaines algues (spiruline) et le quinoa.

b) Métabolisme des protéines et action du microbiome intestinal

Les protéines étant de grosses molécules, leur absorption est précédée par une phase de digestion dont le but est de couper les protéines en AA libres et absorbables.

Trois étapes sont nécessaires :

-Au niveau de l'estomac, l'acidité du milieu commence à dénaturer les protéines, elles perdent leurs structures complexes. La pepsine, quant à elle, coupe les liaisons peptidiques entre certains AA de la chaîne, aboutissant à des polypeptides et quelques AA libres.

-Au niveau du duodénum, les endopeptidases (trypsine, chymotrypsine, élastase) du pancréas ainsi que des carboxypeptidases et aminopeptidases poursuivent le travail de digestion : 30% des AA sont sous forme libres, 70% sont encore sous forme de di- et tripeptides.

-Les derniers peptides se retrouvent alors au niveau des cellules de la paroi interne de l'intestin grêle (entérocytes). Ils seront dégradés par les peptidases bactériennes des groupes bactériens protéolytiques comme les *Bacteroides*, les propionibactéries et les *Bacillus*. Les AA formés tout au long du tractus digestif sont ainsi absorbés au niveau de l'intestin grêle et se retrouvent ensuite dans la circulation sanguine. Ces AA vont servir à la synthèse des protéines, au renouvellement des cellules, à la production d'énergie.

Par ailleurs, les AA excédentaires subissent le processus de fermentation bactérienne, aboutissant à la production de métabolites variés comme les composés sulfurés, N-nitrosés, phénoliques et indoliques, de l'ammoniac, des acides organiques et amides hétérocycliques (Figure 16) [2]. Cependant, la plupart de ces composés produits, sont toxiques et nuisibles pour la santé intestinale. On observe aussi la production de SCFAs par la fermentation bactérienne des protéines qui sont des produits utiles pour les colonies bactériennes et pour préserver la santé de l'individu [7].

c) Modification du microbiome intestinal induit par les protéines et effets physio-pathologiques.

Les protéines sont moins étudiées que les glucides mais on retrouve quand même quelques études sur l'impact d'une variation de l'apport qualitatif ou quantitatif en protéines.

En effet, la consommation de protéines entraîne l'accumulation de dérivés des protéines toxiques et l'exposition prolongée à ces métabolites est promoteur de maladies des cellules épithéliales comme le cancer colorectal. Un lien est donc établi entre l'augmentation des protéines, métabolisme par la flore intestinale et le cancer colorectal [2]. D'autres études montrent le lien entre l'augmentation des protéines animales et l'augmentation du risque d'incidence des maladies inflammatoires intestinales [2]. Par ailleurs dans la viande rouge, on retrouve de la L-carnitine, qui est métabolisée par le microbiote intestinal en TMAO (l'oxyde de triméthylamine) promoteur de l'athérosclérose [2][10].

Une autre étude mesure l'impact d'une alimentation riche en protéine sur la flore intestinale chez des adultes en bonne santé et des adultes obèses. Chez les adultes sains on n'observe pas de modification de la flore intestinale par contre chez les adultes obèses on observe une diminution de *Roseburia*, d'*Eubacterium rectale* et des *Bacteroides* [2].

Une étude est aussi menée sur le changement du type de protéines ingérées et leurs conséquences. Dans un premier temps on soumet un groupe d'individus à une alimentation riche en protéines d'origine végétale (végétarien). On retrouve alors dans les selles une

augmentation de tous les ADN bactériens et une diminution de la quantité et de la diversité des *Clostridium* cluster IV [1]. Dans un deuxième temps on soumet des souris à une alimentation riche en viandes rouges et on remarque une augmentation des espèces de *Bacteroides* sans changement physio-pathologiques [1]. Dans un troisième temps, on soumet un groupe d'individu à une alimentation sans gluten et on observe une diminution des *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* et une augmentation des entérobactériacées. Ces changements entraînent une diminution du TNF- α , IFN- γ , IL-8 et IL-10 qui sont des facteurs de l'inflammation [1].

Lors de la fermentation des protéines, de l'ammoniac est produit. Des grandes concentrations d'ammoniac sont promoteurs de tumeurs chez le rat [7]. Ce résultat montre qu'un grand taux de protéines ingérées peut être à l'origine de la production d'ammoniac en grande quantité néfaste pour la Santé. Enfin une étude est menée sur l'effet d'une protéine du lactosérum (WPI) sur le microbiote des souris. Il est montré que les effets sur le microbiote sont doses dépendantes. On remarque alors une augmentation de l'énergie totale, des Lactobacillacées et une diminution des Clostridiacées [7]. Il est montré aussi que les produits laitiers pouvaient être à l'origine de désordres comme le syndrome métabolique.

Après ces quelques résultats d'études, on peut conclure que les modifications alimentaires qualitatives (protéines végétales, animales, sans gluten..) ou quantitatives des protéines ont un impact sur le microbiote intestinal pouvant être à l'origine de changements physiologiques et pathologiques. On peut aussi préciser que la fermentation bactérienne des protéines conduit à la formation de métabolites dont certains sont nécessaires (SCFAs) à la flore bactérienne et au maintien de la santé mais dont d'autres sont toxiques et peuvent être un facteur de pathogénicité (ammoniac..).

❖ Les lipides

a) Généralités

✓ Structure

Ce sont les graisses de la vie courante. Les lipides sont des substances hydrophobes. Structurellement, ils dérivent tous de l'acétyl coenzyme A et donnent deux premiers groupes :

- le groupe des isoprénoïdes qui comporte les stéroïdes (dont le cholestérol, les hormones), les diterpènes (vitamines liposolubles) et les autres terpènes (comme le menthol).
- le groupe des acides gras. C'est la principale branche des lipides. Schématiquement, elle se divise en éicosanoïdes (précurseurs des molécules de l'inflammation), en cires, en glycérophospholipides, en sphingolipides, et en triglycérides (TG). Parmi les TG, on distingue les acides gras saturés (AGS), les acides gras mono-insaturés (AGMI) et les acides gras poly-insaturés (AGPI). Les AGPI comportent deux AG essentiels (AGE), c'est-à-dire uniquement apportés par l'alimentation : l'acide alpha-linolénique (ALA) et l'acide linoléique (AL).

✓ Fonctions

Les lipides sont une excellente source d'énergie. Ils exercent des rôles majeurs au sein de notre organisme : ils participent à la structure et à la fonction des membranes cellulaires (phospholipides) et interviennent dans de nombreuses fonctions biologiques (hormones : stéroïdes, vitamines, transport, réserve (TG), réactions enzymatiques, précurseurs de médiateurs chimiques (éicosanoïdes)..).

Les acides gras oméga-3 ont un effet protecteur reconnu sur la fonction cardiovasculaire ainsi que sur les fonctions cognitives tandis que les acides gras oméga-6 ont un impact positif sur les taux de lipides sanguins, mais en excès, ils empêchent l'utilisation optimale des oméga-3 par l'organisme, d'où la nécessité d'un bon rapport d'apport en oméga-3 et oméga-6.

✓ Besoins et sources

Les lipides ne devraient représenter que 35 à 40% de la ration énergétique totale (RET) quotidienne. Il est primordial que l'alimentation fournisse aussi les deux AGE : l'acide alpha-linolénique (famille des oméga-3) et l'acide linoléique (famille des oméga-6) en bonnes quantités et proportions : soit 4% d'oméga-6 et 1% d'oméga-3. La proportion d'AGMI doit être de 15 à 20% de la RET.

On retrouve les lipides dans les graisses animales et végétales comme l'huile d'olive (76 %), d'arachide (49 %), de soja (44 %) et de sésame (41 %) mais aussi dans les oléagineux (noix de macadamia, noisette, noix de cajou, amande, pistache, arachide), les fruits (olive ou avocat) et dans la viande (poulet, porc, bœuf, agneau). Plus précisément, les acides gras saturés sont contenus dans la viande, la charcuterie, les corps gras solides

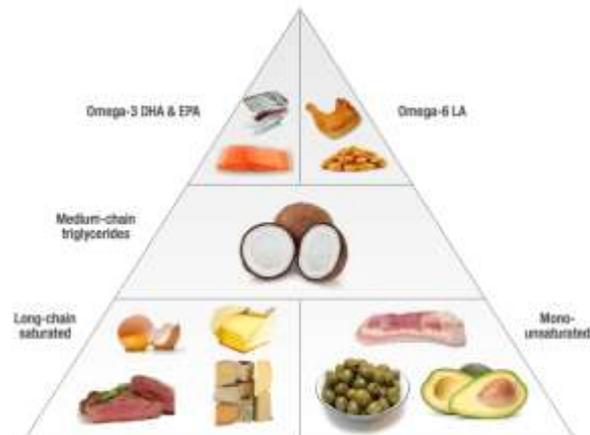


Figure 21 : Pyramide des lipides.

(saindoux) et les huiles végétales de palme, de coco ou de coprah. Les acides gras mono-insaturés sont contenus dans les huiles d'olive (surtout) ou de colza et d'arachide, les avocats, les olives, les noisettes, les amandes, les noix de cajou et pécan. Le cholestérol est d'origine animal uniquement : viande, abats, charcuterie, œufs, poisson et lait.

Les oméga-3 se trouvent dans les huiles de lin et de chanvre ainsi que dans les poissons gras. Les oméga-6 se trouvent dans les huiles de bourrage et d'onagre, dans la spiruline ou dans l'huile de cassis. Les acides gras trans se trouvent dans les soupes en conserve, les pâtisseries et biscuits industriels, certaines pâtes à tarte et margarines, les biscuits apéritifs, les pâtes à tartiner ou encore les barres de céréales.

b) Métabolisme des lipides et action du microbiome intestinal

L'absorption des lipides est précédée par une phase de digestion. Cette phase débute dans la bouche, grâce à une lipase sublinguale. Au niveau de l'estomac on a à la fois un rôle mécanique par brassage, un effet chimique du suc gastrique par son pH acide et une petite activité enzymatique portée par la lipase gastrique qui aboutit à la formation d'une émulsion où les particules de lipides sont de tailles réduites. Les enzymes pancréatiques et les sels biliaires continuent l'action d'hydrolyse dans le duodénum. Puis, à l'entrée de l'intestin grêle, les différents lipides hydrolysés sont intégrés dans des particules appelées micelles mixtes. Les lipides contenus dans ces vésicules seront absorbés au niveau de la bordure en brosse des cellules de la paroi interne de l'intestin grêle (entérocytes). Ils sont ensuite pris en charge dans un autre type de vésicule de transport : les chylomicrons qui contiennent du cholestérol, des triglycérides et des protéines. Elles permettent le transport des lipides dans les milieux aqueux de notre organisme, ainsi les chylomicrons rejoignent les tissus périphériques pour se libérer

de leur contenu au niveau du tissu adipeux (mise en réserve) ou au niveau musculaire pour une création d'énergie (par bêta-oxydation puis via le Cycle de Krebs).

Une partie des lipides échappent à cette digestion et se retrouvent dans le colon où ils vont interagir avec les bactéries de la flore intestinale. Ils subiront alors une bioconversion (impliquant l'hydrolyse des lipides, l'isomérisation et la bio-hydrogénation) aboutissant à la formation de composants bioactifs qui seront absorbés et excrétés dans le plasma, l'urine ou les selles. (Figure 16) [2].

Il a été démontré que les bactéries de la flore intestinale affectent l'absorption, l'émulsification et le transport des lipides, ainsi que leur stockage, leur peroxydation et leurs propriétés signalétiques sur les acides biliaires [2].

c) Modification du microbiome intestinal induit par les lipides et effets physio-pathologiques.

De récentes études ont identifiés les lipides comme un modulateur de la composition du microbiote intestinal. Voyons quelques uns de ces résultats.

Dans un premier temps analysons l'impact d'une variation quantitative de l'apport en lipides. Une étude réalisée sur des adultes anglais montre une altération dans les Bifidobactéries que se soit avec une alimentation riche en lipides saturés ou pauvres en lipides [2]. Une autre étude explicite une corrélation entre l'augmentation de l'apport en acide gras polyinsaturés ou en acides gras saturés et la variation des *Bacteroides*, ce qui montre un lien entre l'abondance des *Bacteroides* et la consommation de lipides d'origine végétale ou animale [2]. Dans une étude réalisée chez des souris, on observe une diminution des Bacteroidetes et une augmentation des Firmicutes pendant une alimentation riche en lipides [2]. Ce profil bactérien est impliqué dans l'obésité. De plus, chez les souris, une alimentation riche en lipides est à l'origine d'une diminution de la diversité microbienne et de la quantité totale des bactéries intestinales [2].

Dans un deuxième temps analysons l'impact de la variation qualitative de l'apport en lipides. Une étude démontre chez les souris que les acides gras saturés mais pas les insaturés sont promoteurs de la croissance des Deltaprotéobactéries impliquées dans les réponses pro-inflammatoires et l'incidence des colites. En effet les acides gras saturés augmentent le taux d'acides biliaires comme l'acide taurocholique qui stimule la croissance de *Proteobacterium* et de *Bilophila wadsworthia* producteurs d'H₂S (hydrogène sulfuré) toxique [2]. A savoir que l'H₂S est aussi impliqué dans l'IBD et le CRC.

Dans un troisième temps étudions la production de composés toxiques induite par l'apport en lipides. Une étude démontre qu'une alimentation riche en lipides est à l'origine d'une dysbiose (diminution des bifidobactéries, augmentation des *Enterobacter*) entraînant une perméabilité de la barrière intestinale facilitant le passage des PAMPs (molécules associées à des pathogènes) comme le LPS (lipopolysaccharides). Ces PAMPs activent les TLR (toll like receptors) au niveau des cellules hépatiques à l'origine d'inflammation, de lipogénèse et d'oncogénèse au niveau du foie aboutissant à diverses pathologies hépatiques (stéatose, cancer, cirrhose...) [21]. A noter que l'augmentation de la fraction de lipides de l'alimentation déstabilise l'équilibre du microbiote intestinal à l'origine d'une perméabilité de la barrière intestinale et du passage facilité du LPS et d'autres composés provenant des bactéries. Ces composés diffusent dans le système circulatoire et peuvent être à l'origine de l'inflammation chronique chez les personnes atteintes de diabète de type 2 ou d'obésité [2][21]. A Noter que les Protéobactéries contribuent à cette toxicité. D'autre part la phosphatidylcholine provenant de certains lipides est transformée par les bactéries intestinales en TMAO qui est un composé facteur de l'athérosclérose [2][10].

Dans un quatrième temps montrons que les lipides ont aussi une action sur la sécrétion des acides biliaires. Une étude explique que les acides biliaires sécrétés lors d'une alimentation

riche en lipides entraînent la suppression d'espèces bactériennes comme les Bacteroidetes mais qu'ils sont aussi à l'origine d'une transformation bactérienne et d'une interaction avec cette flore bactérienne. Ainsi ces bactéries modifiées (déhydroxylation) produisent des acides secondaires comme l'acide désoxycholique et l'acide lithocholique. L'activité de ces acides biliaires secondaires est à l'origine de calculs biliaires, de CRC (cancer colorectal) [2][21].

Dans un cinquième temps, de récentes recherches suggèrent que le type d'acides gras mais aussi le nombre total de calories de lipides semblent aussi être important. En effet une alimentation riche en oméga-6 polyinsaturés peut causer la prolifération de pathogènes alors qu'une alimentation isocalorique en oméga-3 polyinsaturés renverse ces altérations [1].

On peut donc conclure que la variation de la quantité ou de la qualité des lipides entraîne des modifications de la flore intestinale (augmentation d'espèces bactériennes, diminution d'espèces bactériennes, transformation de la flore) à l'origine d'une augmentation de la perméabilité de la barrière intestinale, de la production de composés toxiques et par conséquent de modifications physiologiques et de facteurs promoteurs de pathologies.

Conclusion :

L'alimentation (glucides, lipides, protéines) est essentielle à la vie de l'homme. Elle permet d'assurer les besoins et les fonctions de l'organisme. L'alimentation joue un rôle primordial dans le maintien de la flore intestinale équilibrée. Elle interagit avec cette flore, produisant alors des composés nécessaires à l'équilibre bactérien mais aussi à l'organisme (SCFAs) permettant le maintien de la Santé.

Cependant les variations alimentaires des glucides, protéines et lipides qu'elles soient quantitatives ou qualitatives modifient l'équilibre de la flore intestinale. En fonction des cas, on observe la diminution d'espèces bactérienne, l'augmentation d'espèces bactériennes, la variation de la richesse bactérienne, la production de composés utiles mais aussi de composés toxiques. Tous ces changements entraînent des modifications physiologiques (modification de la perméabilité de la barrière intestinale, modification d'absorption, de sécrétions...). Ces changements sont ainsi à l'origine de facteurs promoteurs de pathologies (obésité, diabète de type 2, CRC...)

b. Etudes d'habitudes alimentaires, effets sur le microbiote intestinal et conséquences pathologiques.

Après avoir analysé l'impact de chaque grand groupe alimentaire (glucides, lipides, protéines) sur la flore intestinale il est intéressant de comparer l'impact global de différents types d'alimentation sur la flore intestinale et leurs conséquences pathologiques.

D'abord, nous comparerons les habitudes alimentaires de différentes populations, les impacts sur le microbiote intestinal et les pathologies impliquées. Ensuite de la même manière nous étudierons des régimes alimentaires spécifiques. Enfin nous montrerons des exemples précis d'aliments facteurs de risques pour certaines pathologies.

❖ Etude de population et d'habitudes alimentaires.

Tout d'abord une étude a été réalisée sur des enfants Européens et des enfants d'un village Africain du Burkina Faso. Les enfants Africains ont une alimentation majoritairement végétarienne riche en amidon, fibres, polysaccharides de plantes et pauvre en graisses et protéines d'origine animale. Au contraire les enfants Européens ont une alimentation type « western » riche en produits d'origine animale, en graisses, en glucides simples et pauvre en fibres. En analysant le microbiote des selles de ces deux populations, on observe chez les enfants Africains une augmentation du ratio Bacteroidetes/Firmicutes avec une abondance de *Prevotella* et *Xylanibacter*. Ces deux derniers permettent une extraction énergétique plus importante des fibres alimentaires conférant ainsi une protection contre l'inflammation et contre les maladies non infectieuses du côlon [7]. Parallèlement, une autre étude a démontré que la composition microbienne est associée avec une alimentation à long terme. Ainsi une alimentation riche en protéines et graisses animales est associée à une richesse en *Bacteroides* et une alimentation riche en glucides d'origine végétale est corrélée à une abondance de *Prevotella* [7][2]. Il a même été démontré que le changement d'une alimentation végétarienne à une alimentation basée sur des produits d'origine animale entraînait une diminution des *Prevotella* et une augmentation des *Bacteroides* [7]. D'autres études comparatives réalisées sur des enfants Africains et Italiens ainsi que sur des Africains et Asiatiques montrent des résultats similaires [2].

Deuxièmement, une étude compare les effets sur la flore intestinale d'une alimentation type « omnivore » et d'une alimentation type « végétarien » ou « lacto-végétarien ». On observe une augmentation de *Clostridium* clusters IV et XIV dans les selles des omnivores qui consomment des glucides en plus grandes proportions [7][2].

Une étude réalisée sur des souris montre des résultats similaires. L'alimentation des souris passe d'une nourriture à faible teneur en matières grasses et riche en polysaccharides complexes à une nourriture inductrice d'obésité riche en lipides et en glucides simples. On observe alors une faible diversité bactérienne témoin d'une flore en mauvaise santé, avec une augmentation des Firmicutes et une diminution des Bacteroidetes par rapport à la flore initiale [7]. Cette flore reflète la flore des modèles d'obésité de souris. Une autre étude a montré que la diminution du rapport de Bacteroidetes par rapport aux Firmicutes est corrélée à une augmentation de l'adiposité.

Troisièmement, une étude porte sur l'analyse de 26 adultes, certains vivants en métropole aux Etats-Unis et d'autres vivants dans un village en Amazonie ou dans une zone rurale Africaine. Les sujets Américains reflétant l'alimentation type « western » possèdent un microbiote enrichi en bactéries dégradant les acides aminés et les glucides simples alors que les sujets des pays en voie de développement possèdent des taux plus élevés de bactéries possédant l'amylase dégradant les amidons et une capacité accrue de production de SCFAs surtout chez les habitants Africains [2].

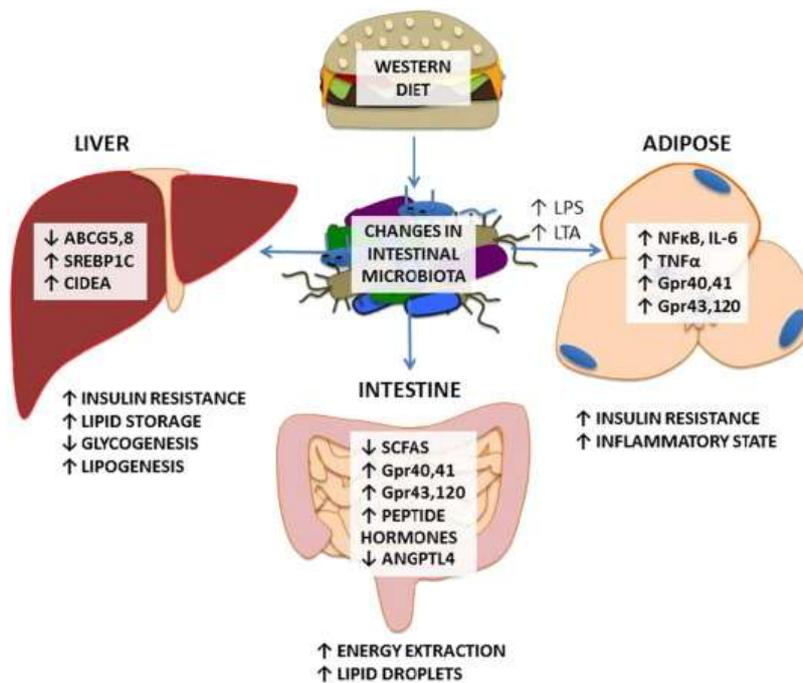


Figure 22 : impact d'une alimentation de type "Western" sur la flore intestinale et les fonctions métaboliques [12].

Quatrièmement, une étude repose sur l'analyse de 100 individus américains d'une même zone géographique. On remarque que le taux de *Prevotella* est associé positivement avec une alimentation riche en glucides et glucides simples et négativement avec une alimentation riche en protéines et lipides d'origines animales. A noter que *Methanobrevibacter* est corrélée positivement avec une alimentation riche en glucides [2].

Cinquièmement, une étude sur 300 allemands a démontrée que le nombre total de bactéries étaient similaires chez les omnivores, végétariens ou végétaliens. Cependant on remarque des taux réduits de Bacteroidetes, bifidobactéries et entérobactériacées lorsque l'alimentation est limitée ou sans produits d'origine animale [2].

Des récentes études réalisées sur des animaux carnivores, herbivores et omnivores confirment que les habitudes alimentaires reflètent la physiologie et l'architecture intestinal [2].

Sixièmement, une étude sur des personnes âgées en fonction de leur lieu de vie a été réalisée. Il est mis en évidence que les personnes vivant en communauté avaient une alimentation plus saine et plus variée que les personnes en soins de longue durée entraînant des modifications de la flore intestinale. Ainsi, on observe globalement chez les sujets en soins de longue durée une augmentation des Bacteroidetes et une diversité bactérienne réduite [7]. Plus précisément ils possèdent des plus forts taux de *Parabacteroides*, *Eubacterium*, *Anaerotruncus*, *Lactonifactor* et *Coprobacillus* alors que les sujets en communauté ont des meilleurs taux de *Coprococcus* et *Roseburia*. En conséquence on remarque chez les sujets en soins de longue durée une augmentation de la fragilité de la Santé générale [7].

Toutes ces études nous montrent que la composition de la flore intestinale (présence de certaine espèces bactériennes, absence d'autres, richesse ou pauvreté bactérienne, augmentation ou diminution de la diversité) est le reflet des habitudes alimentaires des populations. Ainsi tous changements alimentaires modifient plus ou moins la composition, richesse et diversité de la flore intestinale. Cette flore intestinale peut alors être facteur de bonne santé ou facteur de risques de développer et/ou d'entretenir des pathologies.

❖ Etudes des effets indirects de l'alimentation et de régimes alimentaires spécifiques sur la flore intestinale.

a) Impacts indirects de l'alimentation sur la flore intestinale.

L'alimentation peut aussi avoir des impacts indirects sur la composition de la flore intestinale et son activité. En effet certains aliments peuvent modifier des facteurs physiologiques qui jouent un rôle dans la modulation du microbiote.

Par exemple, les fibres augmente le taux de substrats fermentables au niveau du côlon mais accélèrent aussi le transit intestinal et diminue du pH du à la production d'acides.

Des études montrent que l'accélération du transit est en faveur de la croissance de *Bacteroides* chez la souris. Par ailleurs, le pH est normalement de 5 au niveau de l'iléum et de 7 au niveau du côlon. Une étude in vitro montre que le pH joue un rôle dans la modulation des communautés microbiennes. En effet lorsque le pH est de 5 (acide), on remarque une domination des Firmicutes Gram+ alors que quand le pH est de 7 (neutre), les *Bacteroides* entre en compétition. Les polysaccharides fermentables non digestibles sont considérés comme le facteur majeur de régulation du pH luminal du à la production de SCFA qui augmente l'acidité. Ces observations sont en corrélation avec une étude faite sur la mesure du pH de végétariens et d'omnivores. En effet on remarque un pH plus bas (6.3) chez les végétariens que chez les omnivores (6.8), ces derniers consommant moins de polysaccharides d'origine végétale [2].

Un autre exemple est la bile. La bile joue un rôle dans la digestion et l'absorption des graisses et l'élimination et l'excrétion de produits du corps. Les acides biliaires sont des substances antimicrobiennes qui forment ainsi une force sélective sur le microbiote intestinal, éliminant les bactéries sensibles à la bile. Ce sont les lipides et les protéines de l'alimentation qui régulent l'excrétion de la bile. Enfin il est à savoir que certains aliments comme les polyphénols de plantes contiennent des substances antimicrobiennes pouvant affecter l'écosystème intestinal [2].

b) Impacts d'une restriction calorique sur la flore intestinale

Une étude montre qu'une restriction calorique tout au long de la vie d'une souris altère la flore intestinale que se soit avec une alimentation riche ou pauvre en graisse. Cette étude montre que le contenu de l'alimentation mais aussi le nombre de calories consommées influencent les communautés bactériennes de la flore intestinale. Cependant, on observe quand même une meilleure longévité chez les souris en restriction calorique avec une alimentation pauvre en graisse [7].

Une autre étude explique l'impact d'un changement énergétique alimentaire et notamment d'une restriction énergétique sur la flore intestinale. On a analysé la flore intestinale d'adultes anglais obèses ou ayant un syndrome métabolique pendant une diète calorique sur 3 à 4 semaines. On remarque alors chez les adultes obèses une diminution d'*Eubacterium rectale*, *Roseburia* (impliquées dans la production de SCFAs) et des bifidobactéries. Chez les adultes avec un syndrome métabolique on remarque une diminution de *Collinsella*, *Eubacterium rectale* et *Roseburia*. Par ailleurs on a aussi analysé la flore intestinale d'adultes en bonne santé suivant une diète calorique par indulgence. On observe chez eux une augmentation totale des bactéries et des *Bacteroides* [2].

Une troisième étude est réalisée sur des jumeaux malawiens dont l'un est atteint de kwashiorkor (syndrome de malnutrition protéino-énergétique). Les selles des jumeaux sont alors transplantées chez des souris. On donne une alimentation malawienne aux souris et on

observe que les souris qui ont reçu le microbiote kwashiorkor ont une perte de poids et des perturbations métaboliques plus sévères que les souris avec le microbiote du deuxième jumeau [1]. Cette étude nous montre bien le lien entre l'écologie microbienne et les conséquences physio-pathologiques.

Une quatrième étude est réalisée chez des patients atteints d'une maladie de Crohn. On leur fait suivre un régime drastique basé sur une alimentation élémentaire (alimentation liquide composée de dextrine, d'acides aminés, d'huile de soja et de micronutriments). On remarque alors une similarité du microbiote intestinal comparé à des adultes sains ne subissant aucun changement alimentaire. Par contre lorsqu'on administre cette solution par voie parentérale à des différents groupes de patients atteints d'un Crohn, la stabilité de la flore intestinale diminue significativement avec une diminution de la diversité et quelques changements quantitatifs dans la composition totale des bactéries. Plus précisément sur les adultes Japonais on remarque une diminution de la stabilité bactérienne mais pas de changements quantitatifs significatifs, sur les Anglais hospitalisés, on observe des réponses individuelles mais pas de changements significatifs et chez des enfants Européens et Australiens on remarque des altérations détectables particulièrement dans les *Bacteroides* [2].

On remarque alors la capacité de la flore intestinale à résister aux perturbations lors d'un régime drastique. Cette étude suggère l'existence de système permettant au microbiote de s'adapter à des extrêmes altérations nutritives et de prévenir l'écosystème du collapsus. *Akkermansia muciniphila* a alors été découvert comme étant une clé de l'adaptation du microbiote intestinal aux fluctuations nutritives. En effet des taux élevés d'*Akkermansia muciniphila* ont été retrouvés lors d'une diète alimentaire très restrictive en calories chez des humains. Ainsi *Akkermansia muciniphila* dégrade le mucus de l'hôte pour produire des oligosaccharides et des SCFAs utiles comme source d'énergie des bactéries et, par conséquent, pour le maintien de l'écosystème intestinal. Le microbiote intestinal possède des capacités d'adaptation provisoires aux régimes extrêmes en utilisant des alternatives comme les substrats dérivés de l'hôte [14][2].

L'alimentation peut aussi jouer un rôle indirect sur la flore intestinale. En effet l'apport de certains aliments modifie des fonctions physiologiques de l'organisme (excrétion de la bile, modification du pH..) à l'origine de modifications des populations microbiennes et de possibles conséquences néfastes sur l'organisme (productions de toxines...).

Par ailleurs, les régimes extrêmes et/ou de restriction calorique entraînent des modifications de la flore intestinale mais aussi une surprenante capacité d'adaptation provisoire de l'organisme à ces restrictions en utilisant des alternatives et permet ainsi le maintien de la fonction du microbiote intestinal.

c) Exemples d'aliments facteurs de risques de perturbations du microbiote intestinal aux conséquences pathologiques.

Une flore en bonne santé est définie par une grande diversité et une capacité à résister aux stress physiologiques. En contraste une flore associée à une maladie est définie par une diminution de la richesse bactérienne, un faible taux de bactéries bénéfiques et ou la présence de pathogènes. Ainsi de récentes études cliniques nous expliquent la participation de facteurs alimentaires dans les dysbioses associées aux pathologies. L'utilisation

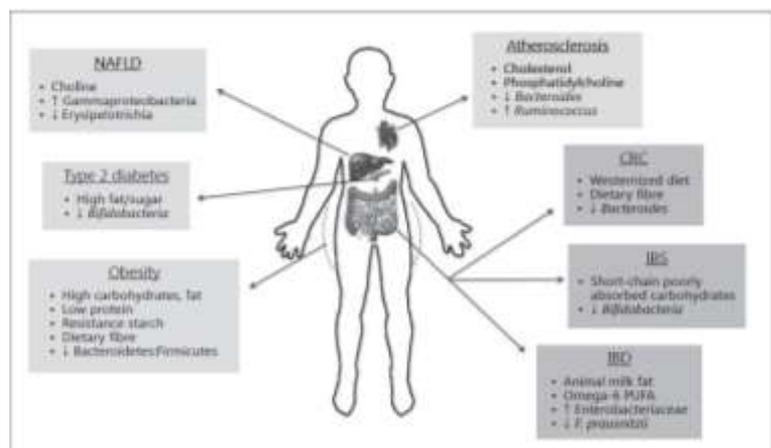


Figure 23 : Les aliments inducteurs de pathologies.

chronique de certains aliments comme des matières nutritives, micro ou macronutriments peuvent induire des changements de l'écologie et de la fonctionnalité intestinale, et à long terme induire une altération de la flore initiale. Ces perturbations pouvant être un facteur de risque de pathologies. Voyons quelques exemples de lien entre aliments, perturbations de la flore et pathologies.

✓ Maladies inflammatoires de l'intestin.

La consommation excessive de matières grasses du lait et d'oméga-6 polyinsaturés montre une exacerbation de maladies inflammatoires de l'intestin chez les rongeurs par une dysbiose et une augmentation du risque de rectocolite hémorragique de 30% par une consommation excessive d'acide gras oméga-6 polyinsaturés [1]. Par ailleurs, l'alimentation riche en viande, œufs, protéines et alcool est associée à une augmentation de rechutes de maladies inflammatoires de l'intestin [10]. Une alimentation riche en fibres, fruits et légumes diminue le risque de maladies inflammatoires de l'intestin [10].

✓ Cancer colorectal

Une alimentation type « western » montre une augmentation de l'incidence et de la mortalité du cancer colorectal correspondant à une altération de la flore intestinale avec une augmentation des *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Roseburia* et une diminution des Lachnospiracées productrices de butyrate [1].

Par ailleurs on observe une relation inverse entre la consommation de fibres alimentaires, fruits et légumes et le risque de développement du CRC. L'augmentation à long terme des fibres résulte d'une flore intestinale riche en Firmicutes et Protéobactéries et moins riche en *Bacteroides*, Actinobactéries et bifidobactéries. Ainsi les fibres diminuent le risque de CRC par une flore riche en producteurs de SCFAs [2].

✓ Syndrome du colon irritable

Une pauvre absorption des glucides simples alimentaires induit une production prolongée d'hydrogène chez les patients IBS et par conséquent un taux plus important de méthane produits à l'origine des symptômes. En effet les changements de la diversité bactérienne chez ces patients comme une diminution des Firmicutes et une augmentation des *Bacteroides* altère le métabolisme des glucides et des protéines [1].

L'augmentation des acides biliaires due à l'augmentation des bactéries impliquées dans la transformation des acides biliaires entraîne un effet laxatif à l'origine de diarrhées [1].

✓ Obésité

Une alimentation riche en lipides et en glucides simples entraînent une augmentation des Firmicutes et une diminution des *Bacteroides* [1]. Une étude soumet des obèses à un régime riche en calories ou pauvre en calories pendant 3 jours puis 3 jours de transition avec une alimentation stabilisant le poids. On observe un changement dans le microbiote après cette courte période et notamment plus l'énergie apporté augmente et plus la proportion de Firmicutes augmente et plus celle des *Bacteroides* diminue (une augmentation de 150 calories est associée à une augmentation de 20% des Firmicutes et une baisse de 20% des *Bacteroides*). Ainsi on a une augmentation de l'énergie absorbée chez les obèses [21]. A l'inverse une alimentation restrictive en glucides et lipides diminue la proportion de Firmicutes et augmente la proportion de Bacteroidetes. Le rapport de Bacteroidetes sur Firmicutes étant négativement lié à l'IMC (indice de masse corporelle) [1].

Une alimentation riche en lipides entraîne la diminution de la diversité bactérienne et notamment de *Bifidobacterium* nécessaire au maintien de la barrière intestinale [21].

Par ailleurs une alimentation pauvre en fibres diminue la diversité bactérienne et la production de SCFAs. Chez des obèses, une alimentation riche en glucides non digestible comme l'amidon résistant, entraîne une augmentation marquée de certaines espèces bactériennes comme *Ruminococcus bromii* et des Firmicutes et *Eubacterium rectale* qui augmente la digestibilité de l'amidon [10].

✓ Diabète de type 2

Une alimentation riche en glucides simples et en lipides perturbe la flore intestinale provoquant une dysbiose. Par ailleurs une diminution de la consommation en fruits, légumes et poissons diminue la diversité et la richesse bactérienne de la flore. Ainsi ces modifications alimentaires sont des facteurs de risques d'augmentation de l'insulino-résistance et de l'inflammation [7].

✓ Athérosclérose

Le métabolisme bactérien de la phosphatidylcholine (provenant de certains lipides comme le jaune d'œuf) permet la production de TMAO facteur de risque de l'athérosclérose [10].

La diminution de la consommation de fruits, légumes et poissons entraîne une diminution de la richesse bactérienne et une augmentation du LDL cholestérol promoteur de l'athérosclérose [7].

✓ NAFLD

L'intestin et le foie sont connectés par le système veineux portal. Ainsi le foie est plus vulnérable à la translocation de bactéries, produits bactériens, endotoxines et cytokines. L'alimentation peut alors modifier la richesse bactérienne et la diversité bactérienne, produire des composés toxiques par le métabolisme bactérien [1].

La carence en choline et la stéatose hépatique sont associées à des changements dans l'abondance des Gammaprotéobactéries (augmentation) et des Erysipelotrichies (diminution) facteur de risque de développer une maladie du foie [1].

L'utilisation d'aliments chroniques peut être à l'origine de dysbioses, facteurs de risque de développer et/ou d'entretenir des pathologies.

Conclusion

A travers ce chapitre, nous avons pu constater que l'alimentation dans sa globalité (glucides, lipides, protéines..) mais aussi l'aspect qualitatif (glucides simples/complexes, AGPI/AGS, protéines animales/végétales..), quantitatif et énergétique des aliments pouvaient impacter la flore intestinale soit directement (modification des populations bactériennes..), soit indirectement (modification du pH, production de toxines..). Ces modifications de la composition, de la diversité, de la richesse bactérienne peuvent alors être à l'origine de facteurs de bonne santé (production de SCFAs) mais aussi être facteurs de risques de développer et/ou d'entretenir des pathologies (obésité, IBS, IBD..). Ainsi la consommation de certains aliments chroniques ou d'habitudes alimentaires chroniques est identifiée comme facteur de risque de dysbioses et de possibles pathologies.

D'autre part les études des différentes populations montrent que la flore intestinale reflète les habitudes alimentaires de ces populations et que les changements alimentaires modifient cette composition initiale. Cependant l'organisme possède une capacité provisoire d'adaptation aux conditions alimentaires extrêmes permettant le maintien de la fonction de la flore intestinale.

Mais alors quelles habitudes alimentaires l'homme doit-il suivre pour maintenir la flore intestinale équilibrée et par conséquent promouvoir la bonne santé de l'organisme ?

C. Impact des pathologies sur la flore intestinale.

Une flore intestinale équilibrée et diversifiée permet d'assurer une multitude de fonctions comme la protection contre les organismes pathogènes, la digestion des aliments, la production de vitamines essentielles, de produits bénéfiques, la stimulation de l'angiogénèse, la régulation du stockage des graisses, la modulation du système immunitaire...

Ainsi la flore intestinale participe au bon fonctionnement de l'organisme et par conséquent au maintien de la Santé.

Cependant l'étude d'un certain nombre de pathologies intestinales (maladies inflammatoires de l'intestin, syndrome du côlon irritable..), de pathologies métaboliques (obésité, diabète...) ou encore de pathologies extra intestinales (asthme, allergies...) montre un lien entre ces différentes pathologies, l'altération de la flore intestinale et la modification des mécanismes immunitaires à l'origine de modifications physiologiques et de conséquences cliniques.

Mais quel est le rôle de la flore intestinale dans ces pathologies multifactorielles ? L'altération de la flore est elle un facteur étiologique ou une conséquence de ces pathologies ?

Voyons plus en détails ces différentes pathologies, leur lien avec la flore intestinale ainsi que leurs conséquences physiopathologiques sur l'organisme.

NB : Relation entre la flore intestinale et le système immunitaire

Avant de commencer l'étude des différentes pathologies il est important de préciser le lien étroit entre le système immunitaire et la flore intestinale.

En effet les cellules de l'immunité innée comme les macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques qui se trouvent à l'interface entre le corps et l'environnement extérieur expriment des protéines intracellulaires et membranaires (Récepteurs Toll-like TLR, Lectine de type C, NLRs, RLRs...) qui sont activées par les molécules microbiennes (flagelline, lipopolysaccharide (LPS), peptidoglycanes, SCFAs...) [16]. Ainsi il n'est pas surprenant que le système immunitaire entretient une relation étroite avec la flore intestinale.

Par ailleurs, Diverses études ont démontrées que les changements de l'expression de ces récepteurs intracellulaires dus aux modifications qualitatives et quantitatives du microbiote intestinal et aux modifications du système immunitaire sont associés avec le développement de conditions pathologiques comme les colites, les infections bactériennes, l'obésité, l'insulino-résistance...[16]

Nous verrons au long de ce chapitre de multiples exemples de cette relation.

a. Les maladies de l'intestin

❖ Colopathies fonctionnelles ou « syndrome du côlon irritable » (IBS)

a) Description de la pathologie

Le syndrome du côlon irritable est une pathologie intestinale chronique touchant principalement les femmes et présentant divers symptômes comme une douleur abdominale, des ballonnements et une altération des fonctions intestinales. On distingue trois sous types, soit à prédominance de diarrhées soit à prédominance de constipations soit mixtes (alternance de diarrhées et constipations) [7].

Au niveau histologique, on observe une augmentation de cellules entérochromaffines sécrétant des neuropeptides comme la 5-HT (sérotonine) à l'origine d'une hypersensibilité intestinale et d'une modification de la motricité intestinale. Par ailleurs on remarque aussi une micro-inflammation avec une augmentation des cytokines pro-inflammatoires (IL-6 et IL-8),

une infiltration des mastocytes et des anomalies de la perméabilité intestinale à l'origine des douleurs.

L'origine étiologique reste encore mal connue mais il s'agit d'une combinaison de nombreux facteurs. Certains facteurs comme les aliments, le stress, les médicaments, les agents infectieux ou encore les hormones favorisent la survenue des symptômes. D'autres facteurs comme la perturbation de la flore intestinale joueraient un rôle dans ce syndrome caractérisé par une hypersensibilité intestinale et une micro-inflammation [7].

b) Lien entre la flore intestinale et les colopathies fonctionnelles et les conséquences physiopathologiques.

D'une part, une étude a comparée la flore intestinale de patients sains et de patients souffrant d'IBS. Celle-ci diffère significativement entre les deux populations notamment au niveau du ratio *Firmicutes* sur *Bacteroides*. En effet les patients IBS ont deux fois plus de *Firmicutes* par rapport aux *Bacteroides*, impliquant ainsi quelques groupes de *Firmicutes* et de Protéobactéries dans la pathogénèse de l'IBS [7]. En contraste de ces résultats, une étude a analysée les selles de sujets IBS à prédominance de diarrhée. On remarque des taux douze fois plus élevés de quelques membres de *Bacteroidetes*. Par ailleurs chez les sujets sains on observe des taux plus important de *Clostridium* [7].

Les différents changements de la flore intestinale sont impliqués dans la modification de l'expression de gènes de l'hôte comme la synthèse des acides aminés, l'intégrité des jonctions cellulaires et la réponse inflammatoire suggérant une faiblesse des fonctions de la barrière épithéliale chez le sujet IBS expliquant certains symptômes de la pathologie [7].

D'autre part, une étude suggère que la croissance excessive de bactéries dans l'intestin grêle serait une cause étiologique possible [7]. Chez ces patients, les bactéries les plus retrouvées sont *Escherichia coli*, des espèces de *Streptococcus*, de *Lactobacillus*, de *Bacteroides* et d'*Enterococcus* [7]. Cette croissance excessive de bactéries dans le petit intestin est à l'origine d'une augmentation de la production de gaz à ce niveau par augmentation de la dégradation des glucides pouvant être à l'origine des symptômes du sujet IBS comme les ballonnements [7].

Le rôle bactérien est évident dans le syndrome du côlon irritable. Les sujets IBS ont une flore intestinale perturbée par rapport aux sujets sains à l'origine de certains symptômes de la pathologie. Cependant au vu des différences de flore entre les sous catégories de sujets IBS, il est difficile de déterminer les bactéries en cause et le rôle exact de la flore intestinale à l'origine de la pathologie ou dans la progression de la pathologie. Les recherches continuent sur le lien entre la flore intestinale et l'IBS mais la recherche d'un équilibre bactérien intestinal laisse l'espoir d'une piste thérapeutique intéressante dans le syndrome du côlon irritable.

❖ Allergies alimentaires

c) Description de la pathologie

L'allergie alimentaire est une allergie consécutive à l'ingestion de molécules alimentaires habituellement inoffensives. Les manifestations allergiques sont soit locales, donnant lieu à des symptômes gastro-intestinaux (colites, diarrhées, nausées, vomissements...), soit distantes, provoquant des symptômes cutanés et respiratoires.

L'allergie alimentaire est considérée comme une forme spécifique d'intolérance alimentaire. Celle-ci se manifeste par une activation du système immunitaire (hypersensibilité de type I). On observe tout d'abord une phase de sensibilisation (1^{er} contact avec l'allergène) aboutissant à la production d'anticorps IgE (anti-allergène de l'aliment concerné). Ensuite se produit la phase de

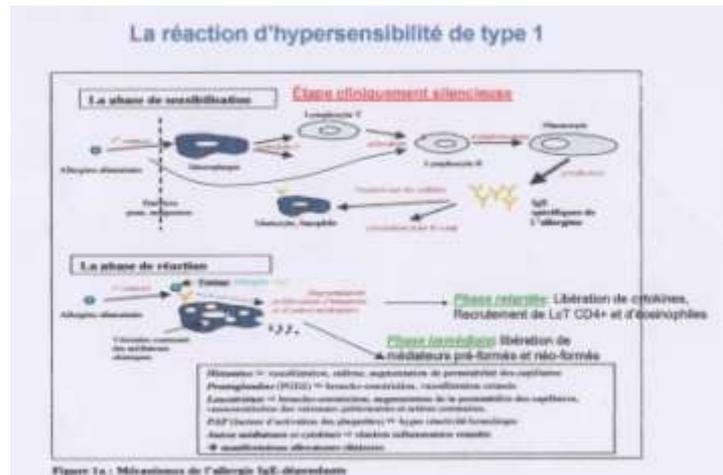


Figure 24 : Réaction d'hypersensibilité type 1.

réactivité (2^e contact avec

l'allergène), l'allergène se lie aux anticorps fixés à la surface des mastocytes et basophiles et entraîne la libération de médiateurs (histamine, leucotriènes, prostaglandines), responsables d'une perméabilité vasculaire, d'une vasodilatation, d'une broncho-constriction. Plus tardivement on aura une libération de cytokines et d'autres médiateurs, ainsi qu'un recrutement de cellules tissulaires à l'origine d'une amplification de la réaction inflammatoire et de symptômes cliniques (troubles gastro-intestinaux, problèmes respiratoires, rarement choc anaphylactique, réactions cutanées).

Plus de 150 aliments sont aujourd'hui recensés comme potentiellement allergisants, et la liste ne cesse de s'allonger : œufs, lait de vache, arachide, crustacés, poisson, blé, légumes de la famille du céleri (fenouil, persil, coriandre), soja, fruits à coque (amande, noisette, noix de cajou, noix de pécan, noix du Brésil, pistache, noix de macadamia et produits à base de ces fruits), moutarde, sésame.

d) Lien entre allergies alimentaires, flore intestinale et conséquences physiopathologiques.

La muqueuse intestinale est constamment exposée à des antigènes dérivés de l'alimentation. Le système immunitaire limite ainsi les réponses à ses antigènes alimentaires en induisant une tolérance orale par différents mécanismes. D'une part la différenciation des cellules T en cellules T régulatrices entraîne la production de cytokines (TGF- β , IL-10 et IL-35) supprimant les réponses aberrantes contre les antigènes alimentaires. D'autre part la colonisation intestinale des *Clostridium* induit une barrière protectrice par un renforcement des réponses immunitaires adaptatives comme la production d'IL-22 par les cellules T CD4+ qui est promotrice de la production de peptides antimicrobiens et de mucus, comme l'activation des cellules B produisant des IgA qui renforcent la barrière intestinale, ou comme l'expansion des cellules T régulatrices sécrétrices de cytokines anti-inflammatoires [9].

Bacteroides fragilis peut aussi induire la différenciation en cellules T régulatrices [9]. Différentes études sur les animaux confirment ces propriétés [22]. Des études récentes montrent que les SCFAs produits principalement par les *Clostridium* sont aussi promoteurs de l'induction de cellules T régulatrices donc du maintien de la tolérance orale [9].

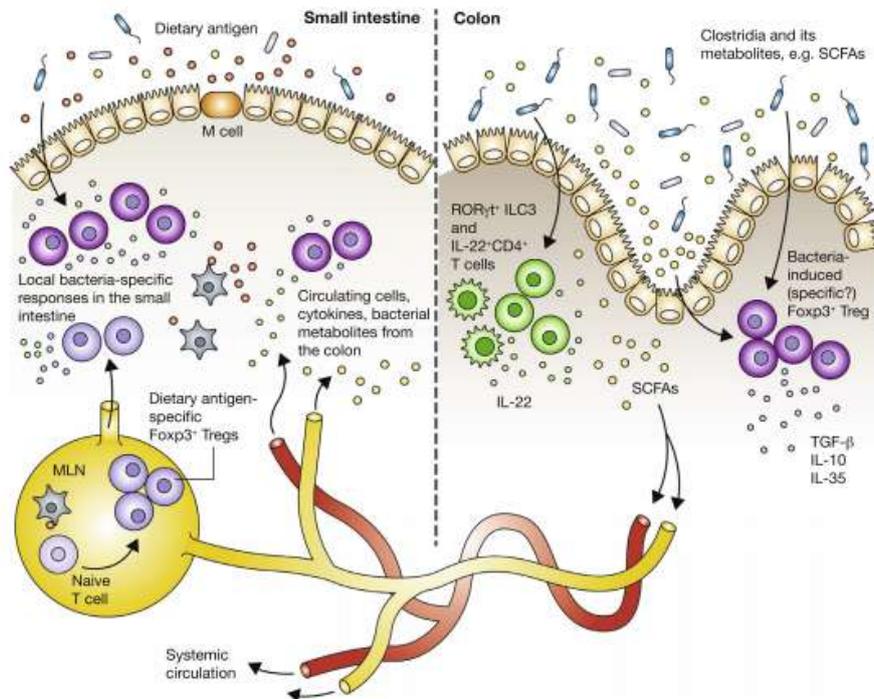


Fig. 2. How do immune responses to bacteria in the colon influence the induction of tolerance to dietary antigens absorbed in the small intestine? Immune cells, such as Foxp3⁺ Tregs, induced by commensal Clostridia and/or their metabolites, may reach the small intestine by migrating via the connected network of lymphatics in the GALT or through the systemic circulation. Cytokines produced by bacteria-induced immune cells in the colon could similarly circulate and reach the small intestine. Short chain fatty acids (SCFAs) can enter the bloodstream and modulate immune responses at distal sites. Aside from the migration of cells and molecules, Clostridia present in the small intestine itself may induce local immune responses that contribute to the maintenance of non-responsiveness to dietary antigen.

Figure 25 : Mécanisme de la tolérance orale [9].

La défaillance de cette tolérance entraîne alors une sensibilisation aux antigènes alimentaires à l'origine de l'activation du système immunitaire et par conséquent des réponses allergiques. On observe une prévalence élevée des réponses allergiques alimentaires dans les sociétés industrialisées ces dernières années. Dans cette population on retrouve un usage excessif des antibiotiques, de l'utilisation de laits infantiles et de l'augmentation des naissances par césarienne, ou encore d'une alimentation riche en graisses. Tous ces facteurs contribuent à des dysbioses pouvant être des facteurs de risques de rupture de la tolérance orale et donc de développer des réponses allergiques alimentaires [9].

Les différentes études permettent d'expliquer le lien étroit entre la flore intestinale (principalement les *Clostridium*), ses produits (SCFAs), le système immunitaire et le maintien de la tolérance orale. Ainsi chez un individu possédant une flore intestinale équilibrée, la tolérance orale est activée lors de l'ingestion d'antigènes alimentaires par l'activation du système immunitaire (IgA, cellules T régulatrices..) médié par la flore intestinale, et par la production de SCFAs. Lorsque cette tolérance orale est défaillante suite à une dysbiose provoquée par divers facteurs (antibiotiques, alimentation riche en graisse..), on observe une sensibilisation aux antigènes alimentaires provoquant une réponse allergique alimentaire (Hypersensibilité de type 1). Rééquilibrer la flore intestinale chez une personne présentant une allergie alimentaire afin d'induire la tolérance orale pourrait alors être une piste thérapeutique à étudier.

❖ Maladies inflammatoires de l'intestin

a) Description de la pathologie

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (ou MICI) regroupent principalement la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH). Elles se caractérisent toutes les deux par une inflammation chronique de la paroi d'une partie du tube digestif. Les MICI sont des maladies complexes résultant d'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux [7][16]. La MC peut être localisée dans tout le système digestif, de la bouche à l'anus (le plus souvent au niveau de l'intestin) tandis que dans la rectocolite hémorragique est localisée au niveau du rectum et du colon. Elles évoluent par poussées inflammatoires de durée, d'intensité et de fréquence extrêmement variables en fonction des patients, alternant avec des phases de rémission. Lors des poussées, la MC se manifeste par des douleurs abdominales, des diarrhées (avec ou sans sang), une altération de l'état général voir des atteintes anales (fissures, fistules). La RCH se manifeste par des douleurs rectales et abdominales, des rectorragies, diarrhées et une altération de l'état générale. Des complications sont possibles.

Au niveau lésionnel, on observe des lésions transmurales et discontinues avec intervalles de paroi saine dans la MC et une atteinte diffuse et continue mais limitée à la muqueuse et sous-muqueuse dans la RCH.

Les événements précoces initiateurs de la pathologie sont mal connus. Cependant on remarque une réponse inappropriée contre des antigènes du tube digestif par dérégulation du système immunitaire de la muqueuse intestinale avec notamment une diminution de la fonction de la barrière épithéliale (augmentation de la perméabilité), une perturbation des fonctions immunes des cellules épithéliales et un déséquilibre de la balance entre les mécanismes effecteurs et régulateurs de l'équilibre intestinale. A noter que les cytokines jouent un rôle majeur au cours des MICI. Par ailleurs il y a une nécessité de présence de la flore commensale dans le développement de ces pathologies.

Mais quel rôle joue la flore intestinale dans les MICI ?

b) Lien entre MICI, flore intestinale et conséquences physiopathologiques.

✓ Présence de la flore intestinale et MICI

Les études réalisées chez des souris ont permis de révéler que la présence de la flore entérique bactérienne était nécessaire pour le développement spontané de colites et l'activation du système immunitaire [7]. De plus le transfert d'une flore intestinale colitique chez une souris saine induit spontanément des colites [7]. D'autres expériences montrent que des colites ont été traitées avec succès grâce à un agent antibactérien et des anticorps anti antigènes microbiens chez les patients MICI [16]. D'autres études sur des modèles animaux montrent que la flore intestinale joue un rôle déterminant dans le développement des MICI [4]. Par ailleurs, ces événements ne se produisaient pas spontanément en l'absence de flore intestinale [4].

Ces études prouvent la nécessité de présence de la flore intestinale dans le développement spontané des MICI.

✓ Modifications de la flore intestinale et MICI

On observe que les patient, souffrant de MICI ont une flore intestinale altérée, avec notamment une diminution du nombre de bactéries aux propriétés anti-inflammatoires et une proportion plus importante de bactéries aux propriétés pro-inflammatoires par rapport aux sujets sains [16]. On remarque aussi une réduction de la diversité bactérienne attribuée principalement à quelques membres du phylum des *Firmicutes* [7]. Ces changements sont différents entre la MC et la RCH. Par exemple on remarque une diminution de l'abondance des bactéries productrices de butyrate comme *Roseburia hominis* et *Faecalibacterium prausnitzii* chez les patients RCH, à l'inverse on a une augmentation des taux de *Faecalibacterium prausnitzii* et une réduction de la diversité chez les patients MC [7]. On observe aussi des taux augmentés de Protéobactéries (famille des entérobactéries) chez les patients RCH et MC [4]. Ces découvertes peuvent hypothétiquement être associées aux agents promoteurs de ces pathologies, notamment *Faecalibacterium prausnitzii* qui entraîne *in vitro* la différenciation de cellules humaines en cellules T régulatrices impliquées dans le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale chez des modèles d'animaux colitiques [4].

Si on étudie des expériences plus pointues, on remarque plusieurs relations entre la flore intestinale et les MICI. D'abord, on réalise une expérience sur une souris stérile. On peut induire une colite grâce au dextran sodium sulfate. On recolonise cette souris avec des selles d'une souris conventionnelle et on s'aperçoit d'une inversion de ce phénotype inducteur de colites montrant un rôle bénéfique de la flore intestinale dans les colites, marqué par une réduction de l'inflammation [16]. En effet on observe que l'exacerbation des colites est due à un manque de colonisation de certaines bactéries propice aux effets néfastes dans les MICI.

Une flore intestinale perturbée peut alors être à l'origine d'une exacerbation de l'inflammation pouvant conduire au développement de MICI [16]. Si on fait le parallèle avec le chapitre précédent, on conclue que la présence de la flore intestinale est nécessaire au développement de colites spontanées (effet néfaste) mais elle est aussi nécessaire pour réduire le développement des colites (effet bénéfique), tout dépend de l'équilibre bactérien de la flore intestinale.

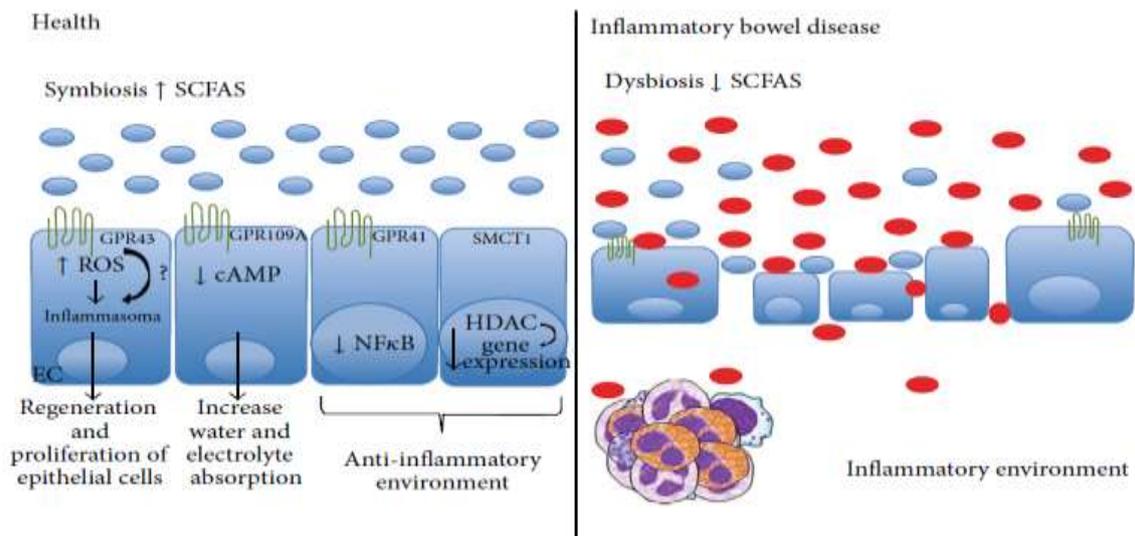


Figure 26 : représentation schématique de l'interaction flore intestinale et système immunitaire chez un sujet sain et un sujet MICI [16].

✓ La flore en cas de MICI pédiatrique.

Les populations pédiatriques atteintes de MICI ont aussi été étudiées. On remarque aussi comme chez les adultes une réduction de la diversité dans la MC mais pas dans la RCH. Par contre on a une augmentation de *Faecalibacterium prausnitzii* dans la MC. On a une augmentation des Protéobactéries dans la MC et RCH mais une absence de *Verrucomicrobia* dans la RCH. Des espèces bactériennes sont négativement associées avec la MC comme *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Blautia*, *F. prausnitzii*. D'autres sont associées positivement avec la MC comme *Haemophilus*, Neisseriacées, *Fusobacterium*, *E. coli*. Par ailleurs, les Veillonellacées et Pasteurellacées sont associées avec la RCH [4].

Ainsi les populations pédiatriques atteintes de MICI sont associées avec une communauté microbienne aberrante. Mais il est encore difficile de déterminer au moment du diagnostic si la dysbiose est une cause de la pathologie ou une manifestation primaire [4].

✓ Relation entre produits bactériens et MICI

SCFAs ; Les SCFAs comme l'acétate, le propionate ou le butyrate sont produits par les bactéries des phylums des *Firmicutes* ou des *Bacteroidetes* après la fermentation des fibres alimentaires [16]. Le butyrate est principalement produit grâce à l'ordre des Clostridiales [5]. Les SCFAs montrent des propriétés anti-inflammatoires [16]. Ainsi chez les patients MC ou atteints de colites on remarque des taux réduits de ces bactéries. Une expérience sur une souris stérile donc sans microbiote intestinale et par conséquent sans production de SCFAs, montre une suppression de l'expression de SLC5A8 (transporteur du butyrate) et de GPR109A (récepteur du butyrate) par rapport à une souris conventionnelle. Ce manque d'expression de ces gènes rend ces souris plus susceptibles de développer une colite ou une MC [16]. Ainsi la réduction de la production du butyrate par les colonies bactériennes diminue les effets protecteurs chez les patients atteints de MICI. En effet le butyrate couplé à son récepteur GPR109A entraîne une réponse anti-inflammatoire par production d'IL-18 et différenciation des cellules dendritiques et macrophages en cellules T régulatrices, indispensables au maintien de la tolérance immunitaire [16]. D'ailleurs d'autres expériences sur des animaux montrent que des produits métaboliques bactériens atténuent les réponses colitiques par induction de cellules T régulatrices [16]. Par ailleurs le couple butyrate/GPR109A entraîne une diminution de l'AMPc donc une augmentation de l'absorption d'eau et d'électrolytes et par conséquent une diminution des diarrhées [16]. Les effets des SCFAs résultent aussi de la liaison aux récepteurs GPR41 et GPR43. En effet chez une souris déficiente en GPR41, on observe une susceptibilité plus importante aux colites. Ce phénomène est associé à une plus grande activation de la voie NFκB, responsable de l'activation de cytokines pro-inflammatoires contribuant à la pathogénèse des MICI [16]. Le butyrate inverse cet effet (action inhibitrice de la voie NFκB) [16]. D'autre part chez une souris déficiente en GPR43, on observe une aggravation de l'inflammation par production de médiateurs inflammatoires et d'activation de cellules immunitaires. L'acétate inverse ces effets. L'acétate réduit les colonies inflammatoires et induit la promotion de cellules T régulatrices dans les modèles animaux [16]. Par ailleurs, l'acétate couplé au GPR43 augmente la production de ROS activant un complexe de protéines intracellulaires appelé inflammasome. Celui-ci affecte la réponse immunitaire innée entraînant une réponse inflammatoire contre l'hôte à l'origine d'une activation de la régénération des cellules épithéliales permettant le maintien de l'intégrité de la barrière épithéliale [16]. Des expériences chez les souris montrent que la déficience en NLPR6, NLPR3, Caspase 1 (médiateurs du complexes inflammasomes) était corrélée à une diminution des productions d'IL-1β et IL-18 (cytokines impliquées dans la réponse inflammatoire contre l'hôte) durant les colites, et une déficience en NLPR6 entraîne une altération de la flore intestinale en flore colitique. Ainsi l'acétate couplé au NLPR6 participe à la régulation de la flore intestinale pour

la prévention des colites récurrentes par induction de la sécrétion d'IL-18 par les cellules épithéliales [16]. La diminution des taux de bactéries productrices de SCFAs est à l'origine de la création et de l'entretien d'un environnement inflammatoire au niveau de la muqueuse intestinale pouvant être un facteur de la pathogénèse des MICI. (Figure 26)

Acides biliaires ; Les acides biliaires primaires synthétisés à partir du cholestérol dans le foie subissent un cycle entéro-hépatique. 5 à 10 % des acides biliaires primaires seront biotransformés par les bactéries de la flore intestinale en acides biliaires secondaires (déhydroxylation). Des enzymes d'hydrolases des acides biliaires ont été identifiés principalement sur des bactéries anaérobiques du genre *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus* et *Escherichia*. Une petite partie de la biotransformation a lieu grâce à des bactéries aérobies comme les Actinobactéries et Protéobactéries [5].

Ainsi un déséquilibre de ces bactéries par exemple par une augmentation d'une alimentation d'origine animale peut modifier les concentrations d'acides biliaires secondaires. Une augmentation des acides biliaires secondaires peut être à l'origine d'une inflammation pouvant conduire au développement des MICI [5].

Phénols ; L'humain excrète des phénols volatiles principalement sous forme de 4-crésol et de phénol (conjugué). Le crésol est associé à différents genres bactériens comme *Clostridium*, *Bifidobacterium* et *Bacteroides*. Des taux anormaux de métabolites du 4-crésol dans les urines sont corrélés avec des conditions pathologiques comme les pathologies inflammatoires de l'intestin. De plus ces taux anormaux sont révélateurs d'une altération de la composition de la flore intestinale avec une diminution de la diversité et plus particulièrement de la perte d'espèces de *Bacteroides* et de *Lactobacillus* [5].

Les différentes études permettent d'affirmer que la présence de la flore intestinale est nécessaire au développement des MICI. Ainsi au cours des MICI on remarque une flore intestinale perturbée avec notamment une diminution de la diversité bactérienne et une diminution des bactéries aux propriétés anti-inflammatoires au profit de bactéries aux propriétés pro-inflammatoires et aux bactéries pathogènes. Cette flore intestinale altérée est à l'origine du développement et du maintien de l'inflammation intestinale par dérégulation du système immunitaire ou encore par la production de produits microbiens néfastes (phénols, acides biliaires) ou par la diminution de la production de produits bénéfiques (SCFAs) ou par la promotion d'organismes pathogènes. Ces dérèglements aboutissent aux symptômes cliniques (douleurs, diarrhées...). L'étude de populations pédiatriques atteintes de MICI montre aussi cette altération de la flore mais ne permet pas à l'heure actuelle de définir si la dysbiose est un agent causal de la pathologie ou alors une manifestation précoce de la pathologie. Cependant, on observe à travers ce chapitre que l'action sur la flore intestinale constitue une piste thérapeutique possible en complément des autres traitements dans les MICI.

❖ Le cancer colorectal

a) Description de la pathologie

Le cancer colorectal (CRC) est le troisième cancer le plus mortel dans le monde. Le CRC est une tumeur maligne qui se développe au niveau du colon ou du rectum [7]. Il est beaucoup plus fréquent dans les pays industrialisés, les habitudes de vie comme l'alimentation jouant un rôle primordial dans son apparition. Il existe d'autres facteurs de risques comme l'âge (après 65 ans), l'hérédité ou encore la présence d'une MICI. Le CRC passe généralement inaperçu dans ses premiers stades de croissance. Les symptômes suivants peuvent être le signe d'un cancer colorectal ; des changements dans les habitudes fécales qui durent depuis quelques semaines (constipation ou diarrhée, par exemple), du sang dans les selles, des malaises abdominaux (des gaz intestinaux, des crampes ou des douleurs au ventre), la sensation que les intestins ne se vident jamais complètement ou d'avoir constamment envie de déféquer, une grande fatigue, une perte de poids inexpliquée.

b) Lien entre la flore intestinale, le CRC et les conséquences physiopathologiques.

Le CRC est une pathologie multifactorielle, mais de plus en plus d'études suggèrent que la flore intestinale joue un rôle dans le CRC. Une étude compare les microbiotes de patients sains et de patients CRC. On remarque une diminution de l'abondance des bactéries productrices de butyrate et une augmentation de l'incidence de pathogènes opportunistes [7]. D'ailleurs des membres du genre des *Fusobacterium* ont récemment été identifiés comme potentiel agent causatif et ont été identifiés à des taux élevés dans les carcinomes colorectaux [7]. Ces membres des Fusobactéries génèrent un microenvironnement pro-inflammatoire par le recrutement de cellules immunitaires d'infiltration tumorale. Ainsi les Fusobactéries peuvent contribuer à la tumorigénèse par ce mécanisme inflammatoire [7]. D'autre part, le nombre d'*E.coli* montre un lien avec le CRC. En effet, la présence de souches d'*E. coli* à des taux importants chez des souris colitiques est promotrice d'adénocarcinomes, le retrait de la toxicité de ces souches inverse l'effet [7]. Ainsi l'altération de la flore intestinale observée chez les sujets colitiques, sélectionnant des membres aux capacités génotoxiques, promouvoit la tumorigénèse [7].

L'altération de la flore intestinale est un facteur de plus que l'on peut ajouter au risque de développer un CRC. Ainsi les perturbations de la flore intestinale peuvent diminuer les bactéries productrices de butyrate au rôle protecteur contre le CRC, créer un environnement inflammatoire, ou encore être à l'origine d'une augmentation de souches néfastes aux capacités génotoxiques.

b. Les maladies métaboliques

❖ L'obésité

a) Description de la pathologie

Dans le monde, le nombre d'obèses a doublé depuis 1980, plus d'un adulte sur dix est obèse et plus de 42 millions d'enfants de moins de cinq ans présentent un surpoids. L'obésité est présente principalement dans les pays industrialisés mais on remarque une nette augmentation de l'obésité dans les pays en voie de développement ces dernières années. Il s'agit d'un problème de Santé publique d'autant plus que l'obésité est évitable. L'obésité est caractérisée selon l'OMS par une « accumulation anormale excessive de graisse corporelle pouvant nuire à la santé ». Elle se définit par un IMC supérieur ou égale à 30. Ainsi l'obésité et le surpoids sont des importants risques de maladies chroniques tels que les maladies cardio-vasculaires, le diabète, les troubles musculo-squelettiques, les cancers.

L'obésité est classiquement considérée comme un déséquilibre entre l'énergie consommée et dépensée. Cependant les événements impliqués dans l'obésité ne sont pas aussi simples. L'obésité est la conséquence d'interactions complexes entre les facteurs génétiques, environnementaux, socio-économique et alimentaires [23].

(NB : Source de la figure 27 : [23].)

L'obésité est caractérisée par une inflammation de bas grade, une altération de la flore intestinale et une augmentation du système endocannabinoïde [23]. D'autres voies interdépendantes du microbiote, pouvant influencer l'adiposité et le gain de poids, ont été identifiées. Elles incluent par exemple une meilleure extraction des calories des nutriments, la génération de métabolites spécifiques (SCFAs), la modulation du comportement de l'hôte et de la satiété par l'axe cerveau-intestin et un conditionnement influençant sur les réponses inflammatoires [23]. **Mais comment la flore intestinale peut-elle entraîner ces modifications pouvant conduire à l'obésité ?**

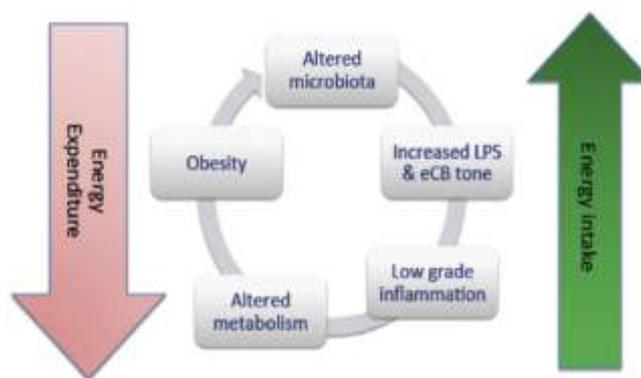


Figure 27 : Mécanismes impliqués dans la pathogénèse de l'obésité.

b) Lien entre la flore intestinale, l'obésité et les conséquences physiopathologiques.

✓ Présence de la flore et obésité

Une souris stérile (dépourvue de flore intestinale) développe moins de masse grasse qu'une souris conventionnelle (avec une flore intestinale). En recolonisant la souris stérile on remarque une dramatique augmentation de la masse adipeuse totale, et cette augmentation n'est pas associée aux différences de consommations alimentaires ou de dépenses énergétiques. La présence de la flore intestinale augmente l'absorption des monosaccharides, le contenu en triglycérides du foie, les taux de leptines et la résistance à l'insuline [23]. Par ailleurs la colonisation d'une souris stérile par des bactéries intestinales commensales module l'expression de gènes impliqués dans des fonctions intestinales comme l'absorption des

nutriments, la fortification de la barrière mucoale, le métabolisme des xénobiotiques, l'angiogénèse ou encore la maturation intestinale post-natal [16]. Dans une autre étude on transplante la flore intestinale fécale d'un obèse humain chez une souris stérile. On observe alors une augmentation de la masse grasse et un phénotype métabolique caractéristique des obèses chez cette souris transplantée par rapport à une autre souris transplantée avec la flore intestinale fécale du jumeau maigre [7].

Dans les modèles animaux, l'obésité est associée à des changements de la composition et des fonctions métaboliques de la flore intestinale

✓ Composition de la flore intestinale chez les obèses

La flore intestinale d'un obèse est marquée par des changements au niveau des taux des phylums avec une plus grande proportion de *Firmicutes* et une proportion plus faibles de *Bacteroidetes* comparé aux individus de poids normal [23]. L'augmentation des *Firmicutes* est responsable d'un enrichissement en gènes microbiens codant des enzymes favorisant le métabolisme des glucides et par conséquent améliorant la capacité de l'hôte à digérer les aliments et d'extraire de l'énergie comme les SCFAs [5]. On remarque aussi une diminution globale de la diversité bactérienne [23]. Une étude récente montre une diminution d'*Akkermansia muciniphila* (bactérie dégradant la mucine permettant de fournir l'énergie nécessaire à l'hôte lors de carences nutritives) chez les sujets obèses [7].

✓ Flore intestinale pédiatrique et obésité

Chez les enfants obèses, on observe dans leur flore intestinale une réduction des *Bacteroidetes*, et une augmentation de *Methanobrevibacter smithii*, d'espèces de *Lactobacillus* et de *Faecalibacterium prausnitzii* [4]. Ainsi la flore est riche en bactéries impliquées dans la fermentation des aliments, la production de SCFAs donc une flore plus propice à la digestion des aliments et de l'extraction d'énergie alimentaire. D'autre part des études sur l'administration de petites doses d'antibiotiques au long terme, utilisé comme perturbateur de la flore intestinale, chez des très jeunes souris ont été réalisées. Ainsi la perturbation de la flore intestinale produite pendant la maturation par ces petites doses d'antibiotiques expose l'hôte à des perturbations métaboliques, immunitaires et à l'adiposité [4][24].

Ces études dans les premières années de la vie ont aussi permis d'indiquer plusieurs caractéristiques de l'obésité induite par le microbiote. Premièrement, le début de la vie est une fenêtre critique d'interactions entre l'hôte et la flore intestinale. Ainsi des perturbations de la flore intestinale avant le sevrage sont suffisantes pour induire des changements métaboliques durables. Deuxièmement, même avec des expositions d'antibiotiques limitées à l'enfance, l'élévation de l'adiposité apparaît plus tardivement au milieu de l'âge adulte. Troisièmement, les expositions d'antibiotiques amplifient l'obésité induite par l'alimentation et les effets sur l'expression des gènes hépatiques, sur les taux d'hormones métaboliques et sur l'accumulation de graisses. Quatrièmement, l'altération de la flore intestinale seule sans continuer les expositions est en cause. Cinquièmement, la transmission de ce phénotype altéré se perd au fur et à mesure des transferts indiquant que la récupération est possible après l'arrêt des expositions [24].

✓ Flore intestinale, inflammation et obésité

Chez les obèses on observe des taux systémiques élevés de lipopolysaccharide (LPS) [23]. Le LPS est un composant pro-inflammatoire de la membrane cellulaire des bactéries gram négatives. L'obésité est liée à une augmentation de la perméabilité intestinale dans les études animales et humaines, ce qui explique l'augmentation de la translocation de macromolécules toxiques, de bactéries, d'antigènes, comme le LPS [23]. Par ailleurs des études montrent que l'augmentation de l'absorption d'énergie comme des matières grasses augmente la perméabilité intestinale et les taux de LPS propice à la création d'un microenvironnement inflammatoire [23]. La phosphatase alcaline intestinale (IAP) est régulée par la flore intestinale et augmente la détoxification du LPS. On observe une diminution des taux d'IAP chez les obèses et une augmentation de l'activité de l'IAP est corrélée à une réduction de la toxémie métabolique [23].

L'obésité induit des modifications microbiennes impliquées dans d'autres réponses immunitaires inflammatoires via par exemple le TLR5 (toll like récepteur 5), les lymphotoxines, l'inflammasome [23].

✓ Flore intestinale, voies métaboliques et obésité

Les endocannabinoïdes (eCB) sont synthétisés localement dans le tractus gastro-intestinal. Les récepteurs principaux sont le CB1 exprimé par le foie, le pancréas, le tissu adipeux et le système nerveux central et périphérique et le CB2 exprimé par les cellules immunitaires dans le cerveau, le pancréas et le tissu adipeux. Le système eCB régule des processus physiologiques comme la motilité intestinale et l'appétit et joue un rôle majeur dans l'homéostasie énergétique par la régulation de l'appétit et du métabolisme via l'axe microbiote-intestin-cerveau [23]. L'obésité est associée à une augmentation du système eCB altérant l'expression de CB1, et une augmentation des taux d'eCB dans le plasma et le tissu adipeux [23]. Des études sur des souris confirment que l'augmentation de l'activité du système eCB joue un rôle dans le développement de l'obésité [23]. D'autres études supposent que ce système est un médiateur impliqué dans la communication entre la flore intestinale et le tissu adipeux [23].

Le FIAF (fasting-induced adipocyte factor) est une protéine inhibant la lipoprotéine lipase. Elle est sélectivement supprimée dans l'épithélium intestinal, le foie et le tissu adipeux chez une souris conventionnelle. Les recherches sur différents types de souris ont permis d'établir que la suppression du FIAF est essentielle pour le microbiote afin d'induire des dépôts de triglycérides dans les adipocytes. Ces expériences ont démontrées que les bactéries intestinales pouvaient affecter l'énergie extraite des aliments et de réguler le stockage d'énergie chez l'hôte [16].

D'autres études se sont intéressées à l'**AMPK** (AMP activated protein kinase). Les souris stériles sont protégées de l'induction de l'obésité par une alimentation type Western. Ce phénomène est associé à une augmentation de l'AMPK dans le foie et le muscle squelettique qui stimule l'oxydation des acides gras dans les tissus périphériques, augmente la formation de glycogène et diminue la sensibilité du foie à l'insuline. La présence de la flore intestinale supprime ces effets par phosphorylation de l'AMPK [16].

La suppression de ces deux voies métaboliques (FIAF et AMPK) par la flore intestinale est impliquée dans le développement de l'obésité notamment induite par une alimentation type Western.

✓ Métabolites produits par la flore intestinale et obésité

SCFAs ; Les individus en surpoids ont des taux de SCFAs fécaux plus importants que les individus maigres avec principalement un taux élevé de propionate [23]. Ces taux retrouvés ne sont pas secondaires à une différence dans l'alimentation ou dans l'absorption des SCFAs [23]. Les SCFAs sont aussi des ligands endogènes des récepteurs FFAR2 (Fatty acid receptor 2) et FFAR3 (fatty acid receptor 3) exprimés sur la muqueuse intestinale, les cellules immunitaires, le foie et le tissu adipeux. L'activation de FFAR2 et FFAR3 par les SCFAs entraîne la production et la libération d'hormones intestinales le GLP1 (glucacon-like peptide) et le neuropeptide YY qui stimulent la satiété [23]. Les SCFAs produits par la flore intestinale sont impliqués dans la reconnaissance de l'excès de nutriments post prandial et de l'utilisation des dépenses énergétiques pour maintenir l'homéostasie énergétique. FFAR2 activé par les SCFAs régule l'énergie absorbée dans le tissu adipeux blanc et par la suite influence l'énergie dépensée par les tissus systémiques comme les muscles et le foie. Les SCFAs activent le système nerveux central via le FFAR3 régulant ainsi les dépenses énergétiques et activant la gluconéogenèse intestinale (mécanisme cAMP-dépendant) [23]. Propionate et butyrate induisent les hormones intestinales et réduisent l'absorption alimentaire [23].

Les SCFAs sont aussi des ligands des récepteurs GPR41 et GPR43. L'activation de ces récepteurs induit le stockage des graisses [16]. De plus l'activation du GPR43 par l'acétate et le propionate contribue à l'inhibition de la lipolyse et de la différenciation des adipocytes promoteur de l'expansion du tissu adipeux chez les modèles animaux soumis à une alimentation riche en matières grasses [16].

Les SCFAs ont la capacité à moduler la satiété ainsi que l'inflammation de bas grade d'où le lien établi entre la flore intestinale, l'alimentation et l'obésité.

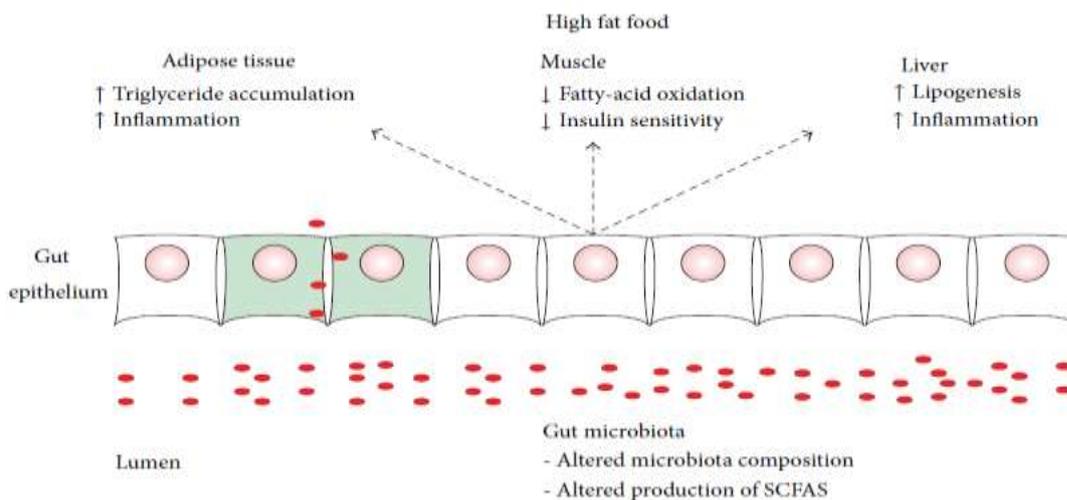


Figure 28 : Altération de la composition bactérienne, de la production des SCFAs et conséquences métaboliques [16].

Les acides biliaires ; Les acides biliaires subissent des transformations par l'action de la flore intestinale (déhydrogénation, déhydroxylation, désulfication) pour produire des acides biliaires secondaires et tertiaires. La flore intestinale joue un rôle clé déterminant la composition en acides biliaires et par conséquent les effets sur le métabolisme de l'hôte. Les acides biliaires se lient à des récepteurs cellulaires comme le FXR (pour les acides biliaires primaires) et le TGR5 (pour les acides biliaires secondaires). L'activation du TGR5 induit la sécrétion de GLP-1 (glucacon-like peptide-1) et augmente la tolérance au glucose chez des souris obèses [5]. De plus l'activation de TGR5 augmente l'énergie dépensée et protège contre l'obésité induite par l'alimentation [5]. Par ailleurs, la croissance de *Bilophila wadsworthia* est stimulée par la sécrétion des acides biliaires lors d'une alimentation riche en acides gras saturés chez les humains [12][5].

Choline ; La choline provient de certains aliments comme les œufs ou la viande rouge et subit une conversion par la flore intestinale en TMA (triméthylamine) puis en TMAO (triméthylamine-N-oxyde) par le foie [5]. La choline est essentielle dans le métabolisme lipidique et la synthèse hépatique des lipoprotéines. Des études montrent que la conversion microbienne alimentaire de la choline est une caractéristique imminente qui est associée avec une altération de la flore intestinale entraînant l'obésité ou la stéatose hépatique chez les souris, les humains et dans les maladies cardiovasculaires [5]. Des taux élevés de TMAO et de ces métabolites sont corrélés avec les maladies cardiovasculaires [5].

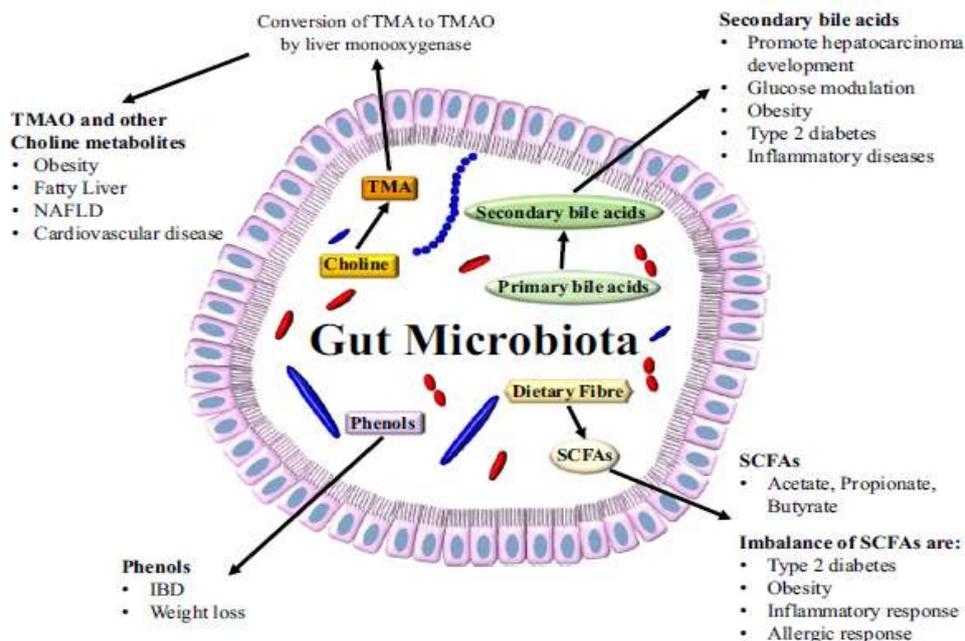


Figure 29 : Métabolites produits par la flore intestinale et implications dans les pathologies [5].

Les différentes études menées montrent une altération de la flore intestinale chez les obèses. Cette perturbation est à l'origine d'une augmentation de l'extraction d'énergie alimentaire, de changements dans la signalisation des voies métaboliques et immunitaires, de la présence d'une inflammation de bas grade ainsi que la production de métabolites microbiens. Tous ces changements contribuent au développement et au maintien de l'obésité et accroît les risques de développer des maladies consécutives à l'obésité. En étudiant des populations pédiatriques, on s'aperçoit que les perturbations de la flore intestinale dans l'enfance peuvent contribuer à des changements métaboliques durables et au développement d'une obésité à l'âge adulte. Cependant les études suggèrent aussi que ces effets sont réversibles si on supprime les facteurs responsables du déséquilibre de la flore intestinale. Ainsi la recherche de l'équilibre de la flore intestinale chez les obèses pourrait être une piste complémentaire intéressante en thérapeutique.

❖ Le diabète

a) Description de la pathologie

Il existe deux types de diabète. Le diabète de type 1 (DT1) touche environ 10% des diabétiques et survient surtout chez les populations jeunes. Il est causé par une destruction auto-immune du pancréas, celui-ci ne pouvant plus produire d'insuline. Le DT1 est lié à une prédisposition génétique mais il pourrait aussi être déclenché par des événements extérieurs.

Le diabète de type 2 (DT2) est une maladie caractérisée par une hyperglycémie chronique (supérieure à 1,26g/l de sang). Il survient principalement chez les adultes avancés en âge et surtout chez les obèses. D'après les prévisions de l'OMS, le nombre de diabétiques de type 2 devrait passer de 135 à 300 millions dans le monde entre 1995 et 2025. On parle d'une véritable épidémie de diabète de type 2. Le DT2, représentant 90% des diabètes, est caractérisé par un désordre métabolique et résulte d'une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. Le développement du diabète de type 2 se fait très progressivement, de façon insidieuse sur de nombreuses années en 3 étapes. Tout d'abord les cellules de l'organisme deviennent résistantes à l'insuline, c'est l'insulino-résistance. Cette résistance est normale avec l'âge mais elle est aggravée par l'excès de tissus gras en cas de surpoids et d'obésité. L'organisme tente de s'adapter et dans un premier temps, il augmente la production d'insuline par le pancréas : c'est l'hyperinsulinisme. Après plusieurs années (10 à 20 ans), le pancréas s'épuise et ne peut plus sécréter suffisamment d'insuline pour réguler le taux de sucre dans le sang : c'est le stade d'insulino-déficience.

A long terme des complications peuvent apparaître comme des atteintes des nerfs et des vaisseaux sanguins à l'origine de maladies cardiovasculaires, de maladies oculaires, de douleurs ou d'insuffisance rénale. **Mais quel rôle joue la flore intestinale dans le diabète ?**

b) Lien entre la flore intestinale, le diabète de type 1 et les conséquences physiopathologiques.

Une étude sur des modèles de souris diabétiques non obèse (NOD) est réalisée. Chez les souris NOD sans Myd88, la protection contre le DT1 diminuait par rapport aux souris stériles ou sous traitement antibiotique. En effet chez ces souris on remarque une diminution du ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* indiquant que certaines populations bactériennes sont essentielles dans la protection contre le DT1 [5]. De plus une souris déficiente en Myd88 mais non diabétique n'engendre pas de différence dans la composition de la flore intestinale ce qui suppose que la génétique des souris diabétiques influence les effets de Myd88 [5]. Les bactéries filamenteuses segmentées (SFB) ont aussi un rôle protecteur contre le DT1 chez les mâles. En effet chez les souris mâles NOD on retrouve des taux diminués d'incidence de DT1 par rapport aux femelles. De plus la composition microbienne chez les souris NOD est différente des femelles contribuant à la production de testostérone protectrice contre le DT1 [5].

c) Lien entre la flore intestinale, le diabète de type 2 et les conséquences physiopathologiques.

Différentes études montrent des changements dans la flore intestinale de sujets atteints de DT2 par rapport aux sujets sains. On observe notamment une réduction des *Firmicutes* et plus particulièrement des espèces de *Clostridium* chez les sujets DT2. La même étude révèle que les ratios *Bacteroidetes/Firmicutes* et *Bacteroides-Prevotella/C.coccoides-Eubacterium rectale* étaient corrélés aux concentrations de glucose dans le plasma. De plus comme les

Bacteroidetes et *Proteobacteria* sont des bactéries Gram négatif, elles présentent des taux importants d'endotoxines LPS sur leurs membranes externes. Ces découvertes suggèrent que les réponses inflammatoires induites par les endotoxines peuvent promouvoir le DT2 [5].

Une étude sur 345 chinois a montré que la flore des sujets atteints de DT2 était caractérisée par une dysbiose modérée, de faibles taux de bactéries productrices de butyrate (comme *Clostridiales*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis* ou *Roseburia inulinivorans*), et d'un enrichissement de gènes des fonctions microbiennes de sulfate réductrices (augmentation d'espèces sulfate réductrices comme *Desulfovibrio*) et de résistance au stress oxydatif. Cet enrichissement provient de pathogènes opportunistes comme des espèces de *Clostridium*, *Bacteroides caccae* ou *Escherichia coli*. On remarque aussi un enrichissement d'*A. muciniphilia* [5].

Dans le diabète de type 1, les études animales montrent une influence de la flore intestinale dans le développement de diabète de type 1 corrélée à la génétique. En ce qui concerne le diabète de type 2, les sujets atteints possèdent une flore intestinale perturbée entraînant des dysfonctionnements dans les fonctions de régulation du glucose ainsi que dans la production de métabolites protecteurs comme les SCFAs et produisant une micro-inflammation au niveau de la muqueuse intestinale. La flore intestinale déséquilibrée contribue ainsi à l'entretien de la pathologie, par contre il est encore difficile de déterminer si ce déséquilibre n'est qu'une conséquence de la pathologie et pas aussi un facteur déclenchant.

c. Les maladies extra intestinales

❖ L'asthme et les allergies

a) Description de la pathologie

L'asthme est une pathologie respiratoire chronique due à une inflammation des bronches réagissant de façon excessive à certains facteurs. La maladie s'explique ainsi par trois mécanismes caractéristiques ; une inflammation avec œdème de l'épithélium bronchique, une broncho-contriction par bronchospasmes et une hyperactivité bronchique se manifestant par une sécrétion accrue de mucus. Sur le plan biologique on retrouve une hyper éosinophilie et des taux élevés de production de cytokine Th2 (IL-4 et IL-3) [16]. L'environnement joue un rôle important et peut influencer la différenciation des cellules T et l'allergie, par exemple une diminution de la fonction de la barrière épithéliale due à divers facteurs peut faciliter le passage des antigènes et donc la présentation aux cellules T [25]. L'asthme est une maladie fréquente en constante augmentation avec 300 millions de personnes atteintes dans le monde [16]. Certains facteurs génétiques et environnementaux prédisposent à l'asthme comme le tabagisme (actif ou passif), un terrain allergique familial et surtout personnel. En effet, asthme et allergie (figure 16) peuvent être liés et les allergènes déclenchant les crises sont multiples : pollen, plumes, poils, acariens... L'existence d'autres allergies accroît le risque d'asthme (eczéma atopique dans l'enfance, eczéma de contact, rhinite allergique, conjonctivite allergique). La prématurité ou le petit poids de naissance, un passé de bronchiolites dans l'enfance sont aussi des facteurs de risques. Si l'asthme n'est pas contrôlé (traitement de fond, suppression des facteurs de risques...) il peut aboutir à des complications graves comme la crise d'asthme.

b) Lien entre flore intestinale, asthme, allergies et conséquences physiopathologiques.

✓ La théorie du microbiote

La prévalence de l'asthme est plus importante dans les pays industrialisés due aux changements de style de vie comme l'hygiène excessive, l'utilisation des antibiotiques et l'alimentation riche en lipides [16]. Il est alors logique de s'intéresser au rôle de la flore intestinale dans l'asthme et l'allergie. Ainsi une nouvelle théorie émerge, c'est-à-dire que les perturbations de la flore intestinale résultant de la réduction de l'exposition microbienne dans l'enfance due aux changements alimentaires et à l'utilisation des antibiotiques conduisent à un sous-développement du microbiote. Cette flore intestinale immature retarde ainsi la maturation du système immunitaire.

Cette séquence d'événements nécessaire au développement de la tolérance immunitaire est alors perturbée conduisant à l'hypersensibilité allergique [16]. Les études épidémiologiques ont identifiées un lien entre l'altération de la composition de la flore intestinale et le développement d'allergies [16]. Ainsi chez des enfants asthmatiques, on remarque des taux élevés d'espèces de *Clostridium* (bactéries avec des caractéristiques pathogènes) et des taux faibles de *Bifidobacterium* (bactéries non pathogène) par rapport aux enfants non asthmatiques [16].

(NB : source de la figure 30 : [25].)

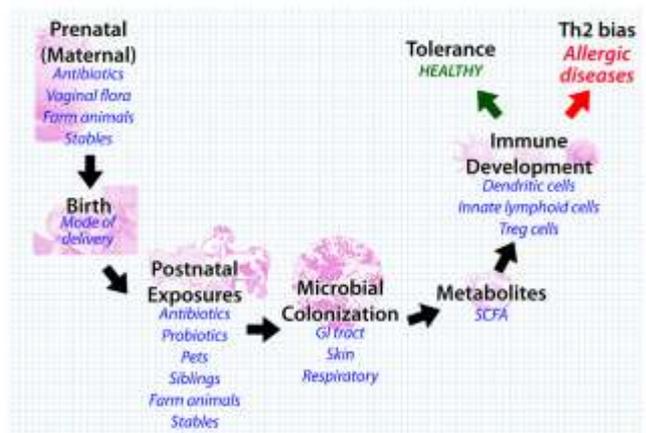


FIG 1. Sources of microbial exposure in early life and relationship to immune development and clinical outcomes. GI, Gastrointestinal; SCFA, short-chain fatty acids.

Figure 30 : exposition microbienne et maturation immunitaire

✓ Flore intestinale, cellules immunitaires et réponses allergiques.

Des études ont été réalisées chez des modèles animaux. Ainsi on peut comprendre comment la flore intestinale équilibrée induit la régulation du système immunitaire maintenant le système respiratoire en bonne santé ou à l'inverse comment une flore intestinale réduite peut entraîner une réponse allergique respiratoire avec notamment une élévation des concentrations d'IgE, une augmentation des basophiles circulants, une exacerbation des réponses cellulaires Th2 et une inflammation allergique. A noter aussi que l'expression de Myd88 est impliquée dans cette inflammation [16].

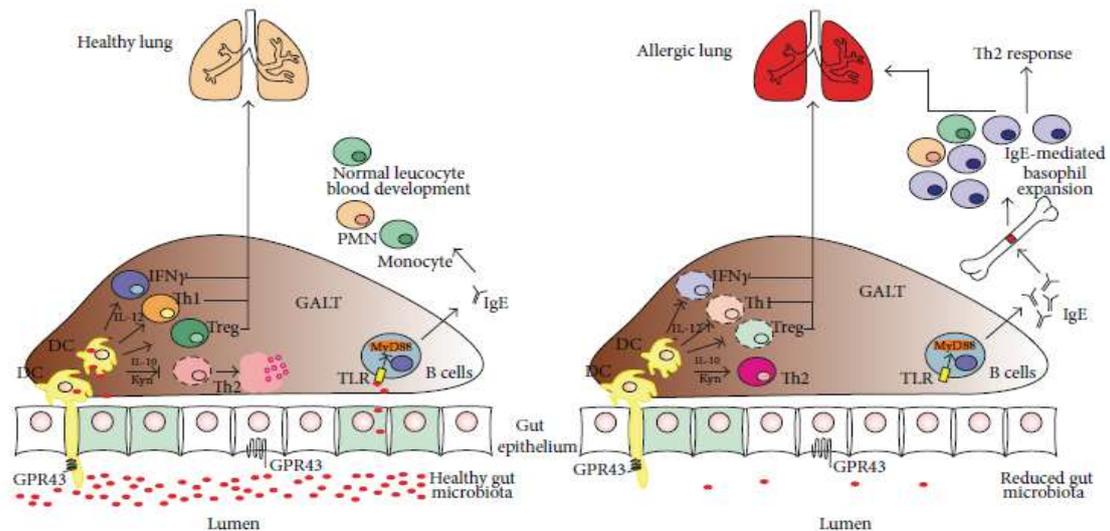


FIGURE 1: Schematic representation of the pulmonary allergic response induced by gastrointestinal (GI) immune cells and two microbiota-related conditions (a healthy gut microbiota and a reduced gut microbiota following antibiotic treatment). Microbes in the intestines are sampled by Toll-like receptors (TLRs) on DCs either directly in the lumen or in the gut-associated lymphoid tissue (GALT). In the healthy gut microbiota, polymorphonuclear development (PMN) is normal and DCs become regulatory DCs (DCr) that promote development of Tregs and/or Th1 cells and natural killer (NK) cells. These NK cells inhibit Th2 inflammation. Antibiotic treatment kills a large proportion of healthy microbiota, leading to a reduced gut microbiota and an inflammatory environment without DCs, Th1 cells or NK cells. In this environment, an unhealthy microbiota elevates serum immunoglobulin E (IgE) levels, increases circulating basophil populations, and exacerbates basophil-mediated Th2 responses (adapted from Forsythe [110]).

Figure 31 : Représentation schématique d'une réponse allergique pulmonaire induite par le tractus gastro-intestinal [16].

La flore microbienne est ainsi capable de stimuler le développement du système immunitaire par des effets sur les cellules épithéliales, les cellules présentatrices d'antigènes ce qui permet de moduler la différenciation des cellules T, incluant la stimulation du développement des cellules T régulatrices [25]. Par exemple, une souris élevée dans un environnement stérile, possède des désordres dans le développement immunitaire la prédisposant aux pathologies allergiques et inflammatoires. La repopulation de l'intestin avec des bactéries spécifiques affecte le développement immunitaire (promotion des réponses IL-17, production de SCFAs entraînant la différenciation des cellules T régulatrices) [25]. D'autre part certaines bactéries exercent leurs effets par d'autres mécanismes incluant la modulation du système immunitaire et l'inhibition de la croissance de bactéries pathogènes [25].

Par ailleurs une souris stérile exposée à un allergène (ovalbumine) entraîne une hyper-éosinophilie dans les voies aériennes, une augmentation de la production de cytokines inflammatoires Th2, une élévation des IgE et une altération du nombre de cellules dendritiques. Ces effets s'annulent lors de la colonisation de la flore intestinale de cette souris [16].

On remarque aussi chez des souris stériles une augmentation du nombre de cellules iNKT comparée aux autres souris. Les cellules iNKT sécrètent des taux importants d'IL-4, IL-12, IFN- γ augmentant les réponses allergiques inflammatoires. De plus le transfert d'une flore intestinale équilibrée chez des bébés souris est protecteur de l'accumulation des cellules iNKT d'où l'importance du contact microbiens dans les premières années de la vie [16].

✓ Métabolites (SCFAs...), flore intestinale et allergies

Certaines bactéries de la flore intestinale peuvent aussi produire des métabolites (SCFAs, α -galactosylcéramide, métabolites du tryptophane...) pouvant influencer le développement immunitaire.

La fermentation des fibres alimentaires par les bactéries commensales de l'ordre des *Clostridiales* est la source principale de production du butyrate [5]. Des études ont montrées

que le butyrate induit la différenciation des colonies de cellules T régulatrices qui ont un rôle pivot dans la suppression de l'inflammation et des réponses allergiques [5].

Une étude récente a aussi reporté que la portion de fibres dans l'alimentation altère la composition microbienne de l'intestin mais aussi du poumon notamment une altération du ratio Firmicutes sur Bacteroidetes. Ainsi chez des souris suivant un régime riche en fibres, on observe une augmentation des taux de SCFAs protégeant les souris contre l'inflammation allergique au niveau du poumon. Le contraire est observé chez des souris suivant un régime pauvre en fibres [5]. Toutes ces études permettent de conclure que le déséquilibre de la flore intestinale joue un rôle dans le développement et l'entretien de l'asthme et des réponses allergiques.

d. Divers

On ne peut pas expliquer ici en détails toutes les pathologies où la flore intestinale joue un rôle probable dans le développement et/ou l'entretien de ces pathologies. Voyons alors quelques exemples très divers des dysfonctionnements de la flore intestinale dans les pathologies. A noter que de plus en plus de liens sont faits entre le microbiote et le cerveau.

❖ Sclérose en plaques ;

La colonisation de souris stériles par des bactéries segmentées filamenteuses notamment du genre *Clostridium* entraîne une augmentation de la production d'IL-17 par les cellules T helper (TH17) de la lamina propria du système nerveux central conduisant à une sévère encéphalomyélite auto-immune (EAE). A l'inverse certaines populations comme *Bacteroides fragilis* peuvent atténuer l'inflammation par la différenciation des cellules T régulatrices Foxp3+ prévenant ainsi l'EAE [5].

❖ Autisme ;

Les enfants atteints d'autisme ont des taux plus faibles d'espèces de *Bifidobacterium*, des taux plus élevés d'espèces de *Lactobacillus* et des taux plus faibles de la quantité totale de SCFAs. Les *Bacteroidetes* en grande quantité ont été trouvés chez le groupe des autistes sévères alors que les *Firmicutes* étaient prédominant dans le groupe contrôle. D'autres différences dans les espèces bactériennes sont aussi observées [5].

❖ Insuffisance rénale chronique (IRC) ;

Des expériences chez les rats ont montrées que les changements métaboliques et hémodynamiques lors d'une IRC modifient la composition et la fonction de la flore intestinale avec notamment une augmentation de pathogènes, une inflammation provenant d'une dérégulation du système immunitaire [5]. On remarque chez les patients IRC sous dialyse des taux plus importants de LPS bactériens circulant (composant des bactéries Gram négatif come les γ -Protéobactéries). Il a aussi été reporté que les colonies bactériennes généraient des toxines urémiques comme l' α -phénylacétyl-l-glutamine, 5-hydroxyindole, indoxyl glucuronide, p-cresol sulfate et indoxyl sulfate [5].

Conclusion

Plus les recherches avancent et plus on découvre l'importance de la flore intestinale dans le développement et/ou l'entretien de nombreuses pathologies qu'elles soient intestinales, métaboliques ou extra-intestinales. Dans certaines pathologies le rôle de la flore intestinale commence à être bien défini, dans d'autres pathologies il est encore difficile de définir ce rôle exacte et de déterminer si la flore intestinale déséquilibrée est une conséquence ou un facteur promoteur de la pathologie. Ce qui est certain c'est que la flore intestinale déséquilibrée entraîne des conséquences néfastes comme le dérèglement du système immunitaire avec notamment la présence d'un micro environnement inflammatoire, comme l'augmentation de pathogènes microbiens ou comme la diminution de produits microbiens protecteurs (SCFAs)... à l'origine de l'entretien des pathologies.

Au vu de ces découvertes, il est nécessaire de considérer la flore intestinale dans la prise en charge thérapeutique, c'est-à-dire de rechercher un équilibre de la flore intestinale et permettre ainsi d'optimiser les résultats des autres thérapeutiques, de diminuer les manifestations biologiques et cliniques des pathologies voir de guérir pour certaines pathologies.

Mais quelles thérapeutiques seraient possibles afin de rééquilibrer la flore intestinale dans ces pathologies ?

III. Rééquilibrer la flore intestinale.

A travers le chapitre précédent, nous pouvons constater que divers facteurs sont à l'origine du déséquilibre de la flore intestinale pouvant entraîner des conséquences néfastes sur l'organisme. C'est le cas par exemple des traitements médicamenteux et plus particulièrement des antibiotiques, ou encore de certains comportements alimentaires. Ainsi la flore intestinale déséquilibrée peut entraîner le développement et/ou l'entretien de pathologies plus ou moins graves à localisation intestinale ou extra-intestinale.

Au vu de ces constatations il est indispensable de considérer la flore intestinale dans les schémas thérapeutiques que ce soit en préventif ou en curatif.

Mais comment est-il possible d'intervenir sur la flore intestinale ?

Nous allons voir à travers ce chapitre différentes méthodes ainsi que leur efficacité et leurs utilisations possibles dans le but de maintenir ou de rééquilibrer la flore intestinale. Par ailleurs nous aborderons aussi les problèmes et limites de ces méthodes et leurs perspectives d'avenir.

A. Les probiotiques.

a. Généralités.

❖ Le concept de probiotique : historique.

En 1907, Elie Metchnikoff (scientifique russe, lauréat du Nobel et professeur à l'Institut Pasteur à Paris) affirma que les bactéries de l'acide lactique offraient des bénéfices pour la santé conduisant à une plus grande longévité. Il suggéra que "l'auto intoxication intestinale" et que le vieillissement en résultant pouvait être supprimé en modifiant la flore microbienne de l'intestin et en remplaçant des microbes protéolytiques tels que *Clostridium* (qui produit des substances toxiques comme les phénols, les indoles et l'ammonium à partir des protéines de la digestion) par des microbes utiles. Il développa un régime alimentaire avec du lait fermenté par une bactérie appelée "Bacille bulgare" [26].

En 1908, une bifidobactérie a été isolée par Henry Tissier (de l'Institut Pasteur) à partir d'un enfant nourri au sein, et il l'appela *Bacillus bifidus communis*. Tissier affirma que la bifidobactérie réduirait la bactérie protéolytique qui cause la diarrhée et il recommanda l'administration de bifidobactéries aux enfants souffrant de ce symptôme [26].

En 1917, Alfred Nissle isola une souche d'*Escherichia coli* non pathogène dans les selles d'un soldat n'ayant pas déclaré d'entérocolite lors d'une épidémie de Shigellose. Les bactéries vivantes non pathogènes étaient utilisées pour modifier la flore intestinale [26].

En 1965, le terme "probiotiques" fut introduit par Lilly et Stillwell par contraste avec les antibiotiques [26].

En 1989, Roy Fuller a mis l'accent sur la demande de viabilité des probiotiques et introduisit l'idée qu'ils avaient un effet bénéfique sur l'hôte [26].

❖ Définition

Au sens étymologique, le préfixe « pro » signifie pour et le suffixe « -biotique » signifie la vie en Grec. Probiotique signifie donc « pour la vie ». Ainsi, en 2001, L'OMS et la FAO (Food and Agriculture Organisation des Nations Unies) définissent les probiotiques comme des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, exerce des effets bénéfiques pour la Santé de l'hôte.

Par ailleurs on peut aussi parler de synbiotiques qui sont des combinaisons appropriées de prébiotiques et de probiotiques. Les synbiotiques exercent un effet pré et probiotique [26].

❖ Qui sont les probiotiques ?

Les probiotiques sont des microorganismes vivants, plus précisément des bactéries ou des levures. Les principales souches bactériennes utilisées comme probiotiques sont les bactéries lactiques comme les espèces de *Lactobacillus* et de

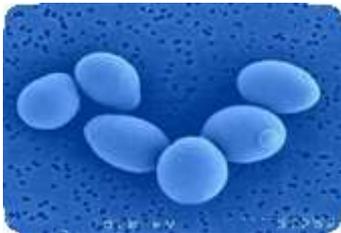


Figure 33 : *Saccharomyces boulardii*.

Bifidobacterium pour les plus courantes ou encore les espèces de *Streptococcus*, *Lactococcus* et d'autres bactéries comme quelques espèces d'*E. coli* et de *Bacillus* sont également utilisées.

Par ailleurs on utilise aussi des levures comme les espèces de *Saccharomyces* (*S. boulardii*, *S. cerevisiae*) [26].

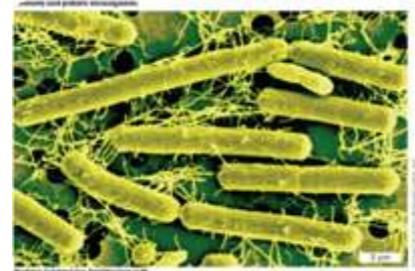


Figure 32 : *Lactobacillus acidophilus*.

❖ Nomenclature

Une souche probiotique est classée par genre, espèce, avec une désignation alphanumérique. Dans la communauté scientifique, il existe une nomenclature reconnue et acceptée pour les microorganismes. Par exemple *Lactobacillus rhamnosus* GG. Il n'existe pas de réglementation pour les noms commerciaux et les marques, et les compagnies peuvent appeler leurs « produits » probiotiques comme elles le désirent par exemple : LGG pour *Lactobacillus rhamnosus* GG [26].

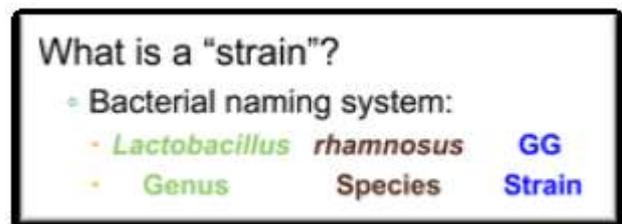


Figure 34 : Nomenclature des souches.

b. Les produits contenant des probiotiques.

❖ Les différentes formes de présentation, dosages et exemples.

On retrouve les probiotiques dans trois grandes classes de produits. Soit ils sont des aliments fonctionnels, soit des compléments alimentaires ou soit des médicaments.

Lorsqu'on parle **d'aliments fonctionnels**, il s'agit d'aliments courants destinés à être consommés dans le cadre d'une alimentation équilibrée et variée. Leur particularité réside dans le fait qu'ils contiennent des composés biologiquement actifs qui exercent un effet bénéfique sur une ou plusieurs fonctions cibles de l'organisme, au-delà des effets nutritionnels de base, de manière à améliorer la santé et le bien-être et/ou à réduire le risque de maladie.

On peut citer quelques exemples comme les produits laitiers (Activia, Actimel)....

De nombreux aliments couramment consommés contiennent également des bactéries vivantes et pourraient être considérés comme probiotiques, mais si on s'en tient à la définition stricto sensu ce ne sont pas des probiotiques étant donné qu'ils n'ont pas forcément fait preuve de leur efficacité dans des études scientifiques contrôlées. On peut citer les yaourts, le fromage, la choucroute, les grains de Kéfir...



Figure 35 : Exemple d'aliment fonctionnel.



Figure 36 : Exemple de complément alimentaire.

Lorsqu'on parle de **compléments alimentaires**, il s'agit de denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant, seuls ou combinés, un effet nutritionnel ou physiologique. Ils sont commercialisés sous forme de doses (gélules, pastilles, comprimés, sachets de poudre, ampoule). Citons par exemple Lactibiane, Biogaia, Biotic P10...

Lorsqu'on parle de **médicaments**, il s'agit de toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques. On peut citer l'Ultra-levure comme exemple.



Figure 37 : Exemple de médicament.

En ce qui concerne les doses, elles varient en fonction de la souche et du produit. La plupart du temps les produits sont à des dosages compris entre 1 et 10 milliards de CFU/dose (CFU signifie unité formant colonie, il s'agit de l'unité de mesure quantitative des microorganismes). Mais certains produits se sont révélés efficaces à des doses plus basses et d'autres à des doses plus fortes. Il n'est pas possible d'établir un dosage général pour tous les probiotiques, car il a besoin de s'appuyer sur des études sur l'humain ayant prouvé un bénéfice pour la santé.

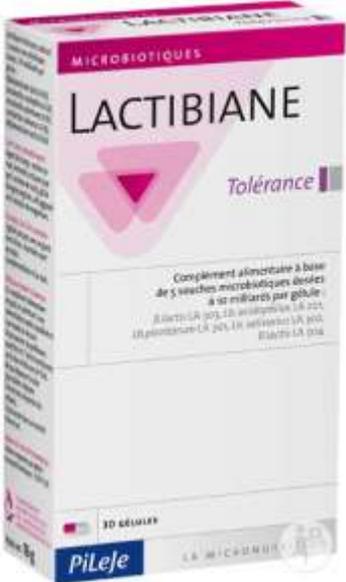
Il existe un grand nombre de produits contenant des probiotiques sur le marché. Voici donc un tableau non exhaustif de quelques exemples de produits contenant des probiotiques ou des synbiotiques, ainsi que leurs statuts, leurs compositions et leurs indications revendiquées.

*Nom de marque *Forme pharmaceutique	Statut législatif du produit	Composition en probiotiques et/ou prébiotiques et dosages	Indications revendiquées
Ultralevure Gélules (50mg et 200mg) Sachets (100mg) Probiotique	Médicament	<i>Saccharomyces boulardii</i> 50mg, 100mg ou 200mg	Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée en complément de la réhydratation
Carbolevure Gélules Adulte ou enfant Probiotique 	Médicament	- <i>Saccharomyces cerevisiae</i> déshydratée (108.5 mg (adulte) ou 47.7mg (enfant) avec 10 ⁸ cellules par gramme) -charbon activé (109mg adulte ou 48 mg enfant)	*Traitement symptomatique des manifestations fonctionnelles intestinales, notamment avec météorisme. *Traitement symptomatique d'appoint de la diarrhée, en complément de la réhydratation et/ou des mesures diététiques.
BIOTIC P7 adulte (Aragan) Sachets Synbiotique 	Complément alimentaire	-Fructooligosaccharides 5g -Microorganismes ROSELL (5.10 ⁹ UFC) : <i>Lactobacillus plantarum</i> R1012 <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 <i>Bifidobacterium longum</i> R075 <i>Bifidobacterium animalis ssp lactis</i> LAFTI B94 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 <i>Bifidobacterium breve</i> R0070 <i>Streptococcus thermophilus</i> R1018	Action sur la sphère intestinale pour aide au bien être digestif des adultes.

<p>BIOTIC P7 junior Dès 4 ans (Aragan) Sachets Synbiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>-Fructooligosaccharides 1g -Microorganismes ROSELL (2,5.10⁹ UFC) : <i>Lactobacillus plantarum</i> R1012 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 <i>Bifidobacterium animalis ssp lactis</i> LAFTI B94 <i>Bifidobacterium breve</i> R0070 <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 <i>Bifidobacterium longum</i> R075 <i>Streptococcus thermophilus</i> R1018</p>	<p>Action sur la sphère intestinale pour aider en douceur au bien être digestif des enfants.</p>
<p>BIOTIC P2 baby (Aragan) Goutte Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes ROSELL (300 millions UFC) : <i>Lactobacillus reuteri</i> HA-188 <i>Bifidobacterium infantis</i></p>	<p>Action sur la sphère intestinale pour aider au bien être digestif des bébés.</p>
<p>BIOTIC P7 Entéro (Aragan) Gélules Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>-Microorganismes ROSELL (7 milliards par gélule) : <i>Lactobacillus plantarum</i> R1012 <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 <i>Bifidobacterium longum</i> R075 <i>Bifidobacterium animalis ssp lactis</i> LAFTI B94 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 <i>Bifidobacterium breve</i> R0070 <i>Streptococcus thermophilus</i> R1018</p>	<p>Action sur la sphère intestinale, haute concentration en ferments lactiques, sans fibre, destiné aux adultes.</p>

<p>BIOTIC P10 Clinical (Aragan) Gélules Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>-Microorganismes ROSELL (50 milliards UFC/gélule) : <i>Lactobacillus plantarum</i> R1012 <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0011 <i>Lactobacillus casei</i> R0215 <i>Bifidobacterium longum</i> R075 <i>Bifidobacterium bifidum</i> R0071 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>ssp bulgaricus</i> R9001 <i>Bifidobacterium breve</i> R0070 <i>Bifidobacterium infantis</i> R0033 <i>Streptococcus thermophilus</i> R1018</p>	<p>Action sur la sphère intestinale, ferments lactiques à forte concentration destinés aux adultes.</p>
<p>RESTAURE (Aragan) Gélules Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes ROSELL (2 milliards d'UFC par gélule) <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Rosell-11 95% <i>Lactobacillus acidophilus</i> Rosell-52 5%</p>	<p>Action sur la flore intestinale déséquilibrée : contribue à maintenir ou à retrouver l'équilibre de la microflore intestinale.</p>
<p>METAFLORA (Aragan) Gélules Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes ROSELL (10 milliards d'UFC par gélule) <i>Bifidobacterium animalis</i> <i>ssp lactis lafti</i> B94 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> R0343</p>	<p>Forte concentration en ferments lactiques pour une action sur le métabolisme. Dès 12 ans.</p>

<p>LACTIBIANE Référence (Pileje) Gélules ou sachets Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes dosés à 10 milliards d'UFC/gélule ou sachet : <i>Bifidobacterium longum</i> LA101 <i>Lactobacillus helveticus</i> LA 102 <i>Lactococcus lactis</i> LA 103 <i>Streptococcus thermophilus</i> LA 104</p>	<p>Améliore les troubles gastro-intestinaux et contribue à renforcer la flore intestinale.</p>
<p>LACTIBIANE Enfants (Pileje) Sachets Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes dosés à 4 milliards d'UFC/sachet : <i>Bifidobacterium longum</i> LA101 <i>Lactobacillus helveticus</i> LA 102 <i>Lactococcus lactis</i> LA 103 <i>Streptococcus thermophilus</i> LA 104 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LA 801 Vitamine D</p>	<p>Renforce la flore intestinale et améliore la réponse immunitaire naturelle.</p>
<p>LACTIBIANE Défenses (Pileje) Gélules Probiotique + autres</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes dosés à 1 milliard d'UFC/gélule : <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 201 <i>Lactobacillus helveticus</i> LA 102 <i>Bifidobacterium longum</i> LA101 Andrographis Vitamine C Zinc</p>	<p>Contribue à améliorer les défenses de l'organisme.</p>

<p>LACTIBIANE Voyage (Pileje) Gélules Probiotique</p>	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes dosés à 20 milliards UFC/gélule : <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 201 <i>Lactobacillus casei</i> LA 205 <i>Lactobacillus plantarum</i> LA 301</p>	<p>Destiné aux voyageurs. Améliore le confort intestinal.</p>
<p>LACTIBIANE Tolérance (Pileje) Gélules ou sachets Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes dosés à 10 milliards d'UFC/gélule ou sachet : <i>Bifidobacterium lactis</i> LA 303 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 201 <i>Lactobacillus plantarum</i> LA 301 <i>Lactobacillus salivarius</i> LA 302 <i>Bifidobacterium lactis</i> LA 304</p>	<p>Renforce la flore intestinale et améliore la tolérance aux aliments.</p>
<p>LACTIBIANE ATB (Pileje) Gélules Probiotique</p>	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes : 6 milliards d'UFC/gélule) <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LA 801</p>	<p>Aide à protéger la flore intestinale lors d'un traitement pouvant la perturber.</p>
<p>PROBIOLOG (Mayoly Spindler) Gélules Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes : 1 milliard d'UFC/gélule) <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i></p>	<p>Favorise l'équilibre intestinal.</p>

<p>Ergyphilus Plus (Nutergia) Gélules Probiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes : 6 milliards d'UFC/gélules : <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>GG</i> (3milliards d'UFC) <i>Lactobacillus paracasei</i> (1,88 milliards d'UFC) <i>Lactobacillus acidophilus</i> (0,75 milliards d'UFC) <i>Bifidobacterium bifidum</i> (0,37 milliards d'UFC)</p>	<p>*Contribue au maintient de l'immunité en période hivernale. *Contribue à la restauration de la flore intestinale. *En cas de terrain allergique.</p>
<p>VSL#3 (produit aux Etats Unis) Gouttes, capsules, sachets Probiotique Mélange breveté</p>	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes : 100 (gouttes), 112(capsules), 450(sachets) milliards d'UFC/dose : <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>ssp bulgaricus</i></p>	
<p>BioGaia (PédiAct) Goutte (baby) ou comprimés à croquer (junior) Probiotique</p>	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes : 100 millions d'UFC/dose : <i>Lactobacillus</i> <i>reuteri</i> Protectis®</p>	<p>Prise en charge des coliques du nourrisson, des régurgitations et de la constipation, et aussi des diarrhées virale ou bactérienne et des effets secondaires gastro-intestinaux liés à la prise d'antibiotiques..</p>
<p>Actimel (Danone) Yaourt</p>	<p>Aliment</p>	<p>2 ferments lactiques traditionnels du yaourt avec en plus <i>Lactobacillus casei</i> DN-114001 dosé à 10 milliards d'UFC /dose</p>	
<p>Activia (Danone) Yaourt</p>	<p>Aliment</p>	<p>2 ferments lactiques traditionnels du yaourt avec en plus <i>Bifidus</i> <i>actirregularis</i></p>	

Ce tableau non exhaustif nous montre qu'il existe une multitude de gamme de produits à base de probiotiques et/ou de prébiotiques notamment en ce qui concerne les compléments alimentaires. A savoir qu'il existe aussi beaucoup de compléments alimentaires contenant des probiotiques en plus d'autres composants comme des vitamines, minéraux, oligoéléments, plantes... (Bion3, Transiphyt...) que nous ne détaillons pas ici.

Par ailleurs on remarque que chaque laboratoire possède une gamme complète de produits « probiotiques » destinés aux nourrissons, aux enfants, aux adultes mais aussi lors de situations particulières comme les voyages ou encore lors de traitements antibiotiques. De plus chaque produit possède sa propre formule particulière d'association de souches bactériennes à son propre dosage. Hormis pour les médicaments, on remarque un certain flou sur les indications thérapeutiques sur les conditionnements des compléments alimentaires. L'action décrite des probiotiques reste très vaste pour la plupart des produits et l'indication et plus ou moins sous entendue. Alors quand est-il de l'efficacité réelle de ces produits sur la flore intestinale ? Comment justifier et valider l'effet de ces produits ? Quelle réglementation pour ces produits ? Quels produits choisir ?

❖ Réglementation des produits à base de probiotiques.

a) Aliments fonctionnels et compléments alimentaire.

Les aliments fonctionnels et les compléments alimentaires suivent la législation alimentaire. Tout complément alimentaire mis sur le marché après le 26 mars 2006 doit être déclaré à la DGCCRF (direction générale de la concurrence, de la consommation, et de la répression des fraudes) d'après le décret N° 2006-352 du 20 mars 2006. La déclaration doit comporter la dénomination de vente, la posologie avec la dose journalière recommandée, et des avertissements qui sont « ne pas dépasser la Dose Journalière Recommandée », « tenir hors de portée des enfants », « les compléments alimentaires ne se substituent pas à une alimentation variée et équilibrée ».

✓ Allégations :

En ce qui concerne les demandes d'allégations de santé, un dossier d'allégations doit être déposé par le professionnel à la DGCCRF qui va examiner le dossier puis le dossier va être envoyé à l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (AESA) qui rend un avis, et l'allégation de santé sera acceptée ou pas et intégrée dans une liste positive ou négative. De plus depuis 2007, les allégations nutritionnelles ou de santé que ces produits revendiquent sont très encadrées en application du règlement européen n° 1924/2006. Il définit la notion d'allégation de santé, crée les différentes catégories d'allégations, précise les modalités de demande et d'évaluation des demandes et oblige à en apporter la preuve scientifique devant l'Agence européenne des médicaments (EMA). Ainsi ils sont soumis à des règles de sécurité et d'étiquetage notamment sur ces allégations. Par ailleurs de nouvelles directives sont venues durcir la réglementation autour de ces produits probiotiques car leurs bénéfices sur la santé



Liste des
ALLEGATIONS DE
SANTÉ AUTORISÉES



ont du mal à être reconnus. **Figure 38 : Les allégations de santé.**

Le règlement de l'union européenne n°432-2012 du 16 mai 2012 établit une liste des allégations de santé autorisées et

précise que les allégations doivent reposer sur des preuves scientifiques généralement admises.

D'autre part le rapport de l'Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) de février 2005 insiste sur l'importance des études cliniques (incluant une méthodologie statistique appropriée) pour démontrer les effets des probiotiques et fixe des règles à suivre en terme de méthodologie et d'exploitation des résultats des études cliniques dans le but de justifier/valider les allégations relatives aux effets des probiotiques [11] ;

Pré-requis :

Il est important de juger dans les études cliniques non seulement de l'efficacité mais de la tolérance des produits. Il est rappelé que la réduction d'un facteur de risque de maladie constitue la limite acceptable des allégations pouvant être proposées pour un produit alimentaire [11].

Exigences communes à la méthodologie des études cliniques :

➤ Conditions de réalisation de l'étude :

- Elle doit être réalisée avec le produit pour lequel une allégation est revendiquée afin de prendre en compte l'effet souche ou structure dépendant et l'effet de la matrice alimentaire.
- Les doses du produit administrées doivent être identiques ou proches de celles qu'il est recommandé de consommer et les plus proches des conditions usuelles de consommation.
- Les groupes testés doivent être identiques à la population visée par le produit.

➤ Caractéristiques des études :

- Les groupes testés doivent être définis a priori.
- Essais randomisés, en double aveugle.
- Pertinence des groupes contrôles et des placebos choisis.

➤ Exploitation des résultats :

- Les résultats doivent être statistiquement significatifs.
- l'interprétation des résultats doit être rigoureuse et non excessive (pas d'extrapolation d'un effet sur une fonction à un effet santé).

➤ Exigences impératives :

- Le pétitionnaire devra présenter au moins une étude clinique réalisée et interprétée selon les méthodes faisant l'objet d'un consensus scientifique.
- Si plusieurs études ont été réalisées sur les produits, l'ensemble de ces études et de leurs résultats doit être présenté par le pétitionnaire [11].

Exigences spécifiques aux probiotiques :

L'appellation probiotique ne peut être attribuée à un micro-organisme qu'après démonstration d'un effet bénéfique sur la physiologie de l'hôte (fonctions) ou sur la santé de l'hôte. Le micro-organisme doit être vivant dans le produit, selon la définition de probiotiques et parce qu'on peut ainsi s'assurer de sa présence effective et de sa stabilité en fin de DLC dans le produit. Cette remarque n'exclut pas que certains micro-organismes morts puissent avoir des effets positifs. La viabilité du probiotique en fin de transit digestif est un critère intéressant mais non indispensable [11].

✓ Étiquetage :

Au niveau de l'étiquetage, il suit les règles établies par le règlement n°1169/2011 du Parlement européen. Par ailleurs les lignes directrices spécifiques sont énoncées dans le guide d'étiquetage et de publicité sur les aliments de l'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (ACIA), s'appliquant à tous les produits renfermant des probiotiques. L'étiquetage doit inclure :

-L'identité de la souche (nom latin et nom de la souche) ainsi qu'un numéro attribué par une banque de cultures reconnue internationalement.

-Déclaration de la quantité (en UFC ou CFU en anglais).

-Liste des ingrédients [26].

Supplement Facts		
Serving Size 1 Capsule	Servings Per Container 60	
	Amount Per Serving	% DV
Probiotic Blend	10 Billion Organisms	*
<i>L. acidophilus</i> LA-02		<i>L. rhamnosus</i> LR-04
<i>L. paracasei</i> LPC-00		<i>B. lactis</i> BS-01
<i>L. plantarum</i> LP-01		<i>B. breve</i> BR-03

Figure 39 : Exemple d'étiquetage.

b) Les médicaments.

Les médicaments contenant des probiotiques suivent la législation du médicament et sont donc soumis à une demande d'AMM (autorisation de mise sur le marché).

Ces demandes sont examinées par l'ANSM. Elle évalue le produit selon des critères scientifiques de qualité, sécurité et efficacité : le nouveau produit doit présenter un rapport bénéfice/risque au moins équivalent à celui des produits déjà commercialisés.

Après l'évaluation scientifique, le dossier passe devant les commissions de l'Agence. Trois issues sont possibles ; avis favorable ou demande de complément d'information ou avis non favorable. Le directeur général de l'ANSM prend la décision d'autoriser la mise sur le marché. L'AMM est accompagnée du Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP) et de la notice pour le patient.

❖ Critères de sélection des souches de probiotiques.

Les probiotiques présentent des propriétés variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Le choix des souches de probiotiques dépend donc de ces propriétés et du type d'utilisation. Ainsi pour qu'un produit soit reconnu comme étant probiotique, une évaluation du produit basé sur plusieurs critères doit être effectuée suivant les recommandations de la FAO/OMS.

a) Critères de Sécurité

✓ Identification de la souche

Les souches probiotiques doivent être identifiées via des méthodes moléculaires fiables de détermination du phénotype et génotype. Toutes les souches probiotiques doivent être déposées dans une collection de culture reconnue à l'échelle internationale. La souche bactérienne est alors identifiée par un code alphanumérique et est nommée selon les règles du code international de nomenclature des bactéries.

✓ Innocuité

Un microorganisme probiotique doit présenter une totale innocuité pour le consommateur, c'est-à-dire être non toxique et exempt de toute pathogénicité. Pour chaque souche potentiellement probiotique, il faut étudier tout effet indésirable possible comme la résistance aux antibiotiques, les activités métaboliques nocives, la production de toxines, le potentiel infectieux, l'activité hémolytique.

Une grande partie des microorganismes sont d'usage courant en agroalimentaire depuis des années. Leur consommation de longue date sans risque établi pour l'Homme est la meilleure preuve de leur sûreté. Il a alors été dressé une liste de souches historiquement sécuritaires : on

parle de souches à statut QSP (Qualified Presumption of Safety) en Europe ou GRAS (Generally Recognized As Safe) aux Etats-Unis.

Profil d'antibiorésistance : Il est important de s'assurer que la souche ne soit pas résistante aux antibiotiques et qu'elle ne pourra pas induire de résistance (transfert de gènes de résistance comme les plasmides ou transposons).

Substance antimicrobienne : Les souches produisant des enzymes qui modifient chimiquement la structure des antibiotiques ou qui développent une antibiorésistance par mutation en présence du médicament ou qui produisent des substances antimicrobiennes sont interdites en utilisation probiotique.

Potentiel pathogène : les microorganismes dont l'utilisation est peu répandue et qui n'ont pas de long historique d'utilisation doivent être testés pour évaluer leur potentiel pathogène et il faut démontrer que la souche est exempte de facteurs virulents et de toxinogénèse.

Activités métaboliques : les souches produisant des métabolites (D-lactate, déconjugaison de sels biliaires..) qui peuvent causer des problèmes dans la physiologie humaine ne doivent pas être utilisées [26].

✓ Origine

Les microorganismes comme n'importe quels autres êtres vivants sont bien adaptées à leur environnement spécifique. De plus la muqueuse intestinale et la microflore partagent des épitopes antigéniques communs sans doute responsable de la tolérance immunologique de l'hôte vis-à-vis de ses bactéries résidentes. Toutes ces raisons parlent en faveur d'une origine humaine comme facteur favorable pour une souche probiotique.

b) Critères fonctionnels.

✓ Survie au cours du transit digestif.

Pour espérer être efficaces jusqu'à leur site d'action, au niveau intestinal, les probiotiques ingérés doivent être vivants dans le tube digestif et survivre durant le transit. Le rapport de l'Afssa de 2005 explique quelques points importants à ce sujet.

*La quantité de probiotiques transitant vivants dans l'intestin dépend de la souche, de la dose ingérée, de facteurs liés à l'hôte et de l'aliment vecteur.

*La résistance des probiotiques à l'acidité, aux sels biliaires et leur survie dans l'environnement digestif sont très variables en fonction de la souche. De nombreuses souches de bifidobactéries et de lactobacilles survivent bien pendant le transit intestinal pour arriver en grande quantité dans les fèces.

*A de très rares exceptions près, les bactéries ingérés persistent pendant la période de consommation et sont ensuite éliminées en quelques jours sans colonisation durable.

*L'acidité gastrique et les sécrétions bilio-pancréatiques constituent les principaux mécanismes d'inactivation des bactéries ingérées. La protection contre l'acidité gastrique peut se faire par un passage rapide dans l'estomac ou en protégeant les bactéries par le pouvoir tampon de l'aliment vecteur ou par des systèmes galéniques de protection comme la micro-encapsulation.

*La dose ingérée de probiotique est un facteur important pour obtenir des concentrations élevées dans les différents compartiments du tube digestif.

Il existe donc différents tests pour évaluer la capacité des souches à résister à l'acide gastrique, aux sels biliaires et aux enzymes digestives. Les résultats de ces tests doivent aussi prendre en compte la concentration de probiotiques au site d'action afin de déterminer le dosage minimal efficace pour chaque souche [11].

✓ Adhésion aux cellules intestinales et/ou au mucus.

La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est l'un des critères de sélection les plus importants. L'adhésion permet d'augmenter le temps de rétention des probiotiques dans l'intestin pour mieux résister aux mouvements péristaltiques intestinaux. L'effet probiotique aura d'autant plus de chance d'être maximal que le microorganisme vivant séjournera longtemps dans le tube digestif. Selon plusieurs études pharmacocinétiques cliniques, la culture probiotique doit être continuellement ingérée pour qu'un effet probiotique exogène continu soit obtenu. L'adhésion des probiotiques au tractus digestif est spécifique de la souche, certaines présentant de bonnes capacités d'adhésion d'autres moins.

Des méthodes in vitro permettent d'évaluer les propriétés d'adhésion des probiotiques [11].

✓ Colonisation.

Il est démontré que les probiotiques ne s'implantent pas, ils transitent dans le tube digestif jusque dans les selles, parfois sans avoir adhéré ou s'être multipliés. Les probiotiques colonisent donc temporairement le tractus digestif, leur persistance est plus ou moins longue de 2 à 20 jours selon les souches. Les souches ayant une durée de persistance élevée sont à privilégier. Une consommation régulière de probiotiques semble donc indispensable pour un effet bénéfique persistant [11].

✓ Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la Santé.

La plupart des souches faisant l'objet d'études sont sélectionnées en laboratoire pour leurs aptitudes fonctionnelles comme leur activité enzymatique, leur aptitude à moduler le système immunitaire...

L'aptitude des probiotiques à produire des effets bénéfiques sur la Santé demeure encore délicate à évaluer in vivo. Il existe donc différents degrés de preuves à l'appui de la vérification de ces effets bénéfiques. Dans un premier temps, des études in vitro efficaces doivent être conduites pour déterminer les effets bénéfiques potentiels des probiotiques sur la santé. Si les résultats sont convaincants, ils devront être confirmés par des essais cliniques randomisés chez l'Homme, en double aveugle contre placebo, menés sur des populations cibles en nombre suffisant pour être statistiquement significatifs.

Les lignes directrices permettant de justifier et valider les effets bénéfiques sur la Santé sont décrites dans le rapport de l'Afssa de 2005 [11].

c) Critères technologiques.

Les caractéristiques des souches ne doivent pas être altérées durant les procédés de production du probiotique. Ainsi les souches probiotiques doivent rester stables lors de la conservation du produit et fournies en dosage approprié jusqu'à la date de péremption. Des études sont donc menées pour déterminer la date d'utilisation des produits à base de probiotiques sans diminution ou perte de leurs propriétés bénéfiques [11].

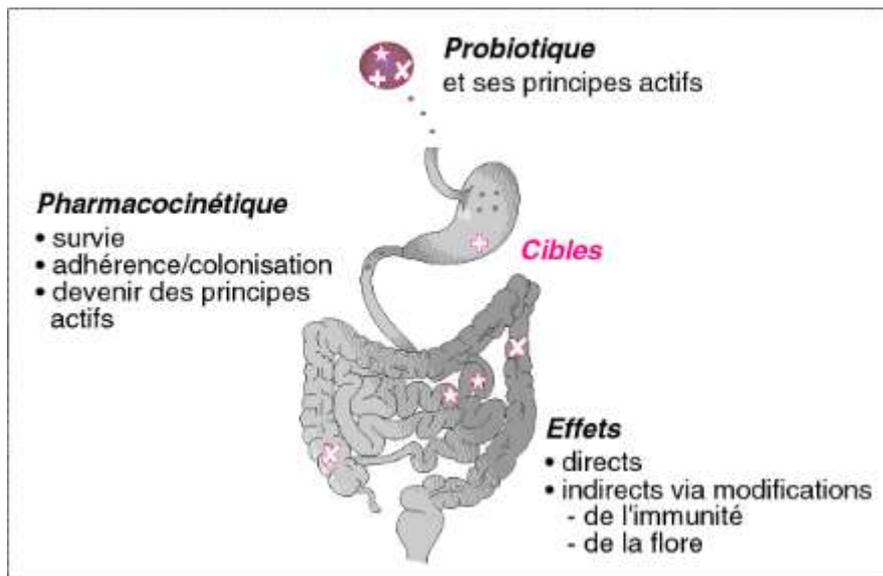


Figure 40 : Probiotique : de l'administration à l'action sur la flore intestinale [6].

Actuellement, sur le marché, il existe un grand nombre de produits contenant des probiotiques seules ou combinés avec des prébiotiques (synbiotiques) ou avec des vitamines, minéraux, oligoéléments... Ces produits existent sous différentes formes de présentation et suivent une réglementation stricte notamment en ce qui concerne les allégations de Santé. Ces produits doivent aussi respecter un certain nombre de critères pour garantir leur qualité, leur innocuité et leur action sur la flore intestinale. Tout est donc mis en œuvre pour que les probiotiques arrivent en nombre suffisant au niveau de la flore intestinale pour exercer leurs actions. **Mais quand est-il de l'efficacité réelle des probiotiques en préventif et/ou en curatif ?**

c. Champs d'applications des probiotiques et effets sur la flore intestinale et sur la Santé.

❖ Effets potentiels des souches probiotiques.

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la flore intestinale joue un rôle indispensable sur la Santé de l'organisme et possède un grand nombre de fonctions. En supplémentant un organisme par des probiotiques, on peut s'attendre à reproduire un certain nombre de ces fonctions dans un but préventif ou curatif. Voyons quelques exemples de souches qui pourraient produire des effets sur la flore intestinale et quels types d'effets en particulier.

a) Immunomodulation

✓ Effets sur l'immunité innée.

Rappel : L'immunité innée utilise essentiellement des mécanismes visant à éliminer de façon rapide et non spécifique des microorganismes pathogènes par la phagocytose ou à éliminer des molécules du non soi par la stimulation de l'activité des lymphocytes NK (Natural killer). La phagocytose des bactéries pathogènes par les macrophages est activée via une reconnaissance de motifs bactériens « PAMPS » par les récepteurs TLRs (Toll-like récepteurs) des cellules immunitaires entraînant une cascade d'activation intracellulaire et un relargage de facteurs inflammatoires (TNF α , IL-8..). TLR4 est le récepteur du LPS (composant de la paroi des bactéries Gram -), TLR2 est le récepteur du peptidoglycane des

bactéries Gram +, TLR3 de l'ARN double brin, TLR5 de la flagelline et TLR9 de l'ADN bactérien [11].

* Etudes in vitro

Les études in vitro indiquent que des probiotiques peuvent entraîner une stimulation de la sécrétion de cytokines, Th1 le plus généralement (IFN γ , TNF α , IL-1B) par les cellules immunitaires avec des effets dépendant des souches. Cependant ces études impliquent un contact direct bactérie/cellule immunitaire ce qui n'est pas représentatif de la physiologie intestinale. L'environnement intestinal n'est pas pris en compte non plus. Ces tests in vitro peuvent servir de point de départ à la recherche d'effets d'une souche mais ne permettent pas de justifier une allégation [11].

*Essais cliniques contrôlés en double aveugle.

Lactobacillus rhamnosus GG à un effet immunostimulant (augmentation des récepteurs de phagocytose CR1 et CR3 et des récepteurs aux IgG et IgA) chez des sujets sains et l'effet inverse chez des sujets avec une hypersensibilité au lait [27].

Bifidobacterium lactis entraîne une sécrétion accrue d'IFN α , une augmentation de la phagocytose par les polymorphonucléaires (PBMC) et une activité bactéricide accrue.

Par ailleurs on retrouve avec ces deux souches dans diverses études une augmentation de la phagocytose et une stimulation des NK [11].

L'ensemble des études cliniques chez l'homme convergent vers une modulation de l'immunité innée (activation de la phagocytose et des lymphocytes NK) par l'administration de différentes souches de lactobacilles et bifidobactéries. Cependant les conséquences réelles sur une meilleure efficacité de la réponse immunitaire en cas d'infections bactériennes ou virales sur l'issue de cette infection sont très peu connues.

✓ Effets sur l'immunité adaptative.

Rappel : L'immunité adaptative est spécifique d'un antigène et plus lente à mettre en œuvre que l'immunité innée. Après un contact avec un antigène ou un microorganisme, le système immunitaire répond par la production d'anticorps protecteurs (IgG, IgA) et par l'activation de cellules T CD4 $^{+}$ ou CD8 $^{+}$. Cette immunité spécifique peut être locale pour la protection des muqueuses (IgA) ou périphérique (IgG) pour une réponse plus générale de l'organisme.

*Etudes cliniques chez l'Homme

Lactobacillus rhamnosus GG induit une augmentation de la sécrétion d'IgA anti-rotavirus. De plus lors d'une vaccination orale contre le rotavirus on remarque une réponse IgM anti-rotavirus plus élevée [11].

Les bifidobactéries augmentent les IgA fécales totales et des IgA anti-poliovirus.

Lactobacillus johnsonii LA1 et les bifidobactéries en plus d'un stimuli infectieux (*Salmonella typhi* atténuée) conduisent à une augmentation de la concentration des IgA sériques spécifiques de *Salmonella*. Pour les autres IgA, on ne remarque qu'une faible augmentation avec *Lactobacillus johnsonii* LA1 [11].

Ces résultats indiquent la possibilité d'un renforcement de l'immunité sécrétoire IgA vis-à-vis de pathogènes viraux ou bactériens, au niveau de la muqueuse intestinale, par certains probiotiques. Cependant le nombre d'études reste restreint surtout chez l'adulte.

b) Effets directs ou compétitifs des probiotiques

✓ Effet anti-inflammatoire et/ou antimicrobiens des bactéries lactiques et/ou de leurs produits de sécrétion.

*Etudes in vitro

-Les produits de sécrétions de *Lactobacillus rhamnosus* GG ont un effet inhibiteur sur la sécrétion de TNF α en présence de LPS par les macrophages.

Bifidobacterium breve et *Streptococcus thermophilus* ont un effet inhibiteur du TNF α par des PBMC [11].

-Le NO sécrété par *Lactobacillus farciminis* possède un pouvoir anti-inflammatoire [11].

-L'ADN bactérien de souches de probiotiques entraîne une diminution de la sécrétion d'IL-1 β et une augmentation de l'IL-10 suggérant un effet tolérogène et anti-inflammatoire.

-L'acide lactique produit par LGG entraîne une diminution du pH et donc une diminution de l'adhésion de *Salmonella enterica serovar typhimurium* [28].

-*Lactobacillus rhamnosus* GG produit une substance active (bactériocine ; substance inhibitrice) à pH acide (3-6) aux propriétés antimicrobiennes. En effet elle permet d'inhiber l'activité de certaines espèces bactériennes comme les bactéries anaérobies (*Costridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*), des membres des Entérobactériacées, des espèces de *Pseudomonas*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* ainsi que *E.coli*. Par contre on ne retrouve pas d'inhibition des autres *Lactobacillus* [25]. Des microcines (peptides antibiotiques de faible poids moléculaires) peuvent être produits par des membres de la famille des Entérobactériacées [25]. La bactériocine produite par *Lactobacillus salivarius* UCC118 permet une protection contre *Listeria monocytogenes* chez la souris [7].

*Etudes cliniques randomisées en double aveugle

Le mélange VSL#3 montre un effet anti-inflammatoire. Il montre une augmentation du taux d'IL-10, une diminution des taux d'IL-12, IFN γ , TNF α , une diminution de l'activité des cellules présentatrices d'antigènes, de la maturation des cellules dendritiques et de la prolifération des cellules T induisant alors la tolérance immunitaire [27].

Les SCFAs sécrétés par certaines souches ont un effet anti-inflammatoire.

✓ Effets d'inhibition compétitive.

Une fois dans l'intestin, les probiotiques peuvent bloquer l'adhésion et l'effet néfaste des bactéries pathogènes par compétition au niveau du site d'adhésion.

Par exemple, les lactobacilles comme *L.plantarum* ou *L.helveticus* inhibent l'adhésion d'*E.coli* [28].

c) Effets sur l'amélioration de la digestion-absorption intestinale.

L'administration de probiotiques pourrait être intéressante pour permettre une meilleure digestion et absorption intestinale.

Lactobacilli delbruecklii subsp. bulgaricus, *Streptococcus thermophilus* augmentent la digestion du lactose.

Lactobacillus bulgaricus, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* améliorent l'absorption du lactose.

Les différents mécanismes de l'effet favorable des probiotiques sur la digestion du lactose sont l'ajout intra-luminal de lactase d'origine bactérienne et/ou produite par les corps

bactériens vivants et en transit et l'activité de la perméase bactérienne (permettant l'entrée du lactose dans la cellule probiotique et son hydrolyse lactasique) [11].

Saccharomyces boulardii augmente l'activité lactasique.

Saccharomyces cerevisiae, levure riche en saccharase aide à la digestion du saccharose et diminue les signes cliniques d'intolérance en cas de carence en saccharase-isomaltase (fréquent chez l'enfant) [11].

Un effet stimulant de plusieurs souches probiotiques sur la digestion-absorption du lactose et du saccharose a été démontré. Cependant il n'y a pas d'effet dose-réponse clair, les doses étudiées correspondent pour le yaourt aux doses commerciales.

d) Effets sur la motricité intestinale et le transit intra-luminal.

Il serait intéressant de pouvoir utiliser des probiotiques pour rétablir le transit intestinal lorsqu'il est accéléré ou ralenti.

Bifidobacterium animalis accélère le transit oro-anal ainsi que le transit colique chez des volontaires sains. Cependant, ces effets d'accélération du transit sont à vérifier chez un sujet constipé [11].

Le mélange VSL#3 ne modifie pas le transit mais diminue certains signes cliniques comme le météorisme intestinal.

e) Amélioration de la fonction de barrière intestinale.

***Etudes in vitro ou chez l'animal**

Lactobacillus rhamnosus GG, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* ne dégradent pas les glycoprotéines du mucus intestinal (gage de leur sécurité d'emploi) [11].

Lactobacillus casei DN-114001 modifie la galactosylation de la surface de la cellule de façon similaire à *Bacteroides thetaiotaomicron*, inhibant ainsi fortement l'infection des cellules par le rotavirus [11].

Lactobacillus plantarum 299v, *L.rhamnosus* GG, VSL#3 augmentent l'expression des mucines et diminuent ainsi l'adhérence de bactéries pathogènes [11].

Lactobacillus acidophilus, *Streptococcus thermophilus*, VSL#3, *Saccharomyces boulardii* permettent et renforcent le maintien de la barrière intestinale [11].

Cette action est réalisée par des effets directs (sur l'expression des mucines, sur le maintien des protéines du cytosquelette et des jonctions serrées inter-cellulaires, donc sur la résistance électrique, la perméabilité et les flux hydro-ioniques trans-épithéliaux) et par l'interface de ces effets avec le versant immun de la barrière muqueuse [11].

Bifidobacterium longum, *Saccharomyces boulardii* diminuent la translocation de bactéries pathogènes [11].

Lactobacillus rhamnosus GG et *Saccharomyces boulardii* montrent des propriétés anti-apoptotiques [11].

Quelques probiotiques montrent des effets favorables sur la fonction de barrière de l'intestin, sur la diminution de la translocation bactérienne et sur des effets anti-apoptotiques. Cependant ces effets doivent être confirmés sur des études chez l'humain.

MODE D'ACTION DES PROBIOTIQUES

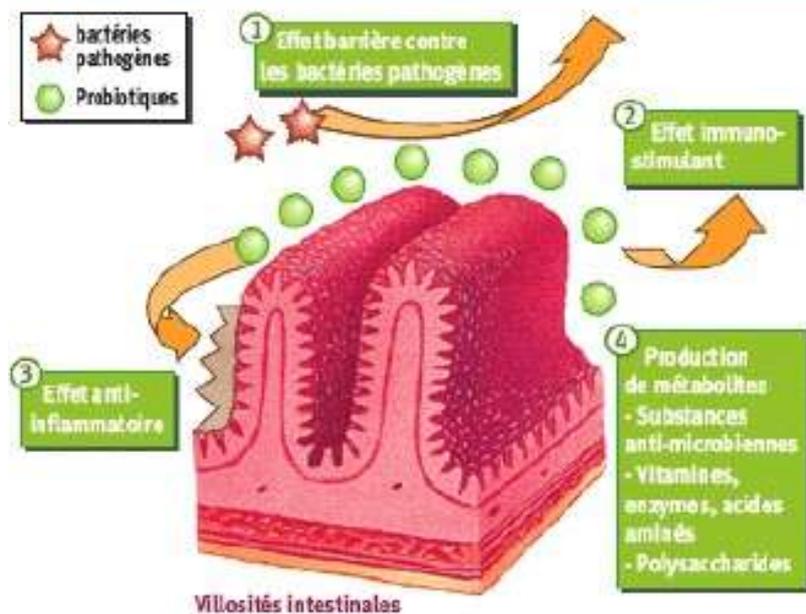


Figure 41 : Mode d'action des probiotiques .

Nous avons donc étudié les différents effets potentiels des souches probiotiques que ce soit sur les fonctions immunitaires ou intestinales. On peut donc constater que chaque souche probiotique possède des propriétés qui lui sont propres. Ce qui nous amène à tester des mélanges de souches probiotiques pour permettre de combiner plusieurs effets et ainsi d'avoir une synergie d'action. Par ailleurs nous avons pu montrer pour chacun de ces effets potentiels des exemples de souches avec pour certaines des validations cliniques et pour d'autres uniquement des résultats in vitro ou chez l'animal. Ces dernières permettent d'expliquer les mécanismes d'action des effets et sont le point de départ d'études d'effets potentiels mais elles doivent être vérifiées chez l'homme pour être validées. Ainsi les seules études autorisées pour justifier et/ou valider des allégations sont les essais cliniques randomisés, réalisés en double aveugle contre placebo, menés sur des populations cibles en nombre suffisant pour être statistiquement significatifs. Nous allons donc voir divers études sur l'utilisation des probiotiques en préventif et/ou en curatif dans divers pathologies et nous allons observer si ils présentent un réel bénéfice sur la Santé.

❖ Les traitements antibiotiques

Comme nous l'avons expliqué précédemment, la plupart des antibiotiques (notamment les β -lactamines) sont responsables d'un déséquilibre de la flore intestinale plus ou moins important pouvant aboutir à des pathologies plus ou moins graves comme les diarrhées voir une diarrhée à *Clostridium difficile*. Les probiotiques semblent être une option thérapeutique en préventif lors d'un traitement antibiotique et/ou en curatif lors d'effets indésirables causés par l'antibiotique. Voyons ce que disent les études.

*Le mélange *L.acidophilus* et *L.bulgaricus* est administré quatre fois par jour chez des patients hospitalisés sous antibiotiques (ampicilline) pendant 5 jours dans la prévention des diarrhées associées à l'antibiotique (AAD). On remarque que l'incidence des AAD est augmentée dans le groupe placebo (14% contre 0% dans le groupe probiotique). Ce mélange montre un intérêt dans la prévention des AAD causées par l'ampicilline chez les adultes hospitalisés (avec un historique d'AAD sur la base du coût/bénéfice) [27]. Le même mélange administré à une population pédiatrique hospitalisée lors d'un traitement par amoxicilline n'a pas été concluante.

**Saccharomyces boulardii* utilisé en prévention des AAD chez des patients hospitalisés montre une diminution de l'incidence des diarrhées (9,5% contre 22% dans le groupe placebo)[27]. *S.boulardii* est aussi utilisé chez des patients hospitalisés en prévention des AAD lors d'un traitement par un antibiotique de la famille des β -lactamines et est continué jusque 3 jours après l'arrêt du traitement. On observe une diminution de l'incidence des diarrhées dans le groupe probiotique (7,2% contre 14%) avec une efficacité de *S.boulardii* dans 51% des cas. Aucun effet indésirable n'est relevé [27]. Par ailleurs *S.boulardii* est administré à raison de 113g deux fois par jour lors d'un traitement antibiotique chez des personnes d'âge supérieur à 65 ans en préventif des AAD. On ne remarque pas d'effet néfaste de la supplémentation, cependant elle ne semble apporter aucun bénéfice supérieur en terme de transit intestinal ou d'apparition de *C.difficile* [27]. Une méta-analyse de 21 études réalisée sur la supplémentation par *S.boulardii* en prévention des AAD montre une diminution du risque des AAD chez les enfants (diminution générale de 20% contre 8,8% pour le placebo) ainsi que chez les adultes (diminution générale de 17,4% contre 8,2% pour le placebo) lors de l'utilisation de *S.boulardii* durant le traitement antibiotique. De plus chez les enfants on remarque une diminution significative du risque d'AAD associées à *C.difficile* [29].

**Enterococcus* SF68 producteur d'acide lactique est administré à raison d'une capsule 2 fois par jour pendant 7 jours en prévention d'AAD ou d'une capsule 3 fois par jour en cas de diarrhée aiguë. On remarque une diminution de l'incidence des AAD dans le groupe probiotique (8,7% d'AAD contre 27,2% dans le groupe placebo). Chez les patients atteints de diarrhées aiguës, on observe une résolution plus rapide des anomalies intestinales dans le groupe probiotique [27].

*Une étude montre l'influence de divers traitements probiotiques lors d'un traitement d'éradication d'*Helicobacter pylori*. Les patients divisés en quatre groupes reçoivent le traitement rabeprazole, clarithromycine et tinidazole associé soit à un placebo ou un probiotique pendant le traitement et jusque 7 jours après le traitement. Le groupe 1 (G1) reçoit LGG, G2 reçoit *S.boulardii*, G3 reçoit un mélange de *Lactobacillus* et bifidobactéries et G4 reçoit le placebo. Dans les trois groupes probiotiques (G1, G2, G3) on observe une diminution de l'incidence des diarrhées et des troubles du goût par rapport au placebo. On a aussi dans ces trois groupes une meilleure tolérance globale. Par ailleurs on n'a pas de différence d'effet entre les groupes probiotiques et l'éradication est identique dans tous les groupes.

L'utilisation des probiotiques semble intéressante en prévention des effets indésirables lors du traitement d'éradication d'*H.pylori*. D'autre part l'effet probiotique sur les effets indésirables semblent être indépendants de la souche utilisée [29].

*LGG a fait l'objet d'un nombre important de publication en prévention des AAD chez les adultes et les enfants.

-LGG est administré à la dose de $1 \text{ à } 2.10^{10}$ CFU/j chez 202 enfants âgés de 6 mois à 10 ans lors d'un traitement antibiotique par voie orale (Pénicillines dans 50% des cas). 25 enfants du groupe placebo présentent une diarrhée contre 7 dans le groupe LGG. LGG permet une diminution de la fréquence des selles et une augmentation de la consistance des selles pendant le traitement antibiotique. LGG peut être intéressant pour diminuer l'incidence des AAD chez les enfants lors de pathologies courantes [27].

-LGG est testé à la dose de 10^9 CFU/j chez des enfants suivant un traitement d'éradication d'*Helicobacter pylori* (Amoxicilline, Clarithromycine et omeprazole). La supplémentation ne montre pas de différence dans l'éradication d'*Helicobacter pylori*, ni dans l'apparition d'effets indésirables entre les groupes. Cependant cette étude montre l'absence d'interaction de LGG avec les traitements [29]. Une autre étude montre que la supplémentation par LGG lors d'un traitement d'éradication d'*H.pylori* (clarithromycine, tinidazole, pantoprazole) montre une diminution des ballonnements, des diarrhées et des troubles du goût ainsi qu'une meilleure tolérance au traitement dans le groupe LGG par rapport au placebo [29].

-LGG est donné à raison de 20.10^9 CFU/j pendant 14 jours lors d'un traitement antibiotique chez des patients hospitalisés. On ne remarque pas de diminution de l'incidence des AAD entre les groupes probiotique et placebo y compris dans les sous-groupes d'antibiotiques [29].

-LGG est administré à raison de 2.10^{10} CFU deux fois par jour chez des enfants (de 2 semaines à 12,8 ans) sans problèmes gastro-intestinaux lors d'un traitement antibiotique par voie orale pour une URTI. On observe alors des diarrhées dans 75% des cas chez des enfants âgés entre 3 mois et 5 ans. L'incidence des diarrhées est de 5% dans le groupe LGG contre 16% dans le groupe placebo. Par contre la sévérité de la diarrhée est identique dans les deux groupes. Par ailleurs on remarque une diminution de l'activité de l'uréase fécale et de la β -glucuronidase chez ceux avec des diarrhées, montrant une modification des activités métaboliques de la flore intestinale provoquée par la modification de cette flore intestinale sous traitement antibiotique. LGG peut diminuer l'incidence des AAD lors d'un traitement antibiotique d'une URTI chez les enfants [29].

-Par ailleurs quelques études montrent l'effet de LGG. LGG produit des dérivés qui permettent une augmentation de l'adhérence de LGG. D'autre part LGG produit des peptides à l'activité antibactérienne contre les Gram - (*E.coli*, *S.typhi*) et dans une moindre mesure contre les Gram + (*S.aureus*) [29].

Ces quelques études nous montrent l'utilité d'une supplémentation préventive en probiotiques lors d'un traitement antibiotique. En effet que se soit chez les adultes (*S.boulevardii*, LGG, *Enterococcus*...), les adultes hospitalisés (*L.acidophilus* et *L.bulgaricus*, *S.boulevardii*...), chez les enfants (LGG, *S.boulevardii*...) ou encore lors d'un traitement d'éradication d'*H.pylori* la supplémentation en probiotiques permet de diminuer l'incidence des AAD. Le probiotique doit ainsi être introduit dès le début du traitement antibiotique afin d'éviter au minimum les modifications de la flore intestinale et de diminuer la croissance de pathogènes. D'autres études seraient intéressantes afin de déterminer les antibiotiques les plus à risque mais aussi de cibler les populations ou les situations les plus à risque (personnes âgées, pathologies existantes...). Par ailleurs la supplémentation n'a montré aucun effet indésirable. Enfin LGG et *S.boulevardii* semblent être les probiotiques les mieux adaptés et les plus étudiés pour le moment dans cette situation.

❖ Les pathologies intestinales

a) Les Diarrhées

Les diarrhées sont des pathologies courantes à tout âge. Elles sont d'origines diverses que ce soit virales, bactériennes, parasitaires, alimentaires, médicamenteuses ou symptomatiques d'une pathologie sous-jacente. En règle générale on remarque un déséquilibre de la flore intestinale lors des diarrhées. Il est alors envisageable d'utiliser les probiotiques pour rétablir la flore intestinale et stopper la diarrhée de façon plus douce, seuls ou en association aux traitements si nécessaire. Voyons quelques études sur le sujet.



Figure 42 : Image humoristique du déséquilibre bactérien en cas de diarrhée.

*Des enfants âgés de 6 à 35 mois atteints d'une gastroentérite à rotavirus sont supplémentés par des probiotiques deux fois par jour pendant 5 jours. Ils reçoivent soit LGG, soit *L.rhamnosus*, soit le mélange *Streptococcus thermophilus* + *L.delbrückii bulgaricus*. On observe alors une moyenne respectivement de 1,8 jours, 2,8 jours et 2,6 jours pour la durée de la diarrhée. Dans les trois groupes on a une augmentation comparable du nombre total de cellules sécrétant des immunoglobulines. Cependant dans le groupe LGG, on a une augmentation des cellules sécrétant des anticorps IgA et une augmentation du taux d'IgA antirotavirus dans le sérum. LGG promeut une réponse immunitaire intestinale contre le rotavirus. Cette supplémentation en LGG peut être très intéressante dans l'établissement de l'immunité contre les réinfections par le rotavirus [27].

*LGG est administré à la dose de $60 \cdot 10^6$ CFU deux fois par jour pendant 7 jours en complément d'une SRO (solution de réhydratation orale) chez des enfants avec une diarrhée persistante. Chez 38% des enfants les cultures sont positives (*E.coli*, *Shigella*, *Clostridium*...). On observe alors dans le groupe probiotique une diminution de la durée de la diarrhée (5,3 jours contre 9,2 jours), de la fréquence des diarrhées et de la durée d'hospitalisation. De plus aucune complication n'est observée avec LGG [27]. Le mélange *L.casei* + *L.acidophilus* (10^{10-12} CFU/g) est comparé à *S.bouardii* (10^{10-12} CFU/g) chez des enfants de 6 à 24 mois présentant une diarrhée persistante à raison de 175g 2 fois par jour pendant 5 jours. 40% des enfants présentent un pathogène entérique (27% rotavirus). Dans les deux groupes on a une diminution de la durée des diarrhées et vomissements et de la fréquence [27]. Enfin le mélange *L.bulgaricus* + *S.thermophilus* chez des enfants de 3 à 36 mois avec une diarrhée persistante montre des effets positifs au bout de 48h dans 68% des cas avec notamment une diminution de la perte de poids et des diarrhées supérieures à 5 jours [27].

**Enterococcus* SF68 producteur d'acide lactique est administré à raison d'une capsule 3 fois par jour en cas de diarrhée aiguë. On observe une résolution plus rapide des anomalies intestinales dans le groupe probiotique [27].

L'utilisation de probiotiques, principalement LGG et *S.bouardii*, en cas de diarrhées aiguës montre de bons résultats notamment dans la diminution de la durée de la diarrhée. Par ailleurs LGG montre un très bon résultat en cas de diarrhée à rotavirus et promeut la sécrétion d'IgA antirotavirus. Les probiotiques ont donc leur place dans le traitement des diarrhées aiguës et peuvent permettre de réduire voire supprimer l'utilisation de médicaments comme les pansements intestinaux ou les ralentisseurs de transit.

b) Constipation

La constipation a une incidence élevée dans la population quelque soit l'âge ou le sexe. L'utilisation des laxatifs est très élevée, ne permet pas toujours de rétablir le transit au long terme et peut être nocif en utilisation excessive. La constipation résultant entre autre d'un déséquilibre de la flore intestinale, les probiotiques et synbiotiques apparaissent alors être une thérapeutique plus douce envisageable dans le traitement de la constipation en association aux mesures hygiéno-diététiques. Observons quelques études sur le sujet.

**Lactococcus casei* Shirota ($6,5 \cdot 10^9$ CFU) est administré chez 70 patients atteints de constipation chronique idiopathique (CIC) à raison de 65ml/j pendant 4 semaines. On ne remarque pas de changement au niveau des flatulences et ballonnements par contre on a une amélioration de la sévérité de la constipation ainsi que de la consistance des selles dès la deuxième semaine [30]. Cette même souche permet d'améliorer l'incidence de HLS c'est-à-dire des sujets en bonne santé qui produisent des selles dures et grumeleuses [30].

**Bifidobacterium lactis* DN-173010 est testé chez des 135 femmes constipées pendant 2 semaines. On remarque alors une augmentation de la fréquence des selles puis après 1 à 2 semaines une amélioration de la consistance des selles et des conditions de défécation [30].

*Un synbiotique LACTOFOS (FOS, *L.paracasei* Lpc-37, *L.rhamnosus* HN001, *L.acidophilus* NCFM, *B.lactis* HN019) est administré chez 100 femmes constipées à la dose d'un sachet de LACTOFOS (6g) deux fois par jour pendant 30 jours. On observe une amélioration de la fréquence d'évacuation et de la consistance des selles surtout à partir de la deuxième semaine. On a aussi une amélioration du score d'intensité de la constipation. Les autres paramètres ne sont pas améliorés [30].

*Un synbiotique composé de souches de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus* à 10^8 CFU ainsi que de FOS est administré chez 66 hommes constipés à raison d'une capsule deux fois par jour du mélange pendant 4 semaines. Dès la deuxième semaine on remarque une augmentation de la fréquence des selles et une amélioration de la consistance des selles [30].

*Une étude teste un synbiotique, *Bifidobacterium longum* W11 associé à du fructooligosaccharide (FOS) Actilight, administré à raison d'un sachet par jour pendant une durée maximale de 60 jours, dans la constipation chronique chez des patients obèses suivant une diète hypocalorique et un programme d'activité physique. L'étude inclue 297 patients (79.4% de femmes et 18.2% d'homme) d'âge moyen 32 ans et d'IMC moyen 33.4. L'amélioration de la constipation semble être liée à l'âge, les patients d'âge moyen 35 ans (+/- 12 ans) montrent une amélioration de la constipation. Par ailleurs au bout de 20 jours, on remarque une amélioration supplémentaire de la constipation chez les patients qui ont pris le synbiotique au moins 17 jours sur les 20 par rapport à ceux qui en ont pris sur moins de 17 jours ou ceux qui n'en n'ont pas pris. La constipation est aggravée chez ceux qui ont pris des laxatifs au moins une fois par semaine.

Cette étude montre l'utilité de consommer des synbiotiques en continu pour améliorer la constipation lors d'une diète hypocalorique chez les sujets obèses [1].

Ces études confirment que les probiotiques et synbiotiques ont leur place dans la prise en charge de la constipation et principalement pour augmenter la fréquence des selles, améliorer la consistance des selles et diminuer la sévérité de la constipation. Ils peuvent aussi ainsi diminuer la prise médicamenteuse excessive souvent liée à la constipation. Des études à plus grande échelle et sur de plus longues périodes sont nécessaires pour confirmer ces résultats et vérifier l'efficacité à long terme.

c) Colopathies fonctionnelles (IBS)

Les colopathies sont de plus en plus fréquentes et peuvent avoir un réel impact négatif sur la qualité de vie des personnes atteintes. Ces colopathes sont souvent sous traitement médicamenteux pour diminuer les différents symptômes tels que la douleur abdominale, les ballonnements, les flatulences, les diarrhées, la constipation. Cette pathologie montrant une microinflammation intestinale ainsi qu'un déséquilibre de la flore intestinale, les probiotiques semblent être une alternative thérapeutique envisageable. Voyons quelques études sur l'utilisation des probiotiques dans l'IBS.

**Streptococcus faecium* contenu dans un yaourt est utilisé chez 42 patients IBS (colopathes depuis 7 ans) pendant 4 semaines. On observe ainsi au bout de 2 et 4 semaines les effets cliniques sur les symptômes abdominaux, les inscriptions sur les échelles de notation et l'estimation globale des médecins. Aucun traitement médicamenteux n'est admis. Ainsi selon ces paramètres, on remarque une amélioration chez 81% des patients du groupe probiotique contre 41% dans le groupe placebo. Les symptômes de l'IBS sont améliorés ici de manière significative [30].

**Lactobacillus plantarum* DSM 9843 contenu dans une boisson à la dose de 5.10^7 CFU/jour est administré chez 60 patients IBS pendant 4 semaines. A la biopsie rectale on observe la présence de *L.plantarum*, pas de changement majeur dans les entérobactéries mais dans les entérocoques avec une augmentation dans le groupe placebo (taux inchangé dans le groupe probiotique). Par ailleurs on a rapidement une diminution significative des ballonnements dans le groupe probiotique, la douleur abdominale diminue dans les deux groupes.

12 mois après la supplémentation de 4 semaines, on n'observe plus de différence sur les ballonnements entre les deux groupes, par contre on a une meilleure fonction intestinale dans le groupe probiotique. L'administration de *L.plantarum* montre des propriétés de diminution des ballonnements chez les patients IBS [30]. *Lactobacillus plantarum* 299V contenu dans une boisson à raison de 5.10^7 CFU/ml est administré chez 40 patients IBS pendant 4 semaines. On remarque alors que tous les patients du groupe probiotique ont une résolution de la douleur abdominale (contre 11 dans le groupe placebo), une tendance à la normalisation de la fréquence des selles chez les constipés et une amélioration des symptômes de l'IBS dans 95% des cas dans le groupe probiotique (contre 15% dans le groupe placebo). *L.plantarum* semble avoir des effets bénéfiques chez les IBS, mais il faut de plus larges études pour établir la place de *L.plantarum* dans le traitement de l'IBS [30]. Par contre une étude sur l'administration de *L.plantarum* MF1298 (1.10^{10} CFU/jour) montre une aggravation des symptômes chez des IBS. Cet effet néfaste n'est pas dû à une modification de la flore intestinale mais à une action directe de la bactérie sur la paroi intestinale [30].

**Lactobacillus acidophilus*-SCD 2012, 2013 (2.10^9 CFU/ml) est administré chez 40 patients IBS pendant 4 semaines. On remarque une diminution significative de la douleur abdominale et de l'inconfort dans le groupe probiotique [30].

*Une étude est réalisée sur 64 patients IBS à prédominance de diarrhées. On établit alors 4 groupes ; le groupe 1 reçoit un mélange d'herbes médicinales (GJS) et un mélange de probiotique DUO (*Bifidobacterium breve*, *B.lactis*, *B.longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L.plantarum*, *L.rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus*) à la dose de 5.10^9 CFU/jour. Le groupe 2 reçoit GJS et un placebo DUO, le groupe 3 reçoit un placebo GJS et DUO, le groupe 4 reçoit un placebo GJS et un placebo DUO. La durée de la supplémentation est de 8 semaines. Au niveau du score de la fonction intestinale, des symptômes, de la sévérité des symptômes, de la qualité de vie on remarque une amélioration dans tous les groupes et pas d'amélioration significative pour un groupe en particulier. Cependant en étudiant la composition de la flore intestinale on observe une augmentation de six bactéries (*B.breve*, *B.lactis*, *L.acidophilus*,

L.plantarum, *L.rhamnosus*, *S.thermophilus*) dans le groupe 1 montrant une meilleure efficacité de la synergie des herbes médicinales et du mélange de probiotiques dans les changements positifs de la composition de la flore intestinale [30]. Un autre mélange de probiotiques (*S.thermophilus* (1.10^8 CFU/ml), *L.bulgaricus* (1.10^7 CFU/ml), *L.acidophilus* (1.10^7 CFU/ml), *B.longum* (1.10^7 CFU/ml)) contenu dans une boisson à raison de 200ml 2 fois par jour pendant 4 semaines est testé chez les IBS à prédominance de diarrhées. On remarque alors une diminution significative de la perméabilité intestinale et du score IBS. Ainsi ce mélange de bactéries d'acide lactique actives à court terme montre une amélioration de la fonction de la barrière mucoale [30]. La levure *Saccharomyces boulardii* (2.10^{11} cellules vivantes) est testée chez des patients IBS à prédominance de diarrhées ou mixtes pendant 4 semaines. Le score IBS-QOL (symptômes, mouvement intestinaux, consistance des selles) est observé et est globalement amélioré par rapport au groupe placebo. Par contre on ne remarque pas de changements différents entre les deux sous-types d'IBS [30]. *Lactobacillus casei rhamnosus* LCR35 (6.10^8 CFU/jour) pendant 4 semaines chez des sujets IBS montre une amélioration du score de sévérité des symptômes et du score de la douleur abdominale dans le sous-groupe à prédominance de diarrhées uniquement [30].

*Une mixture de probiotiques (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *L.rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium breve* Bb99, *Propionibacterium freudenreichii ssp shermanii* JS) est utilisée chez 103 patients à la dose d'une capsule par jour ($8-9.10^8$ CFU/capsule) pendant 6 mois.

On observe alors une diminution du score symptômes (douleur abdominale, distension, flatulences, borborygmes) de 42% dans le groupe probiotique (contre 6% dans le groupe placebo). Pour les autres symptômes rien de significatif n'est remarqué[30]. Un mélange similaire (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *L.rhamnosus* LC705, *Propionibacterium freudenreichii ssp shermanii* JS et *B.animalis ssp lactis* Bb12) administré chez 86 patients pendant 5 mois à la dose de 1.10^7 CFU/ml montre aussi une diminution du score IBS de 14 points (contre 3 points pour le groupe placebo), avec principalement une amélioration de la douleur abdominale et de la distension. Mais surtout on observe une stabilisation de la flore intestinale [30].

*Le mélange VSL#3 est utilisé chez 48 patients IBS (avec ballonnements) à raison de 1 sachet 2 fois par jour (450.10^9 CFU/sachet) pendant 4 ou 8 semaines. On ne remarque aucun effet néfaste, une diminution des flatulences mais aucun autre effet positif significatif[30]. Ce même mélange (900.10^9 CFU/jour) est utilisé chez des sujets IBS à prédominance de diarrhées pendant 8 semaines. On a alors une amélioration des symptômes de l'IBS mais sans modification de la composition de la flore intestinale suggérant un mécanisme d'action du VSL#3 non directement lié avec le microbiote [30].

**Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 est utilisé chez 54 patients IBS à raison d'une tablette 2 fois par jour (1.10^8 CFU/tablette) pendant deux semaines. On n'a aucune amélioration significative [30].

**Lactobacillus salivarius* UCC4331 ou *Bifidobacterium infantis* 35624 est administré chez 77 patients IBS à la dose de 1.10^{10} CFU/jour pendant 8 semaines. On remarque alors pour *B.infantis* une diminution significative du score symptômes (douleur abdominale, inconfort abdominal, distension, ballonnements, mouvements intestinaux) ainsi qu'une normalisation du rapport Il10 (cytokines anti-inflammatoire)/Il12 (cytokines pro-inflammatoire), c'est-à-dire une amélioration de l'état inflammatoire. *B.infantis* permet l'amélioration des symptômes chez les IBS mais il possède aussi des propriétés immunomodulatrices [30]. *Bifidobacterium infantis* 35624 est aussi utilisé chez des femmes IBS à trois dosages 1.10^6 CFU/ml, 1.10^8 CFU/ml, 1.10^{10} CFU/ml pendant 4 semaines. On remarque alors une amélioration significative du score symptômes mais uniquement à la dose de 1.10^8 CFU/ml [30].

*Le mélange Medilac DS (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecium*) est administré chez des patients IBS pendant 4 semaines. On ne remarque aucune différence significative dans les

ballonnements, la fréquence de défécation et la fréquence des gaz. Cependant on observe une diminution significative de la sévérité de la douleur abdominale et de la fréquence de la douleur abdominale. Ce mélange peut être utile dans le traitement de la douleur abdominale chez les sujets IBS [30].

**Bifidobacterium animalis* DN-173010 est ajouté dans un yaourt fermenté contenant déjà *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* ($1,2 \cdot 10^9$ CFU/pot) est administré chez 274 patients IBS à constipation prédominante pendant 6 semaines à raison d'un yaourt 2 fois par jour ($1,25 \cdot 10^{10}$ CFU/pot). On observe alors une amélioration de l'inconfort intestinale et des ballonnements ainsi qu'une amélioration de la fréquence des selles chez les sujets à moins de trois selles/semaine par rapport au groupe placebo [30].

*Un mélange de probiotiques (*B.longum* LA 101, *L.acidophilus* LA 102, *L.lactis* LA 103, *S.thermophilus* LA 104) est administré chez 106 patients IBS à raison d'un sachet par jour ($1 \cdot 10^{10}$ CFU/sachet) pendant 4 semaines. On n'a aucune amélioration significative par rapport au groupe placebo. Cependant si on regarde plus en détails par sous types d'IBS on remarque une diminution de la douleur abdominale dans certains sous types et une amélioration de la fréquence des selles chez les IBS constipés [30].

*Des mélanges de souches de bifidobactéries et de lactobacilles sont souvent testés.

-Un mélange (*B.bifidum* BGN4, *B.lactis* AD011, *L.acidophilus* AD031, *Lcasei* IBS041) à la dose de $40 \cdot 10^9$ CFU/jour pendant 8 semaines montre une diminution de la douleur abdominale et de l'inconfort de défécation chez les patients IBS [30].

-Un mélange similaire LAB4 (*B.bifidum* CUL20, *B.lactis* CUL34, *L.acidophilus* CUL60 et CUL21) administré chez des patients IBS à la dose d'une capsule/jour ($2,5 \cdot 10^{10}$ CFU/capsule) pendant 8 semaines. On a une amélioration du score de sévérité des symptômes de l'IBS et une amélioration de la qualité de vie [30].

-Un mélange de *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* F19, *Lactobacillus acidophilus* La5 et de *Bifidobacterium lactis Bb12* n'a montré aucune différence significative. On peut juste observé une tendance à un effet positif les premières semaines mais rien de concluant [30].

-Une autre mélange utilisant *Bifidobacterium longum* et *Lactobacillus acidophilus* montre une augmentation de ces souches bactériennes dans les selles et une amélioration des symptômes à 4 semaines [1].

-Le mélange *B.lactis* Bi-07 et *L.acidophilus* NCFM à la dose de $2 \cdot 10^{11}$ CFU/dose pendant 8 semaines montre une amélioration des ballonnements chez des patients IBS [30].

*Une étude utilise *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 à la dose de 1 milliard de CFU par jour chez des patients IBS modéré pendant 4 semaines. La sévérité des symptômes de l'IBS est enregistrée quotidiennement sur une échelle de Likert en 7 points. On observe une amélioration des symptômes et de la qualité de vie au bout de 4 semaines [1].

**E.coli* Nissle 1917 est utilisé chez des patients IBS pendant 12 semaines. On remarque alors une réponse supérieure dans le groupe probiotique qui devient significative à partir de la 10^e semaine. Par ailleurs la meilleure réponse est obtenue dans les sous groupes antibiotiques et gastroentérites. Ce probiotique montre des effets chez les sujets IBS avec une altération de la microflore entérique [30].

On peut donc observer qu'un nombre important de souches sont testées dans l'IBS. Les souches utilisées sont principalement des bifidobactéries ou des lactobacilles mais d'autres sont utilisés comme *E.coli*, *S.faecium*, *S.bouardii*... En ce qui concerne l'efficacité, on remarque que la plupart des souches probiotiques étudiées (ou mélange de souches) permettent une amélioration des symptômes globaux de l'IBS et de la douleur abdominale. Certaines souches ont des spécificités plus particulières et agissent plutôt sur un type de symptôme (*L.plantarum* sur les ballonnements, *L.acidophilus* sur la douleur abdominale..) ou sur un sous types d'IBS. Il n'existe pas d'effet supérieur à l'utilisation d'un mélange de

probiotiques plutôt que les souches individuellement. Certaines études ont plusieurs limites comme la faible durée de l'étude et du nombre de patients. Par ailleurs on ne connaît pas la persistance de l'effet sur le long terme. De plus il doit y avoir beaucoup de résultats négatifs dans les tiroirs sur des études payées par les industriels, qu'eux n'ont pas voulu publier. L'utilisation des probiotiques chez les sujets IBS promet tout de même une thérapeutique intéressante pour soulager les symptômes, améliorer la qualité de vie et diminuer la prise médicamenteuse. De plus les effets indésirables sont rares. Cependant des études de confirmation de plus grande ampleur doivent être réalisées pour confirmer ces résultats et cibler l'utilisation de tel ou tel probiotique (ou mélange de probiotiques) en fonction des symptômes et/ou du type d'IBS.

d) Maladies inflammatoires de l'intestin

De multiples études récentes utilisent des probiotiques et des synbiotiques comme des agents adjuvants thérapeutiques dans le traitement des maladies inflammatoires comme la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique ou encore les pouchites. Cette approche thérapeutique est utilisée soit en traitement lors d'une poussée aiguë (traitement d'induction) soit en traitement au long terme pour contrôler les symptômes (traitement d'entretien) [31].

✓ Maladie de Crohn (MC)

Une dizaine d'études utilisent les probiotiques seules dans la MC. L'indice de mesure utilisé est le CDAI (The Crohn's Disease Activity Index). Il permet de mesurer la sévérité clinique et aide à déterminer si la maladie est active, s'il y a une rechute et la sévérité de la rechute.

*Cinq études utilisent les *Lactobacillus* est plus particulièrement *Lactobacillus* GG (LGG) et *Lactobacillus johnsonii*. Les études ne montrent aucun effet significatif des *Lactobacillus* que ce soit dans le maintien de la rémission ou dans la prévention des rechutes cliniques et endoscopiques [31].

*Quatre études utilisent *Saccharomyces boulardii*. Des études montrent des effets bénéfiques avec une diminution de la fréquence des selles, une amélioration du score CDAI ou encore une diminution du taux de rechutes cliniques. Mais ces études étant réalisées sur un petit nombre d'individus ne peuvent donc pas être significatifs. D'ailleurs une étude de plus grande ampleur de 2013 sur 165 patients n'a montrée aucune différence statistiquement significative entre le groupe probiotique et le groupe placebo [31].

*Une étude utilise la souche *Escherichia coli*. Cette étude n'a montrée aucune différence significative entre le groupe probiotique et le groupe placebo [31].

Quelques autres études ont testées des synbiotiques sur la MC.

*Une étude utilise le mélange *Bifidobacterium longum* (probiotique) et Synergy I, un mélangee d'inuline et d'oligofructose (prébiotique). Les résultats montrent une augmentation significative du score CDAI dans le groupe synbiotique par rapport au groupe placebo [31].

*Une autre étude utilise une combinaison de quatre probiotiques (*Pediococcus pentoseceus*, *Lactobacillus affinolactis*, *Lactobacillus paracasei susp paracasei* 19, *Lactobacillus plantarum* 2362) et de quatre prébiotiques de fibres fermentables (B-glucane, inuline, pectine, amidon résistant.). Aucun bénéfice statistiquement significatif n'est observé [31].

La majorité des études ne montrent aucun effet statistiquement significatif de l'utilisation des probiotiques et des synbiotiques dans la MC. De plus la plupart des études ont des limitations comme un petit nombre d'individus, un haut taux de décrochage ou encore l'absence de réponse à la dose analysée. Enfin il y a un manque d'uniformité entre l'agent probiotique utilisé, la dose et les traitements concomitants (antidiarrhéiques, aminosalicylés, immunmodulateurs, corticoïdes.).

A l'heure actuelle, les études ne fournissent aucune preuve concluantes à l'utilisation des probiotiques dans la MC.

✓ Rectocolite hémorragique

Quelques études utilisent les probiotiques comme traitement d'induction dans le but de modérer l'activité de la maladie.

*Une étude utilise le mélange VSL#3 (*Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) à 900 milliards de bactéries par jour associé à une petite dose de balsalazide comparé à une dose normale de balsalazide seule ou une dose de mésalamine seule. Le taux de rémission clinique est comparable dans le groupe VSL#3 et le groupe balsalazide seule. Par contre la rémission symptomatique est significativement supérieure dans le groupe VSL#3 par rapport au groupe mesalamine [31].

*Deux autres études utilisent le mélange VSL#3 à 3600 milliards de bactéries par jours associé à un aminosalicylé ou une thiopurine. Ces études montrent une diminution de l'UCDAI (Ulcerative Colitis Disease Activity Index) ainsi qu'un meilleur taux de rémission par rapport au groupe placebo. De plus au niveau cellulaire, on observe que le mélange VSL#3 affecte les cellules dendritiques et les réponses des cellules T. En effet on a une augmentation de la production d'Il-10 anti-inflammatoire et une diminution d'Il-12p40 proinflammatoire [31].

*D'autres études ont testées différents probiotiques. Le mélange BFM (souches de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* montre une diminution du score CAI (Clinical Activity Index). Le mélange BTV (*Bacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *streptococci*) associé à l'acide 5-aminosalicylique montre une amélioration des symptômes cliniques et de l'inflammation mucoale [31].

*Une étude teste un symbiotique c'est-à-dire *Bifidobacterium longum* associé à Synergy I. On observe une réduction des marqueurs inflammatoires par rapport au groupe placebo [31].

D'autres études utilisent les probiotiques dans le traitement d'entretien de la RCH pour limiter les rechutes.

*Divers études ont utilisées des probiotiques comme *E. coli* associé à la mésalamine ou un mélange *Lactobacillus acidophilus* La-5 et *Bifidobacterium animalis lactis* BB-12. Ces études ne montrent aucun bénéfice statistiquement significatif [31].

*L'utilisation du BTV chez des patients initialement traités par sulfasalazine et glucocorticoïdes montre des forts taux de bactéries Gram+ lumbales ce qui prolonge le temps de rémission dans le groupe probiotiques. De plus les probiotiques inhibent les cytokines proinflammatoires et augmentent l'expression des cytokines Il-10 anti-inflammatoires [31].

*L'utilisation d'un mélange de probiotiques contenant *Lactobacillus fermentum* et *Lactobacillus delbruekii* associé à la sulfasalazine montre une amélioration histologique significative de l'inflammation avec une diminution de la calprotectine fécale et des cytokines mucoales inflammatoires par rapport au groupe sulfasalazine seule [31].

*L'utilisation du mélange BFM combiné à une thérapie standard montre significativement moins d'épisodes d'exacerbations symptomatiques par rapport à la thérapie standard seule [31].

*Une étude compare l'utilisation de LGG seul, LGG associé à la mésalamine ou la mésalamine seule. Les auteurs ont conclus à une efficacité équivalente entre les différents groupes [31].

**Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 associé à la mésalamine a été utilisé dans les populations pédiatriques avec une RCH en rémission. On observe une amélioration des paramètres cliniques et endoscopiques ainsi qu'une diminution de la sévérité de l'inflammation dans le groupe probiotiques [31].

Enfin des études ont testées les probiotiques à la fois en traitement d'induction et en traitement d'entretien.

*Une étude montre que le probiotique *E. coli* Nissle est équivalent à la mésalamine dans le maintien de la rémission [31].

*L'utilisation d'un synbiotique contenant des souches de *Bifidobacterium breve* et du galacto-oligosaccharide montre une amélioration du classement endoscopique par rapport au groupe thérapie standard [31].

Bien qu'il existe des limitations dans certaines études comme la taille de la population étudiée, les différences de méthodologies ou encore une durée de l'étude courte, la majorité des études évaluant les agents probiotiques dans le traitement d'induction et/ou d'entretien de la RCH montrent une tendance à des effets cliniques bénéfiques. De plus les patients décrivent une amélioration de la qualité de vie. L'association des probiotiques aux traitements standards a tendance à procurer quelques bénéfices dans la réduction de l'activité de la maladie. Par ailleurs le même probiotique ne semble pas être équivalent pour tous les individus et l'hétérogénéité des désordres cliniques dans la RCH suggère que des souches aux propriétés spécifiques peuvent être exigées pour différentes catégories de patients.

Enfin les études montrent un bénéfice supérieur avec l'utilisation des synbiotiques comparé aux probiotiques seuls.

✓ Les pouchites

*Les études sont peu nombreuses mais la plupart étudient l'utilisation du mélange VSL#3. La première utilise le VSL#3 à la dose de 1800 milliards de bactéries par jour chez des patients en rémission clinique et endoscopique. Après 9 mois de traitement, 15% du groupe ont développés une rechute contre 100% dans le groupe placebo [31].

La deuxième utilisant le VSL#3 montre que le développement des pouchites survient chez 10% des patients dans le groupe probiotiques contre 40% dans le groupe placebo. De plus les patients du groupe probiotiques montrent une amélioration significative de la qualité de vie, une diminution de la fréquence des selles et une augmentation des concentrations de bactéries protectrices [31].

La troisième étude utilise le VSL#3 à la dose de 450 milliards de bactéries par jour chez des patients ayant subis une proctocolectomie avec anastomose iléo-anale sans signes ou symptômes de pouchites. Le groupe sous VSL#3 montre une réduction significative du score PDAI à 3 mois et une stabilisation de ce score à 6 et 12 mois par rapport au groupe placebo. De plus on observe une expansion des cellules T régulatrices mucosales qui ont un rôle dans le contrôle de l'inflammation [31].

*Une autre étude a testé le probiotique LGG mais n'a donné aucun résultat significatif [31].

Les différentes études sur le VSL#3 possèdent une limitation sur la taille de la population étudiée. Cependant toutes ces études montrent des améliorations significatives dans le maintien de la rémission, l'amélioration de la qualité de vie, l'amélioration du score PDAI avec l'utilisation des probiotiques est particulièrement du mélange VSL#3

A ce jour l'utilisation des probiotiques ou synbiotiques ne montrent aucun bénéfice significatif dans le traitement de la MC. Par contre les études sur la RCH indiquent un intérêt de l'utilisation d'agents probiotiques ou encore mieux de synbiotiques dans le traitement d'induction et/ou le traitement d'entretien de la maladie en association ou non aux thérapeutiques standards. Enfin, chez les patients atteints de pouchites, l'utilisation du VSL#3 apparaît être une option thérapeutique évidente dans le maintien de la rémission. Cependant des études supplémentaires restent nécessaires pour confirmer ces effets.

e) Chirurgie intestinale.

*Un mélange de probiotiques contenant *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium longum* est utilisé chez des patients présentant un CRC subissant une chirurgie. L'étude comprend 100 patients. Le mélange probiotique est utilisé à la dose de $2,6 \times 10^{14}$ CFU par jour et est commencé 6 jours avant l'intervention jusque 10 jours après.

On analyse la translocation bactérienne, la perméabilité intestinale, les effets sur la flore fécale et les résultats cliniques (complications infectieuses, fonctions intestinales...) On remarque chez les patients une amélioration de la perméabilité intestinale et une amélioration de la récupération post chirurgicale [1].

D'autres études ont été menées sur l'utilisation de probiotiques ou synbiotiques en post opératoire d'une chirurgie du tractus intestinal. On peut citer l'utilisation d'un synbiotique contenant *Lactobacillus casei* (4.10^{10} cfu), *Bifidobacterium breve* (1.10^{10} cfu) et galactooligosacharides (15g) en post opératoire d'une hépatectomie suite à un cancer biliaire. Ces études montrent une amélioration de la flore intestinale, une réduction significative des complications infectieuses. De plus on remarque chez les patients une amélioration de la qualité de vie, une diminution de la durée d'hospitalisation post opératoire et une durée plus courte du traitement antibiotique. Par contre les études ne montrent pas d'intérêt de l'utilisation des probiotiques ou synbiotiques en préopératoire chez des patients ayant une grave maladie subissant une chirurgie intestinale. Cette supplémentation pourrait même entraîner un sur-risque de mortalité dans certains cas [1].

Les probiotiques et synbiotiques peuvent donc être une thérapeutique intéressante en post opératoire de chirurgie digestive pour diminuer les complications infectieuses.

❖ Les pathologies métaboliques et extra-intestinales

a) Les allergies

L'allergie, de nos jours, est de plus en plus présente que ce soit chez les enfants ou les adultes. Il s'agit d'une pathologie multifactorielle avec notamment en cause l'alimentation, la génétique, les traitements médicamenteux, l'environnement... provoquant alors des réponses cliniques diverses et variées. Plus précisément on remarque une rupture de la tolérance immunitaire au contact des allergènes mais aussi un déséquilibre de la flore intestinale. La flore intestinale étant étroitement liée avec le système immunitaire, l'utilisation de probiotiques ou synbiotiques dès le plus jeune âge ou même chez l'adulte allergique est une piste envisageable en prévention ou en curatif des allergies. Voyons quelques études sur le sujet.

*Une vingtaine d'études ont été réalisées sur des enfants âgés entre 0 et 18 ans sans pathologie atopique. Ceux ayant une pathologie atopique sont inclus uniquement dans le suivi des taux d'IgE. La supplémentation en probiotiques se fait en prénatale et/ou postnatale, la supplémentation au-delà de 1 an n'est utilisé que dans le suivi du taux d'IgE. Les souches utilisées sont principalement des lactobacilles et bifidobactéries seuls ou en mélange, par exemple en administration pré et postnatale ; *L.reuteri*, LGG, *B.lactis*+*Lactobacillus* HN001, *B.lactis*+LGG et par exemple en postnatale ; *L.gasseri*, *L.casei*, *L.acidophilus*, *L.paracasei*, *B.lactis*+LGG. Les paramètres observés sont le taux d'IgE total, la sensibilisation atopique et l'asthme.

-Concernant le taux d'IgE, on remarque globalement une diminution du taux d'IgE total. En analysant de plus près, cette diminution est plus significative chez les enfants atopiques que

chez les enfants non atopiques avec antécédents familiaux, chez les enfants âgés de plus de 2 ans. Enfin la diminution du taux d'IgE est plus prononcée avec la longueur de l'étude.

-Concernant la sensibilisation atopique, on remarque une diminution de celle-ci lorsque le/les probiotiques sont administrés en pré et postnatale. On ne retrouve pas ce résultat si la supplémentation se fait uniquement en postnatale. Par ailleurs l'administration de *L.acidophilus* est corrélée à une augmentation du risque de sensibilisation atopique.

-Concernant l'asthme aucun effet significatif de réduction de risque n'est observé lors de la supplémentation en probiotiques.

Les résultats varient selon la souche utilisée et la durée de l'étude.

Les probiotiques administrés dès le plus jeune âge promouvaient une bonne santé du microbiome et peuvent ainsi contribuer à la modulation de la maturation des réponses immunitaires (équilibre Th1 et Th2) mais aussi éviter ou diminuer l'inflammation de bas-grade[25]. Bien que quelques complications infectieuses ont été reportées, les probiotiques utilisés sont considérés comme sûrs. D'autres études sont nécessaires pour confirmer ces résultats, vérifier l'efficacité et la sûreté sur le long terme et trouver un mélange permettant la réduction du risque d'asthme.

*Une étude teste différente formulation de laits infantiles chez 260 enfants allergiques au lait de vache âgés entre 1 et 12 mois. La supplémentation d'une durée de 12 mois se fait soit avec une formule d'hydrolysate de caséine (EHCF), soit une formule EHCF + *Lactobacillus rhamnosus* GG (EHCF+LGG), soit une formule de riz hydrolysé (RHF), soit une formule de soja ou une formule à base d'acides aminés. On remarque alors une accélération de l'acquisition de la tolérance immunitaire dans les groupes EHCF et EHCF+LGG par rapport aux autres groupes. En étudiant de plus près LGG augmente encore plus cet effet. La supplémentation des laits infantiles en probiotiques est une piste intéressante en préventif et curatif des allergies alimentaires chez les enfants [9].

*Une méta-analyse a aussi été réalisée sur les probiotiques en prévention de l'eczéma atopique. En effet au fil des années cette pathologie a nettement augmentée et on observe un déséquilibre au niveau des cellules T helper (réponse Th2 exagérée par rapport à la réponse Th1). Or on sait que l'établissement de la flore intestinale améliore la réponse Th1, inhibe la réponse Th2 et stimule la sécrétion d'IgA (défense mucoale et rôle anti-inflammatoire). L'utilisation des probiotiques apparaît être une option en prévention. Voyons les résultats de cette analyse.

-LGG (1.10^{10} CFU) est administré en prénatale (un mois avant l'accouchement) chez la maman et chez le bébé à haut risque d'eczéma atopique jusque 6 mois en postnatale. On remarque chez les enfants à l'âge de 2 ans une diminution de 50% de l'atopie dans le groupe probiotique comparé au groupe placebo [32]. A noter que cette administration uniquement en prénatale n'est pas efficace dans la prévention contre l'eczéma [32]. Une autre étude ne montre aucune diminution de l'incidence ou de la gravité de la dermatite atopique avec LGG qui de ce fait n'est pas recommandé en prévention primaire [32].

-Des femmes enceintes positives au prick test sont supplémentées en mélange de *L.rhamnosus* LPR+ *B.longum* BL999 ou *L.paracasei* ST11 + *B.longum* BL999 ou placebo pendant deux mois avant l'accouchement et deux mois d'allaitement. On remarque une diminution du risque de développement de l'eczéma durant les 24 premiers mois de vie du bébé dans les deux groupes probiotiques mais aucun effet sur le risque de sensibilisation atopique [32]. Le même style d'étude avec le mélange LGG+*L.acidophilus* La5+*B.animalis subsp.lactis* Bb-12 montre une réduction chez le bébé de la dermatite atopique mais pas d'effet sur la sensibilisation atopique [32]. *L.rhamnosus* HN001 montre aussi une diminution du risque d'eczéma mais pas de la sensibilisation atopique en supplémentant les femmes enceintes et aussi l'enfant jusque 2 ans en cas de risque allergique. A l'inverse *B.animalis* HN019 ne montre aucun résultat positif dans la même étude [32].

- Des femmes enceintes reçoivent un mélange de probiotiques (LGG, *L.rhamnosus* LC705, *B.breve* Bb99, *P.freudenreichii ssp shermanii* JS) 4 semaines avant l'accouchement et le nouveau né reçoit ce même mélange additionné à des GOS pendant 6 mois. On ne remarque pas d'effet sur l'incidence cumulative des allergies mais on a quand même une tendance à la réduction des IgE associés à des pathologies atopiques. Par ailleurs on a une diminution de l'incidence de l'eczéma et principalement de l'eczéma atopique corrélée avec l'augmentation de la colonisation par les lactobacilles et bifidobactéries [32].
- Lactobacillus F19 administré à des enfants âgés de 4 à 13 mois montre une diminution de l'incidence de l'eczéma (11% d'eczéma dans le groupe probiotique contre 22% dans le groupe placebo. Par ailleurs à 13 mois le ratio IFN γ /IL-4 est meilleur dans le groupe probiotique, par contre aucune différence dans les taux d'IgE [32].
- Un lait enrichi en *B.longum* BL999 et *L.rhamnosus* LPR (2.10^7 CFU) administré à des nouveaux nés à haut risque d'allergie pendant 6 mois ne montre pas d'effet positif sur la prévention de l'eczéma et la sensibilisation allergique [32].

Ces quelques résultats positifs confirment la nécessité d'approfondir les recherches dans l'utilisation des probiotiques dès le plus jeune âge en préventif ou curatif des pathologies allergiques pour permettre une meilleure acquisition de la tolérance immunitaire ou voir rétablir cette tolérance.

b) L'obésité et le diabète.

Actuellement, les recherches montrent un lien non négligeable entre la flore intestinale et les pathologies métaboliques, ce qui laisse penser à une voie thérapeutique probable. Ainsi de plus en plus d'études sont réalisées sur l'utilisation de différentes souches de probiotiques dans le syndrome métabolique et le diabète (particulièrement de type 2), que ce soit chez des enfants ou des adultes. Voyons quelques résultats d'études dans ce domaine d'application.

✓ Obésité

*Une première étude utilise la souche *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* F19 sur des enfants entre 4 et 13 mois dont les parents sont obèses ou en surpoids. L'idée est d'étudier les effets à long terme sur la composition du corps, la croissance et les marqueurs métaboliques. Les enfants ont reçus 1.10^8 CFU par jour pendant dix mois lors du sevrage. Bien que cette étude a été concluante chez l'animal, la supplémentation par ce probiotique n'a aucun d'effet significatif sur l'IMC et l'adiposité. Cependant on remarque des taux plus faibles d'acides palmitoléiques (marqueur de l'obésité quand le taux est élevé) et des taux plus élevés de putrescine (marqueur de l'intégrité intestinale). Par ailleurs cette supplémentation n'a entraîné aucun effet néfaste [33].

*Dans une deuxième étude, des adultes obèses sont supplémentés par un synbiotique (*Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 à la dose de $1.6 10^8$ CFU + oligofructose + inuline) pendant 6 mois dans le but de perdre du poids et de maintenir cette perte de poids. On n'observe aucun effet significatif chez les hommes, cependant on remarque une perte de poids significative chez les femmes par rapport au groupe placebo. Cette étude montre l'utilité de cette formulation pour aider les femmes obèses à perdre du poids durablement [33].

*Dans une troisième étude, on supplémente des obèses en post-opératoire, ayant subis un bypass gastrique, par des *Lactobacillus* à la dose de $2.4.10^9$ CFU par jour pendant 6 mois. On observe alors une amélioration de la croissance bactérienne intestinale, de la biodisponibilité de la vitamine B12 et d'une meilleure perte de poids après l'opération en comparaison avec le groupe placebo [33].

* Plusieurs études diverses et variées ont été menées sur de faibles durées (moins de trois mois) mais montrent quelques résultats intéressants [33];

-Un mélange de *Lactobacillus acidophilus* La5, de *Bifidobacterium* BB12 et de *Lactobacillus casei* DN001 dans un yogourt de 200g par jour chez des adultes obèses montre une réduction de l'inflammation notamment par diminution des cytokines inflammatoires (IL-10, IL-17). Le probiotique a ici un rôle d'immunomodulation.

-Un synbiotique chez des enfants obèses âgés entre 6 et 18 ans montre une diminution des paramètres de l'obésité comme le tour de taille, l'IMC et le ratio taille/hanche mais permet aussi un contrôle des facteurs de risques cardiovasculaires (diminution des Triglycérides et du cholestérol).

-*Lactobacillus casei* Shirota chez des adultes obèses (moyenne de 51 ans) à raison de $6.5 \cdot 10^8$ CFU trois fois par jour provoque une augmentation de la perméabilité intestinale avec une présence d'endotoxines. Cette souche ne doit pas être utilisée chez les obèses.

-*Lactobacillus salivarius* Ls-33 chez des adolescents obèses n'a montré aucun effet significatif que ce soit sur les marqueurs du syndrome métabolique ou de l'état inflammatoire.

-*Lactobacillus gasseri* STB2055, à la dose de 200g de lait fermenté par jour (contenant $5 \cdot 10^{10}$ CFU/100g de lait fermenté), chez des adultes en surpoids ou obèses montre des effets d'abaissement au niveau de l'adiposité abdominale, du poids corporel ainsi que d'autres mesures suggérant une influence positive sur le syndrome métabolique.

-Un mélange de probiotiques différents est utilisé entre des groupes de sujets âgés de 18 à 55 ans en surpoids ou obèses (Groupe 1 : *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* ; groupe 2 : *Lactobacillus rhamnosus*, *Streptococcus thermophilus* ; groupe 3 : *Enterococcus faecium*, *Streptococcus thermophilus*). On remarque une diminution du LDL cholestérol et une augmentation du fibrinogène dans le groupe 3, et une diminution de la pression systolique dans le groupe 1 et 3. On a une amélioration des facteurs cardiovasculaires dans le groupe 3.

Cette liste d'études non exhaustive sur les probiotiques et les synbiotiques nous amène à considérer cette thérapeutique dans l'aide à la perte de poids mais aussi dans la diminution des facteurs de risques chez les obèses et dans la diminution de la micro-inflammation. Cependant, toutes les souches probiotiques ne sont pas efficaces, voir même délétères pour certaines. Par ailleurs on s'aperçoit que les mélanges de souches et les synbiotiques donnent de meilleurs résultats. Avant de généraliser ces effets d'autres études plus représentatives et plus poussées devront être réalisées pour déterminer les formules efficaces et les doses efficaces.

✓ Diabète

* Un synbiotique composé de *Lactobacillus acidophilus* ($4 \cdot 10^8$ CFU/ml), de *Bifidobacterium bifidum* ($4 \cdot 10^8$ CFU/ml) et d'oligofructose (2g) est utilisé chez 20 patientes diabétiques de type 2 (DT2) âgées de 50 à 65 ans à raison de 200ml du mélange par jour pendant 45 jours. On observe alors une réduction significative du cholestérol total et des triglycérides, une augmentation significative du HDL cholestérol et une réduction de la glycémie à jeun [33].

* Quelques études diverses ont été menées sur de faibles durées (moins de deux mois) mais montrent quelques résultats intéressants :

-Un mélange de deux souches de probiotiques (*Lactobacillus acidophilus* La5 à $7.23 \cdot 10^6$ CFU/g et *Bifidobacterium lactis* Bb12 à $6.04 \cdot 10^6$ CFU/g) chez 64 DT2 entre 30 et 60 ans à raison de 300g de yaourt par jour contenant ces probiotiques montre une diminution de la glycémie à jeun et de l'HbA1c et une augmentation du statut antioxydant total (activités de la dismutase et de la glutathion peroxydase érythrocytaire). Cependant il n'y a pas de changement significatif de la concentration en insuline ni de l'activité de la catalase de l'érythrocyte.

-*Lactobacillus acidophilus* NCFM chez 48 DT2 hommes permet de préserver la sensibilité à l'insuline par rapport au groupe placebo. Cependant cette souche n'a pas d'effet sur l'état inflammatoire.

Ces quelques études nous montre que les probiotiques et les synbiotiques pourraient apporter un bénéfice dans la diminution de la glycémie à jeun, de l'HbA1c, des facteurs de risques cardiovasculaires (Cholestérol, Triglycérides..) et du stress oxydatif. Cependant ces résultats doivent être confirmés sur des études de plus grande ampleur.

c) Stéatose hépatique non alcoolique : NAFLD

La majeure partie des patients souffrant de NAFLD sont obèses, il est évident que la NAFLD est une manifestation du syndrome métabolique. La principale caractéristique est le stockage excessif de triglycérides au niveau des hépatocytes (stéatose). Une partie des patients peuvent développer des lésions hépatiques et une inflammation en plus de la stéatose, il s'agit de la NASH : stéato-hépatite non alcoolique (forme extrême de NAFLD). Même si la stéatose simple rencontrée dans la NAFLD n'est pas associée à court terme avec une augmentation de la morbidité ou de la mortalité dramatique, la progression de la maladie vers une NASH augmente de façon dramatique le risque de cirrhose, d'insuffisance hépatique et de carcinome hépato-cellulaire (CHC) [33].

Quelques probiotiques ont été étudiés dans cette pathologie. Voyons en détails ces études.

*Un mélange de probiotiques est utilisé chez des patients atteints de diabète de type 2 sous traitement antidiabétique mais aussi atteint de NAFLD. La durée de l'étude est de 30 jours. Le groupe de patients est divisé en deux en fonction du taux de transaminases initiale élevée (T+) ou normal (T-). L'étude montre dans le groupe probiotique une réduction significative des cytokines au bout des 30 jours. Les patients T+ montrent une diminution des cytokines Il-6, Il-8, TNF α , Il-1 β et INF γ . Les patients T- montrent une diminution des cytokines TNF α et Il-8. Dans le groupe placebo aucun changement significatif des cytokines n'est observé [33]. Les probiotiques sont ici utiles pour diminuer les manifestations inflammatoires de bas grade dans le diabète de type 2 et la NAFLD.

*Des patients atteints de NASH reçoivent un mélange de probiotiques (*Lactobacillus plantarum*, *L. deslbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* et *Bifidobacterium bifidum*) pendant 6 mois. On observe alors une diminution du contenu intra-hépatique en triglycérides et une diminution du taux d'aminotransférase. Le taux de glucose, de lipides et l'IMC ne sont pas modifiés. Cette étude demande cependant confirmation sur un plus grand nombre de sujets [33].

*Une étude, randomisée réalisée en double aveugle contre placebo, teste un mélange de probiotiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) à la dose de 500 milliard de CFU par jour chez des patients atteints de NAFLD. Après trois mois on remarque une diminution des taux d'amino-transférases et de gamma glutamine transférases par rapport au groupe placebo. La supplémentation en ce mélange de probiotiques permet l'amélioration des paramètres biologiques du foie chez les patients NAFLD [33].

*Un synbiotique composé de *Bifidobacterium longum* et de FOS accompagné d'un changement de style de vie est utilisé dans la NASH comparé au changement de style de vie uniquement. On remarque une réduction de l'inflammation (TNF- α , CRP), des taux d'endotoxines, des transaminases, de la résistance à l'insuline, de la stéatose et de l'index de l'activité de la NASH [1].

*Chez des enfants en surpoids et atteints de NAFLD, on administre le mélange VSL#3, à raison d'un sachet par jour pendant 4 mois. On remarque alors une amélioration de l'IMC et de la stéatose et surtout on observe une augmentation du GLP-1 dans le groupe VSL#3 qui est

probablement responsable des effets bénéfiques. La supplémentation à court terme par le mélange VSL#3 améliore les paramètres de la NAFLD chez ces enfants obèses.

*Une autre étude utilise le mélange VSL#3 chez des patients soit atteints de NAFLD (G1), de cirrhose alcoolique du foie (G2) ou d'infection à hépatite C (G3). Les résultats sont variables selon les groupes, mais on observe une amélioration de la MDA (Manondialdéhyde) et de la 4-HNE (4-hydroxynonéal) qui sont des produits de la peroxydation lipidique (stress oxydatif) dans le G1 et G2. On remarque également une amélioration des cytokines (TNF- α , Il-6 et Il-10) dans le G2. De plus dans tous les groupes on a une amélioration des taux plasmatiques de S-NO (S-nitrosothiol) et des tests du foie. Le VSL#3 et donc la manipulation de la flore intestinale peut être une thérapeutique adjuvante intéressante dans les maladies du foie.

*Une étude de courte durée (2 mois) sur des enfants obèses (10 ans) atteints de NAFLD teste le probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG à raison de $12 \cdot 10^9$ CFU par jour. On observe alors une diminution des transaminases.

La plupart des études réalisées sur des patients atteints de NAFLD avec plus ou moins d'autres pathologies (diabète, obésité ...) montrent de bons résultats des probiotiques et des synbiotiques surtout dans la diminution des paramètres biologiques du foie (transaminases..), de la stéatose et de l'inflammation. Cette thérapeutique adjuvante est donc très intéressante à envisager dans la prise en charge de ces patients.

❖ Les infections aiguës des voies respiratoires supérieures (URTI)

Les URIs (sinusites, pharyngites, laryngotrachéobronchites, épiglottite, rhinosinusites, otites moyennes aiguës) sont des pathologies très courantes causées par une multitude de virus et bactéries. Les URIs sont la majeure cause de morbidité chez les jeunes et les personnes âgées, de plus les antibiotiques sont souvent donnés et mal utilisés aboutissant à l'antibiorésistance. Dans ce contexte, il est intéressant d'étudier l'efficacité et la sûreté des probiotiques dans la prévention et le traitement des URIs. Voici quelques résultats d'études sur les enfants et les adultes.

**Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) contenu dans du lait fermenté est administré à la dose de 10^9 CFU par jour pendant 3 mois chez 281 enfants âgés de 13 à 86 mois et fréquentant les centres de soins de jour pour la prévention des infections gastrointestinales et respiratoires. Dans le groupe LGG on remarque une diminution significative des URIs et des URIs supérieures à 3 jours ainsi que du nombre de jour avec les symptômes respiratoires. Concernant les infections des voies respiratoires basses et gastrointestinales, il n'y a aucune différence avec le groupe placebo. LGG peut être une solution pour diminuer le risque d'URIs chez les enfants fréquentant les centres de soins de jour [27].

LGG à la même dose est administré chez des enfants de plus d'un an pendant la durée de leur hospitalisation. On observe alors une diminution significative du risque d'infections du tractus respiratoire, gastrointestinale, du nombre d'enfants à traiter, des épisodes de diarrhées et vomissements, des infections gastrointestinales supérieures à 2 jours et des infections du tractus respiratoire supérieures à 3 jours. La durée d'hospitalisation reste inchangée. LGG peut être utilisé pour diminuer le risque d'infections nosocomiales gastrointestinales et respiratoires dans les établissements pédiatriques [27].

**Lactobacillus casei* DN-114001/CNCMI-1518 à la dose de $2 \cdot 10^{10}$ CFU/j contenu dans un lait fermenté Actimel (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* 10^9 CFU/j) est administré chez des enfants de 3 à 6 ans à raison d'une bouteille par jour pendant 3 mois. On remarque une diminution de 19% de l'incidence des rhumes et une réduction de l'incidence

des pathologies infectieuses principalement gastrointestinales [27]. Une autre étude supplémente les enfants âgés de 3 à 12 ans par 2 bouteilles d'Actimel par jour pendant 20 semaines. On remarque alors une tendance légère à la diminution de la durée et de l'incidence des désordres infectieux chez les enfants. Ces études demandent confirmation [27].

*Le mélange LGG et *Bifidobacterium lactis* Bb12 (dosé à 1.10^{10} CFU/j) est administré chez 81 enfants de 0 à 2 mois jusque 12 mois. On remarque pendant les 7 premiers mois 22% d'otites moyennes aiguës entraînant dans 31% des cas un traitement antibiotique dans le groupe probiotique contre 50% d'otites avec un traitement antibiotique dans 60% des cas dans le groupe placebo. Par ailleurs on a 28% d'infections respiratoires récurrentes dans le groupe probiotique contre 55% dans

le groupe placebo. Les probiotiques peuvent être un moyen sûr de diminuer le risque d'otites moyennes aiguës, de diminuer l'utilisation d'antibiotiques et de diminuer le risque d'infections respiratoires récurrentes au cours de la première année de vie. D'autres études doivent cependant être faites pour confirmer ces résultats [27].

*Le mélange *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* (10^9 CFU/capsule) est administré à raison d'une capsule deux fois par jour pendant 3 mois chez 80 enfants âgés de 8 à 13 ans en bonne santé. On observe alors que 77% du groupe probiotique développe des symptômes de froid contre 95% dans le groupe placebo. On a aussi une diminution significative du risque de fièvre, de toux, de rhinorrhée, d'absentéisme scolaire. Ce mélange peut être intéressant dans la réduction des symptômes du rhume et de l'absence à l'école [27].

*Le mélange *Lactobacillus acidophilus* et *L. casei* (dosé à 10^8 CFU/ml) contenu dans un lait fermenté est administré chez 100 enfants de 6 à 24 mois pendant 3 mois (automne à hiver). 58 enfants déclenchent un épisode infectieux dont 37 sous alimentés. 22 dans le groupe probiotique avec une moyenne de 1.55 épisodes /enfant et un maximum de 3 épisodes/enfant. 36 dans le groupe placebo avec des épisodes plus sévères, une moyenne de 1.92 épisodes/enfant et un maximum de 7 épisodes/enfant. Par ailleurs les pathologies sont deux fois plus graves chez les sous alimentés dans le groupe placebo, la dénutrition augmente le risque d'URTIs et diminue l'effet du probiotique lié au statut immunodéficient. La supplémentation est intéressante pour diminuer les épisodes infectieux (bronchites, pneumonie) chez les enfants [27].

*Le mélange *Lactobacillus plantarum* HEAL 9 et *Lactobacillus paracasei* 8700:2 est administré chez des adultes de 18 à 65 ans à raison de 1.10^9 CFU/j pendant 12 semaines. On observe que l'incidence d'attraper le rhume est de 55% dans le groupe probiotique contre 67% dans le groupe placebo, que le nombre de jour des symptômes est de 6,2 jours dans le groupe probiotique contre 8,6 dans le groupe placebo, que le score total de symptômes est diminué dans le groupe probiotique (33,6 %) par rapport au groupe placebo (44,4%) et que la prolifération des lymphocytes B est sensiblement neutralisé dans le groupe probiotique par rapport au groupe placebo. Ce mélange montre des effets positifs sur la réduction du risque d'acquisition des pathologies infectieuses hivernales [27].

*Le mélange LGG et *Bifidobacterium ssp lactis* Bb12 (dosé à 10^9 CFU/stick) est administré à des jeunes adultes âgés de 18 à 24 ans à raison d'un stick par jour pendant 12 semaines. On observe alors une diminution de la durée des URTIs de 2 jours et de la sévérité dans le groupe probiotique entraînant alors moins d'absentéisme en cours. Ce mélange permet d'améliorer la qualité de vie durant l'URTI. Plus de recherches sont nécessaires mais ce mélange est prometteur en traitement prophylactique des URTIs [27].



Figure 43 : image caricaturale du bienfait de LGG.

*Un mélange de probiotiques (*Lactobacillus gasseri* PA16/8, *B.longum* SP07/3, *B.bifidum* MF2015) dosé à 5.10^7 CFU/j, de vitamines et minéraux est administré chez des adultes (de 18 à 67 ans) pendant au moins 3 mois. On remarque une augmentation des lactobacilles et bifidobactéries fécales, une diminution du score total de symptômes, de la durée de la fièvre, de la durée du rhume, de la sévérité des symptômes dans le groupe probiotique. On a aussi une meilleure action des cellules T CD8+ cytotoxiques et des cellules T CD4+ helper [27].

Ces différents résultats d'études montrent une voie thérapeutique potentielle des probiotiques dans le traitement préventif et/ou curatif des URTIs, notamment pour diminuer le risque d'incidence des URTIs, la durée et la sévérité des symptômes que ce soit chez les enfants ou les adultes. Cependant ces résultats sont de qualité un peu faible et demandent donc confirmation par de nouvelles études.

❖ Cas particuliers : les âges extrêmes

La colonisation du tractus gastro-intestinal commence immédiatement après la naissance (bien que des études récentes montrent la présence de microorganismes dans le placenta, le liquide amniotique, le cordon et le méconium). Au fur et à mesure la flore intestinale se diversifie et se complexifie jusqu'à atteindre une flore mature stable comparable à celle d'un adulte vers l'âge de 2-3 ans. La flore intestinale adulte maintient, en l'absence de facteurs perturbateurs, une forte stabilité et homéostasie. Cependant des dysbioses apparaissent avec la vieillesse. En effet, le vieillissement est définie par la régression des fonctions physiologiques accompagnée par l'avancement de l'âge et est associé à des changements physiologiques au niveau du tractus gastro-intestinal (diminution de la motilité intestinale, constipation...), des changements dans les habitudes alimentaires (malnutrition, consommation diminuée en fibres, fruits et légumes), dans les fonctions immunes (inflammation chronique de bas grade), ce qui augmente la vulnérabilité contre les infections communes (immunosénescence) et les pathologies (cancers, maladies auto-immune, maladies chroniques...) [3].

Au niveau de la flore intestinale de la personne âgée, on remarque une réduction de la diversité bactérienne avec des taux plus élevés des *Bacteroidetes* et plus bas de Firmicutes, une diminution des bifidobactéries, une augmentation des bactéries anaérobies, une augmentation des Entérobactériacées et de quelques Protéobactéries, une diminution de la résistance de la flore intestinale aux facteurs environnementaux et une augmentation de la susceptibilité aux infections comme *Clostridium difficile* [3].

Au niveau métabolique, on observe une diminution de la production de SCFA, une augmentation du métabolisme protéique aboutissant à une élévation des métabolites toxiques (ammoniac, phénols...). Le transit peut être modifié, l'absorption d'énergie diminuée mais aussi des modifications du pH et de la concentration en bile sont observées.

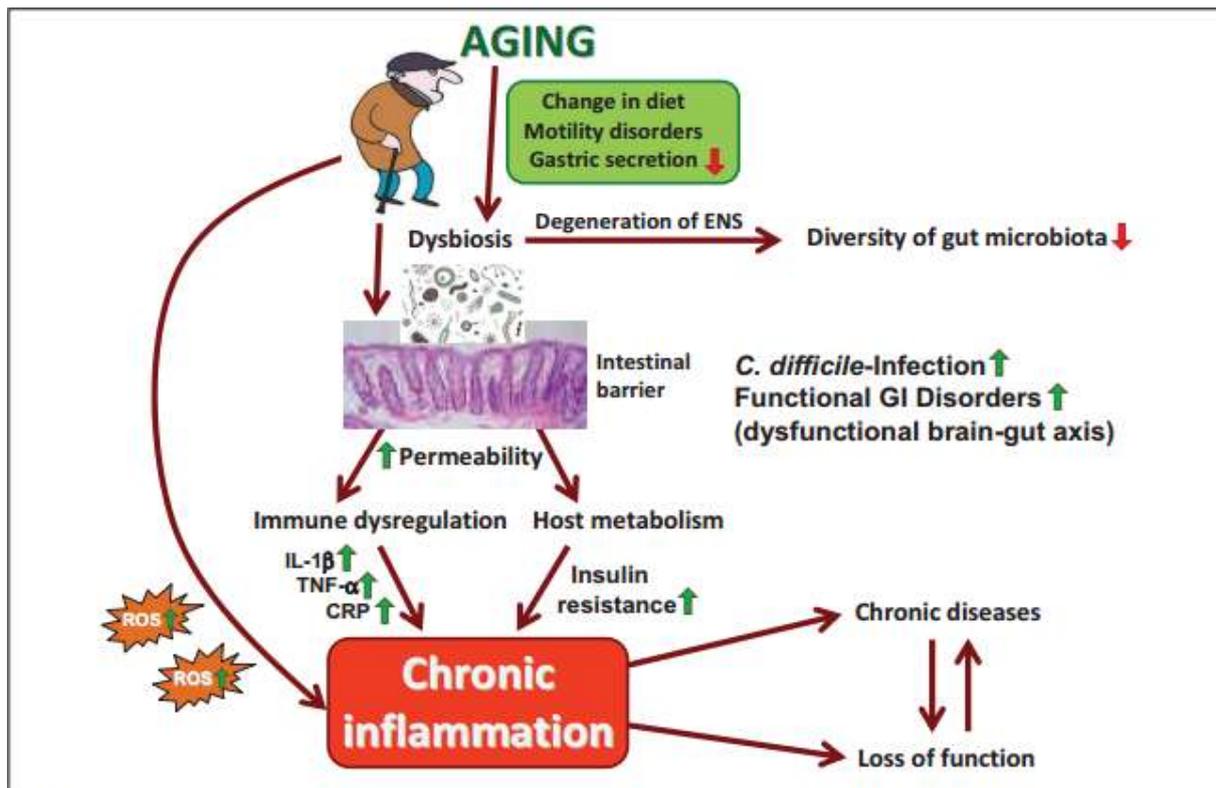


Fig. 3. Impact of aging on gut microbiota, pathology of gastrointestinal tract and various clinical consequences leading to dysbiosis causing chronic inflammation resulting from impairment of mucosal barrier, generation of reactive oxygen metabolites (ROS), proinflammatory mediators, the decrease in diversity of gut microbiota, increased risk of *Clostridium difficile* infection (CDI) and functional gastrointestinal disorders (FGID).

Figure 44 : Impact de l'âge sur la flore intestinale.

Après ces observations il est important d'agir pour maintenir et/ou restaurer la flore intestinale aux âges extrêmes de la vie et notamment chez la personne âgée.

Probiotiques, prébiotiques, synbiotiques, interventions nutritionnelles, transplantation fécale
Quelles sont les stratégies efficaces chez les personnes âgées dans le maintien ou la restauration de l'équilibre intestinal ?

Nous étudierons dans cette partie uniquement l'utilisation des probiotiques, le reste est étudié dans d'autres parties.

*La plupart des études utilisent des bactéries gram+ comme les lactobacilles ou les bifidobactéries en supplémentation chez les sujets âgés. On peut préciser qu'il est important de conserver une composition quantitative et qualitative de Bifidobactéries chez les sujets âgés car cette famille aux nombreux effets bénéfiques a tendance à diminuer avec l'âge.

Une étude utilise *Bifidobacterium longum* chez les sujets âgés. On observe une augmentation des bifidobactéries. Une autre utilise *Bifidobacterium lactis*, on remarque alors une augmentation des bifidobactéries et des lactobacilles et une diminution des entérobactéries.

L'avantage des bifidobactéries est qu'elles permettent la synthèse de folates ou encore qu'elles produisent des produits terminaux suite à la fermentation bactérienne comme l'acétate et le lactate qui inhibent certains pathogènes.

Par ailleurs une étude utilise deux souches de *Bifidobacterium longum* (2C et 46) contenues dans une boisson d'avoine fermentée chez des sujets âgés sur une période de 6 mois. Les selles sont collectées et on remarque au bout des 6 mois une légère augmentation des bifidobactéries comme *Bifidobacterium longum*, *B. adolescentis*, *B. bifidum*. On remarque aussi une croissance différente de souches de bifidobactéries en fonction des individus due à leur flore intestinale initiale différente. L'augmentation des bifidobactéries a un léger impact

sur la diminution du statut inflammatoire. Enfin il faut souligner l'augmentation dans le groupe placebo des bifidobactéries probablement due à l'effet prébiotique de l'avoine.

**Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 (LGG) est administré à des personnes âgées de 65 à 80 ans. Le but est d'observer l'impact de la supplémentation en une souche probiotique sur la structure et la dynamique fonctionnelle (expression des gènes) de la flore intestinale.

L'étude a révélé que la composition globale de la communauté était stable avant, pendant et après la supplémentation. Cependant des analyses montrent que LGG possède la capacité d'adhérer à la muqueuse intestinale de l'hôte. Par ailleurs, la réponse transcriptionnelle de la flore intestinale a été modulée par le traitement probiotique en effet la comparaison des profils de transcription montre que trois groupes de transcriptomes distincts affichent des différences considérables dans la dynamique fonctionnelle. Ces trois groupes sont ainsi à l'origine de l'augmentation de l'expression de gènes impliqués notamment dans la motilité des flagelles, le chimiotactisme et l'adhérence de *Bifidobacterium* ainsi que dans l'augmentation de l'expression des producteurs de butyrate *Roseburia* et *Eubacterium*, ce qui suggère que LGG peut favoriser les interactions entre les principaux constituants de la microflore et l'épithélium de l'hôte et exercer directement ou indirectement ces propriétés (colonisation compétitive par adhésion à la muqueuse intestinale, effet anti-inflammatoire, diminution de la perméabilité intestinale). Ces résultats fournissent des preuves des effets fonctionnels discrets conférés par un organisme probiotique spécifique unique et de contester l'idée dominante que les probiotiques modifient sensiblement le microbiote résident chez les individus sains [28].

**Lactobacillus casei ssp Shirota* (LcS) dosé à 4.10^{10} CFU/j est administré chez des personnes de moyenne d'âge 83 ans pendant 5 mois. On ne remarque pas de diminution de la fréquence des URTIs mais on observe une diminution de la durée de l'épisode d'URTI dans le groupe LcS (3,71j contre 5,4 dans le groupe placebo). Ces résultats suggèrent que le LcS réduit la durée de l'épisode d'URTI [27].

*Un mélange de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* ($1,8$ à $3,2 \cdot 10^{10}$ CFU/j) et de *Streptococcus thermophilus* ($5,7$ à $7,9 \cdot 10^{10}$ CFU/j) est administré chez deux groupes de moyenne d'âge 74 ans (G1) et 68 ans (G2) pendant 8 à 12 semaines. On observe une diminution du risque d'attraper le rhume dans le groupe probiotique (2,6 fois moins), une augmentation de l'activité des cellules killer NT et une amélioration de la qualité de vie (nez et gorge). Ce mélange peut être intéressant chez les personnes âgées en préventif et/ou curatif des URTIs [27].

**Bifidobacterium lactis* HN019 dosé à $1,5 \cdot 10^{11}$ CFU/dose est administré chez des sujets sains d'une moyenne d'âge de 69 ans 2 fois par jour pendant 6 semaines. On observe alors une augmentation des taux d'IFN α et de la capacité de phagocytose des polynucléaires. [27]. Une autre étude montre que l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (10^9 CFU/g) pendant 3 semaines chez des personnes d'âge moyen 63 ans améliore les réponses immunitaires cellulaires [27]. Les probiotiques pourraient être intéressants pour stimuler l'immunité des personnes âgées qui est souvent diminuée avec l'âge.

Les études sur l'utilisation des probiotiques principalement des lactobacilles et bifidobactéries chez les personnes âgées sont assez limitées mais ont tendance à montrer une amélioration de la stimulation du système immunitaire, une augmentation intestinales des lactobacilles et bifidobactéries et une légère amélioration de l'état inflammatoire. Les résultats actuels ne sont pas assez significatifs pour conclure à l'effet positif d'une supplémentation en probiotique chez les personnes âgées, cependant ils laissent une piste à étudier et approfondir avec de nouvelles études.

d. Limites.

Les études testant diverses souches bactériennes (probiotiques) seules ou en mélange dans diverses situations (pathologies, effet préventif..) sont de plus en plus nombreuses. L'utilisation des probiotiques est en pleine expansion avec de nombreux produits disponibles sur le marché. Cependant il existe un certain nombre de limites dans l'étude des probiotiques et la consommation de probiotiques.

❖ La transposition à l'homme

Beaucoup d'études dont nous n'avons pas parlé ici ont été réalisées sur des modèles animaux. Dans un grand nombre d'études on remarque un effet bénéfique de souches bactériennes sur les animaux dans diverses situations. Ces études ont un intérêt à prouver l'action des probiotiques sur une flore intestinale animale ou à utiliser comme point de départ de l'analyse d'une souche. Cependant la flore intestinale humaine est beaucoup plus diversifiée et complexe que celle des animaux, ce qui interdit la transposition de l'effet de ces souches de l'animal à l'homme sans étude sérieuse de ces souches sur l'homme.

❖ L'absence de généralisation

L'Afssa s'est penché sur le sujet de la spécificité d'effets des probiotiques entre les souches, l'espèce et le genre. Ainsi elle en conclut ceci : « Les différences de propriétés entre souches ne signifient pas de manière certaine que tous leurs effets sur l'hôte seraient différents. Cependant elles doivent jusqu'à preuve du contraire le laisser envisager. Rien n'exclut que l'on démontre que la présence d'un principe actif bien identifié dans un probiotique suffise pour permettre une prédiction fiable de l'obtention d'un effet. Néanmoins, ceci est improbable dans un futur proche et nécessitera une validation solide. »

Il est donc admis de manière consensuelle que les effets d'une souche ne peuvent être extrapolés à une autre. En d'autres termes, des études cliniques sur la souche elle-même sont nécessaires pour toute allégation. Les effets attribués aux souches testées ne peuvent pas être attribués à l'espèce, ni au genre, ni à d'autres souches similaires.

Il en est de même pour les doses testées, les études qui prouvent l'efficacité de souches spécifiques à des doses précises ne sont pas suffisantes pour prouver des effets sur la santé à doses moindres ou à des doses différentes.

Chaque souche ou chaque mélange de souches doit donc être testé à doses consommées pour justifier un effet sur la santé.

❖ La réponse individuelle

La flore intestinale est globalement similaire entre les individus mais il existe des variations individuelles. Lors de situations de dysbioses on observe des variations communes de la flore intestinale entre les individus mais aussi des variations individuelles. L'utilisation des probiotiques suggèrent donc une réponse plus ou moins commune entre les individus mais il pourrait exister une réponse individuelle à l'utilisation de ces produits avec soit une absence de réponse ou une réponse inadéquate.

Bien que cliniquement prouvé, les produits probiotiques peuvent se révéler efficaces chez certains individus mais inefficaces chez d'autres.

Il serait donc intéressant d'établir un profil probiotique en fonction de la dysbiose chez chaque individu.

❖ Les effets indésirables

Même si les probiotiques présentent une bonne sécurité d'emploi, des effets indésirables potentiels existent. Certaines situations contre-indiquent leur emploi.

Plusieurs effets indésirables peuvent être envisagés :

a) Les infections

Les souches utilisées ne sont pas sélectionnées parmi les bactéries pathogènes, le risque d'infection est relativement bas. Cependant de rares cas d'infections locales ou systémiques incluant des bactériémies ou des endocardites, dues aux lactobacilles ou bifidobactéries ont été rapportés. Voici quelques exemples.

-Une femme âgée de 74 ans et atteinte d'un DT2 suivant une supplémentation en *Lactobacillus rhamnosus* pendant 4 mois a développé une bactériémie à lactobacilles [33].

-Un homme âgé de 67 ans est supplémenté en un mélange de probiotiques (*Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* et *Streptococcus faecalis*) et de 3g d'amoxicilline avant une extraction dentaire. Il a développé après une endocardite à *Lactobacillus rhamnosus* [33]. Cependant ces cas sont très rares et la plupart du temps il existe des conditions sous-jacentes de nature grave. D'ailleurs des études de sûreté sur les lactobacilles et les bifidobactéries ont été réalisées sur des populations plus à risques.

-Plusieurs études montrent que la consommation de lactobacilles et de bifidobactéries chez des immunodéprimés n'augmente pas le risque de développer des infections opportunistes [33].

-Une étude sur les enfants âgés de 3 à 24 mois consommant du lait enrichie en *Bifidobacterium lactis* (1.10^6 CFU) et *Streptococcus thermophilus* (1.10^6 CFU) montre une bonne tolérance et sûreté des probiotiques. Une autre étude montre que la supplémentation des enfants en *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* F19 ne module pas la composition du corps, la croissance, ni les marqueurs métaboliques évalués à l'âge scolaire. D'autres études sur les lactobacilles et bifidobactéries confirment ces résultats et donc la sûreté des probiotiques [33].

On estime ainsi que le risque d'infection par les probiotiques d'origine bactérienne est similaire au risque d'infection par la flore commensale.

Par ailleurs on utilise aussi des probiotiques d'origine fongique. La sûreté de ces souches est établie bien qu'on décrive quelques rares cas de fongémies, notamment des fongémies à *Saccharomyces cerevisiae* suite au traitement par *Saccharomyces boulardii* chez des patients immunodéprimés [33].

b) Effets indésirables plus théoriques.

✓ Activités métaboliques délétères ;

Les souches peuvent produire des métabolites (D-lactate, déconjugaison de sels biliaires..) qui causent des problèmes dans la physiologie humaine.

Ces souches ne doivent pas être utilisées, c'est pourquoi l'activité métabolique fait partie des critères de sélection des souches.

✓ Immunomodulation excessive ;

Les souches probiotiques peuvent jouer un rôle d'immunomodulation est ainsi diminuer les médiateurs de l'inflammation, ou encore diminuer des réactions immunitaires excessives comme par exemple dans les allergies alimentaires. Cependant à l'inverse cette immunomodulation peut être excessive et diminuer ainsi les défenses de l'organisme contre des pathogènes.

✓ Transfert de gènes :

Le risque de transfert de gènes entre souches bactériennes est à prendre en compte. En effet prenons l'exemple des lactobacilles qui sont naturellement résistantes à la vancomycine. En supplémentant par des lactobacilles, bien que la localisation du gène de résistance est difficilement transférable, on a toujours un risque de transfert du gène de résistance à d'autres souches habituellement sensibles à la vancomycine. Il en est de même pour les autres souches probiotiques et d'autres gènes de résistance.

Ainsi pour palier à ce risque les souches probiotiques devront toujours être sensibles à au moins deux antibiotiques majeurs.

Ces effets indésirables existent potentiellement mais sont maîtrisés par une sélection stricte des souches et une surveillance des souches probiotiques.

c) Effets indésirables gastro-intestinaux.

Chez les personnes sensibles, il est possible de retrouver des effets secondaires minimes aux probiotiques comme des gaz intestinaux ou des ballonnements.

En résumé l'utilisation des probiotiques est sûre au vue du nombre d'études réalisées sur tous types de populations (jeunes, âgées, immunodéprimées...) et de l'utilisation ancestrale de la plupart des souches. Il existera toujours des risques potentiels ainsi que des risques infectieux qui devront être surveillés que ce soit pour les souches anciennes mais aussi et surtout pour les nouvelles souches. De plus les souches utilisées devront toujours être sensibles à au moins deux antibiotiques majeurs. Enfin pour les personnes à risque élevé d'infections (immunodéprimés, comorbidités graves...) il faudra prendre des précautions dans l'utilisation de ces probiotiques, voir déconseiller les probiotiques par principe de précaution.

e. Perspectives

❖ Les microorganismes génétiquement modifiés (MGM) :

Les progrès de la génétique ont rendu possible l'insertion de gènes d'intérêts dans des probiotiques, notamment des bactéries lactiques. Les applications peuvent être d'améliorer les propriétés technologiques et/ou les effets physiologiques des souches. Les probiotiques peuvent dans ce cas véhiculer des activités biologiques nouvelles dans l'intestin (voire en assurer à ce niveau une synthèse et une libération régulière). Par exemple, le MGM vivant serait consommé par l'homme via des préparations alimentaires et pourrait ainsi sécréter dans le tractus digestif des enzymes ou des médiateurs (peptides immunomodulateurs : Il-10...) pouvant jouer un rôle bénéfique en préventif ou en curatif sur la Santé humaine

Ceci suscite l'intérêt des chercheurs mais l'acceptation du public et des autorités pour de tels produits dans l'avenir est encore incertaine. De plus cette approche nécessite la consommation de bactéries vivantes, certaines exprimant des protéines d'eucaryotes, des études bénéfiques/risques doivent être mises en place [11].

❖ Mélange théorique thérapeutique ciblée

A l'avenir il serait intéressant de pouvoir établir un mélange précis en fonction du profil bactérien de la personne.

❖ Développement des aliments probiotiques.

Il pourrait être intéressant de développer des aliments probiotiques dans certains déséquilibres du microbiote intestinal, cette alimentation deviendrait alors un aliment santé.

Une étude teste la consommation d'artichauts enrichis de *Lactobacillus paracasei* à la dose de 20 milliards de cfu par jour pendant 15 jours chez 8 volontaires. Au bout des 15 jours, on observe une colonisation de la flore intestinale par le probiotique. On ne retrouve pas de changement significatif au niveau de la composition de la flore intestinale, par contre on a une augmentation de la production d'acides valérique et butyrique et une diminution d'acide lactique. Au niveau des symptômes, on a une réduction de la distension abdominale et du sentiment d'évacuation incomplète [1]. Cette étude n'est pas significative mais elle montre une nouvelle approche dans le traitement de la constipation par ingestion de légumes probiotiques, agissant alors comme un synbiotique, pour améliorer ce désordre commun.

Conclusion

Il est maintenant avéré que le déséquilibre de la flore intestinale est impliqué dans de nombreuses pathologies, que ce soit dans l'induction ou le maintien de la pathologie. Par ailleurs d'autres facteurs influent sur l'équilibre de la flore intestinale comme les médicaments et l'alimentation. Ces découvertes laissent alors envisager une voie thérapeutique possible qui permettrait de rééquilibrer la flore intestinale. C'est ainsi qu'au fil des années l'utilisation de souches bactériennes ou de levures s'est développée et à pris le nom de probiotiques à savoir des « microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont administrés en quantité suffisante, exerce des effets bénéfiques pour la Santé de l'hôte ».

A l'heure actuelle il existe un grand nombre de spécialités contenant des probiotiques que ce soit des médicaments, des compléments alimentaires ou encore des aliments fonctionnels qui suivent chacun une réglementation stricte en fonction de leur statut mais aussi en ce qui concerne les allégations de santé, l'étiquetage ou encore le choix des souches (critères de sécurité, fonctionnels et technologiques). Ainsi, une fois consommés, les probiotiques se retrouvent au niveau de l'intestin pour exercer leurs effets. De nombreuses études cliniques (randomisées en double aveugle contre placebo) ont été réalisées et montrent l'efficacité potentielle des probiotiques dans différents domaines thérapeutiques.

-Prévention des effets indésirables sous traitement antibiotique

L'utilisation préventive des probiotiques notamment LGG et *S.bouardii* montrent de bons résultats dans la diminution de l'incidence des AAD chez les adultes, les patients hospitalisés et encore plus chez les enfants au cours d'un traitement antibiotique.

-Traitement de la diarrhée aiguë

En cas de diarrhée aiguë, les probiotiques comme *S.bouardii* et LGG permettent de diminuer la durée de la diarrhée, de diminuer les prises médicamenteuses mais aussi pour LGG améliorer l'immunité acquise contre le rotavirus par exemple. Ils peuvent être utilisés en traitement de première intention en complément de la réhydratation chez les adultes ou les enfants.

-Traitement de la constipation

Les probiotiques (*L.casei*, *B.lactis*...) et les synbiotiques (LACTOFOS...) peuvent être utilisés seuls ou en association avec les médicaments dans la prise en charge de la constipation notamment pour améliorer la fréquence et la consistance des selles et diminuer la sévérité de la constipation en complément des mesures hygiéno-diététiques.

-Traitement préventif et/ou curatif des allergies

Les probiotiques principalement les *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* peuvent être utilisés dès le plus jeune âge afin de faciliter la maturation du système immunitaire et notamment de la tolérance immunitaire en prévention primaire des pathologies allergiques (allergies alimentaires, atopie) mais aussi de rétablir cette tolérance immunitaire en curatif. Cependant des études approfondies sont nécessaires pour vérifier l'efficacité et la sûreté au long terme et développer la supplémentation à d'autres types d'allergies.

-Traitement adjuvant de la colopathie fonctionnelle

L'utilisation des probiotiques (*S.faecium*, *L.acidophilus*, *E.coli*, *B.infantis*, *S.bouardii*...) ou mélange de probiotiques (*Lactobacillus* et *Bifidobacterium*) montrent globalement une amélioration des symptômes de l'IBS, de la douleur abdominale, du score de ballonnements et du score de flatulences. Ces effets sont cependant variables et spécifiques en fonction du probiotique (ou mélange de probiotiques) utilisé et du sous type d'IBS. Les probiotiques sont une option thérapeutique intéressante seuls ou en association avec des traitements médicamenteux.

-Traitement adjuvant des maladies inflammatoires ;

L'utilisation des probiotiques ou synbiotiques ne montrent aucun bénéfice significatif dans le traitement de la MC. Par contre les études sur la RCH indiquent un intérêt de l'utilisation d'agents probiotiques (VSL#3, BFM, BTV...) ou encore mieux de synbiotiques (B.breve + galactooligosaccharides (GOS)...) dans le traitement d'induction et/ou le traitement d'entretien de la maladie en association ou non aux thérapeutiques standards. Enfin, chez les patients atteints de pouchites, l'utilisation du VSL#3 apparaît être une option thérapeutique évidente dans le maintien de la rémission.

-Traitement adjuvant d'une chirurgie intestinale ;

Les probiotiques (*L.plantarum*+*L.acidophilus*+*B.longum*...) et synbiotiques (*L.casei*+*B.breve*+GOS...) peuvent être une thérapeutique intéressante en post opératoire de chirurgie digestive pour diminuer les complications infectieuses.

-Traitement adjuvant de l'obésité ;

Certains probiotiques (*L.acidophilus*+*L.casei*+*Bifidobacterium* BB12...) et synbiotiques (*L.rhamnosus*+oligofructose+inuline...) sont une thérapeutique à considérer dans l'aide à la perte de poids mais aussi dans la diminution des facteurs de risques chez les obèses et dans la diminution de la micro-inflammation.

-Traitement adjuvant du diabète de type 2 ;

Les probiotiques (*L.acidophilus*+*B.lactis*...) et les synbiotiques (*L.acidophilus*+*B.bifidum*+oligofructose...) pourraient apporter un bénéfice dans la diminution de la glycémie à jeun, de l'HbA1c, des facteurs de risques cardiovasculaires (Cholestérol, Triglycérides..) et du stress oxydatif.

-Traitement adjuvant de la NAFLD ;

Les probiotiques (VSL#3...) et synbiotiques (*B.longum*+FOS...) montrent de bons résultats surtout dans la diminution des paramètres biologiques du foie (transaminases..), de la stéatose et de l'inflammation.

-Traitement préventif et/ou curatif des URTIs ;

Les probiotiques commencent à être de plus en plus étudiés chez les enfants, adultes et personnes âgées dans les URTIs. Quelques-uns utilisés seuls (LGG, *Lactobacillus casei*...) ou en association (LGG et *Bifidobacterium lactis*...) montrent un potentiel pour diminuer le risque d'incidence des URTIs mais aussi diminuer la durée et la sévérité des symptômes en cas d'épisode d'URTI. Ces résultats sont prometteurs mais demandent d'autres études pour confirmer les effets positifs des probiotiques dans les URTIs.

-Prévention chez les personnes âgées ;

Les résultats actuels ne montrent pas d'effet positif assez significatif pour compléter les personnes âgées en probiotiques de manière préventive. Cependant de nouvelles études sont à réaliser pour confirmer les observations d'amélioration de la stimulation du système immunitaire et de l'état inflammatoire et envisager les probiotiques en supplémentation préventive.

Les différentes études réalisées montrent que les probiotiques exercent différentes actions que se soit sur la flore intestinale elle-même, sur l'intégrité de la barrière intestinale et sur le système immunitaire intestinale. Il est aussi admis que l'effet probiotique persiste uniquement le temps de la période de consommation du probiotique. Les souches bactériennes de lactobacilles et de bifidobactéries, le mélange VSL#3 et les levures de *Saccharomyces boulardii* et *Saccharomyces cerevisiae* sont les plus utilisées et celles qui montrent le plus d'efficacité. De plus des synbiotiques (mélanges de probiotiques et de prébiotiques) sont souvent utilisés et ont tendance à montrer une efficacité supérieure par rapport à l'utilisation des probiotiques seuls. Cependant il existe un certain nombre de limites à ces études comme la difficulté de transposition à l'homme, l'absence de généralisation et la réponse individuelle. De plus beaucoup d'études comportent des biais et sont réalisées sur une durée trop courte ou

un échantillon trop petit. Mais ces études permettent quand même d'apporter des découvertes intéressantes qui sont à approfondir et surtout montre une innocuité quand à l'utilisation des probiotiques.

A l'heure actuelle, on peut alors conclure à l'utilité de certains probiotiques (testés dans des études validantes et utilisés dans les mêmes conditions) dans diverses pathologies en traitement préventif ou curatif, seul ou en association avec d'autres thérapeutiques. Pour les autres souches des études complémentaires plus poussées sont nécessaires pour affirmer leur efficacité. L'innocuité est démontrée mais il existe quand même des risques potentiels et théoriques qui nous amène à utiliser les probiotiques avec précaution chez les personnes fragiles (immunodéprimés sévères, comorbidités graves...) mais aussi à surveiller en permanence les souches (bactériovigilance). A l'avenir il pourrait être intéressant de pouvoir réaliser un mélange de probiotiques en fonction du profil bactérien du patient (thérapeutique ciblée).

Par ailleurs, en ce qui concerne le choix des produits sur le marché contenant des probiotiques il est indispensable de sélectionner un laboratoire pouvant justifier d'une véritable expertise dans la sélection des souches, dans la fabrication ainsi que dans l'efficacité à savoir ;

- Une excellente tolérance par l'organisme des souches et un respect des critères de sécurité (Innocuité, souches GRAS...),
- Un respect des critères fonctionnels (Capacité à résister au tractus digestif, à adhérer à la muqueuse intestinale, à exercer des effets bénéfiques sur la Santé...),
- Un respect des critères technologiques (compatibilité des souches, maintien de la concentration et de la qualité des probiotiques tout au long du processus de fabrication et de conservation jusqu'à la date limite d'utilisation, contrôles qualité des lots...)
- Une validation scientifique rigoureuse (études cliniques randomisées en double aveugle contre placebo) justifiant les effets du produit sur la Santé.
- Un suivi des produits après leur commercialisation.

Nous avons vu des utilisations de synbiotiques dans ce chapitre (un mélange de probiotiques et prébiotiques) avec une efficacité supérieure que les probiotiques seuls. Voyons alors plus en détails la deuxième composante de ces synbiotiques : les prébiotiques.

B. Les prébiotiques

a. Généralités

❖ Le concept des prébiotiques : historique et définition.

Gibson et Roberfroid, les fondateurs du concept en 1995, ont défini les probiotiques comme « des ingrédients alimentaires non digestible qui influencent de façon bénéfique l'hôte en stimulant sélectivement la croissance et/ou l'activité d'un ou d'un nombre limité de groupes bactériens dans le côlon et qui améliorent ainsi la santé de l'hôte » [34].

Cependant des effets prébiotiques ont été attribués à des composants alimentaires parfois sans tenir compte des critères requis.

C'est ainsi que près de dix ans après, le concept a évolué et prétendre au statut de prébiotiques doit nécessairement répondre à de strictes conditions. Une démonstration scientifique doit montrer que l'ingrédient suit plusieurs critères ;

-Il doit être non digestible, c'est-à-dire résister à l'acidité gastrique, à l'hydrolyse des enzymes et à l'absorption intestinale.

-Il doit être fermenté par la flore intestinale.

-Il doit stimuler sélectivement la croissance et/ou l'activité de bactéries intestinales associées à la santé et au bien-être (effet bifidogène) [26][34].

Le cas des fibres alimentaires.

Les concepts de fibres alimentaires et prébiotiques se recouvrent partiellement. Les deux types de produits ont en commun leur non digestibilité dans l'intestin grêle, ainsi que leurs effets sur la flore intestinale. La différence majeure entre les deux types de produits est donc la spécificité de l'utilisation des prébiotiques par la flore intestinale, qui favorise la croissance et l'activité de seulement quelques populations bactériennes considérées comme favorables, alors que la fermentation de la majorité des fibres alimentaires est non spécifique et implique la totalité des bactéries dominantes.

❖ Qui sont les prébiotiques ?

La plupart des prébiotiques sont des glucides et principalement des glucides d'origine végétale ou synthétique. D'autres sont d'origine animale ou microbienne. Des protéines ou certains peptides ainsi que des lipides pourraient aussi être des prébiotiques.

Les prébiotiques les plus connus et les mieux caractérisés sont :

-Les fructanes, polymères de fructose, parmi lesquels on trouve l'**inuline**, présente dans plusieurs végétaux (oignons, ail, asperges, artichauts, bananes, certaines céréales...) et généralement extraite des tubercules de chicorée.

-Les **fructo-oligosaccharides** (FOS) produits soit par hydrolyse de l'inuline, soit par biosynthèse à partir de saccharose et fructose.

D'autres oligosaccharides possèdent aussi des propriétés prébiotiques, caractérisés principalement in vitro : les galacto-oligosaccharides (GOS), les trans-galacto-oligosaccharides (TOS), les xylo-oligosaccharides (XOS), les maltodextrines résistantes, le lactulose ...

La gomme acacia (fibre soluble) montre aussi des propriétés prébiotiques in vitro. A ce jour, l'inuline, les FOS et oligofructoses sont les prébiotiques les plus étudiés et documentés. Pour les autres candidats, la démonstration de leur réponse aux critères du concept des prébiotiques n'est pas encore suffisante [11][26].

Figure 45 : Formule de l'inuline

b. Les produits contenant des prébiotiques.

❖ Les différentes formes de présentation, dosages et exemples.

Comme pour les probiotiques, on retrouve des prébiotiques dans trois grandes classes de produits. Soit ils sont des aliments fonctionnels, soit des compléments alimentaires ou soit des médicaments. Les produits peuvent contenir uniquement des prébiotiques mais le plus souvent ils sont associés aux probiotiques créant alors des produits synbiotiques (ou symbiotiques) [26].

Au niveau des doses, il n'y a pas de recommandations particulières. Ainsi on observe le plus souvent des doses entre 4 et 20g par jour bien qu'il existe des doses en dehors de cette tranche.

Il existe un grand nombre de produits contenant des prébiotiques sur le marché. Voici donc un tableau non exhaustif de quelques exemples de produits contenant des prébiotiques ou des synbiotiques, ainsi que leurs statuts, leurs compositions et leurs indications revendiquées.

*Nom de marque *Forme pharmaceutique	Statut législatif du produit	Composition en prébiotiques et/ou probiotiques et dosages	Indications revendiquées
Duphalac Sachets ou solution buvable Prébiotique 	Médicament	Lactulose (disaccharide de synthèse) 10g/15ml	Traitement symptomatique de la constipation. Encéphalopathie hépatique.
Importal Sachets Prébiotique 	Médicament	Lactitol (disaccharide de synthèse) 2,5g/sachet jeunes enfants 5g/sachet enfants 10g/sachet adulte	Traitement symptomatique de la constipation. Encéphalopathie hépatique.

<p>Biofilm (Pileje) Sachets Prébiotiques</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Fibres solubles d'inuline de chicorée 5,4g dont FOS 2,7g</p>	<p>Favorise le bien être digestif, améliore le confort intestinal et optimise le renforcement de la flore intestinale.</p>
<p>Transitbiane (Pileje) Sticks Prébiotiques</p>	<p>Complément alimentaire</p>	<p>6,2g de fibres/stick avec des fibres solubles (FOS, fibres d'acacia et de xanthane) et des fibres insolubles (fibres de soja)</p>	<p>Favorise le transit intestinal.</p>
<p>Perméaline intégral (Pileje) Sachets Prébiotiques et autres (L-glutamine, zinc, vitamine A, thé vert)</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>6,9g de fibres/sachet (inuline de chicorée et dextrine de maïs)</p>	<p>Contribue au fonctionnement normal du système immunitaire.</p>
<p>Léro Flore (Léro) Gélules Symbiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Pour 1 gélule : -FOS 100mg -<i>Bifidobacterium longum</i> (1 milliard d'UFC) -<i>Lactobacillus helveticus</i> (1 milliard d'UFC)</p>	<p>*Après des écarts alimentaires. *Avant et pendant un voyage dans les pays chauds. *En cas de déséquilibre de la flore intestinale.</p>

<p>Ergyprotémyl (Nutergia) Sachets Prébiotique et autres (Argile, chicorée, caroube, curcuma, raisin, camomille).</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Par sachet : Oligosaccharides de pommes et inuline de chicorée. Fibres : 4.4g Dont fibres solubles (2.7g) et fibres insolubles (1.7g) Chicorée 840 mg</p>	<p>En cas d'inconforts digestifs.</p>
<p>Maflor 10M (Ineldéa) Gélules Synbiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Microorganismes dosés à 10 milliards d'UFC par gélules : -<i>Lactobacillus acidophilus</i> -<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>ssp.lactis</i> -<i>Bifidobacterium longum</i> -<i>Bifidobacterium breve</i> -<i>Lactobacillus paracasei</i> -<i>Lactobacillus plantarum</i> -<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Inuline de chicorée 100mg</p>	<p>-Rééquilibre la flore intestinale. -Contribue à la fonction intestinale. -Soutient les défenses naturelles de l'organisme.</p>
<p>Greenfidus (Flamant vert) Sachets Synbiotique</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Inuline : 350 mg <i>Bifidobacterium bifidum</i> 1.6 milliard d'UFC <i>Lactobacillus acidophilus</i> 1.8 milliard d'UFC <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 1.6 milliard d'UFC</p>	<p>Aide à maintenir un bon équilibre de la flore intestinale.</p>

<p>Nutribén (Nutribén) Poudre (Lait pour enfant) Synbiotique et autres</p> 	<p>Complément alimentaire</p>	<p>Galacto-oligosaccharides : 0.4g/100ml Microorganismes</p>	<ul style="list-style-type: none"> -En relais de l'allaitement maternel (dès 6 mois). -En prévention des problèmes intestinaux. -Après les diarrhées aiguës et les gastro-entérites. -Après traitement par des antibiotiques. -Favorise le bon développement de la flore intestinale, du système immunitaire et régule le transit intestinal.
<p>Prébiosoft (Nutrixéal) Gélules Prébiotiques</p> 	<p>Aliment fonctionnel</p>	<p>Fibres d'acacia BIO 100%</p>	<p>Améliore la qualité du transit.</p>

Ce tableau non exhaustif nous montre qu'il existe une multitude de gamme de produits à base de prébiotiques et principalement à base d'inuline ou de FOS. Cependant on remarque que dans la plupart des cas les prébiotiques sont associés aux probiotiques (formant ainsi des synbiotiques) notamment en ce qui concerne les compléments alimentaires. A savoir qu'il existe aussi beaucoup de compléments alimentaires contenant des prébiotiques en plus d'autres composants comme des vitamines, minéraux, oligoéléments, plantes... (Ergyprotémyl, Perméaline intégral...).

Au niveau des indications thérapeutiques, les prébiotiques revendiquent principalement une action sur les fonctions intestinales et/ou sur le système immunitaire selon les produits. **Alors quand est-il de l'efficacité réelle de ces produits sur la flore intestinale ? Comment justifier et valider l'effet de ces produits ? Quelle réglementation pour ces produits ? Quels produits choisir ?**

❖ Réglementation des produits à base de prébiotiques.

Les produits à base de prébiotiques suivent la même réglementation que ceux à base de probiotiques en fonction de leur statut aliment fonctionnel, complément alimentaire ou médicament. Il en est de même en ce qui concerne l'étiquetage (substance prébiotique et dosage) et les allégations Santé. On peut toutefois ajouter une exigence spécifique aux prébiotiques dans la justification/validation des allégations, à savoir, la démonstration d'un effet bifidogène impose une mesure valide des bifidobactéries et un test statistique. Beaucoup de produits prébiotiques consistent en des mélanges de composés chimiques différents, aussi est-il impossible d'extrapoler le résultat d'études cliniques réalisées avec un prébiotique à un autre afin d'obtenir des allégations. La démonstration de l'effet bifidogène ne pourra pas reposer sur l'utilisation des index prébiotiques, basés sur la notion de «bonne » et «mauvaise» flores [11].

❖ Sélection des prébiotiques

a) Structure des prébiotiques

La définition des prébiotiques nécessite les caractères « non digestible », « fermentescible » et « bifidogène » mais n'impose aucune caractéristique chimique.

Or l'incidence de la structure chimique sur la fonctionnalité des prébiotiques prend tout son sens quand on considère que les produits prébiotiques correspondent pour la plupart à des familles de composés plutôt qu'à des composés biochimiques clairement définis. L'appartenance à une même famille (par exemple les fructanes) est conditionnée par la similarité de nature chimique des monomères constitutifs, et la disparité au sein de la famille résulte de différences de degrés de polymérisation et/ou de types de liaisons osidiques. Les seules exceptions sont le lactulose et le tagatose.

Voici un tableau non exhaustif de différents prébiotiques **avérés** et supposés ainsi que leurs caractéristiques biochimiques et leur procédé d'obtention [11].

Substance	Composition	Degré de polymérisation	Procédé d'obtention
Fructanes	Glucose, fructose		
*Linéaires :			
-Inuline	Liaison β -2,1	10 à 60	Extraction
-FOS	Liaison β -2,1	2 à 9	Hydrolyse enzymatique
-Levanes	Liaison β -2,6	20 à 30	Biosynthèse enzymatique
*Branchés			
-Graminanes	Liaison β -2,1 et Liaison β -2,6		Biosynthèse enzymatique
Lactulose	Galactose, fructose Liaison β -1,4	2	Synthèse chimique
TOS : Oligo-trans-galactosides	Glucose, galactose Liaison β -1,6	2 à 5	Biosynthèse enzymatique
XOS : Oligoxylosides	Xylose Liaison β -1,4	2 à 9	Hydrolyse enzymatique
Amidons résistants	Glucose Liaison α -1,4 et Liaison α -1,6	>1000	Extraction

La disparité biochimique des prébiotiques trouve son origine dans la diversité naturelle, la coexistence de composés naturels et de composés de synthèse et dans les procédés technologiques post production. La famille des fructanes illustre cette hétérogénéité des structures chimiques regroupées sous une même appellation.

En ce qui concerne les effets des prébiotiques sur la flore intestinale, on remarque par exemple pour la famille des fructanes que la structure chimique interfère souvent avec leurs propriétés fonctionnelles, ce qui suggère qu'il en est de même pour les autres prébiotiques.

Ces observations nous amènent à conclure sur différents points :

-Les caractéristiques chimiques des prébiotiques utilisés doivent être communiquées précisément dans les dossiers, car une même appellation (famille des fructanes) cache souvent une extrême variabilité de structures chimiques.

-Considérant les différences d'effet physiologique observées entre des prébiotiques de même famille, la démonstration d'un effet pour un composé ne peut pas être extrapolée à un autre composé, même si ce dernier appartient à la même famille de prébiotiques.

-Les études in vitro visant à simuler une situation in vivo doivent tenir compte de l'éventuelle absorption dans l'intestin grêle d'une partie des produits testés. En d'autres termes, si un produit alimentaire contient des nutriments absorbables et un prébiotique, seul ce dernier doit être utilisé dans les simulations in vitro des effets sur la flore [11].

b) Validation d'un effet bifidogène

Un effet bifidogène se définit indépendamment d'un effet santé. On peut le définir comme l'augmentation du niveau de population et/ou de l'activité des bifidobactéries totales.

Les paramètres à considérer pour évaluer la validité d'un effet bifidogène sont à rattacher au choix du modèle expérimental, au protocole d'étude, à la méthode de dénombrement des bifidobactéries et à l'intensité et la spécificité de l'effet observé [11].

✓ Les modèles expérimentaux in vitro et in vivo ;

Malgré leur intérêt pour identifier un potentiel et/ou comparer plusieurs substances, ces modèles ne confèrent pas un niveau de preuve suffisant d'une capacité bifidogène pouvant s'exprimer chez l'homme. La démonstration définitive d'un effet bifidogène requiert donc la mise en œuvre d'études chez l'homme [11].

✓ Protocole des études chez l'homme ;

***Nature du prébiotique** : La plupart des études sont consacrées aux fructanes (Inuline, FOS...) mais aussi aux galactosides, au lactulose ainsi que d'autres substrats plus spécifiques. Il est important de préciser la nature exacte du prébiotique utilisé (famille, structure chimique, procédé d'obtention...).

***Quantité du prébiotique** : La dose journalière de prébiotique doit être précisée. Elle est généralement comprise entre 2,5 et 15g. Des doses supérieures ont cependant déjà été testées dans le cas des fructanes.

***Durée de la supplémentation** : La durée est variable et peut aller de quelques jours à plusieurs mois permettant alors l'observation des effets à court terme mais aussi au long terme.

***Nombre de volontaire** : Il doit être suffisant pour répondre à la question posée.

***Caractéristiques des volontaires** : Il est important de bien définir ces caractéristiques comme l'âge, la présence ou l'absence de pathologies, la présence ou l'absence de traitements, l'alimentation ... Les volontaires doivent tous suivre les mêmes caractéristiques.

***Type de protocole** : l'étude doit être menée en double aveugle contre placebo pour être validée.

***Régime** : Le régime alimentaire consommé par les sujets au cours de l'étude doit être contrôlé. Certains aliments pourront être bannis comme les sources de fructanes (salsifis,

oignons, asperges, poireaux, banane...), les produits fermentés (laits fermentés...). En effet il ne faut pas que l'alimentation interfère dans la validation de l'effet du prébiotique.

***Placebo :** Il n'y a pas de recommandation particulière dans le choix du placebo, mais il est important d'utiliser une substance digestible comme le saccharose par exemple qui est exceptionnellement indigestible. La nature digestible du placebo permet de décrire la spécificité de l'effet bifidogène du prébiotique testé.

En conclusion le meilleur protocole est une étude randomisée, menée en double aveugle sur un nombre suffisant d'individus incluant un contrôle du régime alimentaire et un placebo adaptés [11].

Actuellement, sur le marché, il existe un grand nombre de produits contenant des prébiotiques et dans la plupart des cas combinés avec des probiotiques ou encore avec des vitamines, minéraux, oligoéléments... Ces produits existent sous différentes formes de présentation et comme dans le cas des probiotiques suivent une réglementation stricte notamment en ce qui concerne les allégations de Santé. Ces produits doivent aussi respecter un certain nombre de critères pour garantir leur qualité et leur action sur la flore intestinale. Une fois ingéré, les prébiotiques se retrouvent alors au niveau de l'intestin pour exercer leurs actions sur la flore intestinale. Mais quand est-il de l'efficacité réelle des prébiotiques en préventif et/ou en curatif ?

c. Champs d'applications des prébiotiques et effets sur la flore intestinale et sur la Santé.

Dans le chapitre précédent nous avons pu étudier l'effet combiné des probiotiques et des prébiotiques (symbiotiques) et leurs champs d'applications. Quand est-il de l'utilisation des prébiotiques seuls ?

❖ Effets des prébiotiques

a) Modification de la composition de la flore intestinale

La consommation de prébiotiques induit des modifications au niveau de la flore intestinale, voyons quelques exemples de ces modifications.

*Une étude sur une alimentation supplémentaire en galactooligosaccharides (GOS) en posologie croissante (0, 2.5g, 5g, 10g) pendant 16 semaines chez 18 adultes sains. Aux doses inférieures à 5g, on ne remarque pas de changement significatif. A la dose de 5g de GOS par jour, on observe une augmentation des bifidobactéries (principalement de l'espèce *bifidum*) mais on a aussi une abondance de l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* ainsi qu'une diminution des Bactéroidacées et des *Bacteroides*. A la dose de 10g de GOS par jour, on remarque une augmentation des Actinobactéries, des bifidobactéries (espèce *bifidum*), ces derniers à un taux plus élevé qu'à la dose de 5g/jour de GOS. Par ailleurs on remarque aussi une diminution des Bactéroidacées et des *Bacteroides*. Cependant ces résultats présentent des variabilités d'un sujet à l'autre dû probablement à l'absence ou la diminution de bactéries pouvant fermenter les GOS chez certains sujets. Les GOS ont la faculté de stimuler remarquablement et sélectivement la croissance des bactéries intestinales principalement les bifidobactéries (espèce *bifidum*) avec un effet dose dépendant [1].

*Des sujets sains âgés entre 18 et 60 ans sont supplémentés par 7g/j de GOS soit contenant une β -galactosidase industrielle soit une β -galactosidase provenant d'une souche de *B.bifidum*. On remarque alors une augmentation plus importante des bifidobactéries avec les GOS contenant une β -galactosidase provenant d'une souche de *B.bifidum* [35].

*L'ingestion de lactose à doses comprise entre 20 et 40g par jour entraîne une diminution en lactobacilles et *Clostridium* et une augmentation en entérocoques chez des personnes âgées [3].

*L'ingestion d'inuline à doses comprises entre 20 et 40g par jour entraîne une augmentation en bifidobactéries et une diminution des entérocoques et entérobactéries chez des personnes âgées [3].

*Les FOS à raison de 8g par jour chez des sujets âgés entraîne une augmentation des bifidobactéries [3].

*Une étude réalisée in vitro et in vivo montre qu'un mélange de GOS (produit par l'activité de galactosyltransférase de *B.bifidum* NCIMB41171) possède une action préventive contre l'adhésion et l'invasion de *Salmonella typhimurium* au niveau des entérocytes [35].

Ces quelques exemples nous montrent la capacité des prébiotiques à stimuler sélectivement la croissance de certaines familles de bactéries notamment les bifidobactéries et par conséquent diminuer les taux d'autres familles de bactéries. La modification bactérienne est dépendante du prébiotique et de sa dose.

b) Modifications du transit intestinal

De part sa nature, sa structure et son effet fibre, les prébiotiques ont une action sur le transit intestinal. Voyons quelques exemples.

*La consommation d'un sirop enrichie en FOS (0.14g/kg/jour) pendant 4 mois chez 35 femmes de 31 à 49 ans atteintes d'obésité, de dyslipidémies et de constipation entraîne une amélioration de la fréquence des selles [36].

*Les NOS (oligosaccharides non digestible) augmentent chez l'adulte le poids des selles, variable positivement corrélée à la vitesse du transit. Cet effet dont l'intensité (pouvant conduire à un effet laxatif) dépend de la dose ingérée et du degré de polymérisation de l'oligoside, relève de plusieurs mécanismes ;

-Le pouvoir osmotique (limité, à faibles doses, par la fermentation de NOS).

-L'augmentation de la biomasse bactérienne

-Stimulation de la motricité colique par les produits finaux de la fermentation des NOS comme les acides gras à chaînes courtes (stimulent à faibles concentration, inhibent à fortes concentration, et augmentent l'absorption colique d'eau et de sodium).

L'augmentation du poids des selles par le NOS est utilisé en thérapeutique avec le lactulose ou le lactitol (effet osmotique). L'effet gazogène a été suggéré comme possible facteur déclenchant de l'accélération du transit que peuvent induire les prébiotiques.

Les prébiotiques ont un effet gazogène, augmentent le poids des selles et peuvent avoir à fortes doses un effet diarrhéogène. Il est donc important de ne pas consommer en même temps plusieurs produits contenant des prébiotiques.

c) Modifications des paramètres biologiques et métaboliques

L'ingestion de prébiotiques peut entraîner des modifications dans les paramètres biologiques et métaboliques soit directement soit indirectement par la modification de la flore intestinale et de ces produits de sécrétions. Voyons quelques exemples.

*Dans une étude, des volontaires sains sont supplémentés en arabinoxylyanes-oligosaccharides (AXOS) contenu dans un pain à raison de 2.2g d'AXOS par jour. On remarque une augmentation significative des bactéries totales et principalement des bifidobactéries. On observe alors une augmentation de la production de SCFAs (butyrate, propionate, acétate), une légère tendance à la diminution d'iso-valérate et d'acides gras issus de la fermentation

protéique et une augmentation des populations de bifidobactéries. De plus aucun effet néfaste n'a été observé montrant la bonne tolérance d'AXOS [3].

*La consommation d'un cookie enrichie en inuline à raison de 3.1g par jour d'inuline chez des adultes obèses montre aussi une diminution du cholestérol total et du LDL cholestérol [33].

*Le mélange inuline + oligofructosides stimule significativement, par comparaison aux seuls oligofructosides, l'absorption du calcium chez des adolescents. Le lactose stimule aussi l'absorption colique du calcium surtout chez l'adulte hypolactasique. L'administration de Fos pendant 5 semaines chez des femmes ménopausées montre une augmentation de l'absorption du magnésium par les FOS de 11%. Cependant à noter qu'on observe chez ses femmes une augmentation de l'excrétion urinaire du magnésium.

Un effet stimulant des prébiotiques, notamment l'inuline et le FOS, sur l'absorption colique du calcium et du magnésium à la faveur de l'abaissement du pH colique et de la production d'acides gras à chaînes courtes est probable mais son impact dans des situations de carence en l'un et/ou l'autre de ces cations reste à démontrer chez l'homme.

d) Modifications immunologiques

Par son effet sur la flore intestinale, la consommation de prébiotiques peut entraîner des modifications immunologiques.

*La consommation de FOS à la dose de 15g par jour au niveau immunologique une augmentation de l'Il-10 et une diminution de l'Il-6 par les cellules dendritiques [31].

*Des oligosaccharides à raison de 1.3g par jour montrent une diminution des paramètres inflammatoires (TNF α , Il-6, CD14...) [3].

*La consommation de B-GOS chez des sujets âgés sains entraîne une augmentation de la phagocytose, de l'activité des cellules NK, de la production de cytokines anti-inflammatoires (Il-10) et une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires (Il-6, Il-1 β , TNF α) [35]. La consommation de B-GOS permet une augmentation de la sécrétion d'IgA chez des adultes en surpoids [35].

Les prébiotiques, une fois arrivés dans l'intestin, exercent leurs actions bénéfiques directement et/ou indirectement par leur effet sur la flore intestinale. Ils sont alors capables d'entraîner des modifications de la flore intestinale, des modifications du transit intestinal, des modifications des paramètres biologiques et métaboliques ainsi que des modifications immunologiques. Ces modifications peuvent ainsi contribuer au maintien de la Santé de l'homme. Nous allons donc voir divers études sur l'utilisation des prébiotiques en préventif et/ou en curatif dans divers pathologies et nous allons observer si ils présentent un réel bénéfice sur la Santé.

❖ Les traitements antibiotiques

La recherche des effets positifs d'une supplémentation en prébiotique lors d'un traitement antibiotique est très récent mais voyons une étude très intéressante.

*Cette étude réalisée in vitro explore la supplémentation prébiotique dans le but de diminuer les effets indésirables des traitements antibiotiques sur la diversité et la fonction de la flore intestinale. La perturbation de la flore est réalisée par l'ampicilline (action sur les bactéries Gram – et Gram + par contre résistance des *Bacteroides* grâce aux β -lactamases) et la gentamicine (action sur les Gram – par contre résistance de beaucoup de *Bacteroides* et de *Bifidobacterium*). La supplémentation est faite par la pectine (polysaccharide complexe a effet fibre) ou par inuline (effet prébiotique). Les tests sont réalisés sur des prélèvements de selles de volontaires sains. Les antibiotiques et les prébiotiques (pectine et inuline) interagissent

dans leurs effets sur la composition et les fonctions métaboliques des communautés fécales. Dans certains cas les prébiotiques restaurent la croissance et/ou les fonctions métaboliques réduites par les antibiotiques, dans d'autres cas l'antibiotique supprime les effets bénéfiques des prébiotiques. Par exemple la pectine et l'inuline diminuent respectivement les effets indésirables de la gentamicine et de l'ampicilline sur les *Bacteroides* après 10 heures ; Les deux diminuent les effets négatifs sur les *Bacteroides* de l'ampicilline après 30 heures ; Les effets positifs des prébiotiques sont supprimés par les antibiotiques sur les *Bifidobacterium* ; Les prébiotiques augmentent la production d'acétate lors du traitement par ampicilline, par contre ils n'ont pas cet effet lors du traitement par gentamicine. Cette étude bien que in vitro suggère un rôle potentiel des prébiotiques notamment l'inuline dans la restauration des fonctions métaboliques et de la composition de la flore bactérienne pendant et après un traitement antibiotique [37].

Les prébiotiques ne sont qu'en cours de développement pour l'utilisation lors de traitements antibiotiques. Cependant les études in vitro montrent des résultats prometteurs des prébiotiques dans la protection de la flore intestinale et de ses fonctions lors de traitements antibiotiques. Des recherches plus approfondies et des études cliniques sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

❖ Les pathologies intestinales

a) Les gastroentérites aiguës (GEA)

Ici encore l'utilisation des prébiotiques est récente dans ce domaine mais analysons une étude clinique très intéressante chez les adultes et les enfants atteints de GEA.

Un nouveau prébiotique Aliva® (polyphénol) est administré en une dose unique chez des enfants et adultes atteints de GEA légère à modérément sévère et non parasitaire. Ces patients ne prennent aucun traitement médicamenteux pour la GEA (anti-émétique, anti-acide, anti-diarhée, anti-flatulent, antibiotique, analgésique). On observe alors une diminution de la durée de la GEA avec une dernière selle non moulée en moyenne dans le groupe prébiotique à 1h50 après la prise d'Aliva par rapport à 67h50 avec le placebo et 18h30 dans une étude avec du loperamide. Au niveau des symptômes (chez les enfants >14ans), on a des gastralgies et un inconfort intestinal chez 142/146 patients qui s'améliorent nettement au bout de 90 min postdose dans le groupe Aliva®. On a aussi des gaz et ballonnements chez 114/146 patients qui diminuent significativement à 2h postdose dans le groupe Aliva®. Par ailleurs on observe une très bonne tolérance au prébiotique. Cette étude montre un effet significatif positif dans la réduction de la durée et de la sévérité des symptômes chez les adultes et les enfants atteints de GEA [38].

Les études ne sont pas encore nombreuses sur l'utilisation de prébiotiques lors de GEA mais cette étude montre déjà une piste prometteuse de leurs utilisations en traitement curatif des GEA en complément d'une solution de réhydratation orale. Des études complémentaires sont à réaliser pour conforter ces résultats.

b) La colopathie fonctionnelle (IBS) et la constipation

Examinons quelques études sur l'utilisation des prébiotiques ou synbiotiques lors d'IBS et/ou de constipation.

*Des B-GOS sont administrés chez des patients IBS pendant 12 semaines à la dose de 5,5g/j ou de 7g/j. On remarque alors dans les deux groupes prébiotiques une augmentation des bifidobactéries par rapport au placebo. Dans le groupe à 5,5g/j on a aussi une amélioration de la consistance des selles, des flatulences, des ballonnements et du score subjectif de ressenti par le patient (SGA). A la dose de 7g/j on a une amélioration du SGA et du score d'anxiété. Les B-GOS montrent une influence positive sur les bifidobactéries chez les IBS et semblent améliorer les symptômes [35].

*Une étude est réalisée sur 68 femmes constipées (moins de 3 selles par semaine) pendant 3 semaines. On leur administre chaque jour 15g d'un mélange de prébiotiques IPHGG (inuline et gomme guar partiellement hydrolysée). On remarque alors une augmentation de la fréquence hebdomadaire des selles dans les deux groupes (prébiotique et placebo). Par contre on a une augmentation des *Clostridium* dans le groupe placebo et une diminution dans le groupe prébiotique. Ce mélange de prébiotiques n'a pas d'effet clinique significatif chez les femmes constipées, par contre il permet une protection bénéfique de la flore intestinale contre les bactéries pathogènes comme *Clostridium* [30].

*Une étude utilise un synbiotique (composition pour 100 ml : *L.acidophilus* ($1,25 \cdot 10^6$ CFU), *L.helveticus* ($1,3 \cdot 10^9$ CFU), *Bifidobacterium* ($4,95 \cdot 10^9$ CFU), phyto-extraits) chez 68 patients IBS pendant 12 semaines à raison de 10 ml deux fois par jour. On remarque alors au niveau de la composition bactérienne une augmentation significative des lactobacilles, eubactéries et Bifidobactéries. Cette supplémentation est effective chez 80% des patients dans le groupe probiotique et permet notamment de diminuer la douleur abdominale, les ballonnements et de modifier les habitudes de défécation particulièrement chez les sujets constipés. Quelques effets indésirables sont observés à type de diarrhées mais ils restent rares [30].

*Un synbiotique composé de *B.lactis* (10^9 CFU), *S.thermophilus* ($3 \cdot 10^9$ CFU), *L.acidophilus* (10^9 CFU) et de fibre d'acacia est administré chez 130 patients IBS deux fois par jour pendant 8 semaines. On observe dans le groupe synbiotique une amélioration globale des symptômes et des habitudes de défécation par rapport au groupe placebo. Si on étudie de plus près les sous types, on a une meilleure amélioration des symptômes chez les patients IBS à prédominance de constipation et une meilleure amélioration des habitudes de défécation chez les patients IBS à prédominance de diarrhées [30].

Ces quelques études confirment l'intérêt de l'utilisation des prébiotiques ou synbiotiques lors d'IBS et/ou de constipation. En effet, les prébiotiques ont une action bénéfique sur la composition de la flore intestinale (augmentation des bifidobactéries...), ils permettent par ailleurs de réduire les symptômes (douleur abdominale, ballonnements...), et particulièrement d'améliorer le transit intestinale en cas d'IBS à prédominance de constipation. De manière globale les prébiotiques améliorent la qualité de vie de ces patients et ont une action protectrice sur la flore intestinale. Des études plus approfondies sont à réaliser pour pouvoir inclure les prébiotiques dans la stratégie de prise en charge de ces patients en complément des mesures hygiéno-diététiques et ainsi réduire les prises médicamenteuses au maximum. Il serait intéressant de cibler des mélanges prébiotiques/probiotiques en fonction des profils d'IBS et de constipation

c) Les maladies inflammatoires de l'intestin

✓ Maladie de Crohn

*Une étude réalisée sur 103 sujets montre que la consommation de FOS à la dose de 15g par jour pendant 4 semaines n'a aucun effet clinique bénéfique, ni de modifications bénéfiques de la flore intestinale. Cependant on remarque quand même au niveau immunologique une augmentation de l'Il-10 et une diminution de l'Il-6 par les cellules dendritiques[31].

*Une autre étude utilise le lactulose à 10g par jour comme thérapie adjuvante chez 17 patients atteints de MC pendant 4 mois. On n'observe aucune amélioration significative du CDAI, du score endoscopique ou des paramètres immuno-histochimiques [31].

✓ Rectocolite hémorragique

*Une autre étude utilise le lactulose à 10g par jour comme thérapie adjuvante chez 14 patients atteints d'RCH pendant 4 mois. On n'observe aucune amélioration significative du CDAI, du score endoscopique ou des paramètres immunohistochimiques, cependant on remarque une nette amélioration de la qualité de vie[31].

*Une étude mesure l'efficacité d'un synbiotique comparé au probiotique ou prébiotique seul dans l'amélioration de la qualité de vie des patients RCH. Chaque groupe de 40 patients reçoit soit le probiotique (*Bifidobacterium longum* à la dose de 2.10^9 CFU/jour), soit le prébiotique (psyllium à la dose de 8g par jour) soit le synbiotique (*B.longum* + psyllium) pendant 4 semaines. Deux questionnaires sont ainsi remplis par les patients (IBDQs : questionnaire des maladies inflammatoires de l'intestin) au bout de 2 semaines et au bout de 4 semaines. Les scores individuels améliorés sont alors : dans le groupe probiotique une amélioration de la fonction émotionnelle, dans le groupe prébiotique une amélioration de la fonction intestinale et dans le groupe synbiotique une amélioration des fonctions systémiques et sociales. Par ailleurs la protéine C diminue significativement seulement dans le groupe synbiotique. Aucun effet indésirable n'est observé dans les différents groupes.

Au final on observe de meilleurs changements dans la qualité de vie des patients UC avec l'utilisation des synbiotiques par rapport aux probiotiques ou prébiotiques seuls, ce qui suggère une synergie d'effets des synbiotiques chez les patients RCH [31].

Les études sur l'utilisation des prébiotiques seuls sont assez pauvres dans les maladies inflammatoires. Au niveau de la maladie de Crohn, aucune étude n'est concluante. Au niveau de la rectocolite hémorragique, on peut retrouver une amélioration de la qualité de vie et de la fonction intestinale mais pas d'effet significatif sur le score CDAI ou des paramètres immuno-histochimiques. Cependant on peut encore ici confirmer l'efficacité supérieure des synbiotiques comparé aux probiotiques ou prébiotiques seuls chez les patients RCH. L'utilisation des synbiotiques est donc une voie d'avenir en traitement adjuvant des maladies inflammatoires notamment de la RCH mais pourquoi pas des autres maladies comme la MC. Il faut cependant approfondir les études pour trouver le mélange idéal et confirmer les effets positifs.

❖ Les pathologies métaboliques et extra-intestinales

a) Les allergies

Une étude est réalisée sur 414 enfants en bonne santé de 5 pays européens pendant 8 semaines. Ils ingèrent chaque jour un mélange spécifique d'oligosaccharides. On observe alors à leur premier anniversaire, 5.7% d'enfants atopiques dans le groupe prébiotique contre 9.7 dans le groupe placebo. Globalement on remarque une diminution de 44% du taux de dermatite atopique dans le groupe prébiotique par rapport au groupe placebo. Le mélange d'oligosaccharides peut être intéressant en prévention primaire de la dermatite atopique chez les enfants [25].

Une autre étude est réalisée chez des nourrissons avec un historique parental d'allergie. On leur administre un mélange de prébiotiques (GOS à courtes chaînes et FOS à longues chaînes) au cours des 6 premiers mois de la vie. On observe alors une diminution de l'incidence des manifestations allergiques. La fréquence est ainsi diminuée par rapport au groupe placebo pour la dermatite atopique (13.6% contre 27.9%) pour les récurrences de bronchites (7.6% contre 20.6%) et pour l'urticaire allergique (1.5% contre 10.3%). Par ailleurs on a une diminution des URTIs, de la prescription d'antibiotique et des états fébriles [32]. Des GOS et FOS on aussi montré dans une autre étude une diminution de l'incidence de dermatite atopique chez des enfants à haut risque d'allergie (9.8% contre 23.1% dans le groupe placebo) ainsi que des taux de bifidobactéries fécales plus élevés. Les prébiotiques semblent moduler le développement immunitaire postnatal via une modification de la flore intestinale [39]. Les prébiotiques semblent avoir un rôle potentiel en prévention primaire des allergies.

Les études sont moins nombreuses sur l'utilisation des prébiotiques dans les allergies mais ces résultats ouvrent une piste envisageable d'une supplémentation en prébiotiques en prévention primaire des allergies. Mais des recherches approfondies sont nécessaires.

b) Obésité et diabète

Les études sur l'utilisation des prébiotiques ou synbiotiques dans l'obésité et le diabète sont assez nombreuses. Voyons quelques résultats.

*Une étude est réalisée sur 44 femmes obèses âgées entre 18 et 65 ans. Ces patientes reçoivent 16g par jour (8g deux fois par jour) d'un mélange d'inuline et d'oligo-fructose (50/50) pendant 3 mois. Au début du traitement quelques patientes se sont plaintes de douleurs abdominales et/ou de flatulences, mais ces symptômes ne sont que passagers dans la plupart des cas. Au niveau de la composition microbienne, on observe une augmentation des Firmicutes (notamment les bacilli et Clostridium clusters IV et XVI) et Actinobactéries et une diminution des Bacteroidetes. On aussi une augmentation de *Bifidobacterium* et *Faecalibacterium prausnitzii*, des Lactobacillus et une diminution de *Bacteroides intestinalis* et *Bacteroides vulgatus* [33]. Cette supplémentation n'entraîne cependant pas de changements significatifs au bout de trois mois au niveau de la glycémie, de l'HbA1c, du taux de cholestérol, de l'IMC et de la CRP. Cependant les changements au niveau de la flore intestinale sont corrélés avec des changements dans les paramètres biologiques à savoir le taux de LPS plasmatique et corrélé négativement avec l'augmentation des Firmicutes, Actinobactéries, *Bifidobacterium* et *Faecalibacterium prausnitzii*. L'augmentation des *Clostridium cluster IV* est corrélée négativement avec les paramètres anthropométriques et l'insulinémie. Par ailleurs les changements dans *Propionibacterium*, *Bacteroides intestinalis* et *Bacteroides vulgatus* (diminution) et

positivement corrélé avec des changements dans la composition du corps et l'homéostasie du glucose [33].

*Des B-GOS sont administrés pendant 12 semaines à raison de 5,5g/j chez des adultes en surpoids. On remarque alors une augmentation des bifidobactéries, une augmentation de la sécrétion d'IgA, ainsi qu'une diminution de la CRP, de l'insuline, des triglycérides et du cholestérol total. Les B-GOS semblent avoir des effets positifs chez les adultes en surpoids notamment sur la santé gastrointestinale, l'immunité, et afin de diminuer les facteurs de risques du syndrome métabolique [35].

Différentes études montrent l'impact d'une supplémentation en prébiotiques sur les paramètres cardiovasculaires.

*La supplémentation en un mélange (acide alpha linoléique + FOS + inuline) à raison de 70g par jour dont 3.1g d'inuline par jour chez des adultes obèses entraîne une diminution du cholestérol total, du LDL cholestérol et de la protéine C réactive [33].

*La consommation d'inuline à raison de 7g par jour pendant 4 semaines chez des jeunes adultes obèses atteints d'hypertriglycéridémie et d'hypercholestérolémie montre une réduction du cholestérol total, du LDL cholestérol, des VLDL et des triglycérides. Par contre il n'y a pas de modification de la sensibilité à l'insuline [33].

*La consommation d'inuline à la dose de 10g par jour chez 49 femmes adultes atteintes d'un excès de poids et de diabète de type 2 pendant 60 jours entraîne à la fin de l'étude une diminution du glucose plasmatique, de l'hémoglobine glyquée et du taux de malondialdéhyde (témoin du stress oxydatif). On a aussi une augmentation significative des capacités anti-oxydantes et de l'activité de la superoxyde dismutase (système de défense contre les radicaux libres). Par contre on ne remarque pas de changement significatif au niveau de la résistance à l'insuline, l'activité de la catalase et de la glutathion peroxydase [36].

*La consommation d'un sirop enrichie en FOS (0.14g/kg/jour) pendant 4 mois chez 35 femmes de 31 à 49 ans atteintes d'obésité, de dyslipidémies et constipation entraîne une diminution significative du poids, du tour de taille et de l'indice de masse corporel mais aussi de l'insuline sérique à jeun. On a aussi une amélioration de la fréquence des selles et de la satiété et une diminution du taux de LDL cholestérol [36].

*La consommation d'un cookie de 60g enrichie en FOS à raison de 9.8g par jour pendant 30 jours chez 38 adultes obèses entraîne une meilleure satiété par rapport au groupe placebo. Par contre on ne retrouve pas de modification des paramètres cardiovasculaire au bout d'un mois [36].

*Une étude réalisée sur la consommation de FOS à 20g par jour chez des adultes en excès de poids atteints de diabète de type 2 n'a pas été concluante en terme d'effets positifs [36].

*La consommation d'oligofructoses à raison de 21g par jour chez des adultes en excès de poids pendant 3 mois montre une diminution du poids, de l'énergie ingérée (due à une diminution de la ghréline, hormone stimulant l'appétit et une augmentation du peptide YY, hormone diminuant l'appétit) et de la glycémie par rapport au groupe placebo où ces paramètres augmentent. Par ailleurs la supplémentation en oligofructoses est bien tolérée [36].

*La consommation d'inuline chez des femmes en excès de poids à la dose de 10g par jour pendant 3 mois associée à un régime hypocalorique ne montre pas d'effet significatif supplémentaire dans la perte de poids par rapport au régime seul. Cependant l'inuline permet une meilleure réduction des triglycérides et une absorption plus efficace des micronutriments montrant l'intérêt de l'inuline chez les obèses avec une déficiences en micronutriments [36].

*La consommation de galactooligosaccharides à la dose de 5.5g par jour pendant 3 mois chez des adultes avec un syndrome métabolique montre une augmentation des bifidobactéries et une diminution des *Bacteroides* et du groupe *Clostridium histolyticum* ainsi qu'une tendance à la diminution des *Desulfovibrio* et β -Protéobactéries. On a aussi une diminution de la calprotectine fécale (marqueur de l'inflammation), de la CRP et une augmentation des IgA

fécaux (marqueurs de l'immunité mucoale. Une diminution du cholestérol total et de triglycérides. Cette étude montre l'impact positif des B-GOS chez les sujets en surpoids au niveau de la composition microbienne, de l'immunité et des marqueurs du syndrome métabolique [36].

Quelques symbiotiques ont aussi été étudiés dans l'obésité et le diabète.

*Une étude utilise le mélange *Lactobacillus* (27.10^7 CFU/jour) et inuline (1.08g/jour) pendant 2 mois chez des adultes en excès de poids et atteints d'un diabète de type 2. On observe alors une diminution significative des taux d'insuline, du cholestérol total et LDL cholestérol, des triglycérides, du taux de CRP. On a d'autre part une augmentation de Glutathion total dans le plasma et d'acide urique [36].

En règle général, ces études montrent un impact positif des prébiotiques chez les sujets obèses et/ou atteints d'un diabète de type 2 au niveau du transit intestinal, de la composition de la flore microbienne, des paramètres immunologiques et métaboliques (taux de cholestérol total, de LDL cholestérol, triglycérides, HDL cholestérol, glycémie, insuline). Il faut préciser que ces effets sont variables en fonction du prébiotique utilisé et de la dose ingérée. Bien que des études supplémentaires et réalisées sur le long terme sont nécessaire pour confirmer ces effets, la supplémentation en prébiotiques ou synbiotiques est à considérer dans la gestion des comorbidités chez les obèses et les diabétiques mais aussi dans l'aide à la perte de poids par un rééquilibrage de la composition de la flore intestinale.

c) Stéatose hépatique non alcoolique : NAFLD

Les études sur les prébiotiques seuls sont rares, voyons quelques résultats sur l'utilisation des symbiotiques dans la NAFLD.

*Une étude utilise le mélange *Bifidobacterium longum* W11 (5.10^9 CFU/jour) et 2.5g de FOS chez des adultes en excès de poids atteints de stéatose hépatique non alcoolique pendant 168 jours en complément d'une modification des habitudes de vie. On remarque alors une diminution significative par rapport au groupe changement des habitudes de vie seul des taux de TNF α , de CRP, d'ASAT, d'endotoxines ainsi qu'une diminution de la stéatose et de l'index d'activité de la NASH [36].

*Dans une étude, on supplémente des adultes obèses atteints de NAFLD pendant 196 jours par un synbiotique composé de souches probiotiques (*L.casei*, *L.rhamnosus*, *S.thermophilus*, *B.breve*, *L.acidophilus*, *B.longum*, *L.bulgaricus*) à dose de 4.10^8 CFU par jour et de FOS en plus d'une modification des habitudes de vie. On observe alors une meilleure réduction des ALAT et ASAT dans le groupe symbiotique mais aussi un meilleur résultat au niveau du score de fibrose et au niveau de la réduction des paramètres inflammatoires. Par ailleurs on ne remarque pas d'effet secondaires hormis chez un nombre restreints de sujets une douleur abdominale et des flatulences [36].

Les synbiotiques peuvent être une option thérapeutique intéressante chez les sujets atteints de NAFLD pour permettre une amélioration des paramètres biologiques hépatiques et de l'inflammation.

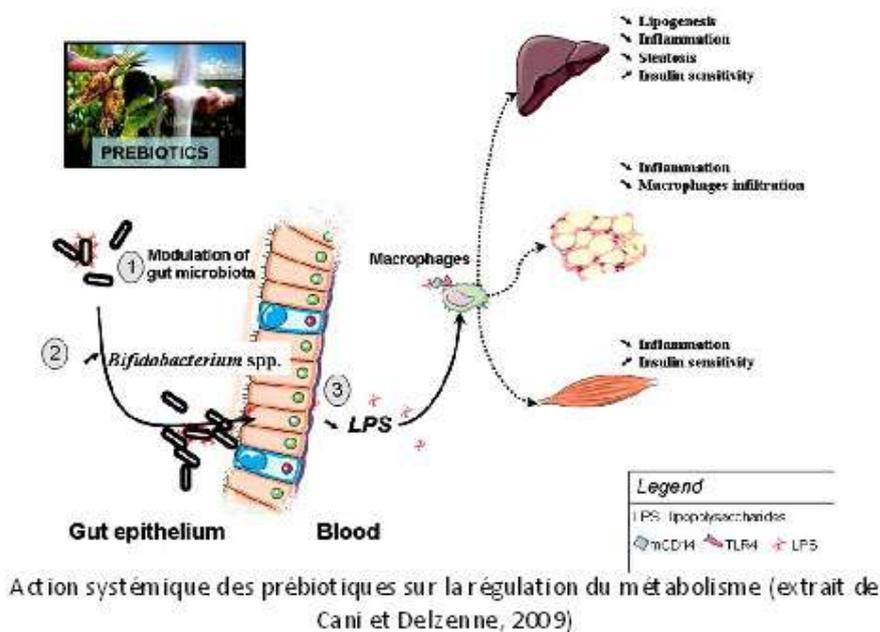


Figure 46 : Synthèse des effets des prébiotiques sur le métabolisme.

❖ Les âges extrêmes

Comme nous l'avons vu précédemment, on observe chez les personnes âgées, une flore intestinale plus fragile (diminution des bifidobactéries et des bactéries productrices de butyrate), une immunosénescence ainsi qu'une inflammation de bas grade (diminution de l'Il-10 et augmentation de l'Il-6 et du TNF α). Par ailleurs son alimentation est pauvre en fibres. Voyons divers études montrant l'impact d'une supplémentation en prébiotiques chez les personnes âgées.

*Des GOS contenu dans un jus sont administrés sur 37 personnes de plus de 50 ans à raison de 4g par jour de GOS pendant trois semaines. On observe alors une augmentation des bifidobactéries et de la production de butyrate [3].

*Une mixture de B-GOS (transgalactooligosaccharides) est administrée à 44 personnes âgées entre 65 et 80 ans à raison de 5.5g par jour de GOS pendant 10 semaines. Au niveau des populations bactériennes, on ne remarque pas de différence significative entre les groupes au départ. Par contre à partir de la 5^e semaine, on observe une augmentation des bifidobactéries, des *Lactobacillus*, des espèces d'*Enterococcus* et du groupe *Clostridium coccoides-Eubacterium rectale*. D'autres espèces diminuent comme le groupe *Clostridium histolyticum*, *E.coli* et les espèces de *Desulfovibrio*. Au niveau des habitudes intestinales et de l'apport alimentaire, on n'a aucune différence entre les groupes. Au niveau immunologique, on remarque une augmentation significative de la phagocytose, de l'activité des cellules NK (après la 5e semaine), de la production de cytokines anti-inflammatoires (Il-10, Il-8) et de la réduction de cytokines pro-inflammatoires (Il-6, Il-1 β , TNF α) après la 10^e semaine. Au niveau métabolique, on a une augmentation des concentrations en lactate, glutamate, ornithine et acide caproïque liée à l'augmentation en bifidobactéries. L'administration des B-GOS chez les personnes âgées montre des effets positifs sur la composition de la flore intestinale (effet bifidogène) mais aussi sur les réponses immunitaires et métaboliques [3][35].

*Une étude réalisée sur 35 femmes constipées âgées de 68 à 89 ans étudie parallèlement l'effet d'une supplémentation en lactose ou en inuline. Le groupe divisé en deux reçoit soit du

lactose soit de l'inuline à raison de 20g par jour pendant 8 jours puis la dose est augmentée progressivement pendant 3 jours jusqu'à 40g par jour du 12^e au 19^e jour. En ce qui concerne les habitudes de défécation, les patientes du groupe lactose et inuline voit globalement une amélioration de la défécation et de la fréquence des selles à la dose de 20 pour certaines et 40 pour d'autres sans provoquer de diarrhées. Il faut noter que dans certains cas, la dose de 40g par jour aggrave la constipation. En effet on a un meilleur contenu en eau avec 20g par jour. Par ailleurs certaines se plaignent de douleurs abdominales et de flatulences avec le lactose et de flatulences avec l'inuline, mais les symptômes restent minimes.

En ce qui concerne la composition microbienne, on remarque une diminution en lactobacilles et *Clostridium* et une augmentation en entérocoques lors de l'ingestion de lactose. Les personnes recevant l'inuline montrent une augmentation en bifidobactéries et une diminution des entérocoques et entérobactéries. Par ailleurs les taux de SCFAs ne sont pas modifiés de manière significative. Cette étude nous montre l'importance du lactose et plus encore de l'inuline (effet bifidogène) dans le traitement de la constipation chez la personne âgée. On a encore une preuve ici que l'effet d'une petite modification de l'alimentation (inuline, lactose) modifie considérablement la flore intestinale du sujet âgé et la fonction intestinale. Il serait aussi intéressant d'étudier cette supplémentation au long terme [3].

*Une simple étude montre que l'apport de FOS à raison de 8g par jour chez des sujets âgés entre 80 et 90 ans entraîne une augmentation des bifidobactéries [3].

*Une étude est réalisée sur 74 patients de plus de 70 ans dénutris ou à risque de dénutrition. On les supplémente ou non avec de oligosaccharides contenus dans un liquide à raison de 1.3g par jour pendant 12 semaines. Aucune amélioration n'est observée au niveau de la modification de la flore intestinale ou des paramètres nutritionnels, cependant on remarque une diminution des paramètres inflammatoires (TNF α , Il-6, CD14...). Cette supplémentation pourrait être intéressante dans le cadre d'une amélioration de l'inflammation de bas grade fréquente dans cette population âgée [3].

Ces quelques études nous permet de conclure sur l'impact positif d'une supplémentation en prébiotiques chez les personnes âgées dans le but de modifier la composition bactérienne intestinale vers un état d'équilibre et notamment stimuler la croissance des bifidobactéries important à cet âge, mais aussi de stimuler la production de SCFAs. Par ailleurs cette supplémentation peut aussi permettre d'améliorer les paramètres immunitaires et notamment diminuer l'inflammation de bas grade chronique mais aussi d'améliorer la fonction intestinale (diminution de la constipation). Cependant il reste encore des études à réaliser pour confirmer ces effets et trouver le dosage idéal efficace et de minimiser les effets indésirables (flatulences, douleur abdominale...) mais en attendant, les GOS, FOS, inuline, lactulose montrent des résultats satisfaisants.

d. Limites

Les études testant les prébiotiques commencent à être de plus en plus nombreuses avec notamment la découverte de nouveaux prébiotiques prometteurs. L'utilisation des prébiotiques se développe avec un nombre de produits en augmentation constante disponibles sur le marché. Cependant il existe un certain nombre de limites dans l'étude des prébiotiques et la consommation de prébiotiques.

Comme pour les probiotiques, on retrouve différentes limites ;

❖ Au niveau de la transposition à l'homme ;

Un certain nombre d'études sont prometteuses in vitro ou in vivo mais sont à confirmer sur des études cliniques.

❖ Au niveau de l'absence de généralisation

Les effets d'un prébiotique ne peuvent être extrapolés à un autre ou à une même famille. En d'autres termes, des études cliniques sur le prébiotique lui-même sont nécessaires pour toute allégation. Il en est de même pour les doses testées. Chaque prébiotique ou chaque mélange doit donc être testé à doses consommées pour justifier un effet sur la santé.

❖ Au niveau de la réponse individuelle

Comme pour les probiotiques, l'utilisation des prébiotiques suggèrent une réponse plus ou moins commune entre les individus mais il pourrait exister une réponse individuelle à l'utilisation de ces produits avec soit une absence de réponse ou une réponse inadéquate. Il serait donc intéressant d'établir un profil prébiotique en fonction de la dysbiose chez chaque individu.

❖ Au niveau des effets indésirables

Dans la plupart des cas on ne remarque que rarement des effets indésirables d'une supplémentation en prébiotiques. Quelques études ont reportées des effets indésirables d'une supplémentation en prébiotiques comme des diarrhées, des ballonnements, des flatulences ou encore une douleur abdominale. Dans d'autres études on retrouve ces symptômes mais ceux-ci disparaissent après quelques jours de supplémentation [36].

En effet les prébiotiques augmentent la production de gaz intestinaux, issus de leur fermentation (H_2 , CH_4 , CO_2) et, partant, peuvent induire un inconfort clinique en règle modérée (ballonnement abdominal, éructations, douleurs abdominales). Il y a un effet dose-réponse pour la production de H_2 , en outre celle-ci diminuerait avec les oligosides ayant les chaînes les plus longues et ayant donc une fermentation colique plus lente.

La tolérance des prébiotiques dépend donc en grande partie de leur structure chimique mais aussi de la dose ingérée (25% des sujets signalent des symptômes d'inconfort lors de l'ingestion de FOS à la dose de 2,5g/j, plus de 75% des sujets ont perçu ces symptômes avec une dose de 20g/j) et du mode de consommation. Par ailleurs la susceptibilité à ressentir ces symptômes est très variable d'un sujet à l'autre.

En conclusion même si certains sujets semblent moins tolérants à certains prébiotiques, la sévérité des symptômes rapportés est généralement modérée et n'entraîne aucun risque pour la santé.

A noter que les effets indésirables plus théoriques sont toujours possibles comme pour les probiotiques (immunomodulation excessive, activités métaboliques délétères...).

En résumé l'utilisation des prébiotiques est sûre au vue du nombre d'études réalisées sur tous types de populations (jeunes, âgées...) mais aussi par la présence de certains d'entre eux dans les aliments. Il existera toujours des risques potentiels qui devront être surveillés que ce soit pour les prébiotiques existants mais aussi pour les nouveaux prébiotiques.

e. Perspectives

❖ Les aliments prébiotiques

Les « prébiotiques » les plus importants présents naturellement dans nos aliments sont les FOS et l'inuline. Ils représentent un réservoir important en hydrates de carbone dans beaucoup de plantes comme certains légumes (poireau, oignons, ail, artichaut, chicorée, asperge), fruits (banane) et céréales (seigle, blé). En moyenne avec une alimentation européenne équilibrée, par jour et par personne, sont consommés entre 3 et 11g de « prébiotiques » naturels. Ces constatations nous montrent qu'une alimentation équilibrée permet donc un apport non négligeable en « prébiotiques naturels » comme les FOS ou l'inuline. Le choix de son alimentation est donc un facteur clé dans le maintien de la Santé chez l'homme mais est aussi à prendre en compte en thérapie adjuvante dans le prise en charge des pathologies.

Depuis quelques années, l'industrie alimentaire ajoute des prébiotiques à certains aliments (aliments fonctionnels) comme des produits lactés ou encore des barres de céréales. Il serait envisageable à l'avenir de développer de plus en plus d'aliments enrichis en prébiotiques à but préventif et/ou curatif. Voyons quelques exemples.

On remarque dans certaines études l'utilisation d'aliments enrichis en prébiotiques citons par exemple un pain enrichie d'AXOS [3], un jus enrichie en GOS [3], cookie enrichie en inuline [33], sirop enrichie en FOS [36]. Mais il faut cependant faire attention à l'addition de tous ces prébiotiques qui peuvent induire une diarrhée en quantité trop importante.

Le lait maternel contient de grandes quantités de GOS qui ont un effet bifidogène. Il est alors envisageable d'enrichir les laits artificiels en GOS pour obtenir les mêmes effets bénéfiques que les GOS du lait maternel.

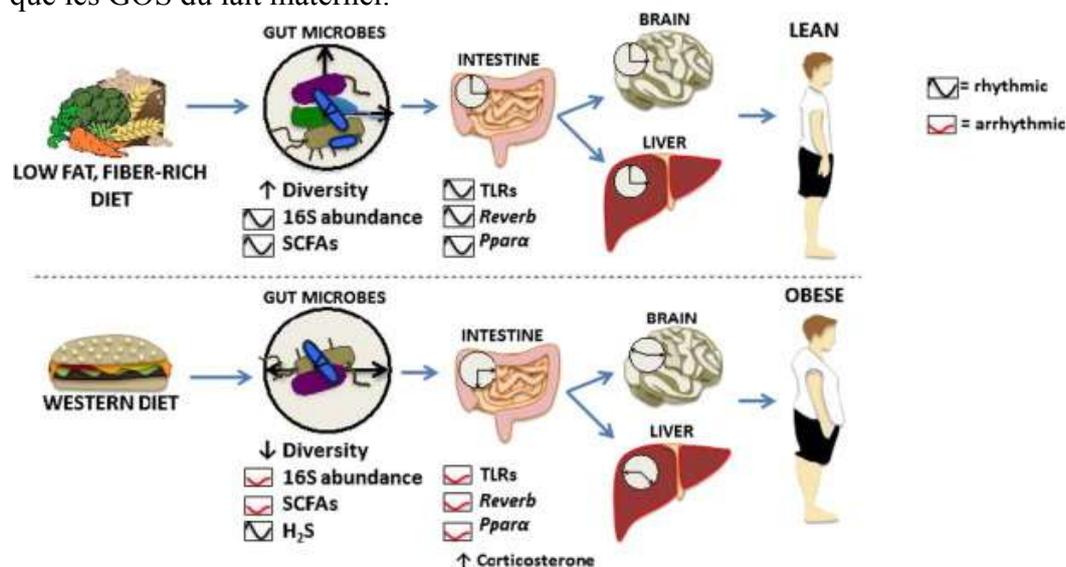


Figure 12 : Impact de l'alimentation sur le microbiote : l'exemple de l'obésité [12].

❖ Mélange thérapeutique ciblé

A l'avenir il serait intéressant de pouvoir établir un mélange de prébiotiques et/ou probiotiques en fonction du profil bactérien des patients.

Conclusion

Comme nous ne cessons de le répéter depuis le début de cette thèse le déséquilibre de la flore intestinale est source d'initiation et/ou d'entretien de pathologies de tous types. Nous nous sommes d'abord intéressé au cœur de la flore intestinale c'est-à-dire aux bactéries et avons testés une thérapie similaire, les probiotiques, pour contrer ce désordre du microbiote intestinale. Cependant en analysant de plus près, on s'aperçoit que le microbiote a besoin pour sa survie, son développement, son équilibre et ses fonctions de nourriture qu'il trouve au travers des aliments non digestible en réalisant la fermentation. C'est ainsi qu'est né le concept d'une autre thérapeutique à action sur la flore intestinale : les prébiotiques. Les prébiotiques sont définis comme des substances non digestible, fermentés par la flore intestinale et possédant une action bifidogène.

A l'heure actuelle il existe un grand nombre de spécialités contenant des prébiotiques que ce soit des médicaments, des compléments alimentaires ou encore des aliments fonctionnels qui suivent chacun une réglementation stricte en fonction de leur statut mais aussi en ce qui concerne les allégations de santé, l'étiquetage ou encore le choix des prébiotiques (structure chimique, effet bifidogène). Ainsi, une fois consommés, les prébiotiques se retrouvent au niveau de l'intestin pour exercer leurs effets. Les études cliniques (randomisées en double aveugle contre placebo) commencent à être de plus en plus nombreuses et montrent l'efficacité potentiel des prébiotiques dans différents domaines thérapeutiques. D'autres domaines sont seulement en voie de développement mais montrent des résultats très prometteurs.

-Traitement préventif lors d'une antibiothérapie ;

Les études in vitro montrent des résultats prometteurs des prébiotiques (inuline) dans la protection de la flore intestinale et de ses fonctions lors de traitements antibiotiques. Des recherches plus approfondies et des études cliniques sont nécessaires pour confirmer ces résultats.

-Traitement curatif des GEA ;

Une étude clinique montre déjà une piste prometteuse de l'utilisation de prébiotiques (polyphénol) en traitement curatif des GEA en complément d'une solution de réhydratation orale. Des études complémentaires sont à réaliser pour conforter ces résultats et les développer avec d'autres prébiotiques.

-Traitement adjuvant de l'IBS et de la constipation ;

Les prébiotiques (B-GOS, inuline...) et les synbiotiques (*B.lactis*+*S.thermophilus*+*L.acidophilus*+fibres d'acacias...) améliorent la qualité de vie (réduction des symptômes, amélioration du transit) des patients constipés ou atteints d'IBS et ont une action protectrice de la flore intestinale dans ces pathologies.

-Traitement adjuvant des MICI ;

Les synbiotiques (*B.longum*+psyllium...) montrent une efficacité supérieure comparé aux probiotiques ou prébiotiques seuls chez les patients RCH, même si ces derniers montrent une amélioration de la qualité de vie et de la fonction intestinale. Par contre, au niveau de la maladie de Crohn aucune étude n'est concluante.

-Traitement adjuvant des allergies ;

Les résultats certes peu nombreux ouvrent une piste envisageable d'une supplémentation en prébiotiques (GOS, FOS...) en prévention primaire des allergies. Mais des recherches approfondies sont nécessaires.

-Traitement adjuvant de l'obésité et du diabète ;

Les prébiotiques (FOS, B-GOS, inuline...) ont un impact positif chez les sujets obèses et/ou atteints d'un diabète de type 2 au niveau du transit intestinal, de la composition de la flore microbienne, des paramètres immunologiques et métaboliques (taux de cholestérol total, de

LDL cholestérol, triglycérides, HDL cholestérol, glycémie, insuline). Ils sont à considérer dans la prise en charge des comorbidités et dans l'aide à la perte de poids en complément des mesures hygiéno-diététiques.

-Traitement adjuvant de la NAFLD :

Les synbiotiques (B.longum+FOS...) peuvent être une option thérapeutique intéressante chez les sujets atteints de NAFLD pour permettre une amélioration des paramètres biologiques hépatiques et de l'inflammation.

-Les âges extrêmes :

Les prébiotiques (FOS, GOS, inuline, lactulose...) apportent des effets bénéfiques comme la modification de la composition bactérienne intestinale vers un état d'équilibre (stimulation des Bifidobactéries et des SCFAs), l'amélioration des paramètres immunitaires (diminution de l'inflammation de bas grade chronique) mais aussi l'amélioration de la fonction intestinale (diminution de la constipation).

Les différentes études réalisées montrent que les prébiotiques exercent différentes actions que se soit sur la flore intestinale elle-même, sur le transit intestinale, sur les paramètres biologiques et métaboliques ou encore sur le système immunitaire intestinale. L'inuline, les FOS ou GOS sont les prébiotiques les plus utilisées et ceux qui montrent le plus d'efficacité, d'autres sont à l'étude et montre déjà des résultats prometteurs. Cependant il existe un certain nombre de limites à ces études comme la difficulté de transposition à l'homme, l'absence de généralisation et la réponse individuelle. De plus beaucoup d'études comportent des biais et sont réalisées sur une durée trop courte ou un échantillon trop petit ou encore non confirmées sur des études cliniques. Mais ces études permettent quand même d'apporter des découvertes intéressantes qui sont à approfondir et surtout montre une innocuité quand à l'utilisation des prébiotiques.

A l'heure actuelle, on peut alors conclure à l'utilité de certains prébiotiques (testés dans des études validantes et utilisés dans les mêmes conditions) dans diverses pathologies en traitement préventif ou curatif, seul ou en association avec d'autres thérapeutiques. Pour les nouveaux prébiotiques des études complémentaires plus poussées sont nécessaires pour affirmer leur efficacité. Par ailleurs les synbiotiques (mélanges de probiotiques et de prébiotiques) confirment leur efficacité supérieure par rapport à l'utilisation des probiotiques seuls ou prébiotiques seuls dans certaines pathologies.

A l'avenir il pourrait être intéressant de pouvoir choisir un prébiotique, un ou plusieurs probiotiques ou encore un synbiotique en fonction du profil bactérien du patient (thérapeutique ciblée).

Par ailleurs, en ce qui concerne le choix des produits sur le marché contenant des probiotiques il est indispensable de sélectionner un laboratoire pouvant justifier d'une véritable expertise dans la sélection des souches, dans la fabrication ainsi que dans l'efficacité comme pour les probiotiques.

Nous avons étudiés les probiotiques, similaire des bactéries, mais aussi les prébiotiques, similaire des substrats bactériens ou encore les synbiotiques, similaire des bactéries et des substrats bactériens. Cependant la flore intestinale produit aussi des produits finaux aux effets bénéfiques comme les SCFAs. **Alors pourquoi pas tester un similaire thérapeutique : les postbiotiques ?**

C. Les postbiotiques

a. La naissance du concept de postbiotiques

Nous avons pu voir que les produits bactériens comme les SCFAs ont un impact direct sur l'hôte et jouent un rôle important dans le maintien de diverses fonctions de l'organisme ce qui contribuent au maintien de la Santé. L'idée est donc d'apporter directement ces produits bactériens comme alternative thérapeutique aux prébiotiques, la nourriture des bactéries et aux probiotiques c'est-à-dire les bactéries eux-mêmes. On nomme ainsi ces produits bactériens les postbiotiques.

b. Définition

Plus précisément, les postbiotiques sont des métabolites bactériens purifiés ou d'autres composants bactériens qui ont un effet bénéfique sur l'hôte [12].

c. Produits et réglementation

Les postbiotiques sont un concept nouveau et ne sont donc pas encore commercialisés. Cependant s'ils venaient à l'être ils suivraient la même réglementation que les prébiotiques et les probiotiques en fonction de leur statut mais aussi concernant les allégations.

Il faudrait aussi définir un certain nombre de critères concernant la sélection de ces métabolites à savoir des critères de sécurité, des critères fonctionnels et technologiques afin de permettre la conception du produit, la sûreté du produit mais aussi son arrivée et son efficacité au site d'action.

d. Effets des postbiotiques et champs d'applications

Quelques études commencent à émerger sur le sujet, voyons les premiers résultats.

L'activité d'un postbiotique a été analysée et comparée à une souche pathogénique de *Salmonella* sur un système d'organe de culture ex-vivo provenant d'un humain sain et aussi sur une muqueuse intestinale IBD. *L.paracasei* est capable d'inhiber l'inflammation potentielle des cellules dendritiques et épithéliales lors de la présence de *S.typhimurium*. Cette capacité n'est pas due à la bactérie elle-même mais à un médiateur soluble libéré dans la culture. Ce médiateur soluble, le SN est le postbiotique. L'activité du SN a été testé sur des cultures et montre bien une activité anti-inflammatoire contre *S.typhimurium* (diminution du TNF sans modification de l'IL10). Cependant le SN n'agit pas directement sur la bactérie mais sur le tissu et n'a pas besoin d'être présent à l'infection. Par contre l'effet contre *Salmonella* est amélioré lorsque le tissu est préconditionné.

Par ailleurs l'effet du SN a été étudié sur un tissu IBD. L'incubation de SN sur le tissu IBD du côlon montre une réduction significative de la production de TNF ainsi qu'une réduction des cytokines impliquées dans la pathogénèse de l'IBD (CCL4, CCL2, INF γ , IL23p40). D'autre part le taux d'IL10 n'est pas altéré suggérant que le SN n'interfère pas avec la capacité du tissu à contrer les réponses inflammatoires. En conclusion le SN est capable de réguler négativement l'activité proinflammatoire [40].

Le SN semble être un agent potentiel thérapeutique chez les patients IBD. D'autres études montrent ainsi que les probiotiques seraient plus indiqués en cas de rémission et pas dans une phase aiguë (*L.plantarum* entraîne une réponse locale inflammatoire, *L.paracasei* est néfaste sur un tissu IBD enflammés) où le SN lui pourrait avoir sa place [40].

Les postbiotiques sont une nouvelle thérapie en développement. Les quelques études montrent déjà des résultats prometteurs mais ces résultats devront être confirmés sur des études cliniques. Les postbiotiques apparaissent comme une alternative thérapeutique aux probiotiques et aux prébiotiques. Beaucoup de recherches sont encore à faire pour trouver d'autres postbiotiques, analyser leurs effets, les tester sur des études cliniques et ainsi commercialiser des produits contenant des postbiotiques.

Les probiotiques, les prébiotiques, les synbiotiques ou encore les postbiotiques représentent un arsenal thérapeutique intéressant dans le maintien de la Santé, utilisés en traitement préventif, curatif ou adjuvant de multiples pathologies. A chacun sa cible et son mode d'action, ces thérapeutiques réglementées peuvent être ainsi utilisées en association pour une action synergique. Cependant il existe des pathologies qui pourtant sont fortement liées à l'équilibre de la flore intestinale où ces thérapies ne suffisent pas et/ou sont inefficaces comme l'ICD. **Alors pourquoi ne pas essayer de prélever le traitement à la source ?**

D. La transplantation fécale

a. Rappel sur l'infection à *Clostridium difficile*

❖ Généralités

Les infections à *Clostridium difficile* (ICD) sont devenues au cours de cette dernière décennie un problème de Santé publique important. Les ICD sont une entité hétérogène avec de multiples présentations cliniques allant de la colonisation asymptomatique ne nécessitant pas de traitement ni de mesure de prévention aux formes suraigües de colite fulminante voire de choc toxinique. Par ailleurs leur épidémiologie a été profondément modifiée avec une augmentation du nombre total de cas, des taux plus élevés de formes sévères et récidivantes ainsi que des échecs plus fréquents des traitements conventionnels [41]. **Mais qui est ce *C.difficile* ? Quel est sa virulence ? Quels sont les facteurs de risque ? Comment se développe l'infection ? Quelle est l'incidence dans la population de l'ICD ? Quels traitements ?**

❖ La nature de *C.difficile* et sa virulence

C.difficile est un bacille pathogène à Gram positif, anaérobie strict, présent dans l'environnement. Il possède deux formes :

-La forme végétative, infectieuse car capable de produire les toxines A et B à l'origine des manifestations cliniques digestives.

-La forme sporulée, très résistante aux conditions extrêmes de l'environnement et à la plupart des désinfectants. Elle constitue la forme de contamination.

Par ailleurs, il existe une grande variété de clones parmi les souches toxigènes avec des pouvoirs pathogènes et épidémiques différents. On assiste aussi depuis quelques années à l'émergence de clones hypervirulents et hyperépidémiques [41].

❖ L'infection à *C.difficile*

L'histoire naturelle des ICD nécessite que le patient soit exposé à *C.difficile*. La colonisation se fait par les spores qui résiste à l'acidité gastrique et prolifèrent dans le microbiote intestinal au sein duquel elles vont s'implanter et germiner sous l'action des sels biliaires. Quand le microbiote est détruit, *C.difficile* se multiplie et produit des toxines pathogènes. Celles-ci provoquent une destruction des jonctions serrées des entérocytes, aboutissant à une altération fonctionnelle de la barrière épithéliale intestinale. Elles induisent également une cascade pro-inflammatoire. Les signes d'ICD apparaissent alors. La réponse immunitaire de l'hôte dirigée contre les toxines joue un rôle important dans la symptomatologie et expliquerait ainsi la diversité des présentations cliniques des ICD [41].

❖ Les facteurs de risques

Les facteurs d'exposition : le nombre et la durée de séjours hospitaliers ou en structure de soins, le contact avec un patient infecté, l'occupation d'une chambre qui a hébergé un patient infecté, le séjour en soins intensifs [41].

Les facteurs favorisant la colonisation : les antibiotiques à large spectre, les inhibiteurs de la pompe à protons, les antiacides, les chimiothérapies anticancéreuses, les lavements digestifs, l'utilisation de sondes nasogastriques qui court-circuitent l'acidité gastrique, la chirurgie gastro-intestinale, les MICI, les laxatifs [41].

Les facteurs liés à l'hôte : l'âge supérieur à 65 ans, la présence de comorbidités et leur sévérité, l'immunodépression, les antécédents d'ICD, le statut immunitaire [41].

Les facteurs de risque de récurrences : l'âge supérieur à 65 ans, l'administration concomitante d'antibiotiques, la sévérité de la maladie sous-jacente, la durée prolongée d'hospitalisation, la persistance sous forme de spores de la souche initiale, une faible réponse immunitaire de l'hôte sérique et/ou mucosale contre les toxines et les facteurs de colonisation de *C.difficile* lors d'un premier épisode, l'absence de retour à l'équilibre du microbiote intestinal (diminution des Firmicutes et Bacteroidetes, impossibilité du microbiote à restaurer la résistance à la colonisation, conditions métaboliques favorables à la persistance de *C.difficile*) [42].

❖ Manifestations cliniques et récurrences

Une fois *C.difficile* acquis par le patient, ce dernier peut rester asymptomatique ou développer une infection en fonction des facteurs liés à l'hôte. L'évolution peut alors se faire secondairement vers la guérison spontanée ou la persistance de l'infection avec la possibilité de développer une forme sévère. Les patients peuvent aussi récidiver, ce qui est une caractéristique des ICD mais aussi une des complications principales. Les récurrences surviennent chez environ 25% des patients après un premier épisode et chez 40% des patients ayant déjà eu une première récurrence. Les récurrences sont liées soit à la persistance sous forme de spores de la souche initiale (rechute), soit à l'acquisition d'une nouvelle souche de *C.difficile* (ré-infection).

Au niveau de la présentation clinique, elle varie de la colonisation digestive asymptomatique aux diarrhées aqueuses simples sans colite souvent spontanément résolutive, aux formes sévères avec complications comme les colites pseudomembraneuses et les colites fulminantes, le mégacôlon toxique, l'iléus paralytique voire la perforation intestinale ou le choc toxique et/ou septique qui ont un pronostic très sombre [41][42].

❖ Epidémiologie

Les ICD représentent la première cause de diarrhée nosocomiale dans les pays industrialisés et 10 à 25% des diarrhées post-antibiotiques. Elles sont associées à une mortalité qui varie de 0.6 à 1.5% en cas de diarrhée simple et de 24 à 38% en cas de formes sévères selon les études. Par ailleurs depuis les années 2000, on constate une augmentation générale de l'incidence des ICD avec des bouffées épidémiques surtout dans le nord de la France. Ainsi les hôpitaux français recensent une augmentation continue de l'ordre de 30% entre 2007 et 2011 du nombre de nouveaux patients et de séjours liés aux ICD.

Cette augmentation est liée à l'émergence de nouveaux clones mais aussi à une meilleure sensibilisation des cliniciens au dépistage et à l'amélioration des techniques de diagnostic.

D'autre part, plus inquiétant, il existe une diffusion des ICD vers la population générale et les maisons de retraite et une émergence dans les populations classiquement considérées à faible risque comme l'adulte jeune, la femme enceinte, le jeune enfant (>2 ans) et les personnes non exposées aux antibiotiques [41].

❖ Traitements

De manière générale, la prise en charge des ICD nécessite dans un premier temps l'arrêt du traitement antibiotique inducteur ou de le remplacer par une famille moins à risque de favoriser une ICD (aminoglycosides, macrolides, tétracyclines, vancomycine). Aussi il ne convient de traiter que les patients symptomatiques ayant une infection à *C.difficile* toxigène confirmée microbiologiquement.

Actuellement en France, la stratégie thérapeutique recommandée de prise en charge d'un patient présentant une ICD simple est le métronidazole qui est le traitement de première intention. Pour le patient présentant une forme sévère ou compliquée, la vancomycine est le traitement de référence. Elle doit être associée au métronidazole dans certains cas particuliers (iléus, mégacôlon). Par ailleurs la fidaxomicine pourrait représenter une indication de choix pour les patients avec des comorbidités et de facteurs de risque de récurrence. Au niveau européen, les recommandations ont été actualisées et préconisent le métronidazole (VO 500mg 3x/j pendant 10j) en cas d'ICD non sévère. En cas de risque de récurrence ou de première récurrence sont recommandées en première intention la vancomycine (125mg 4x/j pendant 10j) ou la fidaxomicine (200mg 2x/j pendant 10j). En cas de récurrences multiples sont recommandées en première intention la transplantation fécale ou les doses dégressives et intermittentes de vancomycine. La vancomycine reste préconisée en cas de forme sévère ou compliquée.

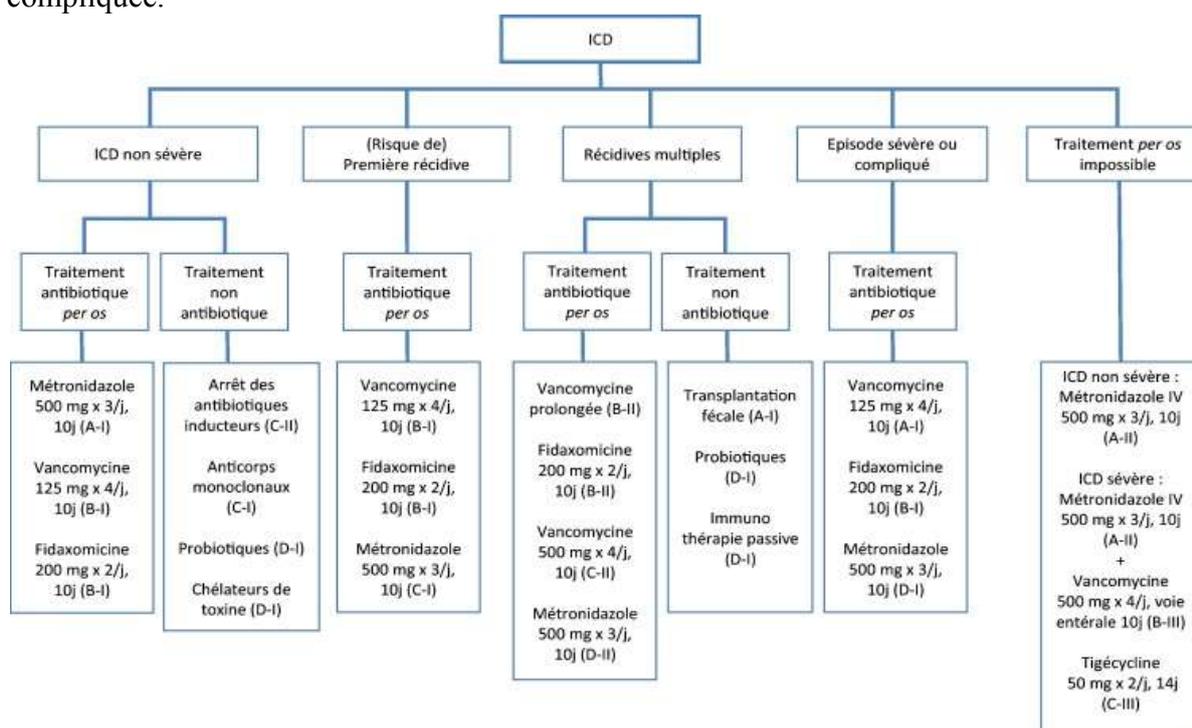


Figure 46 : Schéma décisionnel du traitement de l'ICD.

D'autres perspectives thérapeutiques sont à l'essai comme les anticorps monoclonaux (antitoxines A et B), l'immunisation active ou encore la recherche de nouveaux antibiotiques. En dehors des traitements médicamenteux, la gestion du risque infectieux dans les établissements de santé nécessite de mettre rapidement en place des mesures de prévention (isolement géographique, lavage des mains à l'eau et au savon, désinfection appropriée quotidienne de la chambre et après la sortie du patient, gestion des excréta), d'interrompre les traitements ralentisseurs du transit et de prendre en charge les troubles hydroélectrolytiques associés à la diarrhée [41].

L'ICD est donc un problème majeur de Santé publique. D'un côté l'épidémiologie a été profondément modifiée avec une augmentation totale des cas, des taux de formes sévères et récidivantes plus élevés et des échecs thérapeutiques plus fréquents. On remarque aussi une extension des ICD à des populations exemptes de facteurs de risque habituels. D'un autre côté on observe l'émergence de clones hypervirulents et hyperépidémiques. De nouvelles stratégies thérapeutiques ont fait leur apparition notamment la transplantation fécale entraînant alors des modifications dans les recommandations.

Ainsi dans les cas de récurrences multiples, la transplantation fécale semble être une stratégie de choix. **Mais qu'est ce que la transplantation fécale ? Quand et comment la pratique-t-on ? Quelle réglementation ? Quelle efficacité ? Quels sont les risques et les limites ?**

Voyons en détails cette nouvelle approche thérapeutique et ses perspectives.

b. La transplantation fécale

❖ Historique

Le concept de transfert de flore digestive n'est pas nouveau. Il est décrit dans le « Handbook of Emergency Medicine », il y a plus de 1700 ans par le chinois Ge Hong pour traiter des patients ayant une diarrhée sévère. Au XVII^e siècle, le transfert de flore digestive a été utilisé par voie orale ou rectale en médecine vétérinaire sous le terme de « transfaunation ». Plus proche de nous, la consommation de selles fraîches de chameaux a été une pratique des bédouins pour guérir la dysentérie bacillaire et son efficacité a été documentée chez les soldats allemands en poste en Afrique pendant la seconde guerre mondiale. La première description scientifique de transfert de flore digestive a été publiée par Eiseman en 1958 chez 4 patients souffrants de diarrhée post-antibiotique et traités par des lavements de selles d'un donneur sain. Le transfert de flore par lavement dans le cadre de l'infection à *C.difficile* a été rapporté pour la première fois par Schwan en 1983.

Aujourd'hui, l'administration thérapeutique de selles est appelée transplantation de microbiote fécal (TMF). Ce traitement a connu un regain d'intérêt lié d'une part à l'amélioration des connaissances du rôle du microbiote sur la santé et d'autre part à son utilisation pour traiter avec succès des patients atteints d'infections récidivantes à *C.difficile* [42][43].

❖ Définition

Le transfert de microbiote fécal (TMF) aussi appelé transplantation de microbiote fécal, bactériothérapie fécale ou transfert de flore, consiste à introduire une préparation constituée d'une dilution de selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient receveur, afin de rééquilibrer le microbiote altéré de l'hôte (dysbiose) [44].

❖ Indications

Le TMF ne dispose que d'une indication robustement documentée dans le traitement de l'infection récidivante à *C.difficile* [44].

Cette technique de transplantation de microbiote fécale apparaît dans de nombreuses recommandations internationales pour le traitement des infections récidivantes à *C.difficile* [44]. Au niveau des recommandations européennes, le TMF fait l'objet d'une recommandation plus forte et dispose d'un niveau de preuve plus élevé (Grade A-I) que les traitements antibiotiques (Grade B-II) dans les récurrences multiples à partir de la 2^e récurrence (une récurrence étant définie par deux épisodes à moins de 8 semaines d'écart), soit des le troisième épisode infectieux. Il s'agit donc souvent de malades ayant reçu au moins deux séquences de traitement antibiotique dont au moins une première ligne de métronidazole puis une seconde ligne de vancomycine ou fidaxomicine [44].

Le TMF est aussi envisagée dans d'autres maladies associées à une dysbiose intestinale, mais des travaux scientifiques complémentaires sont nécessaires pour confirmer son intérêt dans ces indications [42].

❖ Cadre réglementaire

Au niveau international, l'ANSM et la FDA ont explicitement retenu la classification de médicament ce qui n'est pas le cas de tous les pays. L'Agence européenne du médicament n'a quant à elle pas encore prise de position [44].

En France, le TMF répond à la définition d'un médicament conformément à l'article L.5111-1 du Code de santé publique (CSP). En l'absence de spécialité pharmaceutique disponible et adaptée, l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) considère que le TMF peut être utilisé dans le cadre législatif et réglementaire applicable aux préparations magistrales et hospitalières, ou des médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique [44]. Le statut de médicament exige que la préparation des selles en vue du TMF soit réalisée sous la responsabilité finale d'une pharmacie à usage intérieur (PUI) d'un établissement de santé [44].

Pour résumer, en l'absence de spécialité disponible et adaptée, le transfert de flore relève en France de la classification de médicament. Il doit être préparé et réalisé sous la responsabilité finale d'une PUI et il ne doit être utilisé (hors cadre de recherche biomédicale) que pour le traitement de l'infection récidivante à *C.difficile*, si les thérapies standards ont échoué, et si le patient dûment éclairé a manifesté un consentement spécifique. En l'état du droit français, il apparaît non seulement raisonnable mais inévitable d'appliquer le cadre le plus protecteur notamment en terme de sécurité sanitaire, fût-ce avec une interprétation doctrinalement assouplie par les Agences mêmes [45].

D'autre part le médecin prescripteur est responsable de l'information et du consentement du receveur (nécessité d'un consentement éclairé écrit) comme du donneur, de la validation clinique du TMF et de la centralisation de la validation biologique [44].

❖ Aspects pharmacotechniques

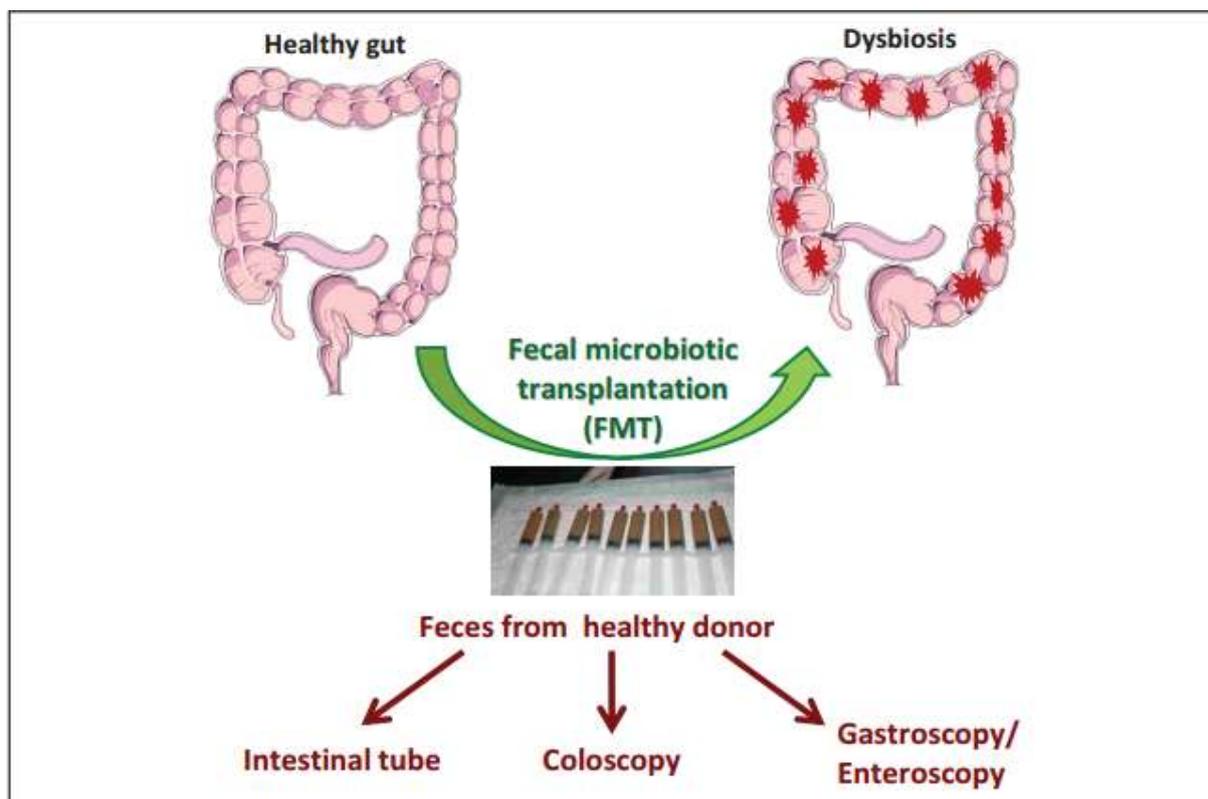


Fig. 4. Schematic presentation of the fecal microbiota transplantation (FMT) from healthy donor (healthy gut) to a patient with dysbiosis. The routes of FMT administration may be different (e.g. *via* nasojejunal tube, gastroscopy, enteroscopy or colonoscopy).

Figure 47 : Représentation schématique de la FMT.

A l'heure actuelle, il n'y a pas de protocole standardisé ni de recommandations internationales. Les protocoles varient d'un établissement à un autre en fonction du choix du donneur (don anonyme, don orienté), de la nature (fraîches ou congelées), et du volume (15 à 300g) des selles administrées, du mode de préparation dont la dilution, le diluant utilisé (solution saline, eau, lait) et les conditions environnementales (aérobie ou anaérobie), du prétraitement des patients (lavements, traitements courts par vancomycine) et surtout du mode d'administration [42].

En l'absence de bonnes pratiques et dans l'attente de recommandations dédiées, le TMF doit être réalisé dans des conditions visant à la sécurité sanitaire maximale. L'objectif est d'assurer le recueil, le contrôle et la préparation de la flore, la conservation et l'administration du filtrat dans les meilleures conditions. Par ailleurs à défaut de pouvoir caractériser les substances et de déterminer la qualité de la composition, la question de la sécurité du patient est centrale. Cela amène alors à un examen complet du donneur mais aussi à un suivi à long terme du receveur et du donneur [45].

Voyons l'exemple des étapes d'un TMF en environnement hospitalier français, fondé sur l'état des connaissances et pratiques internationales.

a) La sélection du donneur

✓ Choix du donneur

Le donneur est souvent choisi dans la famille du receveur (conjoint ou proche parent) mais il peut aussi s'agir de donneurs sains non apparentés.

-Un bilan biologique de base est réalisé chez le donneur (glycémie à jeun, créatinine, bilan hépatique, CRP, NFS, INR et TCA).

-Un dépistage du cancer colorectal doit être réalisé (test de recherche de sang occulte dans les selles, examen macroscopique voire microscopique des selles).

-Une mesure de calprotectine fécale permet d'écarter un donneur avec une inflammation de la muqueuse intestinale [44].

✓ Sélection du donneur

La sélection du donneur est fondée sur un interrogatoire minutieux et des tests biologiques de dépistage. L'objectif est de s'assurer que le donneur est en bonne santé, que le processus de don est sans danger pour le receveur, et que les facteurs de risque de maladies transmissibles par les selles ou le sang peuvent être identifiés. Il faut aussi rappeler qu'en absence de données sur le long terme, si on guérit des maladies aiguës comme l'ICD, rien ne garantit que le TMF ne soit pas de nature à transmettre certaines maladies, infectieuses ou non, connues ou pas [44].

✓ Dépistage des agents infectieux

Des examens de dépistage chez le donneur pour les maladies transmissibles doit être envisagée afin de réduire le risque de transmission d'agents pathogènes. Le risque de transmission d'une maladie non infectieuse doit également être pris en compte puisque le microbiote intestinal est impliqué dans l'étiopathogénie de nombreuses maladies, intestinales ou non. A l'avenir il serait intéressant d'avoir un profilage de la composition du microbiote du donneur qui semble influencer sur le résultat de la TMF. Le donneur doit informer de tout événement survenant entre le moment de la sélection et du don et doit également éviter l'ingestion d'allergènes auxquels le receveur pourrait être sensible 5 jours avant le don [44].

b) La préparation de la suspension fécale

✓ Recueil des selles

Les selles sont émises le jour du transfert (il est possible d'administrer un laxatif osmotique la veille), recueillies dans un pot avec cape en polypropylène non stérile et transportées au lieu de préparation. Un délai court, si possible moins de 6h (24h maximum) doit être respecté entre le recueil des selles et l'administration de la préparation [44].

✓ Locaux et matériels

La préparation est réalisée dans un poste dédié (hotte aspirante à charbon, sorbonne ou poste de sécurité microbiologique) afin d'éviter les contaminations croisées et garantir la protection des personnels. Ces derniers seront protégés (casaque, gants, lunettes...). La préparation est réalisée à température ambiante et en respectant les BPP (Bonnes pratiques de préparation). Les procédures de nettoyage du matériel et des locaux devront être documentées [44].

✓ Préparation de la suspension fécale, contrôles, traçabilité, conservation

Étape 1 : les selles seront diluées dans une solution saline (ou d'eau ou de lait).

Étape 2 : la préparation de selles est alors filtrée et le volume final est adapté en fonction de la voie d'administration (25 à 100 ml pour la voie haute, 200 à 500 ml pour la voie basse).

Etape 3 : la préparation est ensuite conditionnée (seringue, poche, pot, tube...) et doit être utilisée de préférence dans les 6 heures après le recueil et toujours dans les 24 heures. Lors de transport la préparation peut être conservée entre 2 et 8°C sans que cela soit indispensable.

A noter qu'il est possible de congeler la préparation (conservation de 8 semaines possibles), mais il faut suivre un protocole précis pour la préparation, la congélation et la décongélation.

Etape 4 : des contrôles finaux pourront être pratiqués sur les caractéristiques pharmaceutiques de la préparation dans l'attente de définition de critères de qualité normalisés (paramètres physico-chimiques, microbiologiques).

Etape 5 : Un dossier de lot est établi pour chaque dilution, mentionnant l'origine des selles (identification du donneur, jour et heure du don) et toutes les données techniques de la préparation. Il répertorie également tous les résultats des examens auxquels a été soumis le donneur. Un dossier de délivrance mentionnant l'identité du receveur, les justificatifs de l'utilisation du TMF chez ce patient et son consentement éclairé doit être joint au dossier de lot.

Etape 6 : Il doit être organisé un échantillonnage regroupant une aliquote des selles brutes émises par le donneur et un échantillon représentatif de la préparation finale. Ces échantillons sont conservés pendant 3 ans à -80°C [44].

c) La préparation du receveur

Le receveur devra signer un consentement éclairé lui précisant le caractère encore expérimental de ce traitement et aux risques connus et hypothétiques.

La prise d'antibiotiques est arrêtée entre 1 et 3 jours avant le TMF et le patient doit observer un jeûne de 6 heures avant le TMF. Le TMF est réalisé au cours d'une hospitalisation de 48h [44].

d) Les modes d'administration

Le choix du mode d'administration est laissé à la discrétion du clinicien en fonction de son expérience et des préférences du patient. Le nombre d'administration n'est pas limité en raison de l'absence de toxicité connue. Ainsi en cas de récurrence, un nouveau TMF peut être proposé le mois suivant [44][42].

✓ L'administration par voie haute (25% des cas)

Elle se fait soit par gastroscopie soit par sonde naso-duodénale. Le volume à administrer est souvent compris entre 25 et 60 ml. Cette technique est plus facile et rapide à réaliser, requiert peu de préparation et permet une exposition plus complète du tube digestif du receveur au microbiote fécale. Cependant il y a un risque de vomissement en cas d'administration trop rapide ou de volume trop important [42][44].

✓ L'administration par voie basse (75% des cas)

Elle se fait par coloscopie ou lavements. Le volume administré est plus important entre 200 et 500 ml. La coloscopie est précédée par un lavement au PEG qui permet par un effet mécanique de diminuer la charge en spores, en formes végétatives de *C.difficile* ainsi que les autres espèces du microbiote. La coloscopie présente l'avantage à la fois d'ensemencer tout le côlon du receveur par le microbiote du donneur et de visualiser l'aspect de la muqueuse colique et les lésions potentiellement présentes. En revanche, elle demande plus de préparation, une sédation et elle peut s'avérer risquée en cas de distension colique ou de colites sévère [42][44].

❖ Etudes cliniques et effets de la TMF

a) Une méta-analyse conclue sur différents points de la TMF

*Une méta-analyse regroupe les résultats de plusieurs études sur la TMF dans les ICD récurrentes. Sur les 273 patients ayant reçus la TMF, 245 ont eu une résolution clinique de l'infection à CD. Par ailleurs la voie coloscopique a tendance à montrer une légère efficacité supérieure que la voie haute. Aucune différence d'efficacité n'est observée entre la TMF provenant d'un donneur anonyme ou sélectionné. Enfin aucun effet indésirable n'a été reporté. La FMT est une thérapie prometteuse dans les ICD récurrentes, cependant il existe encore des flous sur les effets et la sureté au long terme [46].

b) TMF comparé aux autres traitements dans l'ICD récurrente .

*Une étude est réalisée sur des patients atteints d'ICD récurrente. Soit ils reçoivent une FMT avec un traitement court de vancomycine (125mg 4x/j pendant 3j) et une à plusieurs infusions de selles par coloscopie, soit ils reçoivent uniquement de la vancomycine (125mg 4x/j pendant 10j puis 125 à 500mg/j tous les 2-3j pendant 3 semaines). On remarque alors dans le groupe FMT que 18 patients sur 20 (90%) ont une résolution des diarrhées associées à l'ICD et 5 patients sur 7 atteints de colites pseudomembraneuses ont aussi une résolution des diarrhées à l'ICD. A l'inverse dans le groupe vancomycine seulement 5 patients sur 19 (26%) ont une résolution de l'ICD. La FMT par voie coloscopique montre une meilleure efficacité que le traitement par vancomycine dans les ICD récurrentes [46].

*Une autre étude compare trois stratégies de traitement sur des patients atteints d'ICD récurrentes. Soit il s'agit d'un court traitement de vancomycine suivi d'un lavage intestinal suivi d'une TMF (1) soit d'un traitement par vancomycine seul (2) soit un traitement par vancomycine suivi par un lavage intestinal (3). Dans le groupe (1) on observe une résolution de la diarrhée associée à l'ICD chez 13 patients sur 16 (81%) après une infusion de selles, et chez 2 patients sur 3 restants après une deuxième infusion de selles. Dans le groupe (2) 4 patients sur 13 ont eu une résolution et dans le groupe (3) 3 patients sur 13. Par ailleurs dans le groupe (1), on observe une augmentation de la diversité bactérienne fécale similaire à celle du donneur avec notamment une augmentation des *Bacteroidetes* et des espèces de *Clostridium clusters* IV et XIV ainsi qu'une diminution des *Proteobacteria* [46]. En raison de son succès, cette étude a été une des premières à être interrompue prématurément, sa poursuite aurait été non éthique.

c) TMF, origine des selles et mode d'administration

*Une TMF est réalisée à partir d'un inoculum de selles congelées provenant d'un donneur volontaire soit par coloscopie soit par voie nasogastrique. On observe alors une résolution de la diarrhée associée à l'ICD chez 8 patients sur 10 (groupe coloscopie) et 6 patients sur 10 (groupe nasogastrique) après un premier traitement. Pour les autres un deuxième traitement est réalisé et on observe une résolution chez 4 patients sur les 5 soit un taux de réussite de plus de 90%. Par ailleurs aucun effet indésirable grave n'est observé [46]

d) TMF et cas particuliers

✓ Les infections sévères et complications (ICD fulminante...)

*Le TMF est réalisé par coloscopie à plusieurs reprises en association à la vancomycine chez des patients atteints d'ICD sévère ou sévère avec complications et réfractaires aux traitements. On remarque alors une réponse du TMF chez 93% des patients (27/29) dont 100% dans le

groupe ICD sévère et 89% dans le groupe sévère avec complications. Après la TMF, la mortalité est de 7% et 76% des patients ont survécus après 3 mois [46].

*Une étude montre les résultats du TMF chez des patients (environ 73 ans) atteints d'ICD sévères réfractaires. La voie naso-gastrique est utilisée et les selles proviennent d'un donneur anonyme. On observe alors une résolution dans 79% des cas (11/14) avec un maintien de la résolution 100 jours après le TMF. La tolérance est très bonne. La mortalité à 30 jours est de 29% mais aucune mort n'est due à l'ICD ou au TMF [46].

✓ Les personnes âgées

Dans une récente méta-analyse sur le TMF dans l'ICD, 8 études sur 11 sont réalisées sur des patients de plus de 65 ans avec un taux de résolution de 90% [46]. Il en est de même avec plusieurs études sur des personnes âgées de plus de 65 ans en cas d'ICD sévère avec des taux de réussite d'environ 83% au premier traitement et de 95% au deuxième traitement [46].

✓ Les immunodéprimés

*Le TMT a été réalisé chez un patient immunodéprimé atteint d'une infection sévère réfractaire à CD par voie naso-juvénale. On remarque alors une résolution des symptômes en 48h [46]. Une autre étude a utilisé le TMF chez un patient atteint d'une entérocolite fulminante à CD. En 36h, la pression artérielle s'est stabilisée, la formule leucocytaire s'est normalisée, l'oligurie s'est résolue, la fonction intestinale s'est rétablie et la distension abdominale a diminuée [46].

*Une étude réalisée sur 80 immunodéprimés (VIH, transplantation d'organes, cancer, traitement immunosuppresseur) montre un taux de réussite du TMF de 78% après la première infusion (résolution clinique de l'ICD) et de 88% après une deuxième infusion. Pas d'effet indésirable infectieux n'a été reporté [46].

Les études montrent des taux de réussite de plus de 90% de la TMF chez des patients atteints d'ICD. Le mécanisme exact de la résolution clinique est inconnu et demande des investigations supplémentaires

❖ Limites

a) Aspect éthique

On peut résumer les principaux problèmes éthiques du TMF dans ce tableau :

Table 1. Fecal microbiota transplantation's ethical issues.

Main ethical issues
Donor's recruitment
Safety
Informed Consent
Other ethical issues
Microbiota fingerprint
Microbiota commercialization

Figure 48 : Problèmes éthiques du TMF.

Ainsi il faut considérer certains points éthiques concernant le donneur et le receveur.

Le donneur ; Ils doivent être conscient que leurs selles seront soumis à la recherche de parasites, VIH, VHC et d'autres pathogènes. Ils doivent aussi savoir que lors de recherches génétiques, le microbiote scruté peut révéler la susceptibilité d'une pathologie. Dès lors ils ont le droit de savoir ou de ne pas savoir ces résultats.

Le receveur ; Les patients doivent être informés de la procédure et qu'ils reçoivent des selles d'un donneur sain. Ils doivent aussi savoir de l'absence de données de sécurité au long terme [47].

b) La difficulté de trouver des donneurs éligibles

Le recrutement des donneurs est un challenge. En effet une étude australienne montre que 10% sur 116 candidats ont été retenus. Similairement seulement 6% des candidats au don de selles sont acceptables dans une autre étude [46]. Plus de 50% des donneurs éligibles échouent aux tests des selles (*Rotavirus*, entérocoques vancomycine résistant (VRE), *C.difficile*, *H.pylori*, *Blastocystis hominis*, *trophozoites*). Par ailleurs 1/3 des donneurs potentiels sont disqualifiés à cause par exemple de l'IMC, l'historique antibiotique, l'historique sexuel...[46]

c) Responsabilité en cas de dommage

Le TMF engage un régime spécifique de responsabilité de son fournisseur. En cas de dommage lié au transplant, la responsabilité dépend de la qualification qu'on donne à ce dernier. Ici il s'agit d'un médicament donc dès lors qu'un risque d'effet indésirable est documenté et signalé, et que le patient dûment informé a consenti de façon éclairée au soin, ce risque n'est plus de nature à surprendre son « attente légitime de sécurité ». Il est donc nécessaire d'informer obligatoirement quant aux effets indésirables et aux risques potentiels liés au TMF. D'autre part tout risque ne peut pas être connu d'emblée, c'est pourquoi il existe en droit de responsabilité civile, l'exception de « risque-développement » (le producteur est responsable de plein droit à moins qu'il ne prouve que l'état des connaissances scientifiques et techniques, au moment où il a mis le produit en circulation, n'a pas permis de déceler l'existence du défaut) sauf si le dommage est causé par les produits issus du corps humain. Dans ce cas le « risque-développement » ne peut être invoqué. Est-ce le cas du TMF ? [45]
Le TMF n'étant pas encore bien définie (classification, protocoles...), l'aspect juridique en cas de problème reste assez ambiguë.

d) Effets indésirables

Les évènements indésirables potentiels d'un TMF peuvent être liés à la procédure elle-même ou liés à l'administration de la suspension de matières fécales provenant d'un donneur. Les deux voies d'administration ont leurs propres risques (surtout théoriques). Lors de la coloscopie il existe un faible risque de perforation ou d'hémorragie. Lors d'une administration par voie haute il existe un risque de vomissement. A ce jour peu d'effets indésirables propres au TMF et aucun effet indésirable grave n'ont été rapportés. On retrouve quelques diarrhées mineures ou constipation, des crampes abdominales, des éructations le jour du TMF. Aucune transmission de maladies infectieuses n'a été signalée dans les études [44][42].

e) Pharmacovigilance

Les selles sont constituées de cellules humaines, d'une mixture complexe de microorganismes et de métabolites [46]. Ainsi le TMF ne peut pas exclure l'apparition de pathologies et/ou d'effets indésirables connus ou non à long terme (inflammation, cancer, infection...) mais aussi le risque potentiel de transfert d'une dysbiose avec des conséquences à long terme[42]. On ne peut pas exclure non plus le risque de d'infection, de réaction allergique ou de transmission de prédisposition aux pathologies chroniques [8].

Il convient donc de prévoir une surveillance des patients faisant l'objet d'un TMF, non seulement dans les heures suivant la procédure mais aussi à long terme. Ainsi le TMF doit faire l'objet d'une évaluation continue du rapport entre le bénéfice et le risque afin de garantir la sécurité des patients. Chaque professionnel de santé est donc tenu de notifier sans délai aux centres de pharmacovigilance tout effet indésirable susceptible d'être dû au TMF. L'analyse des signalements de pharmacovigilance permet ainsi d'actualiser les informations sur le TMF (effets indésirables, précautions d'emploi, mises en garde, contre-indications, interactions médicamenteuses...) qui sont importantes pour prescrire avec un maximum de sécurité d'emploi [44].

❖ Perspectives

a) Extension vers d'autres modes d'administration

De nouvelles études utilisent des modes d'administration différents de la voie naso-gastrique ou coloscopique comme par exemple la voie orale. Elle peut être réalisée par une capsule TMF contenant la préparation de selles (congelée ou lyophilisée). Une étude sur 20 sujets montre que l'administration de 30 capsules TMF sur 2 jours montre une efficacité dans 70% des cas et dans 90% des cas après une réadministration chez les non-répondeurs [46]. Par ailleurs l'administration de capsules TMF congelées montre un succès cumulatif de 89% (13/19 après un premier traitement et 4/6 après un second traitement) [46]. D'autres études testent des produits lyophilisés.

b) Synthétiser un médicament

A l'avenir il serait intéressant de pouvoir élaborer des dérivés de selles ou encore des consortiums de microbiote synthétique. Ces avancées pourraient permettre une meilleure sécurité (contrôle des ingrédients) du produit et une meilleure acceptabilité. Mais pour cela il faut connaître davantage le mécanisme précis d'action de la TMF actuelle pour conserver la même efficacité [46].

c) Extension d'indications

L'IBD ; Une récente méta-analyse incluant 18 études montre une rémission clinique et une réduction de l'utilisation d'anti-inflammatoire après le TMF dans 45% des cas [8].

Le TMF par voie naso-juvénale a été utilisé chez des patients atteints de rectocolite hémorragique. 30.4% (7/23) contre 20% (5/25 groupe placebo) sont en rémission ce qui n'est pas assez significatif [8].

L'IBS ; Une petite étude sur 13 patients réfractaires aux traitements IBS subissent un TMF. 70% ont reportés une résolution des symptômes [46].

Obésité ; Un TMF a été réalisé chez des sujets males atteints d'un syndrome métabolique. Six semaines après l'infusion de selles provenant d'un donneur, on a observé une meilleure sensibilité à l'insuline et simultanément une augmentation des bactéries productrices de butyrate chez les sujets TMF [12].

Les études commencent à se développer sur l'utilisation du TMF dans d'autres pathologies impliquant une dysbiose. Cependant ces études sont encore au stade expérimental mais montre une voie prometteuse. Des recherches sont à approfondir et on pourrait aussi penser au TMF dans les pathologies métaboliques (obésité...), les infections récidivantes ...

L'ICD représente un problème majeur de Santé publique, notamment par l'émergence de clones hypervirulents et hyperépidémiques, le risque de récurrences, et l'augmentation des échecs des thérapies standards. C'est ainsi que le transfert de microbiote fécal (TMF), connaît un regain d'intérêt sans précédent. A ce jour, le TMF est un traitement reconnu dans les infections récurrentes à *C.difficile*, malgré un cadre réglementaire encore flou et une absence de standardisation de la technique. Les études cliniques confirment ainsi les résultats spectaculaires du TMF sur les ICD récurrentes mais aussi sévères, réfractaires ou avec complications chez tous types de patients (immunodéprimés, âgés...). Il existe cependant certaines limites à cette technique que se soit sur l'aspect éthique, sur les responsabilités mais aussi sur les risques potentiels d'effets indésirables au long cours connus ou non. Il est donc indispensable de suivre certaines règles notamment le consentement éclairé du patient, de mettre en place un suivi au long cours et de continuer à approfondir les recherches. Par ailleurs ces résultats ouvrent des perspectives d'amélioration de la méthode (administration, produits synthétiques...) mais aussi d'étendre la technique à d'autres types de pathologies (IBD, IBS, obésité...).

Conclusion générale

A l'heure de la technologie, on peut considérer le microbiote intestinal comme une entité « connectée » à l'organisme. Les recherches sur le microbiote intestinal ne cessent d'avancer et on sait maintenant déterminer de mieux en mieux sa composition et ses fonctions métaboliques, de défense et immunitaires sur l'organisme. De nouvelles découvertes montrent aussi une connection entre le microbiote intestinal, l'intestin et le cerveau (axe intestin-cerveau) qui méritent d'être approfondies dans les recherches du futur.

« Le sage est celui dont l'intestin fonctionne bien »

Au vu de ces constatations, il est indispensable de maintenir ce microbiote intestinal en bonne santé c'est-à-dire de le garder équilibré. Cependant au fil de la vie, l'organisme est mis à rude épreuve par de multiples facteurs comme l'alimentation déséquilibrée, la surconsommation médicamenteuse, le vieillissement du corps ou encore la présence de pathologies... et par conséquent le microbiote intestinal est le témoin direct de ces « mauvaises » habitudes.

Comme le montre cette thèse, il est aujourd'hui prouvé que le déséquilibre du microbiote intestinal est impliqué dans l'initiation et/ou l'entretien de pathologies quelles soit intestinales, métaboliques ou extra-intestinales. Il faut juste préciser que cette implication est certaine mais le rôle exact du microbiote dans ces pathologies est encore un peu flou.

La recherche de l'équilibre du microbiote intestinal doit donc être une des priorités dans le maintien de la santé de l'organisme ou le rétablissement de cette santé.

De nombreux produits comme les probiotiques, les prébiotiques, les synbiotiques sont commercialisés. Des nouveaux produits sont à l'essai comme les postbiotiques. Des nouvelles thérapeutiques se développent comme la transplantation fécale. Tous ont pour but d'agir au cœur du microbiote intestinal, à chacun son mode d'action. Les études cliniques valides montrent une efficacité que ce soit des probiotiques, des prébiotiques ou des synbiotiques dans diverses pathologies seuls ou en association avec d'autres thérapeutiques avec quand même une légère efficacité supérieur des synbiotiques. Cependant il faut rester prudent sur les produits sur le marché et vérifier leur qualité scientifique. Par ailleurs il reste aussi des flous ou un manque d'étude sur l'efficacité de ces produits dans certaines pathologies. Mais ces produits restent une alternative thérapeutique que l'on peut utiliser avec sécurité. Les postbiotiques sont très prometteurs mais seulement en phase d'étude. Ils pourraient présenter un intérêt thérapeutique important sans les effets indésirables des autres produits. Enfin la transplantation fécale montre des résultats spectaculaires dans l'ICD mais une certaine inconnue sur les effets à long terme. Les recherches doivent continuer pour affirmer et/ou confirmer les effets des probiotiques, prébiotiques, synbiotiques, postbiotiques et de la transplantation fécale et pourquoi pas les étendre à d'autres pathologies.

Ces produits sont probablement les traitements du futur dans la recherche de l'équilibre du microbiote intestinal témoin de la bonne santé de l'organisme.

Pourrons nous dans le futur créer des probiotiques, prébiotiques, synbiotiques ou postbiotiques « sur mesure » en fonction du profil bactérien du patient ?

Annexes

Annexe A

NB : Voir annexe Abis pour la liste des abréviations de ce tableau

Classes d'antibiotiques	Sous classe	Exemples	Effet	Mode d'action	Spectre d'action (espèces sensibles) à titre indicatif, petites variations entre les molécules d'une même famille
B lactamines (Pénicillines)	Benzylpénicilline G	Pénicilline G	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Aérobies G+ (C.dip/E.rhu/L.mon/S/S.pne) Aérobies G- (N.gon/N.men/M.lac/P.mul/S.mon) Aérobies (A.isr/C/C.per/Fus/Pep/Por/Pre/P.acn/Vei) Autres (Bor/Lep/Tre)
B lactamines (Pénicillines)	Phénoxyéthylpénicilline V	Oracilline	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Aérobies G+ (C.dip/S.pyo) Anaérobies (F.nuc) Autres (Tre)
B lactamines (Pénicillines)	Pénicilline M	Orbénine (Cloxacilline)	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Aérobies G+ (S.pyo et Staphylocoques sensibles) Anaérobies (C.per)

B lactamines (Pénicillines)	Aminopénicilline A	Amoxicilline	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Large spectre, Aérobie G+ (C.dip/E.fae/E.rhu/L.mon/N.ast/S/S.bov/S.pne) Aérobie G- (A.act/B.per/Cap/Eik/E.col/H.inf/H.par/H.pyl/N.gon/N.men/P.mul/P.mir/Sal/Shi/S.mon/V.cho) Anaérobie (Act/C/Eub/Fus/Pep/Por/Pre/P.acn/Vei) Autres (Bar/Bor/Lep/Tre)
B lactamines (Pénicillines)	Carboxypénicilline	Ticarpén (Ticarcilline)	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Large spectre, Aérobie G+ (C.dip/L.mon/N.ast/S/S.pne) Aérobie G- (Aci/B.per/C.fre/Ent/E.col/H.inf/M.mor/P.mir/P.vul/Pro/P.aer/Sal/Ser/Shi/V.cho) Anaérobie (Act/B.fra/C/Fus/Pep/Pre)
B lactamines (Pénicillines)	Uréidopénicilline	Baypén (Mezlocilline)	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	idem carboxypénicilline mais attention résistance en fonction géographie et du temps
B lactamines (Céphalosporines)	1° génération	Céfaclor Céfatrizine Cefadroxil Céfalexine Céfazoline ...	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Large spectre, Aérobie G+ (C.dip/P.acn/SmetiS/S/S.pne) Aérobie G- (B.cat/C.kos/E.col/H.inf/Kle/N.gon/Pas/P.mir) Anaérobie (C.per/Fus/Pep/Pre)
B lactamines (Céphalosporines)	2° génération	Céfuroxime Céfoxitine	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Large spectre, Aérobie G+ (C.dip/SmetiS/S/S.pne) Aérobie G- (B.cat/C.kos/E.col/H.inf/H.par/Kle/N.gon/Pas/P.mir/Sal/Shi) Anaérobie (C.per/Fus/P.acn/Pep/Pre)

B lactamines (Céphalosporines)	3° génération	Ceftriaxone Céfixime Cefpodoxime Céfotiam...	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Large spectre, Aérobie G+ (SmetiS/S/S.pne) Aérobie G- (B.bur/B.cat/C.fre/C.kos/Ent/E.col/H.inf/Kle/M.mor/N.gon/N.men/P.mir/P.mul/P.vul/Pro/Sal/Ser/Shi/Yer) Anaérobie (C.per/Fus/Pep/Pre)
B lactamines (Céphalosporines)	4° génération	Céfépime Cefpirome	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Très large spectre, Aérobie G+ (SmetiS/S/S.pne) Aérobie G- (A.bau/B.cat/C.fre/C.kos/Ent/E.col/H.inf/Kle/M.mor/Nei/P.aer/P.mir/P.vul/Pro/Sal/Ser/Shi) Anaérobie (C.per/Fus/Pep/Pre)
B lactamines (Carbapénèmes)		Imipénème Méropénème Ertapénème..	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Très large spectre, Aérobie G+ (E.fae/SmetiS/S/S.pne/S.pyo/S.gpe viridans) Aérobie G- (C.fre/E.aer/E.clo/E.col/H.inf/K.oxy/K.pne/M.cat/S.mar) Anaérobie (B.fra/C.per/Fus/Pep/P.asa/Pre/Vei)
B lactamines (Monobactams)		Aztréonam	Bactéricide	inh de la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne	Limité aux aérobie G- (B.cat/C.fre/C.kos/Ent/E.col/H.inf/Kle/M.mor/Nei/P.mir/P.vul/Pro/P.aer/Sal/Ser/Shi/Yer)

B lactamines (association)	Pénicillines + inh B lactamases	amox/ac clav ampicilline/sulbactam ticarcilline/ac clav ...	Bactéricide	pénicilline inh la synthèse du peptidoglycane de la paroi bactérienne l'ac clav ou sulbactam ou tazobactam sont des inh des B lactamases	spectre d'action de la pénicilline + action sur les souches résistantes par production de pénicillinases (H.inf/B.cat/E.col/P.mir/P.vul/Kle/B.fra/SmetiS/gonocoques)
Aminosides		Gentamicine Tobramyine Amikacine..	Bactéricide	Inh de la synthèse protéique des bactéries par fixation au ribosome 30 S	Spectre large, Anaérobies G+ (Cor/L.mon/SmetiS/SmetiR) Aérobie G- (Aci/A.bau/B.cat/Cam/C.fre/C.kos/E.aer/E.clo/E.col/Fra/H.inf/Kle/M.mor/P.mir/P.vul/P.aer/Sal/Ser/Shi/Yer) Autres (Bar)
Glycopeptides		Vancomycine Téicoplanine	Bactéricide	Inh de la biosynthèse de la paroi bactérienne	Spectre étroit, Aérobie G+ (Bacillus/enterocoques/Listeria/R.equ/SmetiS/SmetiR/S/S.pne) Anaérobies (C/Eub/Pep/P.acn)
Cyclines		Doxycycline Minocycline	Bactériostatique	Inh de la synthèse protéique des bactéries	Spectre large, Anaérobies G+ (Bacillus/B.ant/Ent/SmetiS/SmetiR/Streptococcus A et B/S.pne) Aérobie G- (B.cat/Bru/E.col/H.inf/Kle/N.gon/Pas/V.chol) Anaérobies (P.acn) Autres (B.bur/Chl/C.bur/Lep/M.pne/Ric/T.pal/U.ure)

Macrolides	Macrolides "vrais"	Spiramycine Josamycine roxithromycine Erythromycine Clarithromycine Azithromycine ...	Bactériostatique	Altération de la synthèse des protéines bactériennes par fixation au niveau des sous unités ribosomales 50 S	Aérobies G+ (B.cer/C.dip/entérocoques/R.equ/SmetiS/SmetiR/Strptococcus B/S/S.pne/S.pyo) Aérobies G- (B.per/B.cat/Cam/Leg/Mor) Anaréobies (Act/Bac/Eub/Mob/Pep/Por/Pre/P.acn) Autres (B.bur/Chl/Cox/Lep/M.pne/T.pal)
Macrolides (apparenté)	Kétolides	Télithromycine	Bactériostatique	inhibe la synthèse protéique par interaction avec les domaines II et V de la fraction 23 S de l'ARN ribosomal de la sous-unité 50 S du ribosome. Bloque la formation des sous-unités 50 S et 30 S.	Aérobies G+ (S.aureus métiS/S.pne/S/Sgpe viridans) Aérobies G- (H.inf/H.par/L.pne/M.cat) Autres (C.pne/C.psi/M.pne)
Macrolides (apparenté)	Streptogramines	Pristinamycine	Bactériostatique voir bactéricide (forte concentration tissulaire)	inh la synthèse protéique des bactéries par fixation sur les sous unités ribosomale 50S	Spectre d'action original, Aérobies G+ (B.ant/B.cer/Cor/E.faec/SmetiS/SmetiR/S/S.pne/) Aérobies G- (B.per/Hae/Leg/M.cat/Nei) Anaréobies (Act/C.per/Eub/Fus/Mob/Pep/Por/Pre/P.acn) Autres (C.tra/C.pne/Cox/M.hom/M.pne/U.ure)

Macrolides (apparenté)	Lincosamides	Clindamycine	Bactéricide	Inh de la synthèse protéique par fixation au niveau des sous unité ribosomales 50S	Spectre d'action original, Aérobie G+ (C.dip/E.faec/Ery/SmetiS/SmetiR/S/S.pne/S.pyo) Aérobie G- (Cam) Anaérobie (Act/Bac/Cap/C(sf difficile)/C.per/Eub/Fus/G.vag/Mob/Pep/Pro/Pre/P.acn/Vei) Autres (C.tra/Lep/M.hom/M.pne)
Antibactériens macrocycliques		Fidaxomicine	Bactéricide	Inh de la synthèse de l'ARN par l'ARN polymérase en se fixant sur cette ARN polymérase	Spectre étroit, action sur clostridium difficile
Quinolones	Fluoroquinolones (2° génération)	Ciprofloxacine Levofloxacine Ofloxacine ..	Bactéricide	Inh de l'ADN gyrase bactérienne (inh réplication, transcription, réparation/recombinaison de l'ADN bactérien)	Spectre action très large, Aérobie G+(B.ant/E.fae/SmetiS) Aérobie G- (Aer/Bru/C.kos/F.tul/H.duc/H.inf/Leg/M.cat/N.men/Pas/Sal/Shi/Vib/Y.pes/inconstant sur A.bau/B.cep/Cam/C.fre/E.aer/E.clo/E.col/K.oxy/K.pne/M.mor/N.gon/P.mir/P.vul/Pro/P.aer/P.flu/S.mar) Anaérobie (Mob/inconstant sur Pep/P.acn) Autres : C.tra/C.pne/M.hom/M.pne)
	Autres Quinolones (1° génération)	Acide pipemidique Fluméquine	Bactéricide	Inh de l'ADN gyrase bactérienne	Spectre étroit uniquement dans les infections urinaires, Aérobie G- (M.mor et inconstant sur (Aci/C.fre/E.clo/E.col/Kle/P.mir/P.vul/Pro/Ser)

Sulfamides		Sulfaméthoxazole Sulfadoxine ...	Bactériostatique seul mais bactéricide en association avec triméthoprim	Inh de la synthèse de l'acide folique par inh de la dihydrofolate synthétase (triméthoprim = inh de la dihydrofolate réductase = synergie d'action)	Spectre action large (surtout si association au triméthoprim mais acquisition de résistances importantes, Aérobie G+(Cor/Enté/Lis/S.aur/SmétiS/Str/S.pne) Aérobie G- (C.fre/Ent/E.col/Hae/Kle/Mor/Pas/Pro/Sal/Shi) Anaérobie (Pep) Autres : (Myc sf avium et tuberculosis/Bor/I.bel/P.car/Spi/Tox)
Rifamycine		Rifampicine	Bactéricide	Formation d'un complexe stable avec la RNA polymérase des bactéries	Aérobie G+ (B.ant/L.mon/R.equ/SmetiS/SmetiR/Streptococcus A,B,C,G/S.pne/S.gpe viridans) Aérobie G- (B.cat/Bru/H.inf/H.duc/N.gon/N.men/Pas) Anaérobie (Bac/C.dif/C.per/Fus/Pep/P.acn) Autres (C.tra/C.psi/C.bur/Leg/M.bov/M.kan/M.tub)
Antituberculeux		Isoniazide	Bactéricide	Action sélective sur les bacilles de Koch	Spectre étroit sur Mycobactéries typiques
		Ethambutol	Bactériostatique	Action sélective	Spectre étroit sur Mycobactéries typiques et atypiques
		Pyrazinamide	Bactéricide	Action sélective et particulièrement sur les bacilles intracellulaires	Spectre étroit Mycobacterium tuberculosis et africanum

Nitro 5 imidazolés		Métronidazole Ornidazole	Antibactérien bactéricide et Antiparasitaire	Réduction intracellulaire en produits cytotoxiques	Spectre action original Aérobie G+ (H.pyl) Anaérobies (B.fra/Bif/Bil/C/C.dif/C.per/Eub/Fus/Pep/ Pre/Por/Vei) Parasites (Entamoeba histolytica/Giardia intestinalis/Trichomonas vaginalis)
Autres	Fusidanes	Acide fusidique	Bactériostatique	Inh la traduction de l'ARN messager	Spectre étroit Aérobie G+ (S.aur/Sta) Anaérobies (C.dif/C.per/Pep/P.acn)
	Fosfomycine	Monuril (+trométamol)	Bactéricide	Inh de l'enzyme pyruvyl transférase catalysant la première étape de la synthèse de la paroi bactérienne	Spectre large sur les Gram + et Gram - et principalement les germes responsables d'infections urinaires (E.col/Pro/Kle/Ent/Pse/Ser/Enté/Sta)
	Lipopeptides cycliques	Daptomycine	Bactéricide	Liaisons aux membranes bactériennes des cellules entraînant une dépoliarisation et donc une inh de la synthèse protéique de l'ADN et l'ARN = Mort cellulaire	Actif sur les Gram+ uniquement (Sta/S/C.per/Pep)
	Phénicolés	Thiamphénicol	Bactériostatique	Action au niveau des sous unités ribosomales 50S	Spectre action très large, Aérobie G+(Cor/Enté/Ery/Sta/S/S.pne) Aérobie G- (Aer/Bru/B.pse/Cam/Cit/Ent/E.col/H.inf/ Kle/M.mor/N.gon/N.men/Pas/P.mir/P.vul/ Sal/Shi/S.mal) Anaérobies (Bac/C/Fus) Autres (Chl/M.hom/M.pne/Ric/U.ure)

	Polypeptides cycliques	Colistiméthate	Bactéricide	Action sur les phospholipides de la membrane externe des bactéries devenant anormalement perméable et ayant des propriétés curarisantes	Spectre d'action étroit sur les Aérobie Gram - (A.xyl/H.inf/P.aer/S.mal)
	Oxazolidinones	Linézolide		Inh de la synthèse des protéines bactériennes par fixation sur le ribosome bactérien + faible inh de la monoamine oxydase	Spectre d'action sur les aérobies G+ (E.fae/E.faec/S.aur/S.aga/S.pne/S.pyo/Sgpe C et G) Anaérobies (C.per/Pep)

Annexe Abis :

Liste des abréviations du tableau en annexe A

Aérobies G+

B.ant : *Bacillus anthracis*
B.cer : *Bacillus cereus*
Cor : *Corynebacterium*
C.dip : *Corynébactérium diptheriae*
Enté : Entérocoques
E.fae : *Enterococcus faecalis*
E.feac : *Enterococcus faecium*
Ery : *Erysipelothrix*
E.rhu : *Erysipelothrix rhusiopathiae*
L.mon : *Listeria monocytogenes*
N.ast : *Nocardia asteroides*
R.equ : *Rhodococcus equi*
S.aur : *Staphylococcus aureus*
SmetiS : Staphylocoques méti-S
SmetiR : Staphylocoques méti-R
Sta : Staphylocoques
S : *Streptococcus*
S.bov : *Streptococcus bovis*
S.pne : *Streptococcus pneumoniae*
S.pyo : *Streptococcus pyogenes*

Aérobies G-

Aci : *Acinetobacter*
A.act : *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
A.bau : *Acinetobacter baumannii*
Aer : *Aeromonas*
A.xyl : *Alcaligenes xylosoxidans*
B.per : *Bordetella Pertussis*
B.bur : *Borrelia burgdorferi*
B.cat : *Branhamella catarrhalis*
Bru : *Brucella*
B.cep : *Burkholderia cepacia*
B.pse : *Burkholderia pseudomallei*
Cam : *Campylobacter*
Cap : *Capnocytophaga*
C.fre : *Citrobacter freundii*
C.kos : *Citrobacter koseri*
Cit : *Citrobacter*
Eik : *Eikenella*
Ent : *Enterobacter*
E.aer : *Enterobacter aerogenes*
E.clo : *Enterobacter cloacae*
E.col : *Escherichia coli*

F.tul : *Francisella tularensis*
Hae : *Haemophilus*
H.duc : *Haemophilus ducreyi*
H.inf : *Haemophilus influenzae*
H.par : *Haemophilus para-influenzae*
H.pyl : *Helicobacter Pylori*
Kle : *Klebsiella*
K.oxy : *Klebsiella oxytoca*
K.pne : *Klebsiella pneumoniae*
Leg : *Legionella*
L.pne : *Legionella pneumophila*
Mor : *Moraxella*
M.cat : *Moraxella catarrhalis*
Mor : *Morganella*
M.mor : *Morganella morganii*
N.gon : *Neisseria gonorrhoeae*
N.men : *Neisseria meningitidis*
M.lac : *Moraxella lacunata*
Pas : *Pasteurella*
P.mul : *Pasteurella multocida*
Pro : *Proteus*
P.mir : *Proteus mirabilis*
P.vul : *Proteus vulgaris*
Pro : *Povidencia*
P.aer : *Pseudomonas aeruginosa*
P.flu : *Pseudomonas fluorescens*
Sal : *Salmonella*
Ser : *Serratia*
S.mar : *Serratia marcescens*
Shi : *Shigella*
S.mal : *Stenotrophomonas maltophilia*
S.mon : *Streptobacillus moniliformis*
V.cho : *Vibrio cholera*
Yer : *Yersinia*
Y.pes : *Yersinia pestis*

Anaérobies

Act : *Actinomyces*
A.isr : *Actinomyces israelii*
Bac : *Bacteroides*
B.fragilis : *Bacteroides fragilis*
Bif : *Bifidobacterium*
Bil : *Bilophila*
Cap : *Capnocytophaga*
C : *Clostridium*
C.dif : *Clostridium difficile*

C.per : *Clostridium perfringens*
Eub : *Eubacterium*
F.nuc : *Fusobacterium nucleatum*
Fus : *Fusobacterium*
G.vag : *Gardnerella vaginalis*
Mob : *Mobiluncus*
Pep : *Peptostreptococcus*
Por : *Porphyromonas*
P.asa : *Porphyromonas asaccharolytica*
Pre : *Prevotella*
P.acn : *Propionibacterium acnes*
Vei : *Veillonella*

Autres

Bar : *Bartonella*
Bor : *Borrelia*
B.bur : *Borrelia burgdorferi*
Chl : *Chlamydia*
C.tra : *Chlamydia trachomatis*
C.pne : *Chlamydophila pneumoniae*

C.psi : *Chlamydia psittaci*
C.bur : *Coxiella burnetii*
I.bel : *Isospora belli*
Leg : *Leginella*
Lep : *Leptospira*
M.bov : *Mycobacterium bovis*
M.kan : *Mycobacterium kansasii*
M.tub : *Mycobacterium tuberculosis*
Myc : *Mycobacterium*
M.hom : *Mycoplasma hominis*
M.pne : *Mycoplasma pneumoniae*
P.car : *Pneumocystis carinii*
Ric : *Rickettsia*
Spi : Spirochètes
Tox : *Toxoplasma*
Tre : *Treponema*
T.pal : *Treponema pallidum*
U.ure : *Ureaplasma urealyticum*

Annexe B

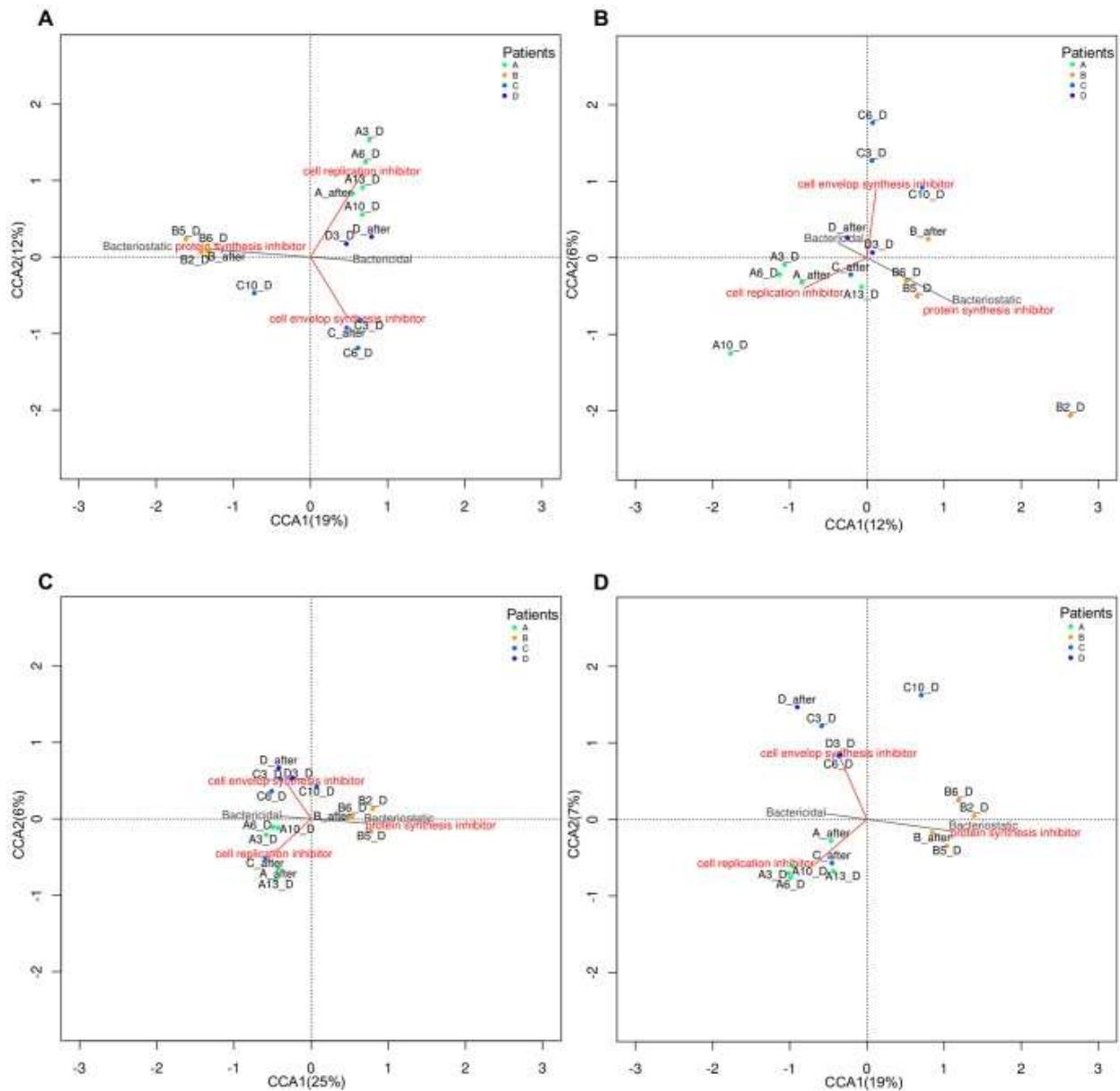


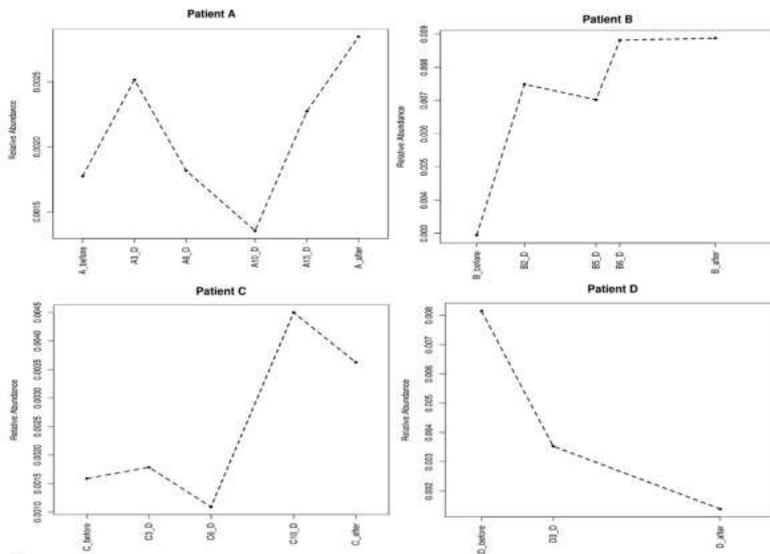
Figure 49 : Représentation des profils des patients A, B, C et D.

Canonical Correspondence Analysis (CCA) of the patients A, B, C and D in the follow-up study.

(A) total microbiota, (B) active microbiota, (C) genes and (D) gene taxonomy. The antimicrobial effect is represented as a vector with two levels (bacteriocidal and bacteriostatic). The mode of AB action is represented as a vector with three levels (cell envelop synthesis inhibitor, cell replication inhibitor and protein synthesis inhibitor).

Annexe C

A



B

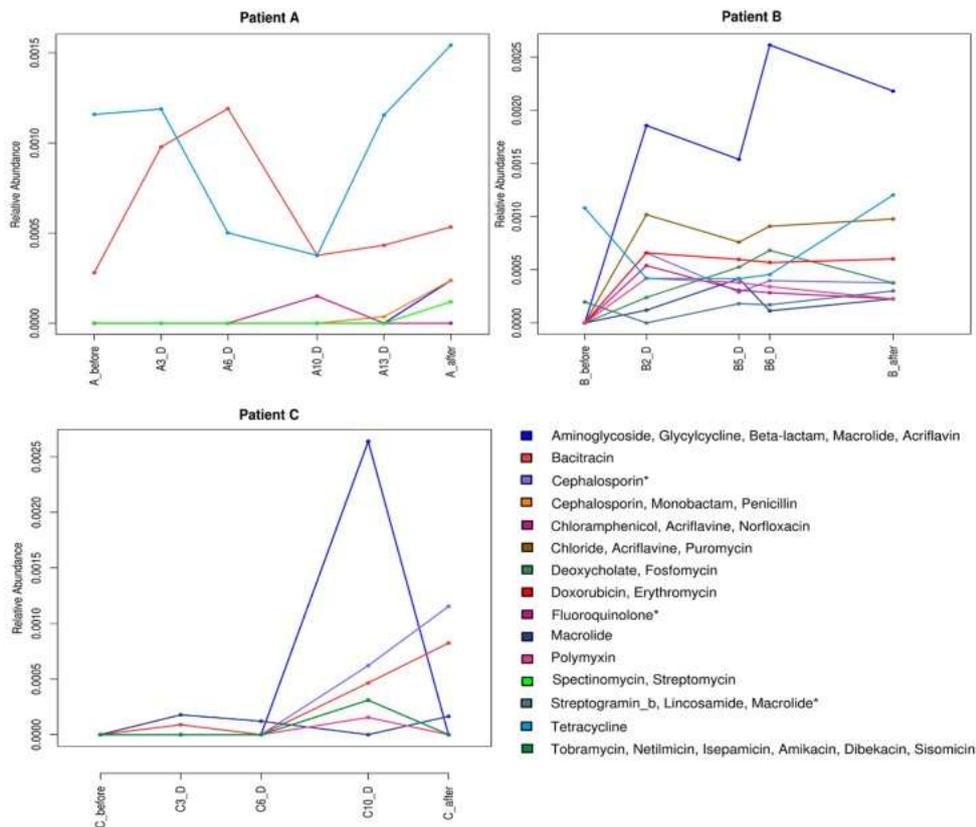


Figure 50 : Profil de gènes de résistance.

Resistance gene profiles.

(A) The dashed lines represent the relative abundance of the total number of resistance genes for patients A, B, C, and D. (B) Relative abundance of the resistance genes throughout AB treatment for patients A, B, and C. The symbol "*" highlights the resistance gene profiles which coincide with the antibiotic administered to patients C, A and B, respectively.

Bibliographie

- [1] Y. K. Chan, M. Estaki, and D. L. Gibson, “Clinical consequences of diet-induced dysbiosis,” *Ann. Nutr. Metab.*, vol. 63 Suppl 2, pp. 28–40, 2013.
- [2] A. Salonen and W. M. de Vos, “Impact of diet on human intestinal microbiota and health,” *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, vol. 5, pp. 239–262, 2014.
- [3] N. Salazar, S. Arboleya, L. Valdés, C. Stanton, P. Ross, L. Ruiz, M. Gueimonde, and C. G. de Los Reyes-Gavilán, “The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations,” *Front. Genet.*, vol. 5, p. 406, 2014.
- [4] M.-C. Arrieta, L. T. Stiemsma, N. Amenyogbe, E. M. Brown, and B. Finlay, “The intestinal microbiome in early life: health and disease,” *Front. Immunol.*, vol. 5, p. 427, 2014.
- [5] W. Aw and S. Fukuda, “Toward the comprehensive understanding of the gut ecosystem via metabolomics-based integrated omics approach,” *Semin. Immunopathol.*, vol. 37, no. 1, pp. 5–16, Jan. 2015.
- [6] Google images, *Illustrations*.
- [7] C. J. Walsh, C. M. Guinane, P. W. O’Toole, and P. D. Cotter, “Beneficial modulation of the gut microbiota,” *FEBS Lett.*, vol. 588, no. 22, pp. 4120–4130, Nov. 2014.
- [8] P. C. Konturek, D. Haziri, T. Brzozowski, T. Hess, S. Heyman, S. Kwiecien, S. J. Konturek, and J. Koziel, “Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases,” *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.*, vol. 66, no. 4, pp. 483–491, Aug. 2015.
- [9] S. Cao, T. J. Feehley, and C. R. Nagler, “The role of commensal bacteria in the regulation of sensitization to food allergens,” *FEBS Lett.*, vol. 588, no. 22, pp. 4258–4266, Nov. 2014.
- [10] L. G. Albenberg and G. D. Wu, “Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease,” *Gastroenterology*, vol. 146, no. 6, pp. 1564–1572, May 2014.
- [11] affssa, “Effects of probiotics and prebiotics on flora and immunity in adults.” février-2005.
- [12] P. Ojeda, A. Bobe, K. Dolan, V. Leone, and K. Martinez, “Nutritional modulation of gut microbiota - the impact on metabolic disease pathophysiology,” *J. Nutr. Biochem.*, Aug. 2015.
- [13] C. J. Walsh, C. M. Guinane, P. W. O’Toole, and P. D. Cotter, “Beneficial modulation of the gut microbiota,” *FEBS Lett.*, vol. 588, no. 22, pp. 4120–4130, Nov. 2014.
- [14] J. P. Ouwerkerk, W. M. de Vos, and C. Belzer, “Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface,” *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, vol. 27, no. 1, pp. 25–38, Feb. 2013.
- [15] C. G. Buffie and E. G. Pamer, “Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens,” *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 13, no. 11, pp. 790–801, Nov. 2013.
- [16] C. M. Ferreira, A. T. Vieira, M. A. R. Vinolo, F. A. Oliveira, R. Curi, and F. dos S. Martins, “The central role of the gut microbiota in chronic inflammatory diseases,” *J. Immunol. Res.*, vol. 2014, p. 689492, 2014.
- [17] A. E. Pérez-Cobas, A. Artacho, H. Knecht, M. L. Ferrús, A. Friedrichs, S. J. Ott, A. Moya, A. Latorre, and M. J. Gosalbes, “Differential effects of antibiotic therapy on the structure and function of human gut microbiota,” *PloS One*, vol. 8, no. 11, p. e80201, 2013.

- [18] A. E. Pérez-Cobas, M. J. Gosalbes, A. Friedrichs, H. Knecht, A. Artacho, K. Eismann, W. Otto, D. Rojo, R. Bargiela, M. von Bergen, S. C. Neulinger, C. Däumer, F.-A. Heinsen, A. Latorre, C. Barbas, J. Seifert, V. M. dos Santos, S. J. Ott, M. Ferrer, and A. Moya, “Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach,” *Gut*, vol. 62, no. 11, pp. 1591–1601, Nov. 2013.
- [19] M.-U. Rashid, G. Panagiotidis, T. Bäckström, A. Weintraub, and C. E. Nord, “Ecological impact of doxycycline at low dose on normal oropharyngeal and intestinal microflora,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 41, no. 4, pp. 352–357, Apr. 2013.
- [20] F. Perez, M. J. Pultz, A. Endimiani, R. A. Bonomo, and C. J. Donskey, “Effect of antibiotic treatment on establishment and elimination of intestinal colonization by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* in mice,” *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, no. 6, pp. 2585–2589, Jun. 2011.
- [21] W. Z. Mehal, “The Gordian Knot of dysbiosis, obesity and NAFLD,” *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 10, no. 11, pp. 637–644, Nov. 2013.
- [22] A. T. Stefka, T. Feehley, P. Tripathi, J. Qiu, K. McCoy, S. K. Mazmanian, M. Y. Tjota, G.-Y. Seo, S. Cao, B. R. Theriault, D. A. Antonopoulos, L. Zhou, E. B. Chang, Y.-X. Fu, and C. R. Nagler, “Commensal bacteria protect against food allergen sensitization,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 111, no. 36, pp. 13145–13150, Sep. 2014.
- [23] C. P. Moran and F. Shanahan, “Gut microbiota and obesity: role in aetiology and potential therapeutic target,” *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, vol. 28, no. 4, pp. 585–597, Aug. 2014.
- [24] L. M. Cox, S. Yamanishi, J. Sohn, A. V. Alekseyenko, J. M. Leung, I. Cho, S. G. Kim, H. Li, Z. Gao, D. Mahana, J. G. Zárata Rodriguez, A. B. Rogers, N. Robine, P. ’ng Loke, and M. J. Blaser, “Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences,” *Cell*, vol. 158, no. 4, pp. 705–721, Aug. 2014.
- [25] J. E. Gern, “Promising candidates for allergy prevention,” *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 136, no. 1, pp. 23–28, Jul. 2015.
- [26] World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, “Probiotics and prebiotics.” 2008.
- [27] Q. Hao, B. R. Dong, and T. Wu, “Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections,” *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 2, p. CD006895, 2015.
- [28] E. A. Eloë-Fadrosch, A. Brady, J. Crabtree, E. F. Drabek, B. Ma, A. Mahurkar, J. Ravel, M. Haverkamp, A.-M. Fiorino, C. Botelho, I. Andreyeva, P. L. Hibberd, and C. M. Fraser, “Functional dynamics of the gut microbiome in elderly people during probiotic consumption,” *mBio*, vol. 6, no. 2, 2015.
- [29] H. Szajewska and M. Kołodziej, “Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children and adults,” *Aliment. Pharmacol. Ther.*, Sep. 2015.
- [30] A. C. Ford, E. M. M. Quigley, B. E. Lacy, A. J. Lembo, Y. A. Saito, L. R. Schiller, E. E. Soffer, B. M. R. Spiegel, and P. Moayyedi, “Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis,” *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 109, no. 10, pp. 1547–1561; quiz 1546, 1562, Oct. 2014.
- [31] Y. A. Ghouri, D. M. Richards, E. F. Rahimi, J. T. Krill, K. A. Jelinek, and A. W. DuPont, “Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease,” *Clin. Exp. Gastroenterol.*, vol. 7, pp. 473–487, 2014.

- [32] D. Dang, W. Zhou, Z. J. Lun, X. Mu, D. X. Wang, and H. Wu, “Meta-analysis of probiotics and/or prebiotics for the prevention of eczema,” *J. Int. Med. Res.*, vol. 41, no. 5, pp. 1426–1436, Oct. 2013.
- [33] G. Tarantino and C. Finelli, “Systematic review on intervention with prebiotics/probiotics in patients with obesity-related nonalcoholic fatty liver disease,” *Future Microbiol.*, vol. 10, pp. 889–902, May 2015.
- [34] G. R. Gibson, H. M. Probert, J. V. Loo, R. A. Rastall, and M. B. Roberfroid, “Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics,” *Nutr. Res. Rev.*, vol. 17, no. 2, pp. 259–275, Dec. 2004.
- [35] J. Vulevic, A. Juric, G. E. Walton, S. P. Claus, G. Tzortzis, R. E. Toward, and G. R. Gibson, “Influence of galacto-oligosaccharide mixture (B-GOS) on gut microbiota, immune parameters and metabonomics in elderly persons,” *Br. J. Nutr.*, pp. 1–10, Jul. 2015.
- [36] B. T. S. Beserra, R. Fernandes, V. A. do Rosario, M. C. Mocellin, M. G. F. Kuntz, and E. B. S. M. Trindade, “A systematic review and meta-analysis of the prebiotics and synbiotics effects on glycaemia, insulin concentrations and lipid parameters in adult patients with overweight or obesity,” *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.*, Oct. 2014.
- [37] L. P. Johnson, G. E. Walton, A. Psichas, G. S. Frost, G. R. Gibson, and T. G. Barraclough, “Prebiotics Modulate the Effects of Antibiotics on Gut Microbial Diversity and Functioning in Vitro,” *Nutrients*, vol. 7, no. 6, pp. 4480–4497, Jun. 2015.
- [38] T. Noguera, R. Wotring, C. R. Melville, K. Hargraves, J. Kumm, and J. M. Morton, “Resolution of acute gastroenteritis symptoms in children and adults treated with a novel polyphenol-based prebiotic,” *World J. Gastroenterol. WJG*, vol. 20, no. 34, pp. 12301–12307, Sep. 2014.
- [39] Y. Inoue and N. Shimojo, “Microbiome/microbiota and allergies,” *Semin. Immunopathol.*, vol. 37, no. 1, pp. 57–64, Jan. 2015.
- [40] K. Tsilingiri, T. Barbosa, G. Penna, F. Caprioli, A. Sonzogni, G. Viale, and M. Rescigno, “Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model,” *Gut*, vol. 61, no. 7, pp. 1007–1015, Jul. 2012.
- [41] A. Dinh, F. Bouchand, and A. Le Monnier, “[Current treatment and epidemiology of Clostridium difficile infections],” *Rev. Médecine Interne Fondée Par Société Natl. Française Médecine Interne*, vol. 36, no. 9, pp. 596–602, Sep. 2015.
- [42] F. Barbut, A. Collignon, M.-J. Butel, and P. Bourlioux, “[Fecal microbiota transplantation: review],” *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 73, no. 1, pp. 13–21, Jan. 2015.
- [43] C. R. Kelly, S. Kahn, P. Kashyap, L. Laine, D. Rubin, A. Atreja, T. Moore, and G. Wu, “Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook,” *Gastroenterology*, vol. 149, no. 1, pp. 223–237, Jul. 2015.
- [44] R. Batista, N. Kapel, F. Megerlin, J.-C. Chaumeil, F. Barbut, P. Bourlioux, and F. Chast, “[Fecal microbiota transplantation in recurrent Clostridium difficile infections. Framework and pharmaceutical preparation aspects],” *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 73, no. 5, pp. 323–331, Sep. 2015.
- [45] F. Megerlin and E. Fouassier, “[Faecal microbiota transplantation in France: what applicable law?],” *Ann. Pharm. Fr.*, vol. 72, no. 5, pp. 363–374, Sep. 2014.
- [46] T. Borody, M. Fischer, S. Mitchell, and J. Campbell, “Fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease: 2015 update and the road ahead,” *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, pp. 1–13, Sep. 2015.
- [47] V. Daloso, R. Minacori, P. Refolo, D. Sacchini, L. Craxi, A. Gasbarrini, and A. G. Spagnolo, “Ethical aspects of Fecal Microbiota Transplantation (FMT),” *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 19, no. 17, pp. 3173–3180, Sep. 2015.

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2015/2016

Nom : ORBIE
Prénom : Julie

Titre de la thèse : **L'importance d'une flore intestinale mature équilibrée sur la santé de l'Homme.**

Mots-clés : Microbiote intestinal, dysbiose, antibiotiques, alimentation, pathologies intestinales, pathologies métaboliques, probiotiques, prébiotiques, synbiotiques, postbiotiques, transplantation fécale.

Résumé : Depuis quelques années, on observe un regain d'intérêt sur l'étude du microbiote intestinal. En effet l'avènement des nouvelles technologies ont permis de définir la composition de ce microbiote, la relation étroite qu'il entretient avec l'organisme ainsi que ces multiples fonctions dans le maintien de la santé de l'organisme, le qualifiant alors de « deuxième cerveau » humain. L'équilibre de ce microbiote intestinal constitue un facteur clé de la bonne santé de l'organisme. Cependant cet équilibre est mis à mal au fil de la vie par de multiples facteurs comme les antibiotiques, l'alimentation ou encore la présence de pathologies. Ces dysbioses ainsi générées sont à l'origine de l'initiation et/ou l'entretien de pathologies plus ou moins graves intestinales, métaboliques ou extra-intestinales. Dès lors équilibrer ou rééquilibrer le microbiote intestinal est une voie thérapeutique à prendre en compte dans la prise en charge des pathologies et/ou le maintien de la santé. Les probiotiques, prébiotiques et synbiotiques se développent et tendent à montrer dans les études validantes une efficacité plus ou moins certaines dans la plupart de ces pathologies aux dysbioses avec un profil sécuritaire. Il existe quand même un petit bémol avec certains produits sur le marché et leur qualité scientifique. Par ailleurs les postbiotiques sont en cours de développement et la transplantation fécale montre des résultats spectaculaires dans l'infection à *C.difficile* mais avec une certaine inconnue sur le long terme. Les résultats positifs incitent à approfondir les études sur la recherche de l'équilibre du microbiote intestinal dans la prise en charge globale des pathologies et le maintien de la santé.

Membres du jury :

Président : NEUT Christel, Maître de conférences en Bactériologie-Virologie à la faculté de pharmacie de Lille.

Assesseurs : SPECA Silvia, Attaché temporaire d'enseignement et de recherche à la faculté de pharmacie de Lille.

Membres extérieurs : DUBUQUOY Laurent, chercheur à l'institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) de Lille.