

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 1 juin 2015  
Par Milliot-Stoclin Raphaëlle**

---

**LES PROBIOTIQUES :  
VENI VIDI MICI**

---

**Membres du jury :**

**Président** : M. Thierry Dine, Professeur de Pharmacie Clinique, Praticien Hospitalier, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologie de Lille

**Assesseur(s)** : M. Emmanuel Hermann, Maître de Conférences en Immunologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologie de Lille

M. Benjamin Bertin, Maître de Conférences en Immunologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologie de Lille

**Membre(s) extérieur(s)** : M. Sylvain Backelandt, Docteur en Pharmacie, Pharmacie de la Colme à Hoymille



## 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 :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	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 :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1 <sup>er</sup> assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie Standaert
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia Melnyk
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe Bochu
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe Chavatte
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	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 Maîtres 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 Maîtres 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

---

## ***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.**

# REMERCIEMENTS

---

**A mon jury,**

**A Monsieur Emmanuel Hermann, directeur de thèse,**

*Pour m'avoir fait l'honneur de diriger et d'encadrer cette thèse. Pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail, pour votre disponibilité, vos conseils, vos encouragements et votre aide qui ont permis son aboutissement.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect  
Sincères remerciements.*

**A Monsieur Thierry Dine, président du jury,**

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury à l'occasion de cette soutenance.*

*Recevez l'assurance de toute ma reconnaissance.*

**Aux autres membres du jury,**

*Pour m'avoir fait l'honneur de juger mon travail.*

*Je vous remercie pour votre présence.*

**A mes parents,**

*Pour m'avoir permis d'étudier dans les meilleures conditions.*

**A mes frères,**

*Pour leur soutien et leur aide précieuse.*

**A ma famille et amis,**

*Pour leur présence et leurs encouragements.*

*A tous merci.*

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	13
1. L'écosystème gastro-intestinal .....	14
1.1 Le microbiote dans tous ses états .....	14
1.1.1 Définition : Qu'est-ce que le microbiote intestinal ?.....	14
1.1.2 Méthodes d'analyse du microbiote intestinal .....	14
1.1.2.1 La mise en culture .....	14
1.1.2.2 Biologie moléculaire .....	14
1.1.2.2.1 Les méthodes de séquençage .....	15
1.1.2.2.2 Les méthodes d'empreintes .....	16
1.1.2.2.3 Hybridation in situ couplée à la cytométrie en flux.....	16
1.1.2.2.4 La PCR quantitative (qPCR) .....	17
1.1.2.2.5 Analyse critique des méthodes .....	17
1.1.2.2.6 La métagénomique du microbiote intestinal .....	17
1.1.3 Composition taxonomique et répartition topographique du microbiote intestinal...	17
1.1.3.1 Les grandes familles de bactéries du microbiote intestinal .....	17
1.1.3.2 Répartition des bactéries tout au long du tube digestif .....	19
1.1.4 Implantation, maturation dans le temps .....	21
1.1.4.1 Etablissement de la flore intestinale du nouveau-né.....	21
1.1.4.2 Evolution de cet écosystème avec le temps .....	22
1.1.5 Introduction à la notion de dysbiose .....	23
1.1.5.1 Qu'est-ce que la dysbiose intestinale ? .....	23
1.1.5.2 Facteurs incriminés .....	23
1.1.6 Les fonctions majeures de la flore intestinale .....	23
1.1.6.1 Etablissement du microbiote et physiologie intestinale.....	23
1.1.6.2 Fonctions métaboliques du microbiote intestinal .....	25
1.1.6.3 La protection contre les micro-organismes pathogènes : l'effet « barrière »....	25
1.2 Le système immunitaire digestif .....	26
1.2.1 Le système lymphoïde associé à l'intestin .....	26
1.2.1.1 Les plaques de Peyer .....	26
1.2.1.2 Le tissu lymphoïde diffus.....	27
1.2.2 Le cycle hémolympatique entéro-entérique.....	29
1.2.3 L'immunité humorale sécrétoire .....	30
1.2.3.1 Le transport à travers les entérocytes.....	30
1.2.3.2 Fonctions des IgA .....	31
1.3 Dialogue entre composants de l'écosystème gastro-intestinal.....	31
1.3.1 Les cellules épithéliales et le microbiote.....	31
1.3.2 Le microbiote et le système immunitaire : acquisition de la tolérance .....	32
2. Les probiotiques .....	34
2.1 Généralités.....	34
2.1.1 Historique .....	34
2.1.2 Définitions .....	34
2.1.2.1 Les prébiotiques .....	34
2.1.2.2 Les probiotiques.....	35
2.1.2.3 Les symbiotiques .....	35
2.1.2.4 Propriétés et critères de sélection des probiotiques .....	35
2.2 Les différents types de micro-organismes.....	36
2.3 Persistance et survie des probiotiques dans l'environnement digestif .....	38
2.4 Mécanismes d'action des probiotiques .....	40
2.4.1 Action sur les fonctions intestinales.....	40



2.4.2	L'effet barrière .....	41
2.4.3	L'immunomodulation.....	42
2.5	Effets positifs sur la santé.....	44
2.5.1	Diminution des allergies.....	44
2.5.2	Réduction du risque de diarrhées .....	45
2.5.3	Troubles fonctionnels intestinaux .....	49
2.5.4	Infection à <i>Helicobacter pylori</i> .....	50
2.5.5	Les probiotiques en pratique gynécologique.....	50
2.5.6	Perspective pour l'avenir.....	51
2.5.7	Conclusion.....	53
2.5.8	Probiotiques et recommandations .....	53
2.6	Avenir ? Les probiotiques « Organismes génétiquement modifiés » ?.....	56
2.6.1	Les observations : des bactéries OGM contre l'inflammation des intestins .....	56
2.6.2	Les modifications génétiques peuvent-elles améliorer les bactéries probiotiques sans les transformer en pathogènes dangereux ?.....	56
2.6.3	Utilisation actuelle et perspective d'utilisation en santé humaine .....	57
3.	Probiotiques et Maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI).....	57
3.1	Présentation des MICI.....	58
3.1.1	Introduction .....	58
3.1.2	Epidémiologie .....	58
3.1.3	Physiopathologie .....	59
3.1.4	La maladie de Crohn (MC) .....	61
3.1.4.1	Signes cliniques .....	61
3.1.4.2	Anatomopathologie.....	64
3.1.4.3	Les complications .....	65
3.1.5	La rectocolite hémorragique.....	65
3.1.5.1	Signes cliniques .....	65
3.1.5.2	Anatomopathologie.....	66
3.1.5.3	Les complications .....	67
3.1.6	La situation pathologique au cours des MICI : la rupture de l'homéostasie intestinale .....	68
3.1.6.1	Augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale .....	68
3.1.6.2	Déséquilibre de la balance effecteur/régulateur.....	69
3.1.6.2.1	Perturbation de la balance Th1/Th2.....	69
3.1.6.2.2	Perturbation des profils Treg/Th17.....	69
3.1.6.2.3	Cytokines-Chimiokines .....	69
3.1.6.2.4	Augmentation de l'expression de molécules d'adhésion .....	70
3.1.6.3	Inhibition des mécanismes d'apoptose .....	70
3.1.7	Diagnostic : différencier les MICI par les auto-anticorps sériques ?.....	71
3.1.8	Traitement des MICI .....	71
3.1.9	Vers un vaccin thérapeutique ? .....	72
3.2	Intérêt des probiotiques dans les MICI .....	73
3.2.1	Microbiote : une cible thérapeutique au cours des MICI ? .....	73
3.2.1.1	Un dialogue assurant l'homéostasie tissulaire .....	73
3.2.1.2	La dysbiose du microbiote intestinal .....	73
3.2.2	Probiotiques et MICI : des résultats inégaux .....	74
3.2.2.1	Probiotiques et MC .....	74
3.2.2.2	Probiotiques et RCH .....	75
3.2.2.3	Probiotiques et pouchite.....	76
3.2.2.4	Conclusions retenues .....	77
4.	Les probiotiques en pratique à l'officine : cas de comptoir .....	78
4.1	Le cas de Madame X. ....	78
4.2	Le cas de Monsieur Z. ....	81

4.3	Le cas de Monsieur Y.....	84
4.4	Le cas du bébé de Madame M.....	86
	Conclusion.....	89
	Bibliographie.....	91
	ANNEXES .....	I

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

---

<i>Figure 1 Représentation structurelle du gène codant l'ARN ribosomal 16S bactérien</i> .....	15
<i>Figure 2 Analyse de la diversité bactérienne du microbiote intestinal d'un nombre restreint d'individus</i> .....	16
<i>Figure 3 Le microbiote intestinal : un écosystème en équilibre (17)</i> .....	18
<i>Figure 4 Microflores des différents compartiments de l'appareil digestif</i> .....	20
<i>Figure 5 Variations transversales du microbiote intestinal</i> .....	20
<i>Figure 6 Cycle de maturation du microbiote intestinal</i> .....	22
<i>Figure 7 Les plaques de Peyer (7)</i> .....	27
<i>Figure 8 Les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) (32)</i> .....	29
<i>Figure 9 Le cycle hémolympatique entéro-entérique</i> .....	30
<i>Figure 10 L'immunité humorale sécrétoire</i> .....	31
<i>Figure 12 Localisation des lésions dans la maladie de Crohn (122)</i> .....	62
<i>Figure 13 Les manifestations extradigestives au cours des MICI (126)</i> .....	63
<i>Figure 14 Aspect anatomopathologique de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique (128)</i> .....	64
<i>Figure 15 Localisation des lésions dans la MC et la RCH (122)</i> .....	66
<i>Figure 16 Caractéristiques cliniques, anatomopathologiques au cours des MICI.(115)</i> .....	68
<i>Figure 17 Le déséquilibre lymphocytaire dans les MICI</i> .....	69
<i>Figure 18 Hypothèse physiopathologique de la maladie de Crohn (145)</i> .....	70

## TABLE DES TABLEAUX

---

<i>Tableau 1 Tableau récapitulatif des différents critères de sélection des probiotiques (50)</i> ....	36
<i>Tableau 2 Probiotiques et évidence : prébiotiques et probiotiques en gastroentérologie (45)</i>	54
<i>Tableau 3 Probiotiques et évidence : prébiotiques et probiotiques en gastroentérologie (suite)(45)</i> .....	55
<i>Tableau 4 Molécules produites par les bactéries lactiques et applications cliniques. (117)</i> ..	57
<i>Tableau 5 : Exemple de probiotiques per os commercialisés destinés à restaurer une flore vaginale saine</i> .....	80
<i>Tableau 6 Autres probiotiques utilisés par voie locale destinés à rééquilibrer la flore vaginale</i> .....	80
<i>Tableau 7 Exemple de probiotiques destinés à préparer et à protéger l'intestin de voyageurs en zones à risque</i> .....	83
<i>Tableau 8 Exemple de probiotiques pouvant être associés à une antibiothérapie</i> .....	85
<i>Tableau 9 Exemple de probiotiques utilisés dans les coliques du nourrisson</i> .....	87

## TABLE DES ABREVIATIONS

---

**ADN:** Acide désoxyribonucléique.  
**AIEC:** Escherichia coli adhérent-invasif.  
**ARN:** Acide ribonucléique.  
**ARNr:** Acide ribonucléique ribosomique.  
**CFU:** Colony-forming unit.  
**CMH:** Complexe majeur d'histocompatibilité.  
**CRP:** protéine C réactive.  
**CS:** Composant sécrétoire.  
**CTL:** Lymphocytes T cytotoxiques.  
**ddNTP:** didésoxyribonucléotides.  
**DGGE:** Denaturant Gradient Gel Electrophoresis.  
**DSS:** Dextran sodium sulfate.  
**E. coli:** Escherichia coli.  
**FAO:** Food and Agriculture Organization.  
**FISH:** Florescence in situ hybridization.  
**GALT:** Gut-associated Lymphoid Tissues.  
**IEL:** Lymphocytes intra-épithéliaux.  
**IFN $\gamma$ :** Interféron gamma.  
**IgM:** Immunoglobulines M.  
**IL:** Interleukine.  
**ITAM:** Immuno-receptor Tyrosine Activation Motif.  
**LT:** Lymphocytes T.  
**MAM:** Microbiote associé à la muqueuse.  
**MC:** Maladie de Crohn.  
**MDP:** Motifs muramyldipeptides.  
**MetaHit:** Metagenomics of Human Intestinal Tract.  
**MGM:** Micro-organismes génétiquement modifiés.  
**MICI:** Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.  
**MUC:** Mucines.  
**NFKB:** Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.  
**OGM:** Organisme génétiquement modifié.  
**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé.  
**OTU:** Unités taxonomiques opérationnelles.  
**PCR:** Polymerase chain reaction.  
**pH:** Potentiel hydrogène.  
**PRR:** Pattern recognition receptors.  
**RCH:** Rectocolite hémorragique.  
**TCR:** T cell receptor.  
**TFI:** Troubles fonctionnels intestinaux.  
**TGF:** Transforming growth factor.  
**TGGE:** Temperature Gradient Gel Electrophoresis.  
**TLR:** Toll-Like receptors.  
**TNF:** Tumor necrosis factor.  
**UCDAI:** Ulcerative Colitis Disease Activity Index.

Voilà quelques années que le terme « probiotiques » a fait son apparition dans notre vocabulaire. Même si l'utilisation de micro-organismes aux vertus thérapeutiques ne date pas d'hier, l'engouement pour ces produits n'a jamais été aussi important qu'aujourd'hui. En surfant à la fois sur des allégations de santé et un côté naturel en lien avec les matières premières utilisées, les producteurs ont fait des probiotiques des compléments alimentaires à la mode. Preuve en est le développement exponentiel des laboratoires spécialisés dans ces produits, le nombre grandissant d'aliments proposés enrichis en probiotiques, ainsi que les multiples études confirmant leurs effets bénéfiques pour la santé. Alors que sont-ils exactement ? Et comment agissent-ils sur notre corps ? A qui s'adressent-ils ?

Le pharmacien d'officine est de plus en plus sollicité pour conseiller des probiotiques, aussi bien en préventif qu'en curatif, que ce soit dans le cadre d'une prescription médicale, d'une demande spontanée ou d'un conseil associé. Face à lui, qu'ils souffrent de troubles digestifs, d'infections urinaires, d'allergies, ou de mycoses, les patients attirés par les médecines alternatives paraissent sensibles aux arguments des probiotiques. Ainsi, les probiotiques pourraient constituer une alternative thérapeutique à de nombreux troubles gastro-intestinaux, allant de la simple diarrhée associée aux antibiotiques en passant par les troubles fonctionnels intestinaux aux maladies inflammatoires chroniques intestinales.

Les études moléculaires d'exploration du métagénome ont considérablement amélioré les connaissances actuelles du microbiote et ont permis d'en faire la principale cible des probiotiques. Ce dernier joue un rôle primordial dans l'interaction entre l'épithélium intestinal et le système immunitaire présent dans la muqueuse. Une réponse aberrante de ce système immunitaire dirigé contre le microbiote est tout particulièrement incriminée dans la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques intestinales. Dès lors, essayer de restaurer l'équilibre au niveau de cet écosystème intestinal par le recours aux probiotiques prend tout son sens pour la prévention et le traitement de ces maladies.

Cette thèse est articulée en quatre grandes parties. Dans la première partie, nous ferons le point sur les connaissances actuelles du microbiote. Après avoir détaillé cet écosystème intestinal (implantation, répartition, mécanismes d'action...), nous verrons en quoi cette interface est avant tout protectrice en insistant sur l'intrication de ce dernier avec le système immunitaire digestif. La deuxième partie rentre au cœur du sujet en définissant le concept de probiotique et son action métabolique, en examinant son aspect immunomodulateur ainsi que ses effets positifs dans diverses pathologies. Dans la troisième partie, nous nous concentrerons sur les maladies inflammatoires chroniques intestinales et tout particulièrement sur l'avancée des recherches en ce qui concerne la place des probiotiques dans le traitement de ce type de pathologie. Enfin, à travers différents cas de comptoir, nous étudierons comment le pharmacien peut recommander des probiotiques dans de nombreuses affections sans toutefois négliger de prodiguer des conseils hygiéno-diététiques adaptés.

# 1. L'ECOSYSTEME GASTRO-INTESTINAL

## 1.1 Le microbiote dans tous ses états

### 1.1.1.1 Définition : Qu'est-ce que le microbiote intestinal ?

Anciennement appelé microflore intestinale, le microbiote intestinal désigne l'ensemble des micro-organismes résidents tout le long du tractus gastro-intestinal. Il est composé de  $10^{12}$  à  $10^{14}$  bactéries, soit 10 à 20 fois le nombre de cellules de l'organisme. Au sein de cette communauté, 800 à 1000 espèces bactériennes ont été identifiées. Chez un individu à l'état normal, ces bactéries constamment présentes, forment ce que l'on appelle une flore commensale, contrairement aux bactéries morbifiques. Elles vivent donc pour ainsi dire, en parfaite harmonie avec l'hôte.(1)

Ce « monde microbiologique vivant » a toute son importance : les aliments ingérés par l'hôte, les sécrétions digestives, ainsi que la desquamation de nos tissus permettent aux bactéries qui le composent de se développer. En contrepartie, elles participent activement au bon fonctionnement physiologique de l'organisme.(2)

Ainsi, la relation hôte-microbiote est basée sur une incommensurable symbiose; la flore intestinale est certes indispensable à notre santé, mais ne pourrait subsister sans son hôte.

### 1.1.2 Méthodes d'analyse du microbiote intestinal

#### 1.1.2.1 La mise en culture

Parmi les techniques classiquement utilisées à ce jour afin de caractériser l'ensemble du microbiote intestinal, on distingue la mise en culture. Un échantillon du contenu colique ou fèces est utilisé et analysé. Il est tout d'abord mis en suspension, puis placé dans des milieux de cultures plus ou moins riches, plus ou moins sélectifs.(3),(4)

Cependant, les scientifiques se sont heurtés à un problème : la plupart des bactéries restent malheureusement difficilement cultivables ; on estime que 80 % du microbiote ne peuvent être exploités en laboratoire.(5)

Cette étude de la flore intestinale est en effet extrêmement délicate. Dès le recueil, l'échantillon doit être analysé dans les plus brefs délais (2-3 heures). Et une fois que la dilution et la mise en culture de ce dernier sont effectuées, il faut absolument s'assurer du maintien de l'anaérobiose compte tenu de la sensibilité des bactéries au contact de l'oxygène de l'air. Le système le plus performant à l'heure actuelle est la chambre constituée de dioxyde de carbone, d'azote et d'hydrogène dans laquelle il ne doit pas subsister plus de 5 ppm d'oxygène.(3)

Ainsi, l'anaérobiose stricte, l'élaboration de milieux de culture adaptés, l'absence de données suffisantes concernant les besoins des bactéries... constituent les principaux facteurs limitant cette approche.

#### 1.1.2.2 Biologie moléculaire

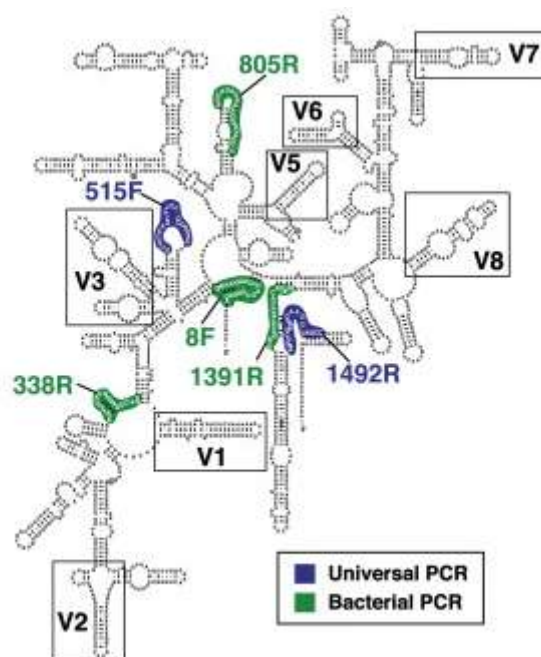
Face aux résultats beaucoup trop lacunaires, les microbiologistes se sont détournés de la culture au profit des études moléculaires; méthodes intervenant traditionnellement en écologie dans la caractérisation des communautés aquatiques, telluriques.(6)

Ainsi, la biologie moléculaire basée sur l'analyse des ADN et ARN16S ribosomiques, a

permis d'avoir une approche beaucoup plus précise des bactéries intestinales.

L'étude du génome bactérien a contribué à l'élaboration d'une taxonomie reflétant les liens de parenté entre bactéries (7) ; en effet le gène codant l'ARN 16S ribosomique inclut des séquences internes très conservées faisant ressortir les grands groupes phylogénétiques mais également des séquences hypervariables d'où l'existence d'espèces, souches bactériennes. De plus, il est d'une taille suffisamment courte pour être analysé rapidement.(6)

Considéré comme le gène le plus préservé au sein des procaryotes (Bactéries et Archées), l'ADN16S ribosomique constitue pour les chercheurs une base comparative fiable des bactéries entre elles.



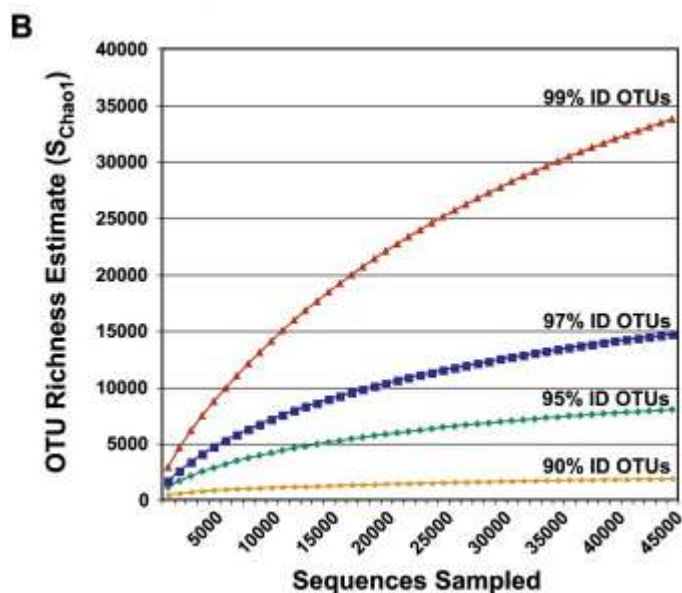
**Figure 1** Représentation structurelle du gène codant l'ARN ribosomal 16S bactérien  
Le gène de l'ARN 16S ribosomique comprend des régions conservées (bleu, vert) mais aussi des régions variables (V1 à V8) (8)

Les méthodes de séquençage, d'empreintes, l'hybridation in-situ couplée à la cytométrie de flux et la PCR quantitative constituent les principales techniques d'exploration de l'ARNr 16S. (6)

#### 1.1.2.2.1 Les méthodes de séquençage

- Le séquençage complet: (Méthode de Sanger)

La méthode de Sanger est une méthode enzymatique, qui consiste à séquencer la chaîne nucléotidique de l'ADN synthétisé (clone d'ADN) en différents points. Elle fait pour cela intervenir au sein du milieu réactionnel des didésoxyribonucléotides (ddNTP) marqués : en effet, la synthèse du brin d'ADN cesse à partir du moment où un ddNTP se présente à l'ADN polymérase; aucun nucléotide ne pourra être incorporé par la suite. Les différents fragments obtenus sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.(9) A partir de là, les séquences d'ARN16S sont comparées, regroupées dans ce que l'on appelle des Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTU) en fonction des similitudes observées.(6)



**Figure 2** Analyse de la diversité bactérienne du microbiote intestinal d'un nombre restreint d'individus  
 Les OTU avec plus de 99% de séquences identiques représentent la souche bactérienne, et respectivement celles avec un pourcentage supérieur ou égal à 97%, 95%, 90% définissent l'espèce, le genre, la famille.  
 (8)

- Le pyroséquençage

Contrairement à la méthode de Sanger, les nucléotides sont ici incorporés l'un après l'autre dans le milieu réactionnel et seront détectés par luminescence. Les signaux lumineux obtenus seront représentés par des pics de taille variable sur le pyrogramme en fonction de l'intensité de ces derniers. Les séquences sont alors définies par la hauteur des pics observés.(10) Le pyroséquençage est qualifié de technologie à haut débit, ce qui lui confère un avantage indéniable par rapport à la méthode de Sanger : en effet, grâce à cette technique 25 millions de bases approximativement peuvent être séquencées en 4 heures; et ceci avec la plus grande précision (99%).(6)

#### 1.1.2.2.2 Les méthodes d'empreintes

Ces méthodes font intervenir en premier lieu la technique PCR (Polymerase Chain Reaction) afin d'amplifier le gène codant l'ARNr 16S. Les fragments issus de cette amplification sont alors séparés par électrophorèse sur gel dénaturant. Le gradient de dénaturation au sein du gel peut être thermique dans le cas de la TGGE (Temperature Gradient Gel Electrophoresis) ou chimique (urée et formamide) pour la DGGE (Denaturant Gradient Gel Electrophoresis). Les séquences vont en fonction de leur composition en base G+C migrer sur le gel d'acrylamide.

La diversité bactérienne est donc établie en fonction des bandes distinctes observées sur le gel. La pléthore en bandes est un indicateur de l'hétérogénéité bactérienne.(6), (11)

#### 1.1.2.2.3 Hybridation in situ couplée à la cytométrie en flux

La méthode FISH (Florescence in situ hybridization) repose sur la détection des acides nucléiques de brins d'ARNr 16S ciblés (spécifique d'un genre, d'une espèce bactérienne). Elle utilise pour cela des sondes d'oligonucléotides fluorescentes capables de fusionner exclusivement avec la séquence incriminée. Afin de rendre cette technique réalisable,



l'échantillon est traité et fixé sur une lame sur laquelle est ancrée la sonde. Les résultats seront ensuite analysés grâce à la cytométrie en flux correspondant à la caractérisation quantitative et qualitative des éléments isolés par entraînement dans un flux liquide ou gazeux.(3), (12)

#### *1.1.2.2.4 La PCR quantitative (qPCR)*

Dans la détection des ADN, ARN, la PCR quantitative est l'une des techniques les plus exploitées. Elle comprend un certain nombre d'étapes dont une de dénaturation de l'ADN, d'hybridation d'amorces spécifiques de la séquence à amplifier ciblant ainsi certains groupes bactériens, et une autre d'élongation par une ADN polymérase. Comme pour la méthode Fish, des sondes fluorescentes sont également employées dans cette technique. Elle assure ainsi par fluorescence la détection, et la quantification de séquences cibles.(13),(14)

#### *1.1.2.2.5 Analyse critique des méthodes*

L'ensemble de ces méthodes moléculaires offre une appréciation assez précise de la composition du microbiote, mais demeure cependant non exhaustive. En effet, à partir des observations partiellement récoltées *in vitro*, il est difficile de définir le rôle exercé par ces communautés bactériennes au sein du tube digestif.(3)

La transcription d'interactions spécifiques, de mécanismes d'inhibition de souches entre elles au sein de modèles *in vitro* demeure beaucoup trop hasardeuse. Des scientifiques ont par exemple observé que certaines souches de *Lactobacillus* avaient la capacité d'adhérer à des entérocytes *in vitro* alors que cette interaction était totalement inexistante *in vivo*.(14)

De même, des bactéries lactiques émettent des bactériocines en cultures complètement inertes dans le tube digestif. (15)

#### *1.1.2.2.6 La métagénomique du microbiote intestinal*

Afin d'appréhender avec plus de précision la relation microbiote-individu, un nouveau répertoire d'outils d'analyse a été élaboré : la métagénomique. Cette méthode constitue une approche globale dans le sens où elle offre des informations sur le génome « collectif » du microbiote sans passer par l'examen méticuleux d'une bactérie à l'autre ; et ceci dans un seul et unique but : identifier les contributions fonctionnelles et le rôle biologique de cette communauté complexe en santé humaine.(6)

La métagénomique ne comprend aucune étape préalable de mise en culture, ni de différenciation d'espèces, et consiste à séquencer la totalité de l'échantillon prélevé.

L'objectif n'est pas d'établir une liste précise des métagénomomes révélés au sein de l'échantillon mais d'avoir un aperçu de l'activité de l'écosystème à un moment donné.

### **1.1.3 Composition taxonomique et répartition topographique du microbiote intestinal**

D'une manière générale, la microflore intestinale est qualitativement mais aussi quantitativement très hétérogène. En effet, de nombreuses espèces bactériennes entrent dans sa composition et de plus, les populations sont très fluctuantes selon les « niches digestives » ciblées.

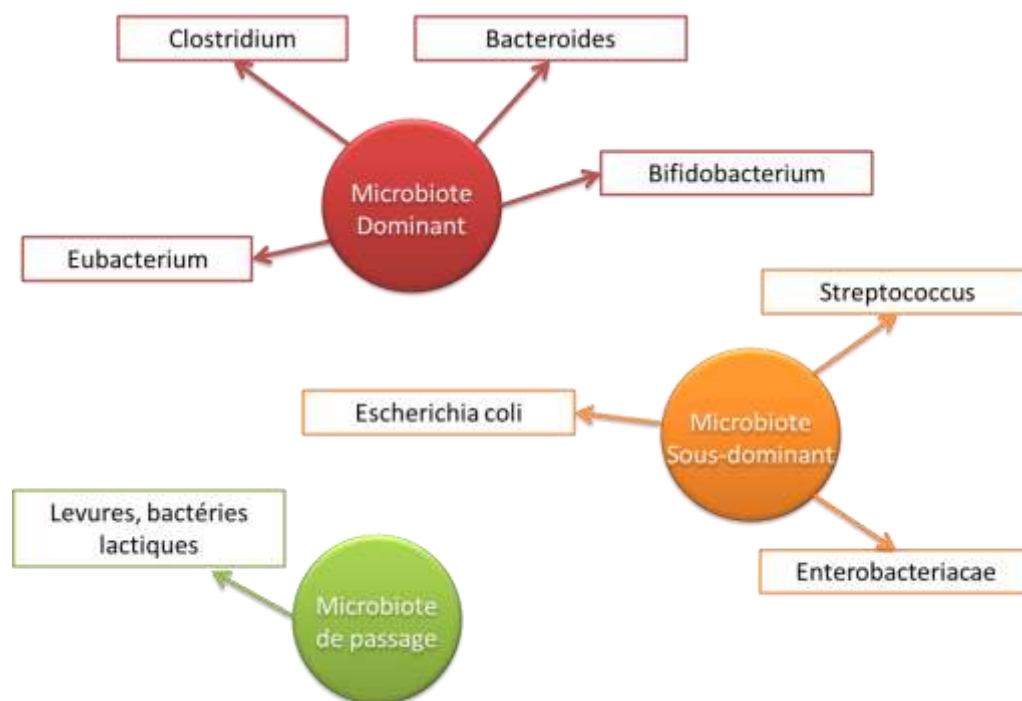
#### **1.1.3.1 Les grandes familles de bactéries du microbiote intestinal**

Les méthodes de biologie moléculaire ont permis d'établir des espèces bactériennes dominantes, appartenant à trois groupes phylogénétiques : les Firmicutes, les Bacteroidetes, les Actinobacteries. Au sein de ces trois phyla, 6 genres bactériens ont été identifiés : *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*.(16)

Ces bactéries retrouvées en grande quantité sont anaérobies strictes et forment ce que l'on

appelle le microbiote dominant.

A côté de cela, les bactéries anaérobies facultatives (10 à 1000 fois moins nombreuses) appartiennent quant à elles au microbiote sous dominant (par exemple *Escherichia Coli*), et enfin le microbiote de « passage » regroupe essentiellement des bactéries lactiques et des levures. (17)



**Figure 3** Le microbiote intestinal : un écosystème en équilibre (17)

Cependant le microbiote est-il propre à chacun d'entre nous?

### ➤ Données et expérimentation

Des scientifiques se sont intéressés à l'influence de la localisation géographique sur la flore intestinale de nourrissons âgés de moins de 6 semaines. Pour ce travail, cinq pays au style de vie très distinct ont été « recrutés » : la Suède, l'Ecosse, l'Allemagne, l'Italie, et l'Espagne.

L'objectif principal de cette étude a été de faire transparaître les divergences typographiques associées à un certain nombre de facteurs (alimentation, antibiothérapie, mode d'accouchement...)

Grâce au projet européen INFABIO, au travers des études moléculaires, 606 échantillons fécaux de nourrissons ont été évalués et comparés.

Les résultats révèlent de manière générale une forte proportion de bactéries du genre *Bifidobacterium* (40%) suivi de *Bacteroides* (12%) et enfin d'*Enterobacteria* (8%).

Le genre *Bifidobacterium* serait beaucoup plus représenté dans les pays du Nord, tandis que le genre *Bacteroides* représenterait les pays du Sud. De même, l'allaitement maternel favoriserait le développement de *Bifidobacteria*, alors que les nourrissons alimentés de formule présenteraient une proportion beaucoup plus importante en *Bacteroides*, en *Lactobacilles*, mais aussi en *Clostridium coccoides*.(18)

Ainsi, l'environnement a un impact non négligeable sur la composition de la flore intestinale ; cette étude ne fait que confirmer l'idée selon laquelle le microbiote est propre à l'individu et

soulèverait la notion d'entérotipe.

### ➤ La notion d'entérotipe

Grâce au projet européen MetaHit (*Metagenomics of Human Intestinal Tract* (19)), trois types de flores intestinales ont été mis en évidence. Tout comme les groupes sanguins, cette étude suggère au sein de la population mondiale la présence « d'empreintes » bactériennes désignées sous le terme d'entérotypes.

C'est suite au séquençage du métagénome de 39 individus provenant de zones géographiques bien distinctes que les chercheurs ont clairement identifié ces entérotypes. Il en existe 3 (entérotipe 1, 2, 3) caractérisés par leur proportion en bactéries à savoir Bactéroïdes, Prevotella, Ruminococcus. Les vecteurs incriminés dans l'existence de ces groupes intestinaux demeurent malheureusement encore inconnus et ne font en aucun cas intervenir l'origine géographique, l'état de santé, l'âge et le sexe des individus.

Cette découverte offrirait alors de nombreuses perspectives, notamment dans des pathologies (telle que la maladie de Crohn, obésité, diabète...) connaissant l'intrication du microbiote dans ces dernières.(20),(21),(22). Elle pourrait en effet favoriser la compréhension, le diagnostic, la prise en charge thérapeutique de celles-ci.

De plus, la connaissance et la prise en compte de l'entérotipe permettrait à l'avenir de mettre en place des soins et une nutrition individualisés.(23),(24)

### ➤ En conclusion

Même si la composition phylogénétique du microbiote intestinal est semblable chez tous les individus, les études moléculaires montrent un certain nombre de divergences au niveau des espèces qui le composent.

Il semblerait que les espèces dominantes d'un individu lui sont caractéristiques et ceci en raison d'un certain nombre de critères (le pH, l'alimentation, le temps de transit...).

Cette pluralité d'espèces demeure néanmoins constante dans le temps chez l'homme adulte en bonne santé (plusieurs mois à plusieurs années).

L'activité du microbiote est toujours très similaire d'un sujet sain à l'autre. (17)

### 1.1.3.2 Répartition des bactéries tout au long du tube digestif

L'exploration du tube digestif dans son entier révèle la présence de populations bactériennes très hétéroclites d'un compartiment gastro-intestinal à l'autre. En effet, chacun d'entre eux offre des conditions physicochimiques bien différentes propices au développement de telle ou telle bactérie. Ainsi, le microbiote ce n'est pas un mais de multiples écosystèmes microbiens qui se succèdent tout le long du tube digestif.

- L'estomac

L'estomac se caractérise par sa forte acidité (pH = 1-2) mais aussi par la présence d'oxygène apportée lors de la déglutition. Ainsi face à cette constatation, ce dernier n'offre que très peu de conditions favorables au développement bactérien. Seules les bactéries acidotolérantes telles que les *Streptococcus* ou les *Lactobacillus* résident, persistent à ce niveau du tube digestif.

- L'intestin grêle

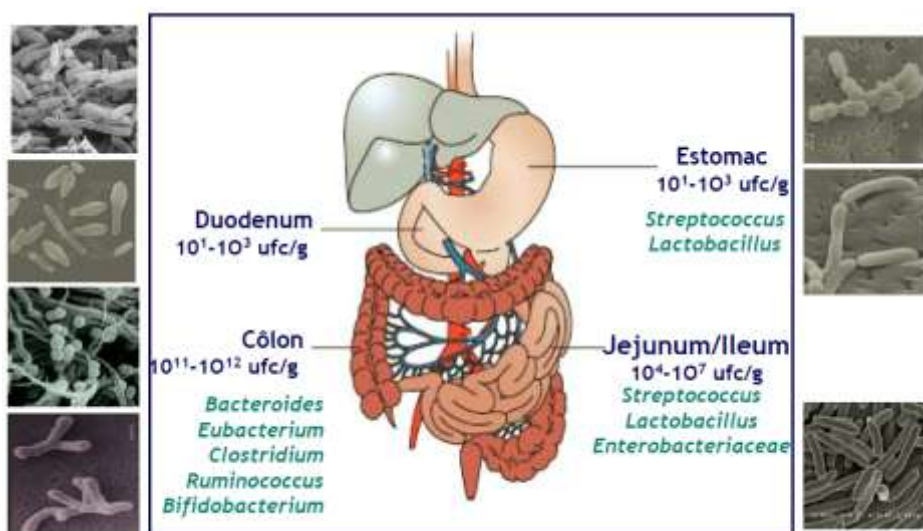
Le petit intestin abrite très peu de bactéries, si ce n'est des microorganismes anaérobies facultatifs. Les facteurs à l'origine de cette déficience sont nombreux ; les sécrétions digestives (sels biliaires, sécrétions pancréatiques ...) et plus particulièrement le péristaltisme constituent les principaux acteurs de cet effet antibactérien. On y trouve donc des

*Streptococcus*, des *Lactobacillus*, des Enterobacteries (anaérobies facultatives) mais aussi des *Bacteroides* et *Clostridies* (anaérobies strictes).

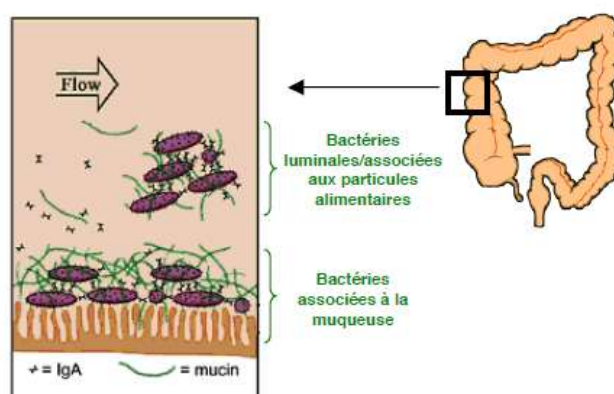
- Le côlon

Dans ce dernier compartiment, la diversité bactérienne atteint son maximum. L'absence d'oxygène, ainsi qu'un transit plus lent favorise la pullulation microbienne. Ainsi, le microbiote intestinal devient à ce niveau d'une extrême complexité. Une flore anaérobie stricte représentée par *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* prédomine dans ce gros intestin, et ceci est d'autant plus marqué que l'on se rapproche du côlon distal. On note en effet une recrudescence des bactéries d'un facteur 100 du côlon proximal au côlon distal. Les bactéries anaérobies facultatives (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, ...) sont quant à elles beaucoup moins représentatives du compartiment colique (environ 25% de la flore dominante). (3),(25),(26)

Associées à cette disparité tout le long du tube digestif, on retrouve également des fluctuations transversales entre la lumière et la muqueuse digestive. En effet, les bactéries peuvent se présenter sous différentes formes : fixées ou non au bol alimentaire, liées à la muqueuse intestinale ou encore organisées en biofilm. (16)



**Figure 4** Microflore des différents compartiments de l'appareil digestif (27)



**Figure 5** Variations transversales du microbiote intestinal (16)

## 1.1.4 Implantation, maturation dans le temps

### 1.1.4.1 Etablissement de la flore intestinale du nouveau-né

Plongé in-utero au plein cœur d'un environnement complètement aseptique, le nourrisson se trouve très rapidement confronté à la naissance à de nombreux germes en provenance de sa mère (flores vaginale et fécale) et de l'environnement immédiat. Une invasion massive mais sélective se met alors en place afin de constituer la flore spécifique du nouveau-né. D'une manière générale, les premières bactéries à s'implanter chez l'enfant à terme sont les entérobactéries (*Escherichia Coli*), les entérocoques et staphylocoques (dans les 24 à 48 heures) suivies au bout de 2-3 jours d'une flore beaucoup plus élaborée comprenant des bactéries telles que les bifidobactéries, les *lactobacilles*,...

Néanmoins, cette cinétique d'implantation peut être perturbée par un certain nombre de facteurs, parmi lesquels on retrouve :

- la prématurité.
- le mode d'accouchement (par voies basses ou césarienne).
- l'alimentation : l'allaitement maternel, les laits infantiles contribuent à l'élaboration d'une flore diversifiée. Mais la complexification du microbiote est d'autant plus marquée lors du passage à la phase de diversification (6 mois à 3 ans) où le lait ne constitue plus la base exclusive de l'alimentation de l'enfant.
- le recours aux antibiotiques.
- le niveau d'hygiène : l'asepsie rigoureuse autour des accouchements dans les pays à haut niveau de vie a en effet quelque peu bouleversé la colonisation bactérienne. Les bactéries en provenance de la mère ont laissé place aux bactéries environnementales.

L'exposition continue de l'enfant à de nouveaux germes va contribuer à la diversification de son microbiote et à l'acquisition d'une flore mature et stable.

Ce profil de la flore intestinale de l'enfant ne se dessine pleinement qu'à partir de l'âge de 2 ans, le microbiote de l'enfant est alors très proche de celui de l'adulte. (3), (28)

- Prenons l'exemple de l'influence de l'âge gestationnel

Les travaux de Sakata H. se sont intéressés à l'implantation de la flore intestinale chez des prématurés.(29)

Pour cette étude, des nouveau-nés d'âge moyen de 29 semaines d'aménorrhée, de poids compris entre 810 et 1350g ont été recrutés, comparés aux nourrissons nés à terme.

Les observations retenues sont les suivantes : l'intestin des prématurés est très rapidement colonisé par des bactéries de type *enterobacteria*, *streptococci* comme pour les enfants nés à terme. Mais ces germes persistent chez les prématurés sur une période beaucoup plus longue, et la mise en place de la flore anaérobie (représentée ici par les Bifidobactéries) est quant à elle retardée.

L'établissement de bifidobactéries chez les prématurés commence à l'âge moyen de 10.6 +/- 2.7 jours et devient prépondérant aux alentours de 19.8 +/- 8.9 jours ; alors que celui-ci s'effectue en temps normal chez l'enfant à terme, allaité à partir de 4 jours.

Ainsi, cette étude révèle non seulement le défaut d'implantation de la flore anaérobie, mais aussi la moindre diversité de l'écosystème intestinal chez les prématurés par rapport aux enfants nés à terme.

La naissance par césarienne, la séparation de la mère au profit d'un environnement de soins intensifs complètement stérile ainsi que le recours à une antibiothérapie sont autant de facteurs incriminés dans ce retard de colonisation.

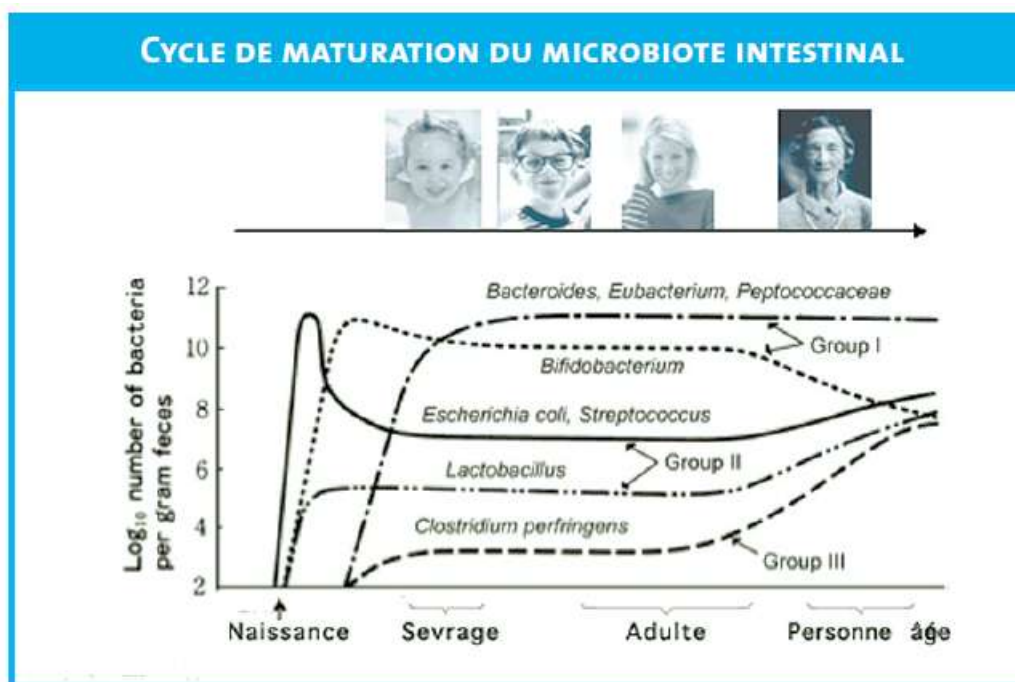
Les répercussions à long terme de ces différents facteurs demeurent malheureusement encore inconnues, mais ils seraient impliqués dans la prévalence de maladies telles que l'allergie, les maladies inflammatoires chroniques intestinales...

#### 1.1.4.2 Evolution de cet écosystème avec le temps

Avec l'âge, de nouvelles modifications vont s'opérer, on va assister chez la personne âgée (65 ans) à une perte de stabilité et une complexification de la flore intestinale.(16)

Un certain nombre d'études se sont intéressées au microbiote de la personne âgée (65 ans). La plupart révèlent une augmentation de la diversité bactérienne avec l'âge. On note en particulier une élévation des *clostridies*, mais également des entérocoques et des entérobactéries, alors que le nombre de bifidobactéries décline considérablement chez le sujet âgé et ceci est d'autant plus marqué chez la personne âgée fragilisée, hospitalisée.(30)

Comme tout autre organe, le microbiote intestinal est soumis à un certain nombre de perturbations engendrées par le processus de vieillissement mais aussi indirectement par l'environnement. De nombreux changements peuvent bouleverser le mode de vie. Des problèmes de mastication, la perte d'appétit, mais aussi une hospitalisation, la polymédication ou encore une mobilité réduite... sont quelques facteurs pouvant altérer le régime alimentaire. Or ce sont les apports de substrats alimentaires qui contribuent au développement des bactéries intestinales, on assiste alors à un ébranlement de l'équilibre de cette flore intestinale avec l'âge.



**Figure 6** Cycle de maturation du microbiote intestinal  
(16)

*Group I* : Bactéries anaérobies strictes -> Flore dominante

*Group II* : Bactéries anaérobies facultatives

*Group III* : Bactéries anaérobies strictes potentiellement pathogènes

### 1.1.5 Introduction à la notion de dysbiose

Le microbiote intestinal est un écosystème actif, capable de s'auto-entretenir dont l'équilibre reste malheureusement fragile face aux multiples agressions.

#### 1.1.5.1 Qu'est-ce que la dysbiose intestinale ?

Une dysbiose correspond à l'altération de l'équilibre de la flore commensale de l'hôte, accompagnée en général de répercussions néfastes pour ce dernier qui peuvent aller de la simple dérégulation à la pathologie. Cette perte de stabilité génère la plupart du temps la prolifération de micro-organismes délétères (bactéries ou levures tel que *Candida*), et conduit à la fragilisation de la muqueuse intestinale. Or la muqueuse intestinale est un véritable filtre, qui une fois affaiblie devient extrêmement perméable et peut compromettre la santé de l'hôte.(17)

Dans un certain nombre de pathologies telles que le syndrome du côlon irritable, l'allergie, les maladies inflammatoires chroniques intestinales, ou même le diabète des remaniements sont observés en termes de composition, structure et d'activité de cet écosystème digestif. (16)

#### 1.1.5.2 Facteurs incriminés

Les causes de dysbiose sont diverses. Beaucoup de facteurs peuvent compromettre cette homéostasie intestinale parmi lesquels on distingue :

- Des facteurs exogènes :
  - les diverses infections (virales, bactériennes, parasitaires)
  - l'alimentation actuelle caractérisée par un excès de sucres rapides, graisses saturées et protéines et par l'absence de fibres
  - certains médicaments et tout particulièrement les antibiotiques
  - un déficit immunitaire
  - le stress, le climat, le niveau d'hygiène...(17)
  
- Des facteurs endogènes :
  - liés à l'hôte comme le péristaltisme, le pH, les sécrétions (enzymes, biles, immunoglobulines...)
  - liés aux bactéries (adhésion, motilité...)
  - les interactions bactériennes (synergie, antagonisme)(31)

Le microbiote dit « déviant » est alors un terrain favorable à la prolifération de micro-organismes opportunistes déstabilisant la santé, le bien-être de l'individu.

### 1.1.6 Les fonctions majeures de la flore intestinale

La flore intestinale en contact permanent avec l'épithélium colique exerce de nombreux effets structuraux et métaboliques, ainsi que de nombreuses fonctions physiologiques qui sont pour la grande majorité bénéfiques pour l'hôte. Le microbiote peut en raison du très grand nombre de gènes qui le composent et donc de la multiplicité des fonctions physiologiques et par moment pathologiques qui en résulte, être considéré comme un organe à part entière.

#### 1.1.6.1 Etablissement du microbiote et physiologie intestinale

Ce sont les résultats obtenus à partir d'animaux axéniques (animaux dépourvus de flore) qui ont permis aux scientifiques de mettre l'accent sur la plupart des effets du microbiote. Ce modèle d'étude a en effet contribué à mieux appréhender l'incidence du microbiote intestinal sur le développement du tube digestif et la maturation du système immunitaire local.

- Microbiote intestinal et maturation du système immunitaire

### 1. Immunité post-natale

Cette immunité post-natale s'installe très rapidement dès la naissance grâce à une arrivée massive de bactéries au contact des muqueuses. Dès le plus jeune âge, l'interface hôte-flore va assurer progressivement le passage vers une réponse immunitaire mature par des mécanismes de régulation complexe. Cette réponse est contrôlée par une stimulation bactérienne permanente et hautement diversifiée.

Grâce aux informations transmises à l'entérocyte et à la cellule M (microfold = micro-plissements), les bactéries interviennent dans le développement du GALT (Gut-associated Lymphoid Tissues). En effet, l'entérocyte et la cellule M communiquent avec des cellules présentatrices d'antigènes : les cellules dendritiques du chorion.

Deux réponses étroitement liées doivent dès les premiers mois de vie assurer une véritable défense du milieu digestif : l'immunité innée et adaptative. Elles correspondent :

- d'une part, à la mise en place de l'ensemble des mécanismes de défense contre les pathogènes faisant intervenir l'immunité cellulaire (Lymphocyte Th1), l'immunité humorale (Lymphocyte Th2) ainsi que d'autres lymphocytes tels que le profil Th17 ou les effecteurs CD4+.
- et d'autre part, à l'instauration de lymphocytes régulateurs (Th3, CD4+...) intervenant dans le contrôle de toute réponse immunitaire en excès.

Cependant l'organisme doit très rapidement trouver un équilibre entre cette barrière immunitaire et la régulation de son excès.

La flore intestinale apporte sa contribution par la pression permanente qu'elle exerce sur l'épithélium digestif. Elle joue un rôle déterminant dans la stabilisation immunitaire.

En effet, une tolérance aux bactéries commensales et aux antigènes alimentaires va progressivement se mettre en place. Il s'agit d'une étape clé dans l'équilibre immunitaire qui en cas de rupture pourra être la cause de bien des désordres tels que l'allergie et les maladies auto-immunes.(32),(33)

### 2. Education du système immunitaire

Le microbiote exerce sur le système immunitaire une stimulation permanente. Il présente entre autres un rôle d'activation mais aussi de modulation, et enfin de régulation sur les systèmes immunitaires intestinal et périphérique. Ainsi, c'est à ce niveau que les souris axéniques ont fait l'objet d'études afin de démontrer l'intrication du microbiote et du système immunitaire.

Les systèmes immunitaires semblent affectés par l'absence de microbiote. En comparant ce type de souris et les animaux conventionnels, on constate au niveau intestinal, un effondrement de la production de cytokines, une faible diversité en immunoglobulines sériques, une réduction de la concentration en lymphocytes intra épithéliaux et bien d'autres perturbations... Mais ceci ne concerne pas exclusivement le système immunitaire intestinal, la rate et les ganglions lymphatiques (système immunitaire périphérique) sont également touchés par cette déficience car peu structurés, et présence d'atrophie lymphocytaire. Ces anomalies peuvent cependant être très rapidement corrigées (en quelques semaines) en inoculant chez ces souris axéniques une flore de souris conventionnelle adulte.



Le lien entre la flore intestinale et le système immunitaire est très fort. Il est d'une importance capitale afin de contrecarrer avec la plus grande efficacité les divers pathogènes (bactéries, virus, parasites) auxquels l'organisme est confronté. Ce dialogue perpétuel constitue l'assurance d'une homéostasie intestinale parfaite, une fonction de barrière plus performante ainsi qu'un équilibre efficace de la balance entre réponse pro et anti-inflammatoire.(33)

- Microbiote et mise en place de la fonctionnalité du tube digestif

Les études réalisées sur les animaux axéniques ont montré qu'en l'absence de microbiote l'ensemble du tractus digestif semble beaucoup plus vulnérable, instable. En comparant ces animaux aux conventionnels, on constate un ralentissement du renouvellement épithélial (atrophie des cryptes) mais aussi de la vascularisation (les réseaux vasculaires sont deux fois moins denses par rapport aux souris conventionnelles) et des activités enzymatiques intestinales. Le mucus est quant à lui beaucoup plus développé et on note chez ces animaux « stériles » une plus grande sensibilité aux infections. L'ensemble du tube digestif dépourvu de microbiote, apparaît comme immature. L'épaisseur de la muqueuse, la taille des villosités et des bordures en brosse sont touchées par cette privation et apparaissent atrophiées.

Ainsi, le microbiote exerce une très forte influence sur le métabolisme, la prolifération, et la fonction des cellules épithéliales intestinales.(33)

### 1.1.6.2 Fonctions métaboliques du microbiote intestinal

Les bactéries de cet écosystème participent au niveau du côlon à de nombreux processus de dégradations, remaniements, synthèse. Le microbiote intervient dans la fermentation colique, il utilise pour cela des substrats d'origines diverses, exogènes (résidus alimentaires non digérés dans l'intestin grêle) ou endogènes (produits par l'hôte). Les métabolites issus de cette fermentation sont les acides gras à courte chaîne (acétate, propionate, butyrate), les gaz (hydrogène, dioxyde de carbone, méthane) et l'ammoniac. L'ensemble de ces composés produits constitue pour la grande majorité des nutriments pour les cellules intestinales et jouent donc un rôle bénéfique sur la santé. Par exemple, le propionate une fois absorbé va réguler la synthèse du cholestérol hépatique, le butyrate quant à lui exerce des effets immunomodulateurs et intervient dans la nutrition des tissus.

Les interactions entre le microbiote, l'alimentation et l'hôte jouent alors un rôle capital dans le maintien de l'homéostasie de la flore intestinale et dans la genèse d'un quelconque désordre voire d'une situation pathologique.(25),(34)

### 1.1.6.3 La protection contre les micro-organismes pathogènes : l'effet « barrière »

Cet effet « barrière » permet de protéger l'organisme contre l'invasion de micro-organismes opportunistes. Il fait pour cela intervenir différents mécanismes :

- l'exclusion compétitive : le microbiote, véritable écosystème qui de par sa stabilité et sa diversité est un redoutable compétiteur. Les bactéries autochtones vont en effet consommer les mêmes substrats, occuper les mêmes sites d'adhésion que les micro-organismes pathogènes, mais aussi sécréter des éléments tels que des bactériocines. Les bactériocines sont des protéines agissant comme de véritables antibiotiques. Elles se fixent à certains récepteurs membranaires, et rendent le pathogène beaucoup plus perméable. Le contenu intracellulaire est alors libéré, il s'ensuit la mort de la bactérie affectée. La production de bactériocines va donc favoriser le rejet des pathogènes et renforcer l'effet barrière.
- la modulation de sécrétion de mucus apporte également sa contribution : situé entre la flore de la lumière intestinale et la muqueuse épithéliale, il est composé de mucines (glycoprotéines sécrétées ou transmembranaires). Ces dernières assurent le maintien de l'intégrité de la barrière colique grâce aux fonctions diverses qu'elles exercent sur

la croissance et la différenciation cellulaire, la transduction de signaux ou encore l'adhésion cellulaire.

- les jonctions serrées au niveau des espaces intercellulaires constituent un filtre efficace et participent donc à la perméabilité intestinale.
- le dernier mécanisme mis en jeu est l'immunomodulation, c'est-à-dire la capacité du microbiote à moduler et à rendre plus efficace le système immunitaire inné et adaptatif.

Notamment, les cellules au niveau intestinal sont capables de reconnaître grâce à leurs récepteurs (toll-like récepteurs et nod-like récepteurs) les signaux émis par telle ou telle bactérie, et contrôlent ainsi les réactions inflammatoires qui en découlent face aux pathogènes.(25)

## 1.2 Le système immunitaire digestif

De nombreuses stimulations antigéniques (bactériennes, virales, parasitaires) peuvent perpétuellement agresser la muqueuse intestinale. Cependant, cette dernière dispose d'un important arsenal assurant sa protection : le péristaltisme et les sécrétions intestinales, le renouvellement épithélial rapide... ainsi qu'un système immunitaire local extrêmement performant. Cet ensemble forme un bouclier permettant à la muqueuse de pallier tout type d'agression exogène.

Le système immunitaire associé à l'intestin désigné sous le nom de GALT (« gut-associated-lymphoid tissue ») est un système d'une extrême complexité. D'une part, il est constitué de plaques de Peyer, ganglions mésentériques, et d'appendices, structures organisées où s'initie la réponse immunitaire. Et, d'autre part on y trouve un compartiment beaucoup plus diffus, disséminé sur l'ensemble de la muqueuse intestinale comprenant des lymphocytes T, des plasmocytes.

Tout ce système GALT constitue la plus grande proportion de tissus lymphoïdes du corps humain.(7),(35)

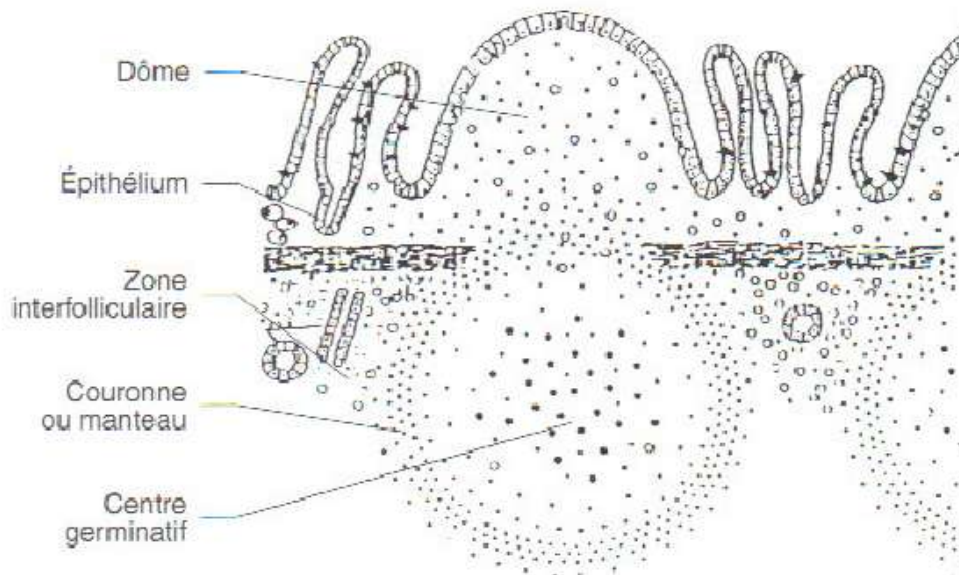
### 1.2.1 Le système lymphoïde associé à l'intestin

#### 1.2.1.1 Les plaques de Peyer

Les plaques de Peyer constituent des agrégats volumineux de follicules lymphoïdes organisés entre la muqueuse et la sous muqueuse, représentées principalement au niveau du duodénum jusque l'iléon terminal où elles prédominent. C'est à ce niveau que s'enclenche la phase d'initiation de la réponse immunitaire.

Elles comprennent trois parties bien distinctes :

- A la surface, le dôme recouvert d'un épithélium spécialisé contenant les cellules M où viennent se loger des lymphocytes CD4+, des lymphocytes et des macrophages. L'activité d'endocytose de ces cellules M assure la capture et le transfert des antigènes vers le tissu lymphoïde sous-jacent.
- Sous ce dôme, on trouve des follicules lymphoïdes B avec en périphérie des lymphocytes B porteurs d'immunoglobulines M (IgM) et un centre germinatif comprenant des lymphocytes B, des cellules dendritiques et des lymphocytes CD4+, où s'effectue l'activation des lymphocytes B qui vont produire en majorité des IgA membranaires.
- Enfin des régions inter-folliculaires constituées de cellules T.(35)



**Figure 7** Les plaques de Peyer (7)

Remarque : La capture de l'antigène de la lumière intestinale peut se faire par diverses voies :

- La première implique les cellules M (vues précédemment) qui se lient à l'antigène et le présentent aux agrégats de cellules dendritiques situées juste en dessous.
- Les cellules dendritiques (cellules présentatrices d'antigène) sont également capables de happer directement l'antigène entre les cellules épithéliales intestinales voire même au niveau des cellules M.

Tout ceci va favoriser la translocation de l'antigène et sa présentation aux cellules immunitaires.

### 1.2.1.2 Le tissu lymphoïde diffus

Deux parties dessinent la muqueuse intestinale : le chorion ou lamina propria, tissu conjonctif parcouru par de nombreux petits vaisseaux (sanguins, lymphatiques) et l'épithélium au renouvellement cellulaire d'une extrême vélocité. C'est à ce niveau que se répartit l'ensemble du tissu lymphoïde diffus constitué de lymphocytes B et T principalement.

#### Origine et différenciation des lymphocytes

Les lymphocytes sont issus de la prolifération et de la différenciation de cellules souches hématopoïétiques multipotentiels (c'est-à-dire des cellules capables de se différencier en cellules constitutives de plusieurs types de tissus) au niveau de la moelle osseuse.

C'est au niveau des organes lymphoïdes primaires (le thymus pour le lymphocyte T et la moelle osseuse pour le lymphocyte B) que ces cellules acquièrent le récepteur de l'antigène et que s'installe la tolérance du soi (élimination des lymphocytes dirigés contre le soi). Les lymphocytes en provenance de ces organes lymphoïdes primaires sont dits naïfs, ce qui signifie qu'ils n'ont encore jamais rencontré l'antigène.

Ils ne deviendront matures qu'une fois au niveau des organes lymphoïdes périphériques (la rate, les ganglions, les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses) où s'effectue la rencontre avec l'antigène : on parle de lymphocytes effecteurs.(36)

- Cellules lymphoïdes B

On les retrouve en majorité sous forme « mature » dans la lamina propria, et plus particulièrement dans les villosités et les cryptes.

Une fois activés au sein des plaques de Peyer, les lymphocytes B migrent vers cette lamina propria où ils vont subir une ultime phase de différenciation, on les désigne alors sous le nom de plasmocytes.

Ces plasmocytes intestinaux assurent pour la plupart la synthèse de 80% des Immunoglobulines A, 15% d'Immunoglobulines M et enfin 5% d'Immunoglobulines G. Les plasmocytes à Immunoglobulines E sont quant à eux beaucoup plus rares et se retrouvent dans les allergies alimentaires. Ce sont donc les principaux acteurs de la réponse humorale.

- Cellules lymphoïdes T

Ils se dispersent dans les deux compartiments distincts de la muqueuse à savoir la lamina propria et l'épithélium et se subdivisent en deux sous-populations.

### Caractéristiques du lymphocyte T

Les marqueurs de surface :

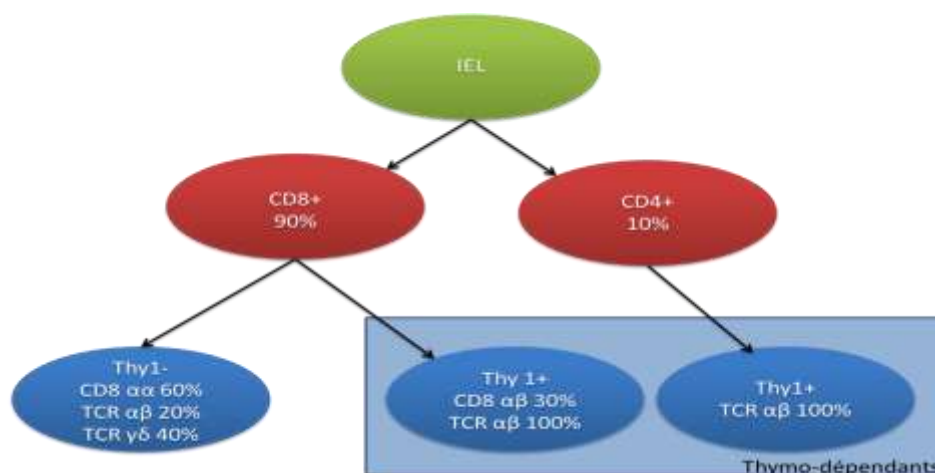
- Les lymphocytes T de la muqueuse sont caractérisés par la présence du complexe TCR/CD3 formé de glycoprotéines appartenant à la famille des immunoglobulines, ils sont constitués de sous-unités  $\alpha\beta$  (ou  $\gamma\delta$ ) pour le TCR d'une part et  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  pour le module CD3 d'autre part.  
Le TCR assure à l'aide du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) la reconnaissance de peptides antigéniques par le lymphocyte T, il constitue donc le récepteur d'antigènes.  
Le CD3 est de son côté, responsable de la transmission de signaux activateurs à l'intérieur de la cellule (et ceci en raison de sa partie intra cytoplasmique composée d'ITAM = Immuno-receptor Tyrosine Activation Motif).  
Ce complexe assure la sensibilisation à l'antigène et est donc à l'origine de la réaction immunitaire. Il s'ensuit alors une prolifération puis une différenciation de clones de cellules T.
- Le CD4 est le marqueur des lymphocytes T auxiliaires (T Helper), et le CD8 des lymphocytes T cytotoxiques (CTL). Ils sont formés de glycoprotéines et se lient spécifiquement au CMH de classe II et le CMH de classe I, respectivement.
- Ils stabilisent l'interaction CMH / TCR et interviennent dans la signalisation intra cytoplasmique.

Le lymphocyte T va suivre différentes étapes de maturation. Ceci est étroitement lié à l'acquisition de marqueurs membranaires spécifiques à l'origine de diverses fonctions biologiques. Au niveau du thymus, les lymphocytes développent le complexe CD3/TCR, CD4, CD8. Ils vont ensuite se diviser en deux sous-populations : les Lymphocytes T auxiliaires (CD4) qui par leur coopération avec les lymphocytes B vont favoriser la réponse humorale ou s'ils dialoguent avec les lymphocytes T CD8 favoriser l'émergence de lymphocytes T cytotoxiques (CD8) et l'immunité à médiation cellulaire.(37)

- Les lymphocytes intra-épithéliaux sont principalement représentés par ceux au profil CD8+, de deux types selon leur dépendance ou non au thymus et leur passage ou non au niveau des plaques de Peyer.

La première portion, thymodépendante CD3+ expriment le TCRαβ et sont CD8+ (90%), rarement CD4+ (10%). Des travaux réalisés sur des souris athymiques montrent que cette population de lymphocytes ne pourrait subsister sans le thymus, elle est en effet non retrouvée chez ces souris : ceci prouve le caractère thymodépendant de ces lymphocytes. De plus leur présence dépend fortement des stimulations antigéniques.

Le reste des lymphocytes intra-épithéliaux sont caractérisés par un profil particulier, avec un marqueur CD8 composé de sous-unités α. Ils présentent également soit un TCRαβ, soit un TCRγδ. Contrairement à ceux décrits précédemment, on les retrouve chez des souris dépourvues de thymus et élevées dans des conditions aseptiques. Ainsi, leur développement n'est ni dépendant du thymus, ni induit par une quelconque stimulation antigénique.



*Figure 8 Les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) (32)*

De plus, les granulations intra-cytoplasmiques riches en perforine et en granzyme, la présence de molécules d'adhérence telles que l'intégrine... sont quelques éléments témoignant de leur stade de différenciation et de leur activité cytotoxique.

- Les lymphocytes du chorion sont majoritairement des lymphocytes T auxiliaires CD4+.
  - Les autres cellules :

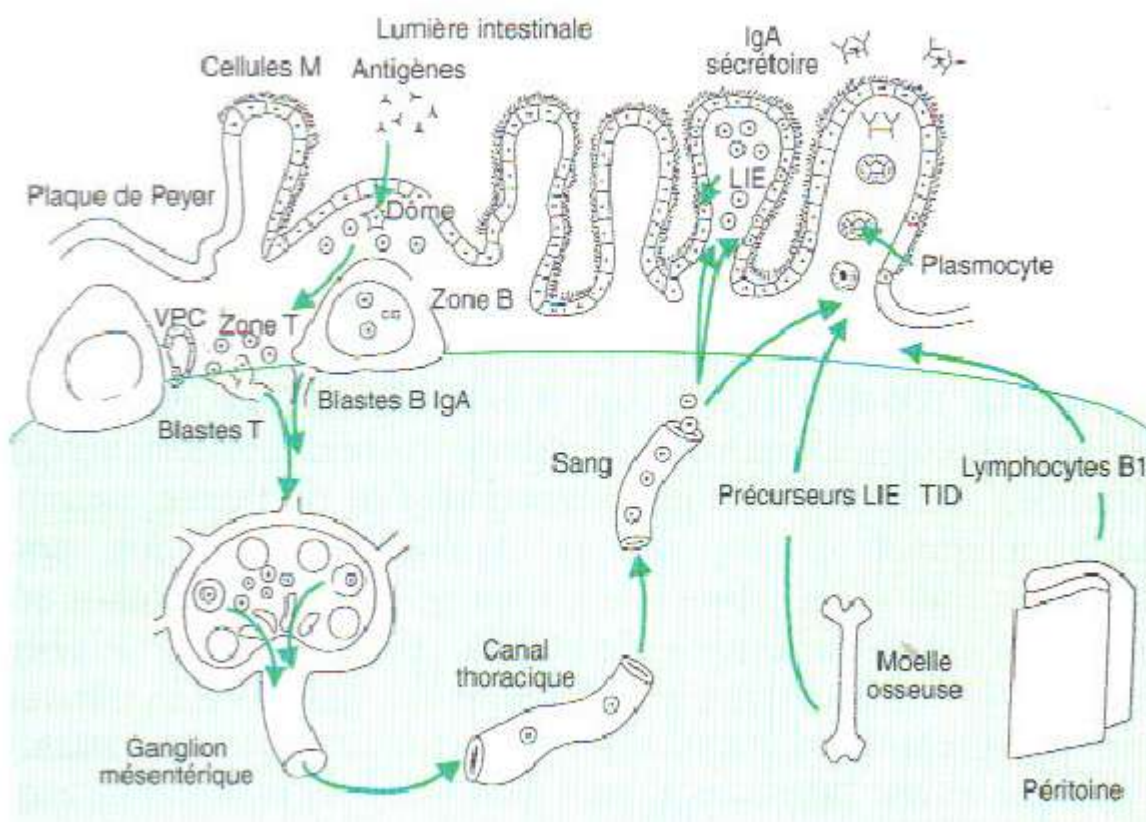
Dans la lamina propria, on retrouve en outre des lymphocytes et plasmocytes, mais également des macrophages, des mastocytes et une faible proportion de polynucléaires éosinophiles et neutrophiles dont la quantité peut varier en fonction de l'état pathologique de l'individu.(7), (35)

### 1.2.2 Le cycle hémolymphatique entéro-entérique

Après sensibilisation au niveau des plaques de Peyer, les lymphocytes B et T migrent via le réseau lymphatique vers le compartiment systémique. Ils passent donc de la lymphe, des ganglions mésentériques, au canal thoracique pour enfin gagner le sang. Ils retournent ensuite

vers le site d'initiation, c'est-à-dire la muqueuse intestinale sous forme fonctionnelle, mature. Cette phase de migration porte le nom de cycle hémolympatique entéro-entérique.

Les plasmocytes sécrètent alors des IgA capables de neutraliser l'antigène. Quant aux cellules T, cytotoxiques, elles sont dotées d'une activité de destruction cellulaire.



**Figure 9** Le cycle hémolympatique entéro-entérique  
(7)

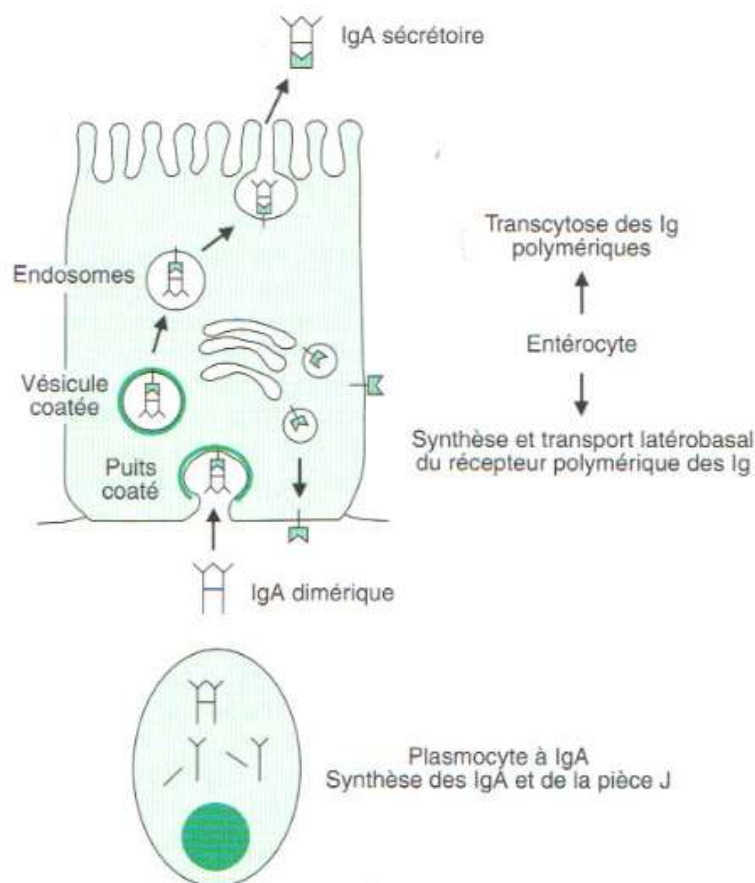
### 1.2.3 L'immunité humorale sécrétoire

#### 1.2.3.1 Le transport à travers les entérocytes

Une fois synthétisées par les plasmocytes de la lamina propria, les IgA intestinales vont être excrétées dans la lumière intestinale sous forme de dimères reliés par une chaîne J. Il existe à ce niveau deux types d'IgA : les IgA1 et IgA2 qui diffèrent par leur sensibilité ou non à la protéolyse.

Cette structure particulière leur assure, après libération dans le liquide interstitiel par le plasmocyte une reconnaissance au niveau du pôle basal des entérocytes. Les entérocytes possèdent en effet un récepteur pour ces IgA : le composant sécrétoire (CS). Le complexe IgA-CS formé est internalisé au sein de l'entérocyte et transporté vers le pôle apical où par fusion avec cette dernière les IgA et la partie extracellulaire du récepteur sont libérées dans la lumière intestinale.

On estime, chez l'homme à 40mg/kg le nombre d'IgA sécrétées chaque jour dans la lumière intestinale.



**Figure 10** L'immunité humorale sécrétoire  
(7)

### 1.2.3.2 Fonctions des IgA

En tapissant l'ensemble de la muqueuse, elles ont la particularité d'assurer une protection efficace contre tout type d'agresseurs exogènes. D'une part, elles forment par fixation sur les antigènes alimentaires des complexes immuns qui seront soit phagocytés par des macrophages, soit éliminés dans la bile ou encore détruits par péristaltisme dans le mucus. Elles contrecarrent ainsi l'entrée des antigènes dans les tissus sous-jacents. D'autre part, elles sont capables de freiner par immobilisation la fixation des bactéries à l'épithélium. Enfin, elles reconnaissent et dégradent les virus lors du passage du côté apical de l'épithélium. (35),(7)

## 1.3 Dialogue entre composants de l'écosystème gastro-intestinal

La flore intestinale, l'épithélium digestif et le système immunitaire résident vivent en parfaite harmonie et participent activement à l'instauration de ces liens symbiotiques. Pour cela, un dialogue étroit entre ces trois éléments s'est établi afin de sauvegarder, maintenir, reconstituer la santé de leur hôte.

### 1.3.1 Les cellules épithéliales et le microbiote

Les cellules épithéliales qui tapissent l'ensemble de la muqueuse digestive constituent une surface d'échange considérable avec le milieu extérieur. Elles ont un rôle très important dans l'organisation d'une défense optimale face aux agresseurs extérieurs. Elles doivent être en effet en mesure d'interpréter avec une extrême précision les signaux émis afin de respecter l'homéostasie de la flore autochtone et d'éliminer les bactéries morbiphiques qui cherchent à s'implanter. Elles utilisent pour cela des récepteurs (spécifiques des procaryotes) et des signaux (cytokines, chimiokines...).

Grâce à la communication étroite établie entre la flore intestinale et son hôte, des informations essentielles se sont dégagées dans les conditions tant physiologiques que pathologiques et ont permis d'améliorer la prise en charge de maladies.(38),(39)

### **1.3.2 Le microbiote et le système immunitaire : acquisition de la tolérance**

Face aux diverses agressions engendrées par les virus, bactéries, parasites entéropathogènes, le système immunitaire élabore des réponses humorales et cellulaires assurant à son hôte une protection optimale. La première, la réponse humorale correspond à la libération d'IgA par les muqueuses et va permettre de bloquer l'adhésion de bactéries pathogènes et la prolifération de virus. La réponse cellulaire, quant à elle, utilise les lymphocytes intraépithéliaux qui empêchent l'altération de l'épithélium intestinal.

Cependant, avec la multitude de germes qui peuplent l'ensemble du tractus intestinal, le système immunitaire doit être en mesure d'éradiquer les micro-organismes opportunistes, tout en discriminant les bactéries commensales. Ainsi le système immunitaire doit être à même de bloquer tous les mécanismes immuns dirigés contre la flore intestinale : on parle alors de tolérance orale.(40),(41)

#### Notion de tolérance immunitaire

La tolérance correspond à l'absence de réponse immunitaire face à un antigène (constituant du soi). Elle met en jeu un ensemble de mécanismes physiologiques influençant l'orientation de la réponse immunitaire vis-à-vis des antigènes endogènes (éléments du soi) et exogènes (élément du non-soi).

Elle implique pour cela deux mécanismes :

- La tolérance centrale où les cellules lymphocytaires (lymphocytes T et B) sont soumises à des phénomènes de délétion clonale (mécanisme d'apoptose) et d'anergie clonale (faisant intervenir des signaux d'inactivation secondaire) et ceci respectivement au niveau du thymus et de la moelle osseuse.
- La tolérance périphérique repose sur divers processus dont l'ignorance immune (absence de rencontre entre les cellules présentatrices d'antigène et les lymphocytes T), l'anergie ou paralysie lymphocytaire (correspondant à l'absence de prolifération lymphocytaire après stimulation antigénique), mais aussi l'immunorégulation (utilisant des lymphocytes T régulateurs ainsi que des mécanismes d'apoptose).(42),(41)

#### Implication du microbiote intestinal

Les bactéries de la flore commensale ont un rôle très important dans l'élaboration de l'immunité intestinale. Contrairement aux bactéries pathogènes, elles induisent une immunité tolérogène.

Ainsi le microbiote doit être reconnu par l'épithélium intestinal et discriminé par le système immunitaire.

Pour cela, il existe à la surface des cellules épithéliales des récepteurs TLR (Toll-Like, appartenant aux PRR « pattern recognition receptors ») capables de se lier spécifiquement à des motifs moléculaires présents sur des bactéries, virus.... Ces récepteurs vont entraîner une signalisation et la mise en place de réponses immunitaires spécifiques. Face à un pathogène, les récepteurs TLR activés vont provoquer l'induction de médiateurs pro-inflammatoire (le



facteur de transcription nucléaire NFκB qui assure la libération de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires). Cette cascade d'activations pro-inflammatoires va alors conduire à l'élaboration de réponses immunitaires adaptatives contre le pathogène.

Ils sont donc en charge de faire la distinction entre le « soi » et le « non-soi ». Ils contrôlent à l'aide d'une signalisation spécifique la maturation de cellules immunitaires (par exemple les cellules dendritiques) et dirigent ainsi la réponse immunitaire.

Cependant face aux micro-organismes commensaux, l'hôte doit être en mesure de bloquer efficacement les réponses inflammatoires induites afin que la situation ne devienne pas systématiquement pathologique. Des mécanismes d'autorégulation existent alors pour maintenir l'homéostasie intestinale : diminution de l'expression de récepteurs à la surface des cellules épithéliales, réduction du contact entre les bactéries et ces dernières, la sécrétion d'IgA, de peptides antimicrobiens et la présence de mucus..

De plus, le contact perpétuel entre les récepteurs à la surface de l'épithélium et les motifs des bactéries de la flore est indispensable afin de maintenir cet état basal d'activation des voies de signalisation inflammatoires contre la flore.

#### En résumé :

Des liens étroits sont établis entre l'épithélium intestinal, les bactéries autochtones et le système immunitaire. Aucun assaut ne sera initié par les cellules immunitaires en vue d'éradiquer la flore intestinale. Cependant, des mécanismes innés et adaptatifs sont tout de même instaurés indiquant la « non-passivité » du système immunitaire face à la flore. Les cellules dendritiques vont par exemple être « conditionnées », des lymphocytes T régulateurs mis en place et des immunoglobulines A spécifiques synthétisées afin de préserver cette homéostasie intestinale.(43),(39)

## 2. LES PROBIOTIQUES

### 2.1 Généralités

#### 2.1.1 Historique

Le concept de probiotique a pour la première fois été établi au début du XX<sup>e</sup> siècle grâce aux recherches d'Elie Metchnikoff (biologiste russe de l'Institut Pasteur de Paris). Il est l'un des premiers scientifiques à s'intéresser aux cultures lactiques : ces observations ont conduit à établir un lien entre la consommation de produits laitiers (cultures lactiques) et la grande longévité et le bon état de santé de paysans bulgares.

Il proposa une théorie selon laquelle le mécanisme « d'auto-intoxication » intestinal des bactéries autochtones pouvait être modulé par l'ingestion de bactéries. Il établit alors un régime alimentaire à base de lait fermenté afin de modifier la flore du colon humain.

En 1917, une souche non pathogène d'*Escherichia coli* fut découverte par le professeur allemand Alfred Nissle. Elle fut alors isolée des selles d'un soldat de la première guerre mondiale qui échappa à la sévère épidémie de Shigellose qui s'était établie à cette époque. La flore intestinale était alors très souvent modulée et les troubles intestinaux traités grâce aux bactéries non pathogènes isolées.

Henry Tissier, chercheur de l'Institut Pasteur isola quant à lui une bactérie qu'il désigna sous le nom de *Bacillus bifidus communis* à partir d'un enfant nourri au sein. Selon lui, cette bifidobactérie pourrait affaiblir la bactérie protéolytique responsable de diarrhées chez les enfants.

Ce n'est qu'en 1965 que le terme de probiotiques fut véritablement introduit par Lilly et Stillwell, et ainsi définis comme facteurs microbiologiquement dérivés stimulant la croissance des autres organismes.(44),(45)

#### 2.1.2 Définitions

##### 2.1.2.1 Les prébiotiques

Les prébiotiques doivent avant tout bien être différenciés des probiotiques. En effet, ils ne sont pas considérés comme des micro-organismes. Ce sont en réalité de simples molécules non digestibles issues des aliments capables d'attiser la croissance et l'activité de certaines souches bactériennes intestinales.

Pour être considéré comme prébiotique, l'élément incriminé doit répondre à un certain nombre de critères :

- Ne pas être dégradé dans la partie haute du tube digestif
- Jouer le rôle de substrat spécifique pour certaines bactéries commensales et stimuler par ce biais leur croissance et leur activité métabolique.
- Améliorer la composition de la flore intestinale favorable au bon état de santé de l'individu.
- Induire des effets locaux et systémiques bénéfiques à l'hôte.

Ce sont très souvent des sucres comme les fructo et oligosaccharides, mais aussi des peptides ou protéines, des fibres, de l'inuline,...

Ils représentent donc une source d'énergie non négligeable pour les micro-organismes constitutifs de la flore intestinale et pour les probiotiques. Ils sont généralement retrouvés en très grand nombre dans l'alimentation (blé, seigle, poireau, oignon, artichaut, banane...) ou

produits au sein de l'organisme comme les oligosaccharides issus de la fermentation lactique de bactéries.(44),(46),(47)

### 2.1.2.2 Les probiotiques

Selon la définition adoptée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et la FAO (Food and Agriculture Organization) en 2002, un probiotique est « un micro-organisme vivant qui, lorsqu'il est ingéré en quantité suffisante, exerce un effet bénéfique sur la santé de l'hôte ».

Ce sont principalement des bactéries et des levures présentes dans l'alimentation (les laits fermentés par exemple) ou encore dans les compléments alimentaires sous forme lyophilisée. Parmi les genres bactériens couramment utilisés, on retrouve *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* et *Enterococcus*, ainsi que des levures telles que *Saccharomyces boulardii*.

- L'effet souche-spécifique

A chaque probiotique correspond une souche mais aussi une espèce et un genre spécifique. Chacune de ces souches présente des caractéristiques qui lui sont propres : son activité métabolique, sa résistance au milieu digestif, sa capacité d'adhérence aux cellules épithéliales mais aussi la composition de sa paroi, son génome...

Ainsi les propriétés des probiotiques sont donc souche-spécifiques; les effets observés avec une souche donnée ne peuvent être extrapolés à une autre.

Il n'existe pas de probiotique universel : à chaque souche correspond un site d'action et une indication donnée. (46),(48)

### 2.1.2.3 Les symbiotiques

Dans certains cas, un probiotique peut être associé simultanément à son substrat de type prébiotique spécifique : le mélange ainsi constitué est appelé symbiotique.

Exemple : une suspension constituée de fructo-oligosaccharides et de *Bifidobacterium*.

Le but de cette préparation est d'avant tout assurer la survie et la persistance du probiotique dans l'environnement digestif grâce à l'utilisation du prébiotique mis à disposition.(44)

### 2.1.2.4 Propriétés et critères de sélection des probiotiques

Un produit reconnu comme probiotique doit présenter un certain nombre de caractéristiques.

- Une identification de la souche, de l'espèce et du genre. En effet, comme nous l'avons vu précédemment le choix du probiotique est conditionné par ses propriétés et donc par la souche dont il est issu.
- Une innocuité totale pour l'homme. Cette dernière constitue un critère de choix en ce qui concerne l'utilisation des probiotiques dans l'alimentation. Ceci se traduit par l'absence :
  - d'infections systémiques
  - de stimulation immunitaire excessive
  - d'activités métaboliques délétères
  - de transfert de gènes entre probiotiques et bactéries de la flore intestinale.
- La nécessité d'attachement et d'interaction avec les cellules de la muqueuse digestive. Cette propriété est très importante afin de sélectionner les micro-organismes probiotiques. En effet, la capacité d'adhérence influence la colonisation même temporaire de ces bactéries au sein du tractus gastro-intestinal.

Or, plus ce temps de résidence est important, plus le probiotique aura la possibilité d'exercer un bénéfice pour la santé de l'hôte.

L'attachement de ces micro-organismes à la muqueuse implique deux mécanismes bien distincts :

- Grâce aux structures moléculaires, composants des parois, les probiotiques se lient spécifiquement aux récepteurs membranaires des cellules épithéliales.
- Le chimiotropisme pour le mucus digestif assure une colonisation optimale de ces bactéries au contact de la muqueuse. (Les sucres du mucus représentent un apport énergétique privilégié par ces bactéries).

Grâce à cette adhérence, les probiotiques implantés transitoirement seront d'une part moins soumis au péristaltisme. D'autre part, ceci va leur conférer des attributs dans l'immunomodulation, la cicatrisation des muqueuses ou encore l'élimination des pathogènes.

- La stabilité de la fabrication, durant le stockage jusqu'à l'ingestion des probiotiques. L'objectif est de conserver des souches probiotiques avec une viabilité et une fonctionnalité toujours intactes.
- La résistance aux conditions gastro-intestinales. Ici on se doit d'insister sur le paramètre de viabilité c'est-à-dire au maintien de l'activité métabolique mais aussi de l'intégrité cellulaire des probiotiques au cours de leur transit digestif. Ils doivent en effet faire face aux diverses agressions potentielles que représentent l'acidité de l'estomac, la sécrétion biliaire du duodénum...
- Et enfin, la capacité d'induire un bénéfice pour l'hôte. Les probiotiques doivent être en mesure d'exercer par leur croissance et leur activité au sein de l'organisme des effets en faveur du bon état de santé de l'individu. (44),(48),(49)

<b>Critères de sécurité</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Identification taxonomique précise</li> <li>- Historique de non pathogénicité et non-invasion de l'épithélium intestinal</li> <li>- Pas de transmission possible de gènes</li> </ul>
<b>Critères fonctionnels</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tolérance à l'acidité, à la bile et aux enzymes digestives.</li> <li>- Adhésion aux cellules intestinales et persistance dans le tractus intestinal</li> <li>- Immunomodulation</li> <li>- Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé</li> </ul>
<b>Critères technologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini</li> <li>- Conservation des propriétés probiotiques après production</li> <li>- Non modification des propriétés organoleptiques du produit fini</li> </ul>

**Tableau 1** Tableau récapitulatif des différents critères de sélection des probiotiques (50)

## 2.2 Les différents types de micro-organismes

Ce sont principalement des bactéries ou des levures appartenant ou non au microbiote intestinal dominant.

- Les bactéries lactiques

Depuis très longtemps, les bactéries lactiques font partie intégrante de notre alimentation, elles interviennent notamment dans la fabrication de nombreux produits fermentés tels que les yaourts, les fromages, la bière ou encore le pain...).

En ce qui concerne les produits issus du métabolisme, une caractéristique commune de ces bactéries est leur capacité à produire de l'acide lactique, produit résultant de la fermentation des glucides.

Elles peuvent être homo-fermentaires (70% d'acide lactique sont produits) ou hétéro-fermentaires (50% d'acide lactique produits associés à de l'éthanol, de l'acide acétique...).

Elles agissent à différents niveaux :

- D'une part, elles assurent la conservation des aliments par abaissement du pH (grâce à l'acide lactique).
- D'autre part, elles déterminent les qualités organoleptiques des produits fermentés.
- Enfin, elles contribuent à l'élimination des micro-organismes pathogènes par la production d'agents antibactériens tels que les bactériocines.

Les deux souches bactériennes appartenant aux ferments lactiques les plus utilisées à ce jour sont les Bifidobactéries et les Lactobacilles.(51)

#### ➤ Les Bifidobactéries

Les Bifidobactéries appartiennent au phylum et à la classe des Actinobacteria, à la sous-classe des *Actinobacteridae*, à l'ordre des Bifidobacteriales et à la famille des *bifidobacteriaceae*.

Ce sont des bactéries Gram positif, strictement anaérobies immobiles. Elles présentent une structure en forme de bâtonnets avec des ramifications primaires et parfois secondaires symétriques.

Leur métabolisme est de type hétéro-fermentaire et caractérisé avec la production d'acide lactique et d'acide acétique.

Elles font partie de la flore intestinale normale et possèdent une bonne résistance aux sucs gastriques. Dominantes au niveau du microbiote de l'enfant, elles laissent très rapidement place à d'autres micro-organismes pour ne représenter avec l'âge que 5 à 10% de la flore intestinale de l'adulte.

#### ➤ Les Lactobacilles

Les Lactobacilles font quant à elles partie du phylum des Firmicutes, de la classe des Bacilli, de l'ordre des Lactobacillales et de la famille des *Lactoacillaceae*.

Ce sont également des bactéries à Gram positif, mais anaérobies facultatives. Elles se présentent sous forme de bâtonnets réguliers et sont asporulées.

Leur métabolisme énergétique est selon l'espèce homo ou hétéro-fermentaire. Parmi les produits finaux de dégradation des sucres des espèces hétéro-fermentaires, on retrouve le lactate principalement, mais aussi l'acétate, l'éthanol et le gaz carbonique.


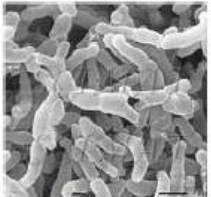
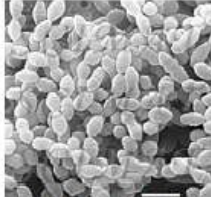

Comme les bifidobactéries, les lactobacilles apparaissent après la naissance dans la flore intestinale mais en quantité beaucoup moins importante que les bifidobactéries.

Elles sont présentes dans la partie haute du tube digestif et tout particulièrement au niveau de la cavité buccale (avec *L. casei*, *L. rhamnosus*, et *L. paracasei*). Le côlon se retrouve quant à

lui totalement appauvri en Lactobacilles. Elles ne constituent que 0.1 à 1% des bactéries autochtones à ce niveau.

- Les Levures de type Saccharomyces

Elles ne font pas partie de la flore intestinale humaine mais peuvent également être utilisées en tant que probiotiques. Un exemple, *Saccharomyces boulardii* constitue une levure probiotique dont les effets sont les plus documentés.(51),(52)

<i>Lacobacillus species</i>	<i>Bifidobacterium species</i>	<i>Other lactic acid bacteria</i>	<i>Nonlactic acid bacteria</i>
 <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	 <i>Bifidobacterium breve</i>	 <i>Streptococcus thermophilus</i>	 <i>Saccharomyces sp.</i>
<i>L. acidophilus</i> <i>L. amylovorus</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>Subsp. Bulgaricus</i> <i>L. gallinarum</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B.longum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconstoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Sporolactobacilius inulinus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Bacillus cereus var. toyoi</i> <i>Escherichia coli strain nissle</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Saccharomyces boulardii</i>

**Figure 11** Les différents micro-organismes considérés comme probiotiques(53)

## 2.3 Persistance et survie des probiotiques dans l'environnement digestif

Des études pharmacocinétiques doivent être mises en place afin de déterminer le devenir des probiotiques au sein du tube digestif. Leurs activités bénéfiques sur l'hôte dépendent en effet de leur capacité à persister et à proliférer au cours de leur transit au sein de cet environnement digestif.

Cependant, la capacité de survie diffère considérablement d'une souche à l'autre. Certaines ne présentent qu'une très faible résistance à l'acidité de l'estomac et sont très rapidement éliminées tandis que d'autres subsistent jusque dans les selles.

Un certain nombre de facteurs sont donc à prendre en compte notamment la résistance intrinsèque du probiotique utilisé, la galénique et la quantité ingérée ainsi que ceux liés à l'hôte (suc gastrique, sels biliaires...)(54),(55)

Les bactéries doivent arriver vivantes et en nombre suffisant au niveau de l'intestin afin d'exercer un effet probiotique significatif.

Parmi les facteurs conditionnant la survie des probiotiques dans le tractus digestif on retrouve :

- La sécrétion d'acide gastrique

La sécrétion d'acide gastrique influence très fortement la colonisation par des micro-organismes pathogènes ou non. Elle représente la première ligne de défense face aux divers éléments apportés par l'alimentation.

La tolérance à l'acidité du milieu stomacal constitue un critère de sélection des probiotiques. Ils doivent en effet être en mesure de résister au pH faible de l'estomac.

Une hypothèse émise par plusieurs scientifiques afin d'expliquer les différences de résistance à l'acidité stomacale fait intervenir la paroi bactérienne. Face aux multiples agressions extérieures, l'intégrité de la paroi doit être absolument maintenue afin de garantir une résistance optimale à l'acidité gastrique.(56)

Des variations dans la composition en acides gras de la paroi cellulaire ont été observées entre souches acido-tolérantes et non. Selon certains chercheurs ceci pourrait expliquer les divergences d'une bactérie à l'autre face à l'acidité du milieu.(57),(56)

Dans le cadre d'un traitement anti-sécrétoire gastrique (de type Inhibiteurs de la Pompe à Protons) ou encore de l'achlorhydrie, une potentialisation de la colonisation et donc du risque d'infection intestinale devrait être constatée.

Or, cette augmentation n'est en fait que très faible. Il existe au niveau digestif d'autres facteurs de résistance dirigés contre les bactéries.(55),(58)

- Autres sécrétions digestives

Les micro-organismes, ayant survécu après leur passage dans l'estomac, sont ensuite confrontés à la sécrétion de bile. Ils doivent dès lors faire face à l'action délétère des sels biliaires.

Des études réalisées in vitro ont contribué à révéler l'effet bactéricide exercé par les sels biliaires. Ils augmenteraient la perméabilité membranaire grâce à leur action détergente sur ces derniers.

Cependant, la sensibilité aux sels biliaires et à l'acidité gastrique est très fluctuante d'une espèce à l'autre.(59)

La couche de mucus présente tout au long du tube digestif représente à elle seule un véritable obstacle aux micro-organismes exogènes. Comme nous l'avons vu précédemment, il est capable de repousser physiquement mais aussi chimiquement les molécules et les micro-organismes du contenu colique.

Les mucines qui le constituent sont capables de se lier aux micro-organismes les empêchant ainsi d'atteindre l'épithélium intestinal.

Ce large réseau macromoléculaire est de plus imprégné d'anticorps notamment les Immunoglobulines A et de nombreuses substances antimicrobiennes telles que le lysozyme ou la lactoperoxydase...(60)

Enfin, les cellules de Paneth situées au niveau des cryptes intestinales sécrètent des peptides antimicrobiens : les défensines. Ces éléments sont très largement impliqués dans l'immunité innée. Cependant, leur mécanisme d'action n'a à ce jour pas encore été clairement élucidé. Les défensines se fixeraient sur les membranes des micro-organismes et assureraient la perméabilisation de ces dernières.(61)

- La motricité gastro-intestinale :

La motricité gastro-intestinale est un mécanisme majeur de défense de l'intestin. Elle assure un contrôle permanent des populations bactériennes au sein de l'environnement digestif.

Les contractions postprandiales provoquent une propulsion et un balayage puissant des bactéries, ce qui contribue à limiter leur implantation. La motricité va par ailleurs modifier le temps de contact des micro-organismes avec les différents moyens de défense.

Ainsi, la colonisation et la survie de ces micro-organismes au cours de leur transit sont compromises.

En revanche, on assiste à une très nette réduction de la motricité dans le côlon. Le ralentissement du transit et le potentiel d'oxydoréduction très bas garantissent une colonisation optimale. Le côlon constitue alors un milieu propice à l'implantation de bactéries anaérobies.(7),(55)

- Le microbiote intestinal : l'effet barrière

Comme nous l'avons vu précédemment, les bactéries endogènes participent aussi à la résistance contre l'implantation d'éléments exogènes. Les interactions microbiennes qui en résultent mettent en évidence cet effet barrière et contribuent à préserver l'équilibre de la flore intestinale.(55)

## 2.4 Mécanismes d'action des probiotiques

On sait aujourd'hui que l'intervention pharmacologique ou nutritionnelle de probiotiques sur l'écosystème gastro-intestinal contribue à optimiser la symbiose entre la flore endogène et son hôte.

Malgré le nombre grandissant de souches probiotiques disponibles sur le marché (**annexe 1**), les scientifiques demeurent cependant encore beaucoup trop dubitatifs quant aux réels effets bénéfiques des probiotiques sur la santé.

En effet, la complexité et la multiplicité des mécanismes d'action attribués aux probiotiques, leur activité très souvent souche-spécifiques ainsi que la diversité des situations cliniques ne font que renforcer ce scepticisme.

On attribue aux probiotiques un certain nombre de propriétés correspondant à une modulation directe ou indirecte de la flore bactérienne résidente, de la muqueuse intestinale ou encore du système immunitaire.

### 2.4.1 Action sur les fonctions intestinales

- La digestion intestinale

Les études sur le sujet sont nombreuses. Ce sont plus particulièrement celles réalisées sur des patients présentant un déficit enzymatique qui ont permis de mieux appréhender l'impact des probiotiques sur la digestion.

Les sujets hypolactasiques, par exemple, ont grâce aux bactéries du yaourt (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaris* et *Streptococcus thermophilus*) montré une meilleure absorption et tolérance au lactose. Ces bactéries sont en effet dotées d'une lactase, enzyme libérée sous l'influence des sels biliaires au niveau de l'intestin grêle, qui favorise l'hydrolyse du lactose. De même, l'utilisation de *Saccharomyces cerevisiae*, levure riche en saccharase, chez des enfants présentant une carence congénitale en saccharase-isomaltase, favorise la digestion du saccharose et supprime les signes cliniques d'intolérance.(62)

Grâce à la stimulation exercée sur les enzymes digestives et à leur propre « capital » enzymatique déversé dans le tractus digestif, les probiotiques améliorent ainsi la digestion.

- La motricité intestinale et transit intra-luminal :

Une étude réalisée chez des volontaires sains de 21 à 42 ans a montré que l'ingestion quotidienne de trois pots de yaourt contenant *Bifidobacterium animalis* DN-173010 pendant une dizaine de jours réduisait le temps de transit colique d'environ 20% comparé à l'apport du même yaourt dépourvu de probiotiques sur une période d'ingestion identique.

Et ceci était d'autant plus marqué chez les femmes pour lesquelles le transit était initialement ralenti.



Cette étude a ensuite été appliquée à deux cents volontaires sains âgés de 50 à 75 ans. *B. animalis* DN 173010 diminuait à nouveau le temps de transit oro-fécal de façon dose-dépendante avec un effet pouvant persister jusqu'à 6 semaines après l'arrêt du probiotique.

Contrairement aux autres segments du tube digestif (œsophage, estomac, intestin grêle), le temps de transit au niveau du côlon est extrêmement lent. C'est l'activité motrice de ce dernier qui assure un contrôle et une régulation de ce temps de transit.

Les mécanismes de régulation du transit par les probiotiques demeurent malheureusement encore inconnus.

Les probiotiques pourraient agir directement ou indirectement via leurs métabolites fermentaires sur l'activité motrice intestinale.(55)

#### 2.4.2 L'effet barrière

Cet effet barrière est le résultat avant tout d'une modulation favorable du microbiote intestinal mais aussi d'un renforcement de l' « obstacle » fonctionnel intestinal.

- Modulation du microbiote intestinal

Les probiotiques sont capables d'expulser les micro-organismes pathogènes grâce à leurs propriétés antagonistes. Ils garantissent ainsi l'équilibre intestinal.

Parmi leurs propriétés antagonistes, on retrouve :

- a) La production de substances antimicrobiennes

Les probiotiques sécrètent comme les bactéries de la flore endogène des substances inhibitrices au fort potentiel bactériostatique ou bactéricide. Parmi ces dernières, on retrouve le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques ou encore les bactériocines.

Leur spectre d'action reste malheureusement relativement étroit. Leur activité est essentiellement dirigée contre les bactéries Gram positives taxonomiquement proches de la souche productrice.(63)

- b) Le blocage de l'adhésion des pathogènes

C'est encore à ce niveau une propriété très similaire au microbiote intestinal. Les bactéries probiotiques sont en effet capables d'inhiber l'adhésion des pathogènes et de leurs toxines. Elles rentrent pour cela en compétition au niveau des mêmes sites d'adhésion sur les cellules épithéliales intestinales.

Cette propriété reste toutefois limitée. L'inhibition compétitive est proportionnelle à la quantité de probiotiques utilisés.(64)

- c) L'acidification du contenu colique

Les acides organiques issus des probiotiques tels que l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide propionique...sont responsables de l'acidification du milieu. Cet abaissement du pH intraluminal colique renforce l'effet antimicrobien contre les microorganismes pathogènes. En effet, grâce à cette propriété, l'activité enzymatique des bactéries acidodépendantes est inhibée et leur croissance réduite.

En revanche, les bactéries résidentes présentent une croissance accrue en présence de ces acides organiques et sont par ailleurs elles-mêmes responsables de la production de ces derniers.(65)

- Renforcement de l'obstacle fonctionnel épithélial

#### a) La perméabilité intestinale

L'utilisation de *Lactobacillus reuteri* et *Lactobacillus plantarum* par exemple, chez le rat dans un modèle de colite expérimentale entraîne une réduction de la perméabilité intestinale.

Les probiotiques assurent le maintien structural des protéines du cytosquelette et des jonctions intracellulaires, ce qui augmente la résistance électrique transépithéliale.

L'utilisation des souches *Lactobacillus acidophilus* et *Streptococcus thermophilus* illustrent cette propriété. Ils préviennent en effet les modifications de perméabilité engendrée par *Escherichia coli* entero-invasifs en empêchant la déphosphorylation des protéines constituant les jonctions du cytosquelette.

Ainsi, grâce à ces deux effets, les probiotiques garantissent la sauvegarde de l'intégrité de la barrière intestinale.(62),(66)

#### b) Stimulation des défenses

Les travaux effectués à partir de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 ont permis de comprendre l'influence des probiotiques sur ces peptides antimicrobiens.

Le probiotique *E. coli* Nissle 1917 communique avec l'épithélium intestinal et la flore intestinale. Grâce à ce dialogue étroit, les études montrent que 300 gènes sont régulés au sein des entérocytes.

Cette souche est non seulement capable d'inhiber la formation et la libération de cytokines pro-inflammatoires dans l'épithélium mais aussi de stimuler les défenses non spécifiques en favorisant la synthèse et l'activité des défenses.(67)

Outre la sécrétion de bactériocines, certains probiotiques sont aussi capables de renforcer la fonction de barrière grâce à leur influence sur ces peptides antimicrobiens.

#### c) Production de mucus

Les probiotiques peuvent également augmenter l'expression de gènes responsables des mucines (MUC) prédominantes au niveau du côlon, comme *Lactobacillus plantarum* 299v et *Lactobacillus rhamnosus* GG. Ces deux probiotiques stimulent plus particulièrement les gènes de MUC2 et MUC3.(68)

Cette activité pourrait en partie expliquer l'inhibition d'adhérence de certaines bactéries pathogènes telles que *E coli* entéroinvasif.(62)

### 2.4.3 L'immunomodulation

L'absorption de nutriments par la muqueuse intestinale, les échanges hydro-électrolytiques, la barrière fonctionnelle épithéliale constituent des paramètres très importants jouant un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie intestinale.

Cet équilibre implique également un dialogue étroit entre les cellules épithéliales, immunitaires et le microbiote comme nous l'avons vu précédemment.

Les probiotiques en transit tout le long du tube digestif peuvent, tout comme la flore endogène, exercer un effet immunostimulant.

Or, face aux micro-organismes pathogènes, deux réponses immunitaires vont se mettre en place successivement :

- L'immunité innée qui agit précocement et permet le développement d'une réponse inflammatoire.
- L'immunité adaptative, plus tardive, hautement spécifique des antigènes et qui génère une mémoire immunitaire.

Les probiotiques peuvent intervenir à ces deux niveaux, grâce à la communication étroite établie avec les cellules de la lamina propria et les ganglions mésentériques. Le contact peut

être direct par translocation vers la lamina propria et les ganglions mésentériques ou indirect via les éléments libérés par les probiotiques dans la lumière intestinale.

- Stimulation de l'immunité innée

- Les études in vitro :

Dans ce type d'études, des probiotiques tels que *Lactobacillus bulgaris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus* et les Bifidobactéries sont directement mis en contact avec des cellules immunitaires.

En fonction de la souche, de la dose utilisée, le constat est le suivant : les probiotiques stimulent favorablement la réponse cytokinique des cellules immunitaires et tout particulièrement la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ).

Cependant, ces études ne sont absolument pas représentatives de la configuration in vivo où une couche de cellules épithéliales sépare les probiotiques du système immunitaire.

De plus, l'effet de l'environnement digestif ne doit pas être négligé, il peut contrecarrer la sécrétion de cytokines par le biais de son tonus suppresseur.

Ainsi, les résultats obtenus in vitro ne peuvent être extrapolés à une situation in vivo compte tenu des interactions cellulaires. Les études cliniques prennent alors toute leur importance.(69),(70)

- Les études cliniques

Seules les études réalisées en double aveugle contre placebo peuvent être considérées. De nombreux exemples démontrent in vivo une activité immunostimulante.

Par exemple, dans une étude, 360 personnes âgées ont été divisées en deux groupes supplémentés ou non par un lait fermenté contenant *S. thermophilus*, *L. Bulgaris*, et *L. Casei* DN-114001 pendant trois semaines. Le même taux d'infections hivernales était observé par rapport au groupe témoin, mais la durée des épisodes infectieux était plus courte (7 jours versus 8.7 jours).

Cette notion d'effet positif des probiotiques sur la durée de l'infection plus que la résistance à cette dernière semble être actuellement confirmée.

- Stimulation de l'immunité adaptative

Les études réalisées sur des enfants en bas âge ont permis de comprendre l'impact des probiotiques sur l'immunité adaptative.

Une supplémentation en *Lactobacillus rhamnosus* GG contribue par exemple chez des nourrissons atteints de diarrhées à rotavirus à favoriser la sécrétion d'IgA anti-rotavirus.

Une autre étude concerne la vaccination orale contre le rotavirus. Cette même bactérie administrée chez des enfants engendre une réponse IgM anti-rotavirus beaucoup plus importante par rapport aux témoins non supplémentés.

Enfin, l'administration de produits fermentés riches en bifidobactéries entraîne chez des enfants sains une augmentation significative du taux d'IgA fécales totales.

Ces résultats montrent qu'un renforcement de l'immunité sécrétoire vis-à-vis de pathogènes est envisageable grâce à l'utilisation de probiotiques. Cependant, le nombre d'études reste encore beaucoup trop insuffisant surtout chez l'adulte.

De plus, l'existence d'une corrélation entre le taux élevé d'IgA et la prévention ou l'atténuation des infections reste à définir.(70),(62)

## 2.5 Effets positifs sur la santé

### 2.5.1 Diminution des allergies

« L'hypothèse hygiéniste » est une théorie qui stipule que l'excès d'hygiène, le recours aux antibiotiques dès le plus jeune âge favoriseraient l'essor des maladies allergiques, auto-immunes, inflammatoires...

Cette dernière pourrait ainsi aider à mettre en lumière l'influence des éléments microbiens et plus particulièrement la flore endogène sur le développement des allergies.

En se référant à cette hypothèse, l'utilisation des probiotiques dans la prévention de la maladie allergique prend alors tout son sens.

Les premières études sur le sujet montrent que l'administration de probiotiques chez des enfants allergiques améliore significativement la symptomatologie et modifie un certain nombre de marqueurs de l'allergie.

L'étude de Kalliomaki publiée en 2001 s'est intéressée à l'influence de probiotiques sur l'apparition d'eczéma atopique chez le nouveau-né. Dans cette étude, deux à quatre semaines avant l'accouchement, des femmes reçoivent un supplément contenant  $10^{10}$  UFC de *Lactobacillus* GG. La supplémentation se poursuit après la naissance de l'enfant, chez la mère allaitante et le nouveau-né pendant 6 mois, toujours à la même dose.(71)

Le suivi clinique a permis de révéler que le nombre d'enfants présentant un eczéma atopique à 24 mois était statistiquement plus faible dans le groupe probiotique (23%) que dans le groupe placebo (46%).

De plus, l'administration de cette bactérie aux jeunes mères accroît la sécrétion de TGF- $\beta$ 2 dans le lait, augmentant le potentiel immunoprotecteur au cours de l'allaitement.

Une autre étude clinique menée chez des enfants nourris au sein et souffrant d'eczéma atopique montre qu'après quelques mois de traitement par *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* Bb12, l'état atopique de ces enfants s'améliore en comparaison au groupe placebo.(71)

Giovannini et al. ont cherché à déterminer dans un essai en double aveugle contre placebo l'impact de probiotiques sur la fréquence et la gravité des symptômes de rhinite allergique ou d'asthme. Pour cela, 187 enfants atteints de ce type de pathologies sont recrutés et ont reçu quotidiennement pendant un an des produits laitiers enrichis ou non en lactobacilles.

Au terme de l'étude, aucune amélioration n'est observée entre les deux groupes en ce qui concerne les symptômes d'asthme. En revanche, l'apport de produits laitiers enrichis en lactobacilles réduit significativement les symptômes de rhinite allergique.(72)

Les mécanismes de régulation incriminés dans les réactions allergiques sont malheureusement encore très peu connus.

L'effet protecteur des probiotiques se résumerait à des modifications de la perméabilité intestinale lors des périodes de réactivité allergique, à un renforcement de la barrière immune intestinale, ou encore à des modifications de la flore intestinale...(73),(74)

Les essais récents rapportent tous des effets bénéfiques vis-à-vis de la prévention de la dermatite atopique. La prévention des allergies respiratoires apparaît également possible. Les différences observées entre les études sont sûrement dues à divers facteurs tels que le type d'allergie, le stade de la maladie, l'environnement, le terrain génétique mais aussi la souche probiotique utilisée, la dose utilisée, ainsi que la durée de suivi...

Les résultats encore contradictoires ne permettent aujourd'hui aucune recommandation en ce qui concerne l'utilisation des probiotiques dans la prévention et le traitement de l'allergie mais les perspectives sont prometteuses.(75)

## 2.5.2 Réduction du risque de diarrhées

- Diarrhée aiguë infectieuse

Les diarrhées infectieuses (gastro-entérites) constituent la pathologie la plus représentée chez le nourrisson et l'enfant dans le monde. L'agent étiologique le plus souvent mis en cause est incontestablement le rotavirus. Mais, l'infection peut être tout aussi bien virale, bactérienne mais aussi parasitaire.

Très peu d'études se sont consacrées au microbiote au cours des diarrhées infectieuses, cependant quelques-unes d'entre elles ont tout de même montré une diminution des *Eubacteria* et des *Bacteroides* au cours de la phase aiguë de diarrhées.(76)

Ceci a conduit à envisager le recours aux probiotiques dans la prévention et le traitement de la pathologie.

Afin de mettre en évidence l'influence positive exercée par les probiotiques sur la survenue et la sévérité des épisodes de diarrhées infectieuses, un certain nombre d'études randomisées et de méta-analyses ont été mises en place :

### - Effet curatif

Les recherches montrent que des probiotiques administrés au sein d'une population hétérogène (adultes et enfants) souffrant de diarrhées infectieuses réduisent très clairement la durée de ces épisodes infectieux et sont capables d'en prévenir l'apparition. Sur 23 études, comprenant 1917 participants, la guérison et la durée de l'épisode sont réduites en moyenne à 3 jours et à 29.20 heures sous probiotiques.(77),(78)

Un autre essai a été réalisé sur 287 enfants âgés de 1 à 3 mois hospitalisés pour une diarrhée aiguë à rotavirus. Deux groupes A (n=140) et B (n=147) ont été constitués et ont reçu respectivement une solution de réhydratation orale simple (placebo) ou enrichie en *L. rhamnosus GG* ( $10^{10}$  UFC/250ml). La durée des diarrhées pour le groupe A était de 71.9 +/- 35.8 heures contre 58.3 +/- 27.6 heures pour le groupe B. Environ 10.7% des enfants du groupe A contre 2.7% des enfants du groupe B ont présenté une gastro-entérite de plus de 7 jours.(79)

*Saccharomyces boulardii* a fait l'objet de plusieurs essais cliniques pour le traitement de la gastroentérite de l'enfant. Une première méta-analyse regroupant 5 études contrôlées randomisées (619 participants) a montré que *S. boulardii* réduisait significativement la diarrhée par comparaison au témoin (la différence moyenne était d'environ de 1.1 jour). Le risque de diarrhées était réduit aux jours 3, 6, et 7. La survenue de diarrhées durant plus de 7 jours était de plus minimisée dans le groupe sous probiotiques par rapport au groupe témoin.(80)

En 2009, cette méta-analyse a été mise à jour par le même auteur. Elle comprenait 9 essais contrôlés randomisés avec un nombre total de participants de 1117. A nouveau, une réduction significative de la durée de la diarrhée a été constatée chez les sujets traités par *S. boulardii* comparés au placebo.(81)

Enfin, d'autres souches telles que *Lactobacillus casei rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium bifidum* ou *Streptococcus thermophilus* ont été étudiées au cours de méta-analyses et ont présenté une efficacité dans la réduction de la durée des épisodes diarrhéiques.(82)

### - Effet préventif :

Dans la prévention des diarrhées infectieuses, plusieurs types d'étude ont été conduits. Les unes chez des enfants hospitalisés, les autres chez des enfants vivant à la maison mais fréquentant la crèche.

Les premières études ont été réalisées chez des nourrissons hospitalisés. Leur objectif était de prévenir le risque de diarrhées nosocomiales notamment mais non exclusivement à rotavirus. Un de ces essais a montré que l'ajout de deux souches *Bifidobacterium bifidum* et *Streptococcus thermophilus* au lait usuel diminuait significativement le risque de diarrhées nosocomiales (7% versus 31% pour le groupe contrôle).(83)

Une autre méta-analyse a révélé que l'utilisation de *Lactobacillus rhamnosus GG* comparé à un placebo était associée à un risque réduit de la fréquence des diarrhées de plus de 3 jours et tout particulièrement en cas d'infection à rotavirus.(84)

D'autres travaux réalisés chez des enfants fréquentant des crèches, dont l'un comprenant 287 sujets âgés de 6 à 36 mois a montré que l'administration de probiotiques ne modifiait pas le nombre de gastro-entérites mais réduisait leur sévérité. Un autre, incluant 928 nourrissons âgés de 6 à 24 mois, a engendré une réduction significative de la fréquence des diarrhées dans le groupe sous probiotiques par rapport au groupe recevant un yaourt contrôle (15.9% vs 22%).(85)

Toutes ces observations indiquent que les probiotiques sont efficaces dans le traitement et la prévention de la diarrhée mais ces actions semblent cependant souche-spécifique et très variables suivant la situation clinique observée et la zone géographique étudiée.

Les mécanismes de l'effet curatif et préventif ne sont pas connus à ce jour. Mais, ces travaux ont, compte tenu de la fréquence de la pathologie, un grand intérêt de santé publique et méritent d'être poursuivis.

- Diarrhées sous antibiothérapie

La diarrhée constitue l'effet indésirable le plus fréquent sous antibiothérapie, principalement observée avec les molécules à large spectre. Elle peut survenir au cours de l'antibiothérapie et conduit alors parfois les malades à interrompre leur traitement mais peut aussi avoir lieu plusieurs jours après l'arrêt de l'antibiotique.

Les mécanismes de survenue sont variables. On retrouve par exemple la destruction plus ou moins importante de la flore endogène (donc une perte de l'effet barrière), une augmentation de la quantité de glucides non dégradés par les bactéries intestinales (pouvant induire une diarrhée osmotique) et enfin la prolifération de germes pathogènes sélectionnés par l'antibiothérapie.(86)

Ainsi, parmi les diarrhées associées à l'antibiothérapie on distingue :

- Les diarrhées dites fonctionnelles (situation clinique la plus fréquente et la moins sévère)
- Les colites pseudomembraneuses liées à l'émergence de l'agent infectieux *Clostridium difficile*
- Les colites hémorragiques souvent associées à la souche toxigène *Klebsiella oxytoca*.

Les probiotiques sont depuis longtemps utilisés pour prévenir les perturbations digestives associées à l'antibiothérapie.

Plusieurs travaux montrent que certaines souches ont un intérêt, particulièrement *Saccharomyces boulardii* pour la prévention de la diarrhée et de la récurrence de *C. difficile*.

Un premier essai contrôlé randomisé a testé l'efficacité de *S. boulardii* chez 269 enfants présentant des otites moyennes et/ou des infections des voies respiratoires. Au cours de l'étude, 132 enfants ont reçu en plus du traitement antibiotique 250mg de probiotique et les 137 autres un placebo. L'incidence de la diarrhée associée aux antibiotiques chez les patients recevant la levure était réduite de manière significative (8% versus 23% sous placebo).(87)

Dans une autre étude, des patients hospitalisés ont reçu en complément de leur traitement antibiotique (une  $\beta$  lactamine) *S. boulardii* (1g/jour) ou un placebo. La supplémentation a débuté 3 jours avant l'instauration de l'antibiotique et s'est poursuivie 3 jours après l'arrêt du traitement, après quoi les patients étaient suivis pendant 7 semaines. A la fin de l'essai, 7.2% des sujets sous probiotique ont développé une diarrhée contre 14.6% des sujets sous placebo. Ainsi, l'efficacité de *S. boulardii* en ce qui concerne la prévention de diarrhées associées aux antibiotiques est au terme de cette étude d'environ 51%.(88)

Une méta-analyse regroupant cinq études randomisées contre placebo (enfants et adultes) est venue conforter les résultats des deux essais présentés ci-dessus. Sur dix sujets recevant le probiotique, moins d'un d'entre eux présente une diarrhée.(89)

Une autre souche probiotique a fait l'objet de recherches, il s'agit de *Lactobacillus rhamnosus* GG. Dans un essai récent, des chercheurs ont tenté de prévenir l'apparition de diarrhées chez 188 enfants sous antibiotiques (âgés de 6 mois à 10 ans). Ils ont pour cela administré à 93 enfants  $10^{10}$  UFC du probiotique (1 fois par jour pour ceux de moins de 12kg et 2 fois par jour pour les autres) et aux 95 autres un placebo. Les résultats ont montré une réduction de l'incidence (8 enfants sous *L. rhamnosus* GG et 26 sous placebo ont développé une diarrhée) et de la durée des diarrhées (4.7 jours versus 5.9 jours).(90)

Enfin, en ce qui concerne la prévention de colite à *C. difficile*, une méta-analyse de six essais cliniques a permis de conclure que seul *S. boulardii* était efficace avec un risque relatif de 0.59.(91)

L'infection à *C. difficile* pourrait d'après des travaux récents représenter une cible majeure de *S. boulardii*.

*C. difficile*, bactérie anaérobie à gram positif, constitue l'agent causal majeur responsable de plus de 95% des cas de colites pseudomembraneuses et de 10 à 25% des cas de diarrhées après la prise d'antibiotiques. La colite associée à *C. difficile* est l'une des infections nosocomiales les plus fréquentes dans le monde. La virulence de la souche repose sur la sécrétion de deux toxines (toxine A et B) possédant des propriétés à la fois entérotoxiques mais aussi cytotoxiques.(92),(93)

*S. boulardii* serait d'après certaines expériences in vitro responsable de la sécrétion de facteurs tels que des protéases. Les recherches montrent que ces derniers pourraient par exemple inactiver les toxines de *C. difficile*, ou encore inhiber leur fixation aux récepteurs de la bordure en brosse empêchant ainsi l'action de *C. difficile* sur le côlon humain.(94)

D'autres études suggèrent que les effets bénéfiques de *S. boulardii* au cours d'infection à *C. difficile* résulteraient en partie d'une interférence avec les voies pro-inflammatoires au niveau des cellules intestinales.(93)

Certains probiotiques pourraient donc prévenir la diarrhée liée à l'antibiothérapie ainsi que l'infection à *C. difficile*. Ultralevure® (*S. boulardii*), par exemple, devrait être proposé dès le début d'une antibiothérapie, pendant toute la durée du traitement et continué quelques jours après la fin du traitement de manière à restaurer au mieux la flore intestinale.

- Diarrhée du voyageur

La diarrhée du voyageur également appelée « turista » touche 5 à 50% des voyageurs à destination de régions où les normes d'hygiène, de traitement de l'eau sont moins développées. Elle est avant tout liée à une contamination oro-fécale par des bactéries pathogènes telles que *Yersinia*, *Campylobacter*, *Shigella* et tout particulièrement *Escherichia coli* entérotoxigène.

Elle se caractérise par la survenue brutale de diarrhées auxquelles viennent s'ajouter des symptômes tels que des douleurs abdominales, des nausées et/ou vomissements et de la fièvre lors du séjour et jusqu'à 7 à 10 jours suivant le retour.

Il s'agit le plus souvent d'un événement bénin, résolutif en quelques jours mais très inconfortable pour le voyageur.

Afin de limiter la survenue de diarrhée du voyageur, un certain nombre de mesures hygiéno-diététiques doivent être mises en place parmi lesquelles on retrouve le lavage des mains avant chaque repas, la consommation d'aliments bien cuits, servis chauds, mais aussi d'eau en bouteille encapsulée ou désinfectée.(95),(78)

Les études portant sur les probiotiques ont montré des résultats très variables. Aucune efficacité notable n'a été réellement décrite dans le cadre du traitement curatif. En revanche, quelques probiotiques ont révélé un intérêt en prévention de la diarrhée du voyageur.

Un essai contrôlé randomisé a testé l'efficacité de *S. boulardii* chez 1231 touristes autrichiens voyageant dans des pays chauds. Pour cela, une partie des voyageurs ont reçu un placebo ou le probiotique (250mg à 500 mg) pendant 3 semaines. Le traitement a été initié 5 jours avant le voyage et poursuivi pendant toute la durée de ce dernier. Au terme de l'étude, 43% des voyageurs sous placebo et 34% à 32% des autres sous probiotiques ont développé une diarrhée.

De la même façon, dans une seconde étude, 3000 touristes autrichiens voyageant en Afrique du Nord, Moyen-Orient, Extrême-Orient ont reçu soit 250mg ou 1g de *S. boulardii* soit un placebo. Les résultats ont montré que 39% des patients sous placebo, 34% des patients recevant la plus faible dose de probiotique (250mg) et 29% de ceux sous haute dose de probiotique ont déclenché une diarrhée.

L'efficacité de *S. boulardii* était de plus variable suivant la destination (pour l'Afrique du Nord : 24% pour 1g/jour de *S. boulardii* contre 44% sous placebo ; l'Amérique du Sud : 33% pour les deux groupes).(96)

La protection contre la survenue de diarrhée via *S. boulardii* est, à travers ces études, modérée mais statistiquement significative et dépendante de la dose.

Une autre souche *Lactobacillus rhamnosus GG* a fait l'objet d'études, et tout comme *S. boulardii*, conférait une protection contre la diarrhée pour certaines destinations. La variabilité des résultats observés pourrait s'expliquer par la divergence des agents infectieux incriminés d'une destination à l'autre.(97),(96)

Un mélange de probiotiques contenant *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus*, et *Streptococcus thermophilus* a été comparé à un placebo au cours d'une étude sur 94 touristes voyageant deux semaines en Egypte. Au terme de l'étude, les résultats ont montré que l'utilisation de probiotiques réduisait de manière significative la fréquence des diarrhées (de 71% à 43%).(98)

Enfin, une méta-analyse regroupant 12 études contrôlées randomisées a montré que 85% des diarrhées du voyageur ont été empêchées par la prise de probiotiques révélant ainsi l'efficacité des probiotiques en terme de prévention.(96)

La place des probiotiques dans le traitement de la diarrhée du voyageur reste débattue. Le bénéfice de ce traitement est aujourd'hui encore beaucoup trop inconstant et modeste.

Les probiotiques n'auraient aucune place dans l'arsenal thérapeutique du voyageur.



### 2.5.3 Troubles fonctionnels intestinaux

Les troubles fonctionnels intestinaux (TFI), également appelés colopathie spasmodique ou syndrome du côlon irritable correspondent à une association de symptômes gastro-intestinaux chroniques pour lesquels les examens complémentaires ne mettent pas en évidence d'anomalie structurale du tube digestif.

Ils affectent entre 4 à 20% de la population générale avec une prédominance féminine et constituent le motif de consultation le plus fréquent en gastroentérologie.

Parmi les symptômes ressentis, on retrouve les douleurs abdominales chroniques associées à des troubles du transit (diarrhée, constipation, alternance de diarrhée et de constipation) ainsi que d'autres symptômes tels que la dyspepsie, les ballonnements...

Le rôle de la flore fécale dans la pathogénie des TFI est suggéré par de nombreux travaux. Les personnes atteintes de TFI présentent très souvent une microflore anormale avec un très grand nombre de bactéries anaérobies facultatives telles que *Klebsiella* et des entérocoques ainsi qu'une réduction des lactobacilles et des bifidobactéries.

Un essai contrôlé randomisé a montré que l'utilisation de *S. boulardii* chez des patients souffrant de TFI réduisait la diarrhée fonctionnelle mais n'améliorait pas les autres symptômes.(99)

Dans une autre étude menée sur 362 femmes souffrant de TFI, l'utilisation de *Bifidoacterium infantis* 35624 à la dose de  $10^8$  a révélé une amélioration significative de la symptomatologie par rapport au placebo.(100)

De même, dans un essai réalisé sur 4 semaines, 40 patients atteints de TFI ont reçu soit *Lactobacillus plantarium* 299V soit un placebo. Tous les patients ayant pris le probiotique ont constaté une réduction des douleurs abdominales. Concernant l'ensemble des symptômes, 95% des patients sous probiotiques contre 15% de ceux sous placebo ont présenté une amélioration.(100)

Récemment, des scientifiques se sont intéressés à l'effet du VSL# 3, cocktail composé de lactobacilles et de bifidobactéries, chez 25 malades atteints de TFI à prédominance diarrhéique. L'administration du mélange améliore, réduit les ballonnements intestinaux sans avoir toutefois d'effet significatif sur le transit ou la douleur abdominale.

Enfin, dans une dernière étude un mélange de plusieurs souches probiotiques contenant *Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactobacillus helveticus* LA102, *Lactococcus lactis* LA 103 et *Streptococcus thermophilus* LA104 (Lactibiane référence®) a été administré à un groupe de personnes présentant le syndrome de l'intestin irritable et comparé à un placebo (sur un total de 100 patients, 48 sous Lactibiane référence et 52 sous placebo) sur une période de 4 semaines.

L'ensemble des critères étudiés comprenait l'inconfort, la douleur abdominale, la fréquence et la qualité des selles ainsi que la qualité de vie.

Le mélange de probiotique ne s'est pas révélé supérieur au placebo dans l'amélioration du score global : 42.6% vs 42.3% d'amélioration. En revanche, une réduction notable de la douleur abdominale entre la première et la dernière semaine de traitement par probiotique est mise en évidence. De plus, en ce qui concerne la constipation, le nombre de selles était plus important pour les patients sous probiotiques et ce, dès la première semaine de complémentation.(101)

Ainsi grâce à l'influence exercée sur la flore, leurs propriétés immunomodulatrices et leurs activités anti-inflammatoires, les probiotiques pourraient apporter leur contribution dans le syndrome de l'intestin irritable.(102)

### 2.5.4 Infection à *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* est une bactérie découverte en 1982 qui colonise spécifiquement la muqueuse gastrique et est responsable de la majorité des formes de gastrite chronique.

*H. pylori* entraîne une inflammation aiguë de la muqueuse rapidement suivie si l'infection persiste d'une gastrite chronique active. Cette bactérie est, de plus, très souvent incriminée dans le développement des ulcères gastriques et duodénaux.

Le taux d'échec en ce qui concerne l'éradication de cette bactérie est aujourd'hui estimé à 25-30% en raison de la résistance aux antibiotiques mais aussi des problèmes de tolérance associés à la bi-antibiothérapie.

Une méta-analyse récente regroupant 14 essais randomisés contrôlés (1671 patients) révèle que l'association de diverses souches probiotiques (lactobacilles, bifidobactéries...) au traitement spécifique d'*H. pylori* (Inhibiteur de la pompe à protons et antibiotiques) offre de meilleurs résultats quant à l'élimination de ce germe (avec des taux d'éradication de 83.6% et 74.8% chez les malades traités avec et sans probiotiques respectivement).

L'étude montre également le rôle préventif exercé par les probiotiques sur les effets indésirables digestifs de l'antibiothérapie. (La fréquence des effets indésirables est passée de 38.5% à 24.7% grâce aux probiotiques).(103),(45)

Actuellement, les preuves sont encore insuffisantes pour pouvoir envisager le recours à un probiotique seul, sans antibiothérapie concomitante dans l'éradication d'*H. pylori*. Les probiotiques pourraient cependant être utilisés comme thérapie adjuvante à l'éradication de la bactérie.

### 2.5.5 Les probiotiques en pratique gynécologique

En France, tous les ans, les infections vaginales constituent des motifs de consultation très fréquents. Elles représentent 15 à 20% des consultations de gynécologie.

On sait aujourd'hui que ces désordres sont liés à une modification de l'écosystème vaginal.

Le vagin contient 100 millions à 1 milliard de germes par millilitre de sécrétions. Ces germes sont majoritairement des lactobacilles et constituent les garants de l'homéostasie locale.

Toute rupture de cet équilibre conduit à la diminution voire à la raréfaction des lactobacilles au profit d'autres espèces (*Candida albicans*, streptocoques, staphylocoques...)

Le déséquilibre installé, les infections telles que les vaginoses bactériennes, mycoses vaginales vont se développer.

Parmi les vecteurs de ces anomalies microbiennes, on retrouve :

- Les hormones (progestatifs, oestroprogestatifs minidosés, ménopause)
- L'hygiène (la douche vaginale altère et fragilise la flore vaginale)
- Les médicaments (antibiotiques...)

Les traitements anti-infectieux traditionnellement utilisés dans la prise en charge de mycoses vaginales et de vaginoses bactériennes sont très rapidement efficaces, mais le taux de récurrences est quant à lui très important (plus de 80% au-delà de 3 mois). A ce jour, la place des probiotiques en gynécologie suscite encore de nombreuses interrogations. Cependant, grâce aux études réalisées, l'utilisation des probiotiques en accompagnement des traitements anti-infectieux semble justifiée.

Une étude clinique contrôlée randomisée réalisée chez des femmes atteintes de candidose vulvo-vaginale a évalué l'intérêt d'associer une supplémentation orale en lactobacilles (*L. rhamnosus* GR-1® et *L. reuteri* RC-14®) pendant 28 jours en complément d'une dose unique d'antifongique (fluconazole).

Sur les 68 femmes étudiées, la moitié reçoit 150mg de fluconazole le premier jour et 2 gélules par jour de probiotiques pendant 28 jours ; la seconde moitié reçoit la même dose de fluconazole en une fois puis un placebo (2 gélules par jour pendant 28 jours).

Les résultats obtenus montrent une amélioration des signes cliniques (démangeaisons, irritations locales, écoulement vaginal) et une réduction significative du germe (candida) résiduel (contribuant à réduire le risque de récurrence) sous probiotiques par rapport au placebo.(104)

Une autre étude réalisée dans le cadre de la prévention de récurrences de vaginoses bactériennes a testé l'efficacité de deux souches probiotiques *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus rhamnosus*. 76 patientes sélectionnées ont reçu soit des capsules gynécologiques contenant les probiotiques soit un placebo 10 jours par mois pendant 3 mois de suite après les règles. Les résultats de cet essai ont mis en évidence un allongement du délai de récurrence dans le groupe traité par rapport au groupe sous placebo.(105)

L'intérêt de restaurer et de protéger l'écosystème vaginal par l'apport de probiotiques prend alors tout son sens. Les études associant métronidazole/probiotiques et estriol/probiotiques sont prometteuses. Cependant, il est encore trop tôt pour affirmer leur efficacité au niveau gynécologique de par l'hétérogénéité des études effectuées, des souches utilisées des voies d'administration mais aussi des groupes de patientes concernées.(105),(106),(75)

## 2.5.6 Perspective pour l'avenir

- Le cancer colorectal

En France et dans les pays occidentaux, le cancer colorectal constitue l'une des trois premières causes de morbidité par cancer. En termes d'incidence et de mortalité, on dénombre 381 000 et 203 700 décès par an en Europe.

Parmi les facteurs environnementaux, l'alimentation joue un rôle primordial dans le développement de ce type de cancer.

Le microbiote intestinal pourrait influencer favorablement la carcinogénèse intestinale. Certaines bactéries autochtones produiraient en effet des enzymes capables de transformer des composés toxiques pré-carcinogènes en carcinogènes actifs.

Par exemple, les acides biliaires secondaires issus de la transformation des acides biliaires primaires par la 7 $\alpha$ -déhydroxylase bactérienne engendreraient une hyper prolifération de l'épithélium colique et favoriseraient le développement de tumeurs.

Cependant, grâce à certains métabolites tels que le butyrate, le microbiote présente également un effet bénéfique potentiel et même protecteur vis-à-vis de la cancérogénèse.

Les effets bénéfiques potentiels des probiotiques impliqués dans les mécanismes procarcinogènes reposeraient en partie sur leur capacité à inhiber des enzymes potentiellement néfastes issues du métabolisme de la flore intestinale. Parmi elles, on retrouve la  $\beta$ -glucuronidase, la nitroréductase, l'azoréductase, la 7 $\alpha$ -déhydroxylase et la nitrate réductase.

En effet, une étude réalisée chez neuf volontaires sains montre que l'administration de laits fermentés à ces derniers sur une période de trois semaines est associée à une diminution de la concentration enzymatique fécale.

Une autre étude a testé l'apport d'un lait fermenté enrichi en *Lactobacillus acidophilus* chez 14 patients atteints d'un cancer colorectal sur une période de 6 semaines. Au terme de l'étude, les résultats ont montré des modifications de la microflore des patients (avec une augmentation des concentrations fécales de lactobacilli et une réduction d'*E. coli*) mais aussi une diminution des activités enzymatiques (14%) et des acides biliaires (38%) fécaux.(107)

Les études sur le sujet ne portent malheureusement que sur un nombre faible de sujets et principalement des sujets sains rendant le niveau de preuve actuel encore insuffisant.

Afin d'apporter des conclusions plus pertinentes justifiant le recours aux probiotiques dans le développement des tumeurs et la prévention du cancer colorectal, des études d'intervention chez des malades atteints du cancer colorectal doivent être mises en place.

Des scientifiques japonais ont testé l'administration de son de blé et/ou de *Lactobacillus casei* *Shirota* chez 398 sujets aux antécédents d'au moins deux adénomes colorectaux. Alors que le groupe supplémenté en fibres ne semblait pas bénéficier de l'intervention (nombre important de récidives et adénomes de grande taille), le groupe supplémenté en *L. casei* présentait quant à lui un taux de récidives réduit avec peu de tumeurs porteuses d'atypies cellulaires.(103),(108)

Les travaux en cours tant au niveau expérimental qu'épidémiologique doivent se poursuivre et devraient, dans les années à venir, permettre de justifier parfaitement l'usage des probiotiques dans la prévention du cancer colorectal.

- L'obésité

Les divergences observées entre le microbiote intestinal d'individus minces et obèses ont permis de révéler l'implication des bactéries commensales sur le métabolisme énergétique de l'individu.

Les données expérimentales récentes obtenues chez l'animal ainsi que les études d'observation et d'intervention réalisées chez des individus obèses montrent des modifications qualitatives de la flore chez les individus obèses ainsi que l'impact du régime alimentaire sur la composition du microbiote.(109)

Une étude menée chez 30 femmes obèses a montré que l'administration de prébiotiques (inuline/fructose) à 15 de ces patientes (16g/jour) sur une période de trois mois versus placebo engendrait des changements très sélectifs de composition et d'activité métabolique du microbiote (augmentation de *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii*...ainsi qu'une réduction de *Bacteroides intestinalis* ou encore *Propionobacterium*...). Ces changements ont permis d'amenuiser l'endotoxémie et la masse grasse, indépendamment d'une modification du poids corporel.(110),(111)

Plusieurs études réalisées chez des volontaires sains mettent en évidence l'intrication existante entre prébiotiques et le métabolisme énergétique.

Une première étude rapporte que l'administration de prébiotiques (fructanes) à raison de 2x8g par jour durant deux semaines chez des individus contribuait à réduire, en comparaison au placebo (maltodextrine), les sensations de faim et d'appétit (effet satiétogène).

La deuxième s'est intéressée à l'administration de prébiotiques chez des adolescents sur une période prolongée. Une diminution de l'indice de masse corporelle est observée chez ces adolescents.

Le recours à 16g de prébiotiques par jour chez des individus atteints de stéatohépatite non alcoolique (pathologie largement associée à l'obésité) améliore significativement certains paramètres cliniques.(112),(113)

Dans l'ensemble, les données expérimentales obtenues à partir de différents modèles murins montrent que les prébiotiques diminuent l'adiposité, la stéatose, la glycémie ainsi que l'endotoxémie. Les mécanismes moléculaires sous-jacents impliqueraient une amélioration de la fonction barrière intestinale, une modulation de la fonction endocrine gastro-intestinale, de la sensibilité à la leptine et à l'insuline et une modification de l'expression de gènes clés régulateurs du métabolisme énergétique, de l'immunité et de la différenciation adipocytaire.(111)

Ainsi, le rôle exercé par la flore intestinale sur l'homéostasie énergétique semble évident. La modulation du microbiote par les probiotiques ou prébiotiques constitue une piste intéressante mais nécessite d'être approfondie.

Avec les techniques récentes d'analyse du microbiote intestinal, des progrès sont attendus notamment dans le développement d'outils thérapeutiques ou préventifs nécessaires à la prise en charge de l'obésité.

### **2.5.7 Conclusion**

D'une manière générale, même si leur utilisation nécessite davantage de preuves scientifiques pour certaines maladies, les probiotiques offrent tout de même une thérapie adjuvante ou préventive aux sujets souffrant de pathologies intestinales diverses.

La liste des pathologies citées n'est pas exhaustive, on les retrouve également dans des études portant sur l'accompagnement de la greffe de foie, les pancréatites aiguës ou encore les suites de chirurgie abdominale ou biliaire.(114)

Différents facteurs doivent être cependant pris en compte afin de garantir l'efficacité des probiotiques parmi lesquels on retrouve la pathologie en elle-même, la souche probiotique utilisée, l'éventuel effet synergique de souches entre-elles, la dose de probiotiques ainsi que tous les autres variables externes (par exemples l'alimentation, l'âge de l'individu...).

Les efforts de recherche autour du microbiote intestinal et des probiotiques doivent se poursuivre. Les mécanismes d'action des probiotiques doivent être mieux identifiés afin de pouvoir sélectionner la souche probiotique la plus efficace pour une indication donnée.

### **2.5.8 Probiotiques et recommandations**

Le tableau ci-dessous montre que l'administration d'une souche probiotique spécifique pour une indication donnée et avec une dose déterminée peut se révéler particulièrement efficace chez un sujet sain ou comme option thérapeutique dans des essais cliniques correctement conduits et élaborés.

Pathologie	Produit	Dosage recommandé
Traitement de la diarrhée infectieuse aiguë chez l'enfant	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> –10 <sup>11</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>L. reuteri</i> ATTC 55730	10 <sup>10</sup> –10 <sup>11</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. infantis</i> (souches d'Infloran)	10 <sup>9</sup> cfu chaque, 3 fois par jour
	<i>S. cerevisiae (boulardii)</i> lyo	200 mg, 3 fois par jour
Traitement de la diarrhée infectieuse aiguë chez l'adulte	<i>Enterococcus faecium</i> LAB SF68	10 <sup>8</sup> cfu, 3 fois par jour
Prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques chez l'enfant	<i>S. cerevisiae (boulardii)</i> lyo	250 mg, 2 fois par jour
	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> cfu, 1 ou 2 fois par jour
	<i>B. lactis</i> Bb12 + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>7</sup> + 10 <sup>6</sup> cfu/g de formule
Prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques chez l'adulte	<i>Enterococcus faecium</i> LAB SF68	10 <sup>8</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>S. cerevisiae (boulardii)</i> lyo	1 g or 3 × 10 <sup>10</sup> cfu par jour
	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> –10 <sup>11</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>L. casei</i> DN-114 001 dans le lait fermenté avec <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>10</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>B. clausii</i> (souches d'Enterogermina)	2 × 10 <sup>9</sup> spores, 3 fois par jour
	<i>L. acidophilus</i> CL1285 + <i>L. casei</i> Lbc80r	5 × 10 <sup>10</sup> cfu, 1 dose par jour
Prévention de la diarrhée nosocomiale chez l'enfant	<i>L. rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> –10 <sup>11</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>B. lactis</i> BB12 + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>8</sup> + 10 <sup>7</sup> cfu/g de formule
	<i>B. lactis</i> BB12	10 <sup>9</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>L. reuteri</i> ATTC 55730	10 <sup>9</sup> cfu, 2 fois par jour
Prévention de la diarrhée par <i>C. difficile</i> chez l'adulte	<i>L. casei</i> DN-114 001 dans le lait fermenté avec <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	10 <sup>10</sup> cfu, 2 fois par jour
	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> (souches deCultech)	2 × 10 <sup>10</sup> cfu chacune, 1 fois par jour
	<i>S. cerevisiae (boulardii)</i> lyo	2 × 10 <sup>10</sup> cfu par jour
	Oligofructose	4 g, 3 fois par jour

**Tableau 2** Probiotiques et évidence : Prébiotiques et probiotiques en gastroentérologie (45)

Thérapie adjuvante pour l'éradication de <i>H. pylori</i>	<i>L. rhamnosus</i> GG	$6 \times 10^9$ cfu, 2 fois par jour
	<i>B. clausii</i> (souches d'Enterogermina)	$2 \times 10^9$ spores, 3 fois par jour
	Yaourt AB lactobacilles et bifidobactéries non spécifiées	$5 \times 10^9$ bactéries vivantes, 2 fois par jour
	<i>S. cerevisiae</i> ( <i>boulardii</i> ) lyo	1 g or $5 \times 10^9$ cfu par jour
	<i>L. casei</i> DN-114 001 dans du lait fermenté avec <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	$10^{10}$ cfu, 2 fois par jour
Réduit les symptômes associés avec une maldigestion du lactose	Yaourt régulier avec <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	Le yaourt non traité par chaleur après pasteurisation contient les cultures appropriées pour améliorer la digestion du lactose dans le yaourt
Diminue quelques symptômes du syndrome de l'intestin irritable	<i>B. infantis</i> 35624	$10^8$ cfu, 1 fois par jour
	<i>L. rhamnosus</i> GG	$6 \times 10^9$ cfu, 2 fois par jour
	VSL# 3 mixture	$4.5 \times 10^{11}$ cfu, 2 fois par jour
	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. rhamnosus</i> LC705, <i>B. breve</i> Bb99, et <i>Propionibacterium freudenreichii</i> ssp. <i>shermanii</i>	$10^{10}$ cfu, 1 fois par jour
	<i>B. animalis</i> DN-173 010 dans du lait fermenté avec <i>L. bulgaricus</i> + <i>S. thermophilus</i>	$10^{10}$ cfu, 2 fois par jour
Maintien de la rémission de la colite ulcéraive	<i>E. coli</i> Nissle 1917	$5 \times 10^{10}$ bactéries vivantes, 2 fois par jour

**Tableau 3** Probiotiques et évidence : Prébiotiques et probiotiques en gastroentérologie (suite)(45)

## **2.6 Avenir ? Les probiotiques « Organismes génétiquement modifiés » ?**

### **2.6.1 Les observations : des bactéries OGM contre l'inflammation des intestins**

Grâce au séquençage des gènes de la flore intestinale lancé dans le cadre du projet européen MetaHit, de nouvelles voies thérapeutiques sont actuellement explorées.

Les chercheurs ont observé que des bactéries présentes chez les personnes saines peuvent être déficientes chez des patients atteints de pathologies telles que la rectocolite hémorragique, la maladie de Crohn (Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales que nous détaillerons dans la partie suivante) ou encore le diabète de type 2.

Ainsi la piste thérapeutique utilisant des bactéries génétiquement modifiées est explorée depuis quelques années et devrait bientôt être appliquée.

Deux équipes de chercheurs français ont, à ce sujet, réussi à soigner des souris atteintes de pathologies inflammatoires de l'intestin grâce à l'ingestion de bactéries rendues anti-inflammatoires après modification génétique. Ils ont pour cela utilisé le gène de l'élafine (protéine humaine connue pour son activité anti-inflammatoire sur la peau, la muqueuse des poumons et des intestins) qu'ils ont introduit dans l'ADN de micro-organismes employés dans la fabrication de produits laitiers. Le résultat fut le suivant : les bactéries ainsi modifiées, une fois arrivées au niveau intestinal, se sont mises à produire de l'élafine ce qui entraîne une diminution significative de l'inflammation.(115)

Des essais sur l'homme sont actuellement en cours. Les bactéries génétiquement modifiées exprimant l'interleukine 10 ont engendré dans une phase I d'expérimentation clinique une réduction d'activité de la maladie mais cependant les données actuelles sont encore insuffisantes.(116),(117)

La découverte d'une protéine humaine munie de propriétés anti-inflammatoires serait d'un bénéfice considérable dans le traitement des maladies inflammatoires intestinales.

Pour demain, peut-être proposer un simple yaourt pour calmer l'inflammation des patients atteints de MICI.

### **2.6.2 Les modifications génétiques peuvent-elles améliorer les bactéries probiotiques sans les transformer en pathogènes dangereux ?**

Le bon état de santé ainsi que le développement du système immunitaire de l'individu dépendent d'un réseau complexe d'interactions entre les souches probiotiques utilisées et les bactéries de l'hôte.

Toute rupture de cet équilibre peut être à l'origine de l'apparition de maladies.

Selon certains scientifiques, pour cette seule raison, les probiotiques ne devraient jamais faire l'objet de modifications génétiques et encore moins de modifications génétiques destinées à un usage direct sur les êtres humains.

La perspective « d'amélioration » des bactéries probiotiques par une modification génétique reste malheureusement assez mince face au risque d'émergence de dangereux micro-organismes au sein même du microbiote intestinal.

De plus, l'intestin de l'homme constitue un environnement idéal pour le transfert génétique horizontal, ainsi que pour les recombinaisons, offrant des conditions idéales pour la création d'agents pathogènes dangereux.(117)

Depuis des millions, voire des milliards d'années, les bactéries évoluent conjointement avec leurs hôtes. Ce réseau complexe d'interactions fait aujourd'hui l'objet de nombreuses



recherches et commence tout juste à être élucidé. Ainsi, face à toute perturbation, ces liens fragiles pourraient donner lieu à de sérieux problèmes sanitaires.

Des études approfondies et des expérimentations doivent être parfaitement menées afin de garantir la sûreté de toute modification génétique au cœur de bactéries probiotiques.

### 2.6.3 Utilisation actuelle et perspective d'utilisation en santé humaine

Depuis les années 80, les micro-organismes génétiquement modifiés (MGM), cultivés dans des conditions de confinement maîtrisées, interviennent dans la production d'un certain nombre d'éléments parmi lesquels on retrouve des hormones telles que l'insuline ou encore des vaccins (le vaccin de l'hépatite B est en effet produit à partir de la levure *Saccharomyces cerevisiae*).

Les MGM pourraient à l'avenir être impliqués directement et non indirectement dans la fabrication de certains aliments. Parmi les projets les plus aboutis, on note ceux intervenant dans la conception de bactéries lactiques génétiquement modifiées accélérant l'affinage des fromages. D'autres s'intéressent à l'élaboration de levures génétiquement modifiées pour optimiser la fabrication du pain et du vin.

En santé humaine, un MGM pourrait potentiellement être utilisé afin de délivrer un médicament dans les parties basses de l'appareil digestif sans avoir recours aux formes galéniques les plus élaborées.(118)

Le tableau ci-dessous regroupe un ensemble de molécules produites par des bactéries lactiques et susceptibles de donner lieu à des applications médicales ou technologiques.

Organisme producteur	Molécule	Objectif
<i>Streptococcus gordonii</i>	Anticorps (H6) simple chaîne microbicide	Vaginite à <i>Candida albicans</i>
<i>Streptococcus gordonii</i>	Anticorps recombinant simple chaîne anti-idiotypique simulant le polysaccharide capsulaire de type III des streptocoques du groupe B	Protection passive contre les infections néonatales à streptocoques du groupe B
<i>Streptococcus gordonii</i> et <i>Lactococcus casei</i>	Protéine E7 du papilloma virus humain	Immunisation contre le papillomavirus
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Toxine cholérique B	Protection contre le choléra
<i>Bacillus subtilis</i>	Ure B (sous-unité de l'uréase de <i>Helicobacter pylori</i> )	Protection contre <i>Helicobacter pylori</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	Interféron alpha-2 humain	Protection anti-virale
<i>Bacillus subtilis</i>	Fragment C de la toxine tétanique	Protection contre <i>Clostridium tetani</i>

**Tableau 4** Molécules produites par les bactéries lactiques et applications cliniques. (117)

## 3. PROBIOTIQUES ET MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES INTESTINALES (MICI)

### 3.1 Présentation des MICI

#### 3.1.1 Introduction

Les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) désignent un ensemble de lésions inflammatoires chroniques, d'étiologie inconnue, touchant le tractus digestif.

Ce type de pathologie, comme son nom l'indique d'évolution chronique, se caractérise par une succession de poussées entrecoupées par des phases de rémission plus ou moins longues. La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) constituent les deux principales formes de MICI.

L'origine des MICI n'est que partiellement élucidée à ce jour. Les lésions inflammatoires observées sont en effet secondaires à une hyper-activation du système immunitaire intestinal. Des facteurs génétiques et environnementaux tels que le mode de vie, les prédispositions héréditaires ainsi que des modifications du microbiote ou de la perméabilité intestinale jouent un rôle dans la dérégulation de l'immunité intestinale responsable des lésions.

En 1913, la maladie de Crohn a été pour la première fois décrite grâce aux travaux d'un médecin écossais T. Kennedy Dalziel. A l'époque, ce médecin s'intéressa à l'autopsie de 13 patients souffrant d'obstruction intestinale. Une inflammation transmurale, caractéristique de la maladie de Crohn, est alors retrouvée chez chacun de ces patients.

Dalziel a ainsi découvert ce qui allait être connu plus tard comme la maladie de Crohn.

Au cours de l'année 1932, un gastro-entérologue américain Burril B. Crohn et ses confrères Dr. Ginzburg et Dr. Oppenheimer ont étudié plus particulièrement les symptômes associés à la maladie, nommée alors « entérite » ou « iléite régionale ».

Plus tard, la maladie fut désignée sous le nom de l'un de ces observateurs, sûrement le plus curieux, pour devenir ainsi la maladie de Crohn.

La rectocolite hémorragique fut quant à elle pour la première fois étudiée par S. Wilks en 1859 suite à l'autopsie d'une jeune femme dont le décès avait été attribué à un empoisonnement. Puis, en 1875, Wilks et Moxon la présentèrent comme pathologie non infectieuse. Elle fut ensuite décrite par Arthur Hirst en 1931.

Bien que la MC et la RCH présentent un phénotype clinico-pathologique similaire, des critères tels que la localisation de l'inflammation ou encore la nature des atteintes histologiques permettent de les distinguer l'une de l'autre.(119)

#### 3.1.2 Epidémiologie

Les MICI ne présentent pas une répartition homogène à travers le monde. En effet, elles touchent principalement les Caucasiens avec un gradient décroissant de l'hémisphère nord (Amérique du Nord, Europe) vers l'hémisphère sud où elles sont beaucoup plus rares. La fréquence et la répartition de ces maladies suggèrent l'existence de facteurs ethniques et/ ou environnementaux.

Elles sont relativement fréquentes puisque leur prévalence globale est estimée entre 1 pour 500 et 1 pour 1000 habitants dans les pays occidentaux. En France, le nombre de malades de MC et de RCH est estimé à 100000 à 150000 personnes et 2.5 millions en Europe.

Les MICI touchent aussi bien les hommes que les femmes avec, cependant, une prédominance féminine pour la MC tandis qu'aucune différence n'est constatée suivant le sexe dans le développement de la RCH.

L'incidence de ces pathologies est maximale chez le jeune adulte avec un pic entre 20 et 30 ans. Mais, elles peuvent survenir à tout âge, 15% des cas concernent des enfants. La MC est en moyenne diagnostiquée vers l'âge de 26 ans et vers 34 ans pour la RCH.(120)

### 3.1.3 Physiopathologie

La physiopathologie des MICI reste encore aujourd'hui méconnue. Les données épidémiologiques très hétérogènes mettent en évidence l'implication de trois acteurs : la prédisposition génétique, les facteurs environnementaux et la réponse immunitaire anormale conduisant à l'inflammation et aux lésions.

Ces maladies multifactorielles complexes résulteraient d'une réponse immunitaire dérégulée dirigée contre le microbiote intestinal de l'individu génétiquement prédisposé, déclenchée ou aggravée par des facteurs environnementaux.

#### a) Les facteurs génétiques

Parmi les MICI, 5 à 20% constituent des formes familiales. Chez les sujets atteints de MC, 8 à 10% d'entre eux et 6% de ceux atteints de RCH présentent un ou plusieurs parents atteints, tous liens de parenté confondus.

Des formes mixtes peuvent également apparaître au sein d'une même famille (MC et RCH) traduisant l'existence de facteurs de risques communs aux deux maladies.

Afin d'évaluer l'impact de la génétique, les études de concordance entre jumeaux ont été réalisées. Pour une maladie purement génétique, le taux de concordance entre jumeaux monozygotes est de 100%. Or, pour la MC, le taux varie de 20 à 62% et de 6 à 19% pour la RCH. La part de génétique est donc importante dans les MICI mais ne constitue par la seule étiologie mise en cause.

Le séquençage du génome humain a permis de mettre en évidence les gènes spécifiques des MICI. Le premier gène de prédisposition aux MICI identifié est le gène NOD2/CARD15, et plus particulièrement de la MC. Il n'intervient pas dans la RCH tandis que pour la MC des mutations de ce gène (G908R, 1007fs et R702W) ont été décrites. Les études indiquent que 10 à 50% des patients atteints de MC et 15% des sujets sains présentent un variant de ce gène. Il ne constitue donc pas le vecteur suffisant pour déclencher la maladie.

Le gène NOD2/CARD15 code pour un récepteur intracellulaire restreint aux cellules immunocompétentes telles que les monocytes et les macrophages. Ce récepteur intervient dans la reconnaissance de motifs structuraux de peptidoglycanes (les motifs muramyldipeptide MDP) constitutifs de parois de bactéries. Cette reconnaissance va activer le facteur NFκB qui par son activité transcriptionnelle favorise la sécrétion d'éléments pro-inflammatoires (cytokines, défensines...)

NOD2/CARD15 joue donc un rôle important dans la régulation intestinale de l'inflammation et dans le contrôle des phénomènes infectieux.

Chez des malades atteints de MC, les mutations de ce gène au sein d'acteurs clefs de la réponse immunitaire permettraient d'expliquer le rôle exercé par les bactéries lumineales dans le déclenchement et l'entretien des lésions.

La perte de la fonction de barrière intestinale engendrée par une diminution de l'expression de chimiokines, défensines favoriserait l'exposition au microbiote intestinal à l'origine d'une activation secondaire excessive du système immunitaire.

D'autres gènes candidats ont été identifiés comme impliqués dans la MC, parmi lesquels on retrouve ABCB1, DLG5, CARD4...

Cependant, les données épidémiologiques ainsi que les concordances imparfaites chez des jumeaux montrent que ces prédispositions génétiques ne suffisent pas à déclencher une MICI, et que d'autres facteurs entrent en jeu.(121),(122),(123)

#### b) Les facteurs environnementaux

De nombreuses études se sont penchées sur l'influence de l'environnement sur le développement de MICI. Cependant, à l'heure actuelle, sur un terrain génétiquement

prédisposé, seulement deux facteurs sont reconnus comme capables de déclencher une MICI, ou de provoquer des rechutes : le tabac et l'appendicectomie.

- Le tabagisme

Le tabac présente des effets opposés au cours des MICI. Il assure une protection contre la RCH et en atténue l'évolution. En revanche, il favorise l'apparition et l'aggravation de la MC.

Chez des sujets n'ayant jamais fumé, le risque de développer une RCH est 2.5 fois plus élevé que chez les fumeurs : le diagnostic de RCH est posé chez 10% des fumeurs contre 25 à 40% de la population générale non-fumeurs.

L'arrêt du tabac favorise l'apparition de la RCH surtout durant les deux années suivant le sevrage (le risque est alors 1.7 fois plus élevé que chez les non-fumeurs).

Une fois déclarée, la RCH est moins agressive chez les fumeurs. La fréquence des poussées est diminuée, l'étendue des lésions réduite et ces dernières s'étendent moins au côlon proximal, enfin le recours à la corticothérapie est plus rare et la colectomie plus tardive.

Les effets protecteurs du tabagisme passif sont quant à eux controversés.(121)

L'effet bénéfique du tabac pourrait être lié à l'augmentation de l'épaisseur de mucus et à la réduction de la perméabilité colique engendrée.

En ce qui concerne la MC, le tabagisme actif augmente par 2 le risque de développer cette pathologie : 50 à 60% des patients sont fumeurs au moment du diagnostic.

Ce risque se voit diminuer dès la première année et disparaît après 3 à 4 années de sevrage.

La maladie et son évolution sont plus sévères chez les fumeurs et en particulier chez les femmes. Les poussées et les complications (abcès, fistules) sont très fréquentes, le recours aux corticoïdes et immunosuppresseurs est courant.

Le tabagisme passif au cours de l'enfance pourrait lui aussi augmenter l'incidence de la MC chez l'adulte.

L'effet délétère du tabac sur la MC résulterait de modifications de la microcirculation intestinale vasculaire auxquelles viennent s'ajouter des phénomènes immunitaires et inflammatoires.(121),(124)

- L'appendicectomie

Les études publiées sur le sujet concluent à une réduction de 70% du risque de survenue de RCH. L'effet protecteur de l'appendicectomie est d'autant plus marqué lorsqu'elle est réalisée avant l'âge de 20 ans pour une appendicite aiguë.

De plus, une fois la RCH déclarée, l'appendicectomie est comme pour le tabac bénéfique pour l'évolution de la pathologie : la maladie survenant à un âge plus tardif, avec des poussées et colectomies moins fréquentes.

Malheureusement, le mécanisme de cet effet reste inconnu. L'appendicectomie modifierait la réponse immunitaire de la muqueuse intestinale, ce qui assurerait une protection contre la RCH.

Cette opération ne protège pas du développement de la MC et pourrait en augmenter le risque. Cependant, en cas de MC, l'appendicite aiguë peut constituer une forme d'entrée de la maladie et l'appendicectomie est très souvent pratiquée chez des patients dans les mois ou les années précédant le diagnostic : l'appendicectomie ne serait que le signe annonciateur d'une MC alors ignorée.(121)

- Autres facteurs

Ces 50 dernières années, les habitudes alimentaires ont été profondément bouleversées. Parallèlement, une recrudescence de MICI a été observée en Europe et en Amérique du Nord. La fréquence élevée de MICI a alors inévitablement suggéré une association de cause à effet avec certains facteurs alimentaires parmi lesquels on retrouve le régime pauvre en fibres (fruits et légumes), la surconsommation de sucres raffinés, de viandes, de graisses, de fast-

food,...L'alimentation serait à l'origine de modifications de la microflore intestinale aussi bien en terme de composition que d'activité métabolique, ce qui influencerait indirectement les interactions hôte/microbiote/système immunitaire.

Chacun de ces facteurs alimentaires a fait l'objet d'études mais n'a pas été formellement identifié comme responsable. Seule l'augmentation de la consommation de saccharose influencerait la genèse de la MC (avec deux fois plus de cas).

Cependant, aucune conduite thérapeutique n'a pu être établie grâce aux études alimentaires et les études interventionnelles ne furent que trop peu concluantes.

Les patients incriminent très souvent le stress dans la survenue et l'évolution de leur maladie. Celui-ci pourrait constituer un facteur aggravant l'activité inflammatoire dans les MICI.

Cependant, les données actuelles demeurent malheureusement contradictoires. Une des difficultés à cette recherche de l'impact du stress sur les MICI est que les mêmes événements ne sont pas vécus de la même manière d'un individu à l'autre.

Enfin, la théorie de l'hygiène pourrait influencer favorablement l'émergence de MICI. Un niveau d'hygiène trop élevé dans l'enfance serait associé à un risque accru de MICI, alors que les enfants de milieux défavorisés seraient protégés grâce à une meilleure « éducation » de leur système immunitaire.

D'autres maladies telles que l'asthme ou le diabète de type 1 évoquent cette hypothèse mais elle n'est actuellement pas encore confirmée.

Des études rapportent que de nombreuses infections périnatales, infantiles et le recours fréquent aux antibiotiques dans l'enfance favoriseraient l'apparition de MICI à l'âge adulte.(121),(125)

#### c) Les facteurs infectieux

Certains agents infectieux au tropisme intestinal pourraient être mis en cause tels que *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* et surtout *Mycobacterium avium paratuberculosis*.

Ce dernier est responsable de la paratuberculose ou maladie de Johne, une affection contagieuse chronique des ruminants.

Depuis quelques années, une association possible entre *Mycobacterium paratuberculosis* et la MC a souvent été évoquée et discutée en raison de nombreuses similitudes observées entre ces deux pathologies. La plupart des études ont en effet montré que cet agent peut être isolé des lésions intestinales humaines de type Crohn.

Malgré les nombreux travaux épidémiologiques, biologiques et thérapeutiques, le rôle étiologique direct de cette bactérie dans la MC n'est actuellement pas démontré.(126),(121)

#### Conclusion :

La pathogenèse des MICI résulte de l'association de nombreux facteurs environnementaux, génétiques mais aussi immunitaires. En effet, des déséquilibres de la réponse immunitaire ainsi que des perturbations de la flore commensale sont également reliés aux MICI. L'ensemble de ces éléments contribue à la rupture de la tolérance observée dans ces pathologies face aux germes ou aux antigènes intraluminaux.

L'implication de la flore et de l'immunité sera abordée dans le chapitre suivant (III-B).

### 3.1.4 La maladie de Crohn (MC)

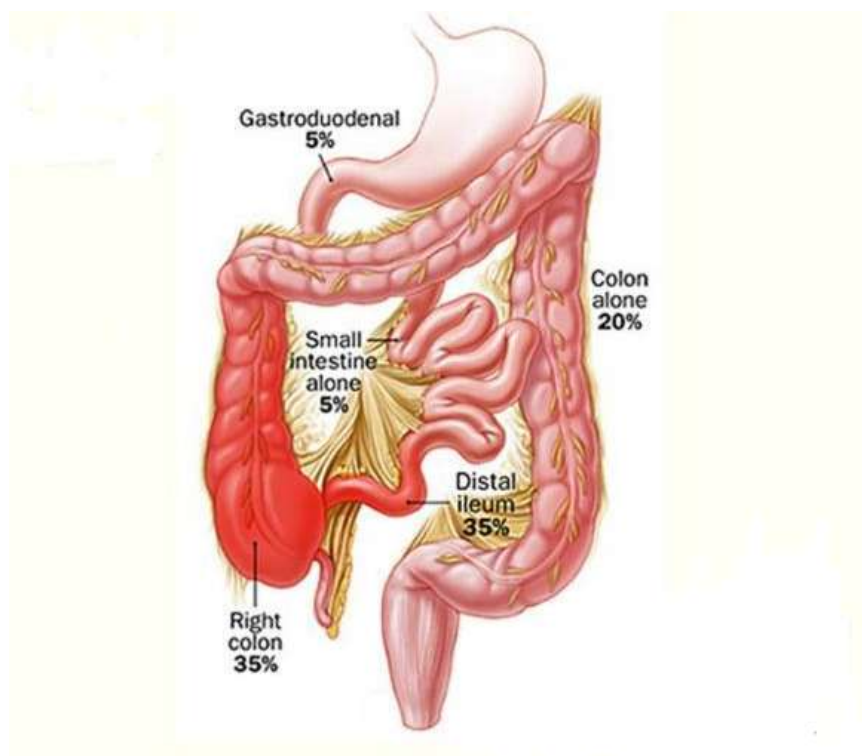
#### 3.1.4.1 Signes cliniques

- Manifestations intestinales

La maladie de Crohn se présente chez le jeune adulte par des manifestations cliniques très diverses d'un individu à l'autre. Néanmoins, parmi les symptômes les plus courants, on retrouve :

- les douleurs abdominales de siège et d'intensité variable. Elles se situent principalement au niveau de la fosse iliaque droite et sont accentuées après le repas.
- les diarrhées chroniques (modérées à sévères s'accompagnant de problèmes de malabsorption alternant avec des épisodes de constipation).
- les pertes glairo-sanglantes dans les selles (signe digestif beaucoup plus spécifique).
- l'altération de l'état général, la perte de poids ainsi que de la fièvre constituent les signes généraux discrets retrouvés dans la MC.

La pathologie peut toucher tous les segments du tube digestif (de la bouche à l'anus). Ainsi, les signes cliniques dépendent de la localisation des lésions.



**Figure 11** Localisation des lésions dans la maladie de Crohn (122)

Les atteintes iléo-coliques constituent les formes les plus fréquentes chez l'enfant et le jeune adulte (environ 50%). En raison du caractère peu marqué des signes cliniques, leur diagnostic est souvent retardé.

En cas d'atteinte de la partie terminale de l'intestin grêle (iléon ou région iléale) (30 à 35% des cas), la maladie va se traduire par des douleurs abdominales, associées à une diarrhée souvent modérée. Les selles sont aqueuses et, en général, non hémorragiques.

Les atteintes coliques (du gros intestin) également très fréquentes (20% des cas) se traduisent sur le plan clinique par des rectorragies. Des fistules (abouchement anormal faisant communiquer une cavité ou un organe avec un autre ou avec l'extérieur de l'organisme) sont souvent observées au niveau du caecum et du sigmoïde.

Les atteintes anorectales se caractérisent par des fissures, des ulcérations profondes accompagnées de fistules et d'abcès.

Enfin, les lésions œsogastroduodénales beaucoup plus rares (5% des cas) se traduisent par des ulcérations de la muqueuse.(127),(128)

- Manifestations extradigestives

Les manifestations systémiques au cours de la MC sont courantes et très hétérogènes, elles sont présentes dans 20% des cas. Les principales sont ostéo-articulaires, hépatobiliaires, oculaires ou encore cutanées...

Les manifestations articulaires se retrouvent chez 10 à 35% des patients. On en distingue deux types :

- les arthropathies périphériques qui siègent sur les grosses articulations (genoux, hanches, chevilles, coudes, épaules). Elles sont transitoires et suivent les phases de poussées et de rémission de la maladie.
- les arthropathies axiales concernent quant à elles le bassin et la colonne vertébrale.

L'érythème noueux est la manifestation cutanée la plus fréquente. 2 à 20% des patients atteints de MICI développent ce type de symptôme et plus particulièrement les femmes. Lors d'une phase de poussée de la maladie, il apparaît sous la forme de petits nodules de quelques centimètres de diamètre, chauds, érythémateux et douloureux au niveau de la face antérieure des jambes.

Parmi les atteintes oculaires, on retrouve l'uvéite, l'épisclérite et la sclérite chez 5 à 10% des patients.

Les manifestations hépatobiliaires, beaucoup plus discrètes, telles que la stéatose ou encore la cholangite sclérosante primitive peuvent être observées.(129)

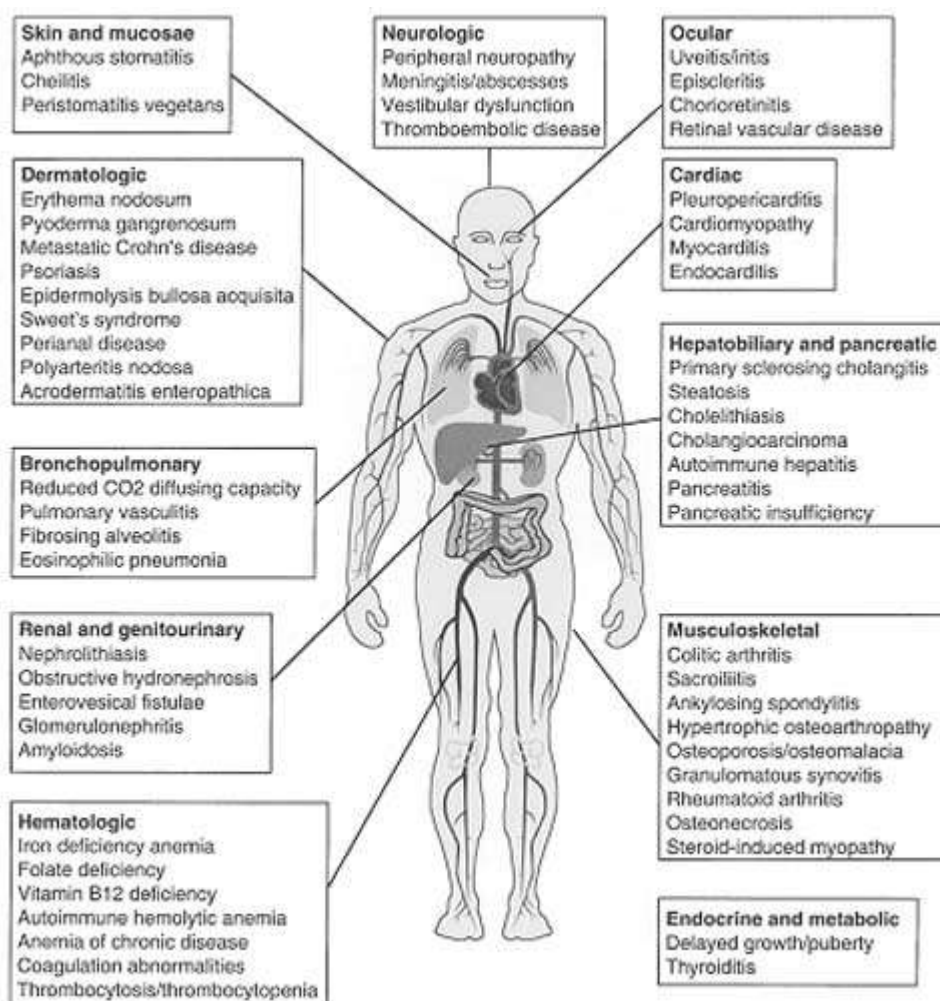


Figure 12 Les manifestations extradiigestives au cours des MICI (126)

- Signes biologiques

Ils sont très variables, malheureusement peu spécifiques. Cependant, un syndrome inflammatoire associant une protéine C réactive (CRP) élevée, une anémie, ainsi que des taux

de calcium, cholestérol bas (signe de malabsorption intestinale) peuvent être mis en évidence au cours de MICI.

### 3.1.4.2 Anatomopathologie

- Aspect macroscopique

Quelles que soient leurs localisations (intestin grêle, côlon), les lésions de la MC ont la caractéristique d'être segmentaires, discontinues, entrecoupées par des intervalles de muqueuse saine.

Il existe différents types de lésions :

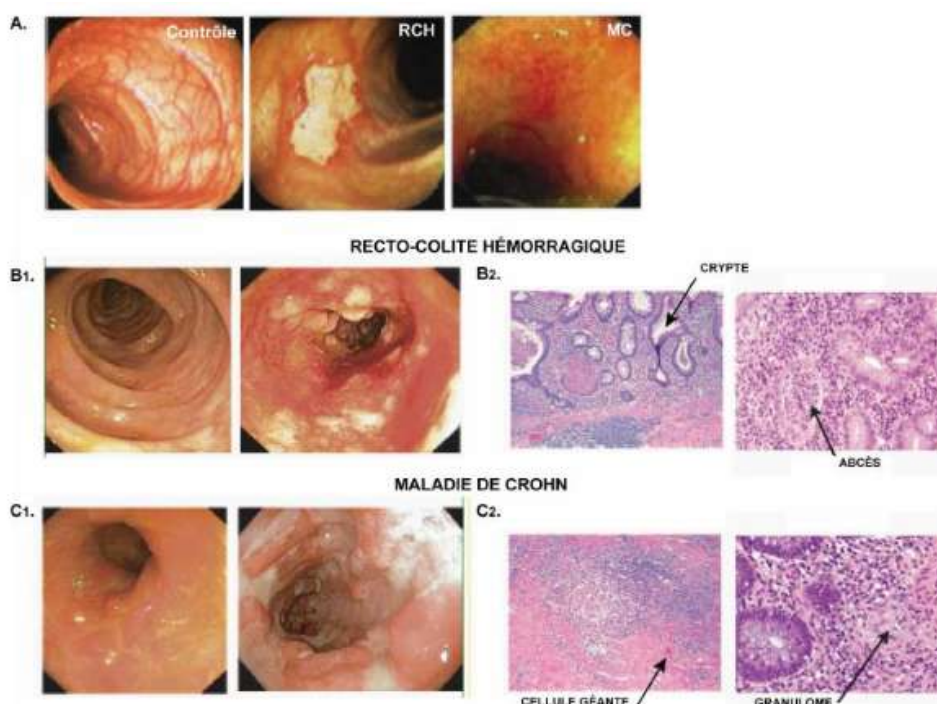
- les ulcérations aphthoïdes superficielles ou profondes et étendues, de forme variable.
- les ulcérations profondes serpigneuses étendues.
- les sténoses (rétrécissements de la lumière liés à l'épaississement de la paroi).

L'ensemble de ces lésions peut conduire à des abcès ou des fistules montrant l'extension de l'inflammation aux tissus voisins.

- Aspect microscopique

Les lésions sont polymorphes avec alternance de plages lésées et de plages saines. Elles sont dites transmursales. En effet, elles peuvent s'étendre sur l'ensemble des différentes couches de la paroi digestive de la muqueuse à la séreuse.

La lésion élémentaire essentielle de la MC est le granulome épithélioïde ou tuberculoïde dont la présence est cependant inconstante. Il s'agit de nodules formés de cellules épithélioïdes, de lymphocytes et de cellules géantes. Dépourvus de nécrose caséuse, ils siègent principalement au niveau de la sous-muqueuse et la sous-séreuse. (130)



**Figure 13** Aspect anatomopathologique de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique (128)



### 3.1.4.3 Les complications

Les complications de la MC sont souvent liées à leur localisation. Elles peuvent être graves et nécessiter une prise en charge urgente voire même une hospitalisation.

Parmi les complications intestinales les plus courantes, on retrouve :

- les sténoses, véritables obstacles au transit intestinal, elles peuvent provoquer des obstructions, occlusions. Ces dernières se manifestent, en général, par des ballonnements, des crampes intestinales intenses, de la constipation ainsi que des nausées et vomissements et parfois de la fièvre.
- les perforations intestinales surviennent dans certains cas. En effet, les parois de patients atteints de MC sont très fragiles et peuvent se fissurer ou se rompre. La péritonite (infection de la cavité de l'abdomen) ou la formation d'abcès constituent l'une des conséquences engendrée par cette perforation.
- les fistules, les hémorragies digestives et la dénutrition sont également observées dans la MC.
- Enfin, la cancérisation est à redouter dans le cadre des MICI. Les patients atteints de MC ont, après plusieurs années de maladie, un risque accru de développer un cancer colorectal, un adénocarcinome du grêle et des cancers extra-digestifs (cholangiocarcinomes, lymphomes non hodgkiniens).(128)

### 3.1.5 La rectocolite hémorragique

#### 3.1.5.1 Signes cliniques

La rectocolite hémorragique se caractérise par une inflammation chronique évolutive touchant exclusivement le rectum et le colon.

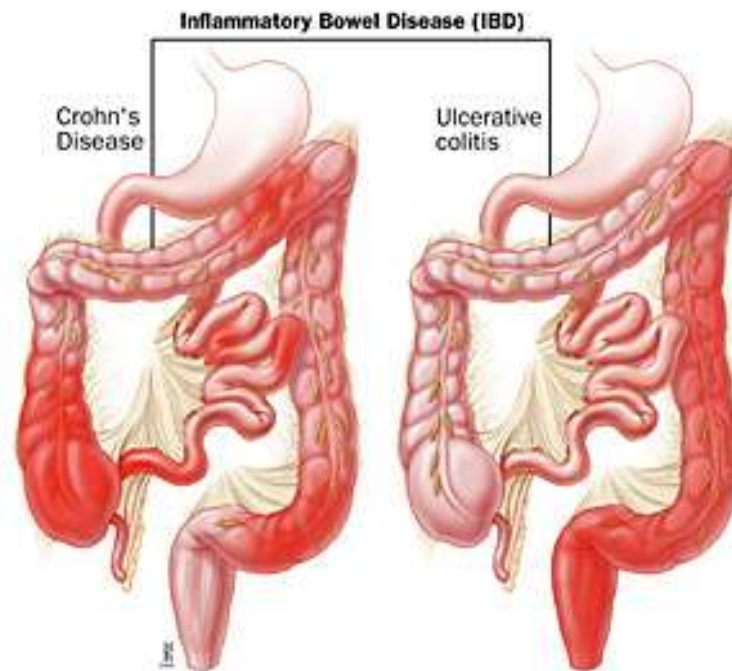
Parmi les manifestations principales de la maladie (très similaires à celles de la maladie de Crohn), on retrouve :

- les douleurs abdominales, elles sont très souvent postprandiales, abdominales basses et localisées au niveau de la fosse iliaque. Elles sont rares au début de la maladie (surtout si l'atteinte se limite au rectum) et peuvent devenir très vives dans les formes sévères.
- la diarrhée, symptôme dominant de la RCH habituellement mais pas toujours hémorragique. Elle est présente chez la moitié des patients au début de la maladie et devient constante chez tous les patients au cours de l'évolution. Elle peut être modérée, matinale ou postprandiale, mais aussi sévère avec des dizaines d'évacuations rectales impérieuses diurnes et nocturnes. Le ténesme et l'incontinence fécale accompagnent ce symptôme dans les formes sévères. Enfin, la maladie se manifeste dans certains cas par une alternance de diarrhées et de constipations.
- la rectorragie, également importante dans la RCH, elle accompagne les diarrhées mais peut survenir en dehors des selles, évoquant un saignement hémorroïdaire.
- enfin, on retrouve des manifestations systémiques telles que de la fièvre, des nausées, vomissements et un amaigrissement.

Cependant, en fonction de l'étendue de l'atteinte rectocolique et de la gravité des poussées, le tableau clinique reste très variable.(131),(132)

Les lésions au niveau du rectum peuvent s'étendre sur une portion variable du côlon de manière ascendante. Ainsi, selon l'extension des lésions au niveau du côlon, on distingue différentes formes :

- Les RCH distales représentent 60% des formes avec la rectite (atteinte du rectum) et la recto-sigmoïdite (atteinte du rectum et du sigmoïde).
- Les RCH pancoliques (15%) touchant le rectum et la totalité du côlon.
- Les RCH intermédiaires (25%).



*Figure 14 Localisation des lésions dans la MC et la RCH*  
(122)

Enfin, comme pour la MC, des manifestations extradigestives et des signes biologiques peu spécifiques sont associés à la RCH.

### 3.1.5.2 Anatomopathologie

- Aspect macroscopique

Dans la RCH, les lésions sont contrairement à la MC homogènes, sans intervalle de muqueuse saine. L'atteinte constante du rectum et l'extension rétrograde du rectum vers le caecum sont à souligner dans la RCH. Les lésions n'atteignent que les couches superficielles de la paroi. Elles sont, en effet, limitées à la muqueuse et à la sous-muqueuse et n'affectent ni la musculuse ni la séreuse.

Dans la RCH active, la muqueuse présente un aspect rouge, granité, fragile. Mais, dans les formes plus sévères, de nombreuses ulcérations arrondies, polycycliques superficielles ou sous la forme de sillons longitudinaux peuvent apparaître. Ainsi, les îlots de muqueuse entre les ulcérations longitudinales évoquent un « champ fraîchement labouré ».

Suite à ces ulcérations, la muqueuse oedématisée, hémorragique peut parfois prendre un aspect de pseudopolypes en « pavés ».

- Aspect microscopique

La muqueuse, principal siège de l'inflammation, demeure la plus touchée au cours de l'évolution. On observe, au niveau de la lamina propria d'aspect œdémateux, un afflux de cellules inflammatoires. Les polynucléaires neutrophiles infiltrent et traversent l'épithélium cryptique entraînant la formation d'abcès cryptiques.

L'infiltrat lymphoplasmocytaire, les cryptes atrophiques, l'accroissement de l'espace inter-crypte ainsi que la diminution de la mucosécrétion sont autant d'éléments retrouvés dans la RCH.

L'épithélium de surface est souvent aplati et prend un aspect pseudo-villeux.

Contrairement à la MC, il n'existe pas de granulome tuberculoïde. En l'absence de ce dernier, aucun autre signe histologique spécifique ne permet de distinguer une RCH d'une MC.(133),(131)

### 3.1.5.3 Les complications

Le mégacôlon toxique constitue la complication aiguë la plus redoutable de la RCH. Rare mais grave, il survient généralement lors de poussées sévères de la maladie. L'extension de l'inflammation aux couches profondes de la paroi va fragiliser cette dernière entraînant dans certains cas un sepsis sévère, une colectasie (dilatation colique au-delà de 6 cm). Cet état pré-perforatif constitue une urgence thérapeutique. Des hémorragies massives imposant une colectomie peuvent se manifester mais restent exceptionnelles.

Au cours de l'évolution, la sténose colique fait partie des complications chroniques. Elles sont à risque de transformation néoplasique et lorsqu'elles empêchent le dépistage recommandé, une colectomie peut être dans ce cas envisagée.

Le risque à long terme de la RCH est la survenue d'un cancer colorectal. Ce risque est d'autant plus grand lorsque la maladie évolue déjà depuis longtemps. Il est respectivement de 2% après 10 ans, 8% et 18% après 20 et 30 ans.

On le retrouve généralement au sein de dysplasie focale ou multifocale au milieu de la muqueuse inflammatoire. Ainsi, la stratégie de dépistage repose sur la réalisation de biopsies étagées sur l'ensemble du côlon afin d'évaluer l'extension de la maladie.(134),(133)

Symptomatologie des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin		
Symptôme	Maladie de Crohn	Recto-colite hémorragique
<b>Site</b>		
Rectum	Parfois	Oui
Côlon	2/3 des patients	Oui
Iléon	2/3 des patients	Non
Jéjunum	Rare	Non
Estomac ou duodénum	Rare	Non
Œsophage	Rare	Non
<b>Caractéristiques cliniques</b>		
Age moyen de survenue	Entre 20 et 40ans ; parfois chez l'enfant	Entre 30 et 50ans
Constipation	Parfois	Perte du péristaltisme
Diarrhée	Commun	Oui
Douleur abdominale	Commun	Parfois
Hémorragies rectales (hématochezie)	Rare	Commun
Atteinte de l'intestin grêle	Commun	Non (sauf en cas d'iléite rétrograde)
Obstruction de l'intestin grêle	Commun	Rare
Obstruction colique	Commun	Rare
Atteinte péri-anale	Commun	Non
Passage de mucus ou de pus dans les selles	Rare	Commun
Présence d'une masse abdominale	Commun	Rare
Fièvre	Commun	Commun
Perte de poids	Commun	Commun
Retard staturo-pondéral chez l'enfant et l'adolescent	Commun	Parfois
Signes de malnutrition	Commun	Commun
Manifestations extra-intestinales	Commun	Commun
Effet aggravant du tabac	Oui	Non
<b>Complications intestinales</b>		
Sténose	Commun	nr
Fistule	Commun	Non
Colectasie (mégacôlon toxique)	Non	nr
Perforation	Rare	nr
Cancer	Commun	Commun
Hémorragie	Rare	Profuse

<b>Endoscopie et radiologie</b>		
Distribution	Discontinue et segmentée	Continue
Ulcération	Profonde avec extension transmurale	Fine et superficielle
Erythème muqueux	Parfois	Oui
Fissures	Commun	Rare
Strictures ou fistules	Commun	Rare
Pseudopolypes	Commun	Commun
Implication iléale	Etroite et nodulaire	Dilatation
<b>Caractéristiques anatomo-pathologiques</b>		
Inflammation mucosale transmurale	Oui	Non
Inflammation séreuse	Oui	Parfois
Architecture des cryptes intestinales déformée	Rare	Oui
Cryptite et abcès cryptiques	Oui	Oui
Granulomes épithélioïdes	Oui	Non
Friabilité de la muqueuse	Parfois	Commun
Épaisseur de la sous-muqueuse	Augmentée	Diminuée
Altération de la muco-sécrétion	Parfois	Commun
Lymphangiectasie	Oui	Non
Hyperplasie neuronale	Oui	Non
Hyperplasie lymphoïde	Diffuse	Focale
Métaplasie des cellules de Paneth	Oui	Parfois

*Figure 15* Caractéristiques cliniques, anatomo-pathologiques au cours des MICI.(115)

### 3.1.6 La situation pathologique au cours des MICI : la rupture de l'homéostasie intestinale

Le ou les élément(s) déclencheur(s) de ce type de pathologie reste(nt) malheureusement encore inconnu(s). Cependant, le modèle généralement admis à ce jour est une dysrégulation du système immunitaire muqueux dirigé contre la microflore intestinale, survenant chez des sujets génétiquement prédisposés.

Au cours des MICI, une cascade de mécanismes va être à l'origine du déclenchement et de la pérennité du processus inflammatoire. Tout d'abord, les cellules résidentes de la muqueuse intestinale vont être anormalement stimulées. Cette activation va engendrer la mise en place de voies de transduction (voie NFκB, kinases de stress) ainsi que la production de médiateurs inflammatoires (cytokines, chimiokines). Ces derniers sont impliqués dans le recrutement de cellules inflammatoires sanguines via la surexpression de molécules d'adhésion. Un autre mécanisme pathologique caractérisé par l'inhibition des processus de mort cellulaire (apoptose) va favoriser l'augmentation et la survie de ces cellules pro-inflammatoires recrutées. Ces deux processus aboutissent ainsi à la formation d'un infiltrat inflammatoire activé au sein même de la paroi et à la chronicité de l'inflammation.

L'activation anormale du système immunitaire est de plus associée à une rupture de la tolérance vis-à-vis de sa propre flore intestinale.(135)

#### 3.1.6.1 Augmentation de la perméabilité de la barrière épithéliale

La diminution de la résistance épithéliale au cours des MICI a fait l'objet de nombreuses études. Dès 1989, Katz et al. ont observé cette augmentation de la perméabilité chez les parents d'enfants atteints de MC, suggérant une intrication entre ce facteur et le déclenchement de la pathologie. Evènement très précoce au cours des MICI, précédant les rechutes, elle survient aussi bien en zone saine qu'inflammatoire.

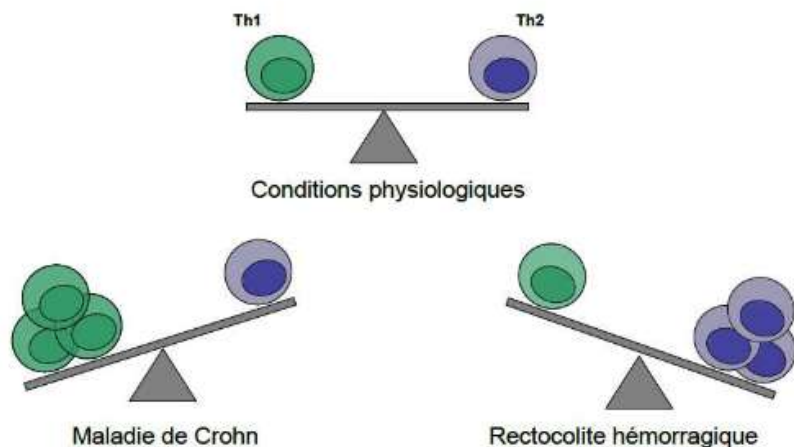
Cette altération de la perméabilité pourrait compromettre le développement de la tolérance orale en exposant directement le système immunitaire intestinal aux antigènes alimentaires et bactériens. L'inflammation ainsi engendrée assurerait le maintien de cette anomalie.

Les mécanismes à l'origine de cette perturbation restent malheureusement inconnus.(136)

### 3.1.6.2 Déséquilibre de la balance effecteur/régulateur

#### 3.1.6.2.1 Perturbation de la balance Th1/Th2

Les MICI sont étroitement liées à une dérégulation immunitaire se traduisant par un déséquilibre de la balance Th1/Th2.



**Figure 16** Le déséquilibre lymphocytaire dans les MICI

En cas de MICI, les antigènes commensaux sont captés par les cellules dendritiques de façon excessive. Cette rupture de la tolérance va être alors responsable d'une inégalité entre les deux populations lymphocytaires.

La muqueuse intestinale se retrouve ainsi préférentiellement infiltrée par :

- des lymphocytes Th1 responsables de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN $\gamma$ , IL-12, IL-6... en ce qui concerne la MC.
- des lymphocytes Th2 produisant quant à eux IL-5, IL-13,... dans la RCH.(137),(138)

#### 3.1.6.2.2 Perturbation des profils Treg/Th17

Les études réalisées sur des modèles murins de colite et celles effectuées sur l'homme au cours de poussées de MICI ont permis de révéler un flux abondant de lymphocytes Th17 au sein de la muqueuse intestinale ainsi qu'une expression de cytokines pro-inflammatoires (IL-17, IL-21, IL-22) exacerbée. L'axe IL-23/Th17 a été identifié comme jouant un rôle important dans l'homéostasie intestinale et donc dans le développement de MICI. L'expression de l'IL-23 par les CPA en réponse à des stimulations d'agents pathogènes ou non est responsable de la mise en place de la réponse Th17, accrue au cours de MICI.(139),(140)

Par ailleurs, un défaut d'activation ou d'expansion des lymphocytes T régulateurs pourrait aussi être associé à cette inflammation non contrôlée observée au cours des MICI.

#### 3.1.6.2.3 Cytokines-chimiokines

La balance entre cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8) et cytokines anti-inflammatoires (antagonistes du récepteur de IL-1 -IL-1RA-, IL-10, TGF $\beta$ ) gère localement l'intensité et la durée de la réaction inflammatoire. Dans la MC et la RCH, les lésions intestinales chroniques des patients sont associées à une augmentation de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires et probablement à un déficit en cytokines anti-inflammatoires. (Par exemple, dans la MC, l'expression de TNF $\alpha$  est augmentée dans les lésions au niveau de la muqueuse, la sous-muqueuse et la séreuse).

Cette anomalie de la balance cytokinique paraît secondaire à l'inflammation et n'existe pas dans la muqueuse saine de patients atteints de MICI.

Les cytokines immunorégulatrices jouent, quant à elles, un rôle important dans la chronicité des lésions. Il semble que les lésions observées dans la MC sont associées à un profil de synthèse de cytokines de type Th1 alors que celles liées à la RCH sont de type Th2.

Enfin, l'IL-8 constitue la chimiokine la plus étudiée dans les MICI. De nombreuses études ont mis en évidence une augmentation de sa synthèse au niveau de la muqueuse colique inflammatoire de patients atteints de MC et RCH. Les quantités d'IL-8 restent cependant comparables entre les muqueuses saines de patients avec MICI et les témoins, l'augmentation de sa synthèse est donc secondaire à l'inflammation.(141)

### 3.1.6.2.4 Augmentation de l'expression de molécules d'adhésion

Au cours des MICI, les lésions intestinales se caractérisent par un afflux au sein de la muqueuse, de cellules inflammatoires périphériques. Le recrutement de ces leucocytes circulant essentiellement représentés par des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes se réalise via l'expression de récepteurs sur les cellules endothéliales intestinales : ce sont les molécules d'adhésion. Elles permettent non seulement l'apport de cellules inflammatoires mais aussi dans certains cas la fixation d'agents pathogènes infectieux. Leur expression dépend en partie de la communication cellulaire établie grâce aux cytokines et semble accentuée au cours des MICI.(141),(142)

### 3.1.6.3 Inhibition des mécanismes d'apoptose

Il s'agit d'un phénomène physiologique assurant l'élimination rapide de cellules afin de protéger les tissus environnants de certains éléments tels que les enzymes protéolytiques cytoplasmiques responsables de la production de l'inflammation.

Dans la MC, l'apoptose de certains lymphocytes T (LT) impliqués dans des processus inflammatoires est diminuée. Cette réduction de l'apoptose est probablement multifactorielle, elle impliquerait par exemple IL-6 (produite essentiellement par les macrophages et les LT).(141)

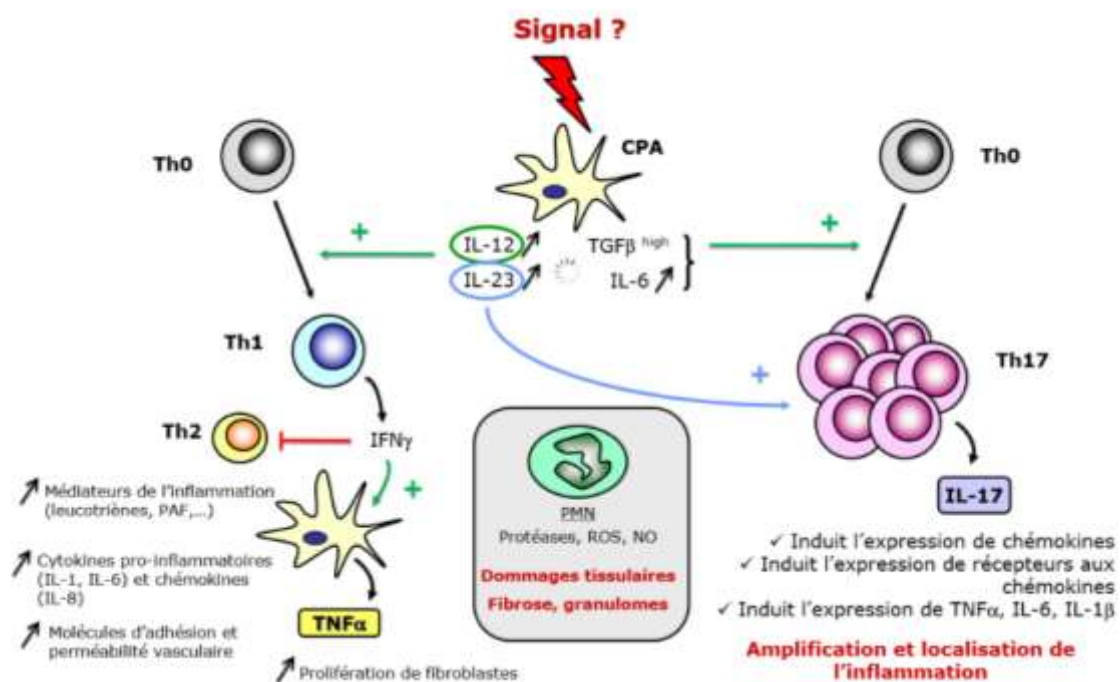


Figure 17 Hypothèse physiopathologique de la maladie de Crohn (145)

### 3.1.7 Diagnostic : différencier les MICI par les auto-anticorps sériques ?

Le diagnostic de MICI se décompose en deux étapes principales. Dans un premier temps, il est nécessaire d'exclure toute autre pathologie digestive. Dans un second temps, il est important de distinguer au sein même des MICI une MC d'une RCH.

L'implication d'anomalies de l'immunité humorale dans ces deux maladies a conduit à la recherche de marqueurs sérologiques permettant d'assurer le diagnostic différentiel des MICI. La RCH est associée à la présence d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires (ANCA) donnant une image périnucléaire particulière. La MC est quant à elle caractérisée par la présence d'anticorps dirigés contre les mannanes notamment de *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA).(143)

### 3.1.8 Traitement des MICI

La prise en charge des MICI nécessite un traitement chronique incluant une combinaison de médicaments. Les objectifs thérapeutiques sont de traiter les poussées, de diminuer la fréquence et la sévérité des poussées, de prévenir les récives et les complications, d'éviter le recours à la chirurgie et l'hospitalisation et enfin d'améliorer la qualité de vie du patient.

Parmi les traitements pharmacologiques des MICI, on retrouve :

- Les salicylés
  - Ce sont les plus anciens médicaments topiques utilisés dans les MICI. Leur chef de file, la sulfasalazine (Salazopyrine®) premier médicament de la famille (1942) connaît aujourd'hui de nombreux dérivés tels que l'acide 5-aminosalicylique (5-ASA) ou mésalazine (Pentasa®, Rowasa®, Fivasa®), l'olsalazine (Dipentum®), l'acide para-aminosalicylé (Quadrassa®).
  - Les aminosalicylés exercent une action anti-inflammatoire locale directe sur la muqueuse de l'intestin grêle et du côlon des patients.
  - Utilisés per-os et par voie rectale, ils sont indiqués dans le traitement de poussées et le maintien de la rémission.
  
- Les corticoïdes
  - Les plus utilisés per os sont la prednisone (Cortancyl®) et la prednisolone (Solupred®). Dans des poussées beaucoup plus intenses, des formes injectables telles que la méthylprednisolone (Solumédrol®) peuvent être prescrites. Enfin, il en existe par voie rectale (mousse, lavement, suppositoire) pour les formes de MICI affectant la partie basse du tube digestif (côlon, rectum), l'hydrocortisone (Colofoam®) et la bétaméthasone (Betnesol®).
  - La corticothérapie systémique constitue une carte maîtresse de l'arsenal thérapeutique. Elle supprime généralement efficacement l'inflammation et réduit rapidement la symptomatologie.
  - Ils sont indiqués lors de poussées de sévérité moyenne à forte de RCH et de MC, mais ne jouent cependant pas de rôle dans le maintien de la rémission.
  - La tolérance des corticoïdes limite fréquemment leur utilisation à long terme.
  
- Les immunomodulateurs
  - Ils comprennent l'azathioprine (Imurel®), la ciclosporine (Néoral®), le tacrolimus (Prograf®), le méthotrexate (Novatrex®) et le mycophénolate mofétil (Cellcept®).
  - Habituellement utilisés dans le traitement des greffes ou dans certains cancers, ils peuvent être aussi proposés dans les MICI en cas de situations aiguës représentées par les formes réfractaires corticorésistantes ou encore dans les formes avec fistules, afin de maintenir la rémission.

- Ils ne conviennent pas pour le traitement des poussées aiguës à l'exception de la ciclosporine dans la RCH aiguë sévère.
- L'utilisation de la ciclosporine se limite presque exclusivement à la RCH sévère et le tacrolimus à la MC lorsque tous les autres traitements reconnus ont échoué.
- Ils présentent un délai d'action de quelques mois avant leur pleine efficacité, et nécessitent une surveillance régulière de certains paramètres sanguins. (numération de formule sanguine, bilan hépatique).

- Les anti-TNF $\alpha$

- Parmi les anticorps dirigés contre les facteurs de nécrose des tumeurs (éléments clés du processus inflammatoire), on retrouve l'infliximab (Rémicade®) et l'adalimumab (Humira®).
- Ils sont indiqués dans le traitement des formes modérées à sévères chez les patients n'ayant pas répondu aux traitements conventionnels.

- Les antibiotiques

- Le métronidazole et la ciprofloxacine peuvent être également utilisés dans le traitement de la MC et de ses complications.

- Les traitements symptomatiques et autres

Ils comportent :

- des anti-diarrhéiques tels que le loperamide (Imodium®) dans les formes non fulminantes.
- des analgésiques tels que le paracétamol et la codéine.
- des suppléments nutritionnels et multivitaminés.

L'impact du régime alimentaire sur l'activité inflammatoire de la RCH et la MC est mal connu. Mais, des modifications diététiques peuvent contribuer à une diminution de la symptomatologie. Il est par exemple souhaitable de réduire l'apport en fibres alimentaires pendant les poussées et d'adopter un régime pauvre en résidus afin de diminuer la fréquence des selles.

- La chirurgie

Malgré l'ensemble des traitements pharmacologiques à disposition, l'évolution des MICI nécessite souvent le recours à la chirurgie. Seules les formes compliquées et résistantes aux traitements sont opérées, de plus la résection chirurgicale doit être la plus limitée possible.

Les risques de complications restent malheureusement très fréquents (surtout pour la MC) et des complications inflammatoires telles que la pochite (inflammation du réservoir iléal après anastomose iléo-anale) peuvent apparaître.(133),(144)

### 3.1.9 Vers un vaccin thérapeutique ?

Compte tenu de leur haute incidence chez le jeune adulte, de leur évolution chronique, de l'augmentation de la morbidité et de l'altération de la qualité de vie, les MICI posent un véritable problème de santé publique.

Il n'existe actuellement pas de traitement curatif de la maladie, les anti-TNF $\alpha$  ont certes révélé leur efficacité sur de nombreuses maladies inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde, maladie de Crohn, spondylarthrite ankylosante, psoriasis...). Aujourd'hui, ils montrent leurs limites : on estime actuellement que plus d'un patient sur deux ne répond plus aux traitements au bout d'un an. De nombreux patients atteints de MICI sont donc encore aujourd'hui en impasse thérapeutique.



Ainsi une nouvelle voie très prometteuse a fait son apparition, l'entreprise de biotechnologies **Néovacs®** a décidé de s'intéresser au développement d'un vaccin thérapeutique. L'objectif est d'induire la production d'anticorps polyclonaux dirigés contre les différents épitopes du TNF par le patient lui-même, en lui injectant des dérivés appelés kinoïdes. Cette technique devrait permettre d'échapper à l'apparition de résistances par rapport aux biothérapies.

Le TNF-Kinoïde, aujourd'hui en développement clinique, est destiné aux patients souffrant de la maladie de Crohn à des stades modérés à sévères ne répondant plus aux traitements par anticorps monoclonaux.(145),(146)

## 3.2 Intérêt des probiotiques dans les MICI

Le microbiote intestinal en contact permanent avec les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale exerce probablement un rôle délétère pro-inflammatoire dans la survenue et/ou l'entretien des lésions intestinales. Le dialogue entre cellules eucaryotes et procaryotes semble en effet être au cœur de la physiopathologie de ce type de pathologies.

Ainsi, face à cette dysbiose de la microflore intestinale, l'utilisation de probiotiques afin de corriger ce déséquilibre et d'assurer un contrôle de la maladie constitue une piste intéressante.

### 3.2.1 Microbiote : une cible thérapeutique au cours des MICI ?

#### 3.2.1.1 Un dialogue assurant l'homéostasie tissulaire

Les expériences menées par Rakoff-Nahoum et al ont permis de mettre en évidence l'importance de cette communication étroite entre les bactéries et cellules intestinales, et tout particulièrement, le rôle protecteur lié à la reconnaissance de la microflore par l'immunité innée.

Ces chercheurs ont utilisé chez deux groupes de souris d'une part sauvages et d'autre part invalidées pour certains TLRs ou pour MyD88 (protéine impliquée dans la reconnaissance de presque tous les TLRs), un agent le dextran sodium sulfate (DSS) capable d'induire chez ces candidats murins une colite chimique.

La colite était plus grave et responsable d'une mortalité accrue chez les souris invalidées pour certains TLRs que chez les souris sauvages. Chez les souris invalidées pour MYD88, la colite était encore plus grave et plus rapidement mortelle.

Cette expérience montre que la reconnaissance spécifique de certains composants bactériens par les récepteurs de l'immunité innée joue un rôle important dans le maintien et l'intégrité de l'homéostasie tissulaire.(147)

#### 3.2.1.2 La dysbiose du microbiote intestinal

Récemment, les études descriptives réalisées sur la microflore intestinale au cours des MICI ont fait naître ce concept de dysbiose. Le microbiote intestinal pourrait constituer un candidat majeur responsable de l'initiation et/ou de l'entretien des lésions inflammatoires dans la MC et la RCH.

Des différences significatives de ce dernier ont en effet été observées entre sujets sains et sujets atteints de MICI. Afin de mettre en évidence cette dysbiose, les chercheurs ont comparé des échantillons fécaux d'individus en phase active (poussée), inactive (rémission), et témoins. Les résultats révèlent une augmentation significative des *Bacteroides* et des *enterobactéries* en particulier *Escherichia Coli*, mais aussi une diminution des *Lactobacillus*, des *Bifidobacteria*. Même si ces perturbations décrites au sein de la microflore au cours des MICI ne sont pas retrouvées par toutes les équipes scientifiques, il existe cependant une convergence d'observations vers une diminution de la population de *Clostridium leptum* chez les patients atteints de MC.

Les études sur la flore adhérente au cours des MICI sont quant à elles peu nombreuses. Le microbiote associé à la muqueuse (MAM) étudié sur des biopsies (réalisées au cours de

coloscopies), ou sur des pièces opératoires est caractérisé par une réduction significative des bactéries du phylum Firmicutes et ceci de manière similaire aux résultats provenant des études du microbiote fécal. *Fecalibacterium prausnitzii* constitue l'une des espèces les plus sous-représentées dans le MAM de patients atteints de MICI.

Environ 20 à 30% de la microflore seraient composés de bactéries différentes de celles rencontrées chez l'homme en bonne santé. Les observations sur la microflore rapportent une diminution de la biodiversité ainsi que des modifications spécifiques de la représentation des grands groupes bactériens.

La bactérie *E. coli* adhérent-invasif (AIEC) fait actuellement l'objet d'intenses recherches concernant essentiellement la MC. Une implication spécifique de cette dernière est envisagée dans le cadre de MICI.

Plusieurs études ont en effet montré la présence de souche d'*E. coli* au sein d'échantillons de muqueuse iléale de patients atteints de MC. Ces bactéries ont été désignées par AIEC en raison de leurs propriétés particulières d'adhésion aux cellules Caco-2. Les AIEC et en particulier la souche de référence LF82 pourraient, après colonisation de la muqueuse iléale, franchir la barrière intestinale et proliférer après phagocytose au sein des macrophages résidents conduisant ainsi à une forte sécrétion de cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$ . Ceci participerait à l'induction de la surexpression du récepteur CEACAM6 au niveau des cellules épithéliales (récepteur de l'hôte impliqué dans la reconnaissance des AIEC).

Dans la MC, il existerait donc une boucle de colonisation/inflammation par les bactéries AIEC, mais aussi les cytokines TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$ .(148),(135),(149)

### 3.2.2 Probiotiques et MICI : des résultats inégaux

#### 3.2.2.1 Probiotiques et MC

C'est à travers plusieurs essais randomisés contrôlés que les scientifiques ont tenté de montrer une efficacité de divers probiotiques au cours de la MC que ce soit dans le maintien en rémission ou en prévention de la récurrence postopératoire. (**Annexe 2**)

Les résultats d'une étude réalisée avec la bactérie *E. coli* Nissle 1917 (probiotique commercialisé en Allemagne sous le nom de Mutaflor se présentant sous forme de capsules entéro-protégées à libération iléale contenant de  $2.5$  à  $25 \cdot 10^9$  *E. Coli* Nissle 1917 viables) ont fait naître beaucoup d'espoir quant à la prise en charge de la MC. Dans cet essai, 28 malades ont reçu durant une année la souche probiotique test ou un placebo. La tolérance du probiotique s'est alors avérée bonne. En effet, à la fin de la première année seulement, 30% des malades sous probiotique ont rechuté contre 70% des malades sous placebo. Les observations retenues suggèrent une efficacité de la souche dans le maintien de la rémission. Cependant, seuls une vingtaine de sujets ont été analysés. Des données supplémentaires sont donc nécessaires afin de prouver les bénéfices d'*E. coli* Nissle 1917 dans la MC.(150),(151)

*Saccharomyces boulardii* a été testé au cours de deux essais contrôlés montrant son efficacité d'une part dans le traitement des symptômes diarrhéiques et d'autre part en prévention des récurrences de la MC.

La première étude est effectuée sur 20 malades présentant une MC avec des diarrhées modérées. Durant les 2 premières semaines, l'ensemble du groupe recevait en complément du traitement conventionnel *S. boulardii* (250mg), puis les 7 semaines suivantes *S. boulardii* ou un placebo. Le nombre de selles émises par jour ne différait pas entre les deux groupes au début du traitement, mais au terme de l'étude, il est réduit dans le groupe *S. boulardii*.(152)

Dans une deuxième étude de prévention de la rechute de MC, 32 malades recevaient pendant 6 mois (suite à une poussée), soit la mésalazine (3g/j), soit cette dernière (2g/j) associée à *S. boulardii* (1g/j). Les observations retenues montrent 37.5% de rechutes dans le groupe traité par mésalazine seule, contre 6.25% dans le groupe mésalazine + probiotique.(153)

*S. boulardii* pourrait d'après les résultats constituer un outil intéressant dans la prévention des récidives de MC. Cependant, ces données préliminaires ne sont pas suffisantes pour confirmer son effet positif. Des essais contrôlés multicentriques sur une proportion plus importante de la population devraient être réalisés afin de valider cet effet bénéfique.(135)

D'autres essais utilisant *Lactobacillus johnsonii* versus placebo ont été peu concluants. Dans une étude réalisée sur 98 patients, sur une durée de six mois, les observations ont montré 49% de récidives dans le groupe probiotique et 64% dans le groupe placebo.(154)

De même avec *Lactobacillus rhamnosus GG*, les essais menés sur un très faible effectif avaient fait espérer un effet bénéfique de la souche probiotique dans la MC. Cependant, une étude portant sur 45 malades opérés pour MC a montré qu'au bout d'un an, la fréquence des rechutes n'était pas diminuée par le probiotique. (155)

Une autre expérimentation conduite chez 75 enfants a révélé que la durée de maintien en rémission n'était pas différente entre le groupe sous probiotique et celui sous placebo (9.8 mois versus 11.0 mois).(156)

Ainsi, *L. rhamnosus GG* n'a présenté à travers ces deux études aucune efficacité dans la prévention des rechutes.

Enfin, une méta-analyse a réuni les résultats de 8 essais contrôlés randomisés, impliquant des souches telles que *Lactobacillus spp*, *E. Coli*, *S. boulardii*... Tout comme les résultats obtenus individuellement, les résultats regroupés n'ont pas montré d'avantages pour le traitement probiotique dans le maintien de la rémission clinique.(157)

### 3.2.2.2 Probiotiques et RCH

Actuellement, les études cliniques menées au cours de la RCH sont très prometteuses. Des probiotiques tels que *E. coli* Nissle 1917, le VSL#3... ont fait l'objet d'intenses recherches en ce qui concerne le maintien mais aussi l'induction de la rémission. (Annexe 3)

Trois essais réalisés en double aveugle ont comparé l'efficacité d'*E. Coli* Nissle 1917 à celle de la mésalazine dans la prévention de la rechute de la RCH.

Dans le premier, 120 patients recevaient sur une période de 3 mois soit de la mésalazine soit le probiotique. Au bout des 12 semaines, les deux traitements semblaient d'efficacité voisine puisque 89% d'une part et 84% d'autre part des patients demeuraient en rémission clinique. Les résultats de cette étude préliminaire semblaient offrir une autre option thérapeutique pour le maintien en rémission. Cependant, la courte durée du suivi des patients a limité considérablement la puissance statistique de cet essai.(158),(157)

Dans la deuxième étude réalisée avec la même souche, 116 malades ont reçu pendant un an soit la mésalazine (1.2g/jour) soit le probiotique. Au terme de cet essai, le taux de rechute sous mésalazine était de 73% contre 67% pour le groupe sous probiotique. Ces résultats suggèrent que le traitement avec *E. coli* Nissle aurait un effet équivalent à la mésalazine dans le maintien de la rémission.(159),(157)

La troisième étude est venue conforter les résultats. Sur 327 patients, suivis pendant un an, le pourcentage de rechute était similaire dans le groupe ayant pris 500mg 3 fois par jour de mésalazine (33.9%) et dans le groupe ayant reçu 200mg par jour d'*E. coli* Nissle 1917 (36.4%).

L'efficacité de ce probiotique à travers ces trois études dans le maintien en rémission met en évidence le rôle exercé par la flore entérique dans le déclenchement de la pathologie.(160)

Un autre essai mené chez 20 patients avec une RCH légère à modérée a testé l'ajout d'un lait fermenté contenant *Bifidobacterium spp.* et *L. acidophilus* au traitement conventionnel (sulfasalazine ou mésalazine) sur une période de trois mois. Les résultats obtenus ont montré

une amélioration des scores d'activités clinique, endoscopique et histologique chez les patients ayant reçu le supplément de probiotiques.(161)

L'efficacité d'une autre souche *Lactobacillus GG* sur le maintien de la rémission a été évaluée au cours d'un essai randomisé chez 187 patients. Parmi ces patients, 65 d'entre eux recevaient le probiotique seul ( $18.10^9$  /jour), 60 autres la mesalazine (2400mg/jour) et le reste (62 patients restants) l'association probiotique/mesalazine sur une période de 12 mois. L'analyse n'a montré aucune différence au niveau des taux de rechute entre les 3 groupes après 6 ou 12 mois de suivi. Cependant, le temps de rémission était plus long avec le probiotique seul ou en association.(162)

Le VSL#3, mélange de 4 souches de lactobacilles (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* et *L. bulgaricus*), 3 souches de bifidobactéries (*B. longum*, *B. breve*, et *B. infantis*) et d'un *Streptococcus salivarius thermophilus* a été testé au cours de plusieurs essais contrôlés randomisés pour l'induction de la rémission au cours de RCH légère à modérée.

Dans l'un d'eux, le VSL#3 était administré ( $3.6.10^{12}$ UFC 2x/jour) pendant 12 semaines vs placebo à 147 patients (77 patients dans le premier groupe vs 70 dans le deuxième). L'objectif reposait sur la détermination du score UCDAI (Ulcerative Colitis Disease Activity Index) au bout de 6 et 12 semaines (la réduction de 50% de cet indice constituait le critère principal). Le pourcentage de patients répondant au critère principal était plus important dans le groupe VSL#3 que le groupe placebo (32.5% contre 10% pour la sixième semaine et 42.9% contre 15.7% au terme de l'étude).(163)

De même, un essai pédiatrique utilisant VSL#3 a comparé l'administration du mélange de probiotique à un placebo pendant un an, chez 29 patients recevant tous le traitement conventionnel. L'induction d'une rémission a alors été observée chez 92.8% des patients sous probiotiques contre 36.4% du reste sous placebo.(164)

Enfin, une méta-analyse a regroupé 13 essais contrôlés randomisés sur les effets des probiotiques dans l'induction et le maintien de la rémission de la RCH. Dans l'ensemble, les études suggéraient que l'utilisation de probiotiques, sans pouvoir faire ressortir une souche en particulier, était associée à une efficacité similaire aux médicaments anti-inflammatoires concernant l'induction en rémission de la RCH légère à modérée, mais semblait avoir un meilleur effet que les médicaments conventionnels pour maintenir la rémission.(165),(166)

### 3.2.2.3 Probiotiques et pochite

La colo-protectomie totale (ablation du côlon et du rectum) avec anastomose iléo-anale constitue le traitement chirurgical de référence de la RCH. Le réservoir qui en résulte peut être le siège d'une inflammation. Cet état inflammatoire du réservoir est appelé pochite.

C'est dans cette situation que les résultats de probiotiques ont été les plus convaincants et tout particulièrement ceux du cocktail de probiotiques appelé VSL#3 (**Annexe 4**).

Un premier essai randomisé en double aveugle réalisé par Gionchetti et ses collègues a montré l'efficacité du VSL#3 dans le maintien en rémission chez 40 patients présentant une pochite chronique récidivante (plus de 3 épisodes de pochite par an). Après mise en rémission clinique et endoscopique de la pochite par un traitement d'attaque par ciprofloxacine et rifaximine, les patients ont reçu quotidiennement pendant 9 mois soit le probiotique soit un placebo. Au total, 100% de rechutes ont été observés dans le groupe sous placebo, contre 15% dans le groupe sous probiotique au terme de l'étude.

Cependant, l'effet thérapeutique du mélange probiotique semblait limité. En effet, quelques mois après l'arrêt de l'administration de VSL#3, 100% des patients avaient une récurrence clinique et histologique.(167),(135)

Une autre étude multicentrique est venue confirmer ces résultats. Après un traitement de 4 semaines par métronidazole et ciprofloxacine, 36 patients recevaient quotidiennement dans cet essai soit le VSL#3 soit un placebo sur une période d'un an. Comme dans l'étude

précédente, la récurrence à terme était de 94% dans le groupe placebo contre 10% chez les patients traités par VSL#3.(168)

Des chercheurs se sont intéressés dans une autre étude aux effets du VSL#3 sur la survenue d'un premier épisode de pouchite après colectomie totale et anastomose iléo-anale. Cet essai randomisé en double aveugle contre placebo a permis chez les 40 malades recrutés de mettre en évidence un effet préventif de l'administration quotidienne de VSL#3 : 10% des patients sous VSL#3 avaient un épisode de pouchite aigu et 40% de ceux sous placebo.

Le VSL#3 permettrait ainsi de limiter la survenue d'un premier épisode de pouchite et d'améliorer la qualité de vie des patients.(169)

Une autre souche probiotique, *Lactobacillus rhamnosus GG* a été testé versus placebo chez 20 patients présentant une pouchite modérée. Le probiotique était alors administré par voie orale à la dose de 2 capsules par jour pendant 3 mois. Malheureusement, après 3 mois, aucune différence n'avait été observée dans l'index d'activité de la maladie entre les deux groupes.

*Lactobacillus rhamnosus GG* a engendré, d'après les observations, des modifications de la flore intestinale mais n'a pas montré d'efficacité dans le contrôle des pouchites actives.

Plus d'essais cliniques sont nécessaires afin d'évaluer la posologie, le dosage optimal en probiotiques dans le traitement des pouchites.(170)

### 3.2.2.4 Conclusions retenues

En résumé, les études réalisées dans le cadre de la MC n'ont apporté aucune preuve suffisante quant à l'utilisation des probiotiques pour le traitement de la maladie et pour le maintien en rémission. Cependant, le rôle de la flore intestinale dans le développement de la maladie est généralement admis.

Malgré ces résultats négatifs, une étude a montré que l'incubation d'un tissu intestinal enflammé, provenant de résection chirurgicale de patients atteints de MC avec des probiotiques, diminuait la production de TNF- $\alpha$  et la population de lymphocytes T CD4. Les probiotiques interagissent donc bien avec les cellules immunocompétentes capables de moduler localement la production de cytokines pro-inflammatoires.(171)

Le caractère multifactoriel et multifocal de la MC pourrait expliquer en partie l'échec des probiotiques. Les recherches doivent donc se poursuivre pour permettre de proposer peut-être un jour les probiotiques en accompagnement du traitement ou comme traitement de la maladie.

Concernant la RCH, les études menées ont montré que des souches telles que *Lactobacillus GG*, *Bifidobacterium* spp., *L. acidophilus* ou encore le cocktail VSL#3 présentaient des effets bénéfiques similaires aux traitements conventionnels dans les formes légères à modérées de la maladie, en diminuant les rechutes ou encore en augmentant l'intervalle sans rechute. Enfin, le VSL#3 a prouvé son efficacité dans les pouchites et tout particulièrement dans la prévention de survenue d'épisode après confection récente d'une poche iléo-anale ainsi que dans le maintien en rémission après traitement de pouchite.

Le microbiote intestinal constitue une cible thérapeutique intéressante dans les MICI. Les nombreux effets attribués aux probiotiques sur la physiologie digestive sont très encourageants tout particulièrement dans la constitution d'un traitement préventif.

Cependant, les résultats des essais sur les probiotiques au cours des MICI demeurent encore à ce jour très inégaux, ce qui suggérerait l'existence d'une dysbiose spécifique à chaque situation inflammatoire.

Il apparaît donc nécessaire de mieux comprendre les mécanismes impliquant la microflore dans la pathogenèse des MICI mais aussi de mieux définir la ou les bactérie(s) candidate(s) à une thérapie ciblée pour poursuivre l'exploration de ce champ d'investigation.(135)

## 4. LES PROBIOTIQUES EN PRATIQUE A L'OFFICINE : CAS DE COMPTOIR

### 4.1 Le cas de Madame X.

Une patiente se présente à l'officine avec une ordonnance sur laquelle figurent les médicaments suivants :

- Econazole crème, 1 application matin et soir pendant 7 jours
- Econazole ovule, 1 ovule au coucher pendant 3 jours

Lorsque le pharmacien commence à prodiguer les conseils associés à la délivrance des médicaments, celle-ci déclare en soupirant : « Vous savez, je connais le traitement sur le bout des doigts, je suis tellement habituée ! » Elle lui avoue alors ne plus savoir quoi faire face à ces nombreuses récurrences de mycoses vaginales.

#### ➤ A savoir

La muqueuse vaginale est peuplée de bactéries (lactobacilles ou bactéries lactiques) qui assurent le maintien d'un milieu acide, empêchant la prolifération incontrôlée de germes pathogènes.

Les femmes sont encore très nombreuses à croire que la mycose est causée par un défaut d'hygiène ou que l'infection se transmet par les toilettes souillées. En vérité, il est important de rappeler à la patiente que la mycose vaginale est une infection du vagin et des organes génitaux externes dont l'agent responsable le plus fréquemment rencontré est le *Candida albicans*.

Ce champignon microscopique est naturellement présent dans la flore vaginale et intestinale des femmes en bonne santé, mais qui en cas de prolifération anormale est susceptible d'entraîner des troubles digestifs et urogénitaux.

Leucorrhées blanchâtres et prurit sont caractéristiques de cette affection.

Les principaux facteurs favorisant la survenue de ces épisodes sont les modifications hormonales liées au cycle, l'immunodépression, le diabète sucré, la prise d'antibiotiques ainsi que le port de sous-vêtements synthétiques et/ou trop serrés.

#### ➤ Conseils sur les modalités de prise du traitement

- L'ovule sera administré le soir au coucher et introduit profondément dans le vagin, de préférence en position couchée.
- La crème quant à elle est à appliquer deux fois par jour sur les lésions vulvaires, après la toilette avec un savon adapté et un séchage soigneux.

#### ➤ Mesures hygiéno-diététiques

Le pharmacien doit également réexpliquer à la patiente un certain nombre de règles hygiéno-diététiques à respecter afin de minimiser la survenue et les récurrences de mycoses. Parmi elles, on retrouve :

#### En prévention :

- Privilégier les vêtements amples, aérés en coton et le lavage à 60°.
- Avoir une hygiène intime adaptée en évitant les produits acides trop agressifs au profit de savons doux spécifiques en dehors de l'épisode de mycose sans toutefois laver plus de 2 fois par jour.
- Eviter les aliments riches en glucides qui favorisent la croissance des levures (miel, jus de fruit, pâtisseries...).
- Limiter la consommation de produits renfermant une teneur importante en levures, moisissures (pain, fromages, fruits secs...)

En complément du traitement de la mycose :

- Utiliser un savon alcalin (Hydralin-Gyn cité précédemment) afin de limiter le développement du champignon. Mais attention, ce type de savon ne s'utilise que pendant une dizaine de jours, au risque de déséquilibrer la flore et entretenir les récurrences.
- Attention, certains ovules (ex : Monazol®) peuvent être contre indiqués avec l'utilisation de préservatifs (en raison de risque de rupture de ce dernier) ou spermicide (en raison du risque de rupture, d'inactivation).
- Traiter le(s) partenaire(s) sexuel(s) par mesure de précaution.
- Préférer les douches aux bains, sécher soigneusement la région vulvaire.
- Enfin, utiliser pendant le traitement un gant de toilette et une serviette spécifiques qui seront changés tous les jours.(172),(173),(174)

➤ Propositions de vente(s) complémentaire(s)

- Produit d'hygiène intime à pH alcalin ou neutre (ex : Gyn Hydralin®, Saforelle®...)  
« Madame, quel produit utilisez-vous pour votre toilette intime ? »

Le pharmacien se doit de rappeler que les produits d'hygiène intime à pH physiologique c'est-à-dire légèrement acides (ex : Roger Cavailles®) sont à proscrire en cas d'infection à *Candida* (un pH acide favorisant le développement du champignon).

- Traitement local pour le partenaire :  
« Comment se traite votre partenaire ? »

Conseiller une crème ou une émulsion fluide antifongique en application locale 2 fois par jour.

- Probiotiques :  
« Êtes-vous sujette aux mycoses ? »

Afin de réduire la fréquence des récurrences de Madame X., le pharmacien peut alors proposer des probiotiques. Parmi les produits disponibles en pharmacie, on retrouve :

<u>Nom commercial</u>	<u>Laboratoire</u>	<u>Souche</u>	<u>Posologie/Schéma d'utilisation</u>
<u>Femibion flore intime®</u>	Merck médication familiale	<i>Lactobacillus rhamnosus GR-1</i> <i>Lactobacillus reuteri RC-14</i> 10 <sup>9</sup> UFC/gélule	Traitement d'attaque : 2/jour pendant 14 à 28 jours Traitement d'entretien : 1/jour pendant 28 jours 2 à 3 cures /an
<u>Lactibiane candisis®</u>	Pileje	<i>Lactobacillus helveticus LA 401</i> 2 présentations : 5M (5.10 <sup>9</sup> UFC) et 10M (10.10 <sup>9</sup> UFC)	10M : 2/jour pendant 7 jours 5M : 2/jour pendant 10 jours puis 1/jour
<u>Orogyn®</u>	CCD	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus crispatus</i> 5.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	Traitement d'attaque : 2/jour pendant 15jours Traitement d'entretien : 1/jour pendant 28 jours

<a href="#"><u>Urell® Flore vaginale</u></a>	Pharmatoka	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> 2.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	Traitement d'attaque : 2/jour pendant 15 jours Traitement d'entretien : 1/jour pendant 28 jours
<a href="#"><u>Gyno-control® flore vaginale</u></a>	Arkopharma	<i>Lactobacillus acidophilus La-14</i>	Traitement d'attaque : 2/jour pendant 15 jours Traitement d'entretien : 1/jour pendant 28 jours

**Tableau 5 :** Exemple de probiotiques per os commercialisés destinés à restaurer une flore vaginale saine

Mais aussi :

<u>Nom commercial</u>	<u>Laboratoire</u>	<u>Souche</u>	<u>Posologie/ Schéma d'utilisation</u>
<a href="#"><u>Bactigyn®</u></a>	CCD	<i>Lactobacillus crispatus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1 gélule vaginale / jour Durée moyenne d'utilisation : 5 jours
<a href="#"><u>Gynophilus®</u></a>	Probionov	<i>Lactobacillus casei</i>	Traitement d'attaque : 1 capsule vaginale 2x/jour pendant 7 jours Traitement d'entretien : 1 capsule vaginale / jour pendant 14 jours
<a href="#"><u>Médigyne®</u></a>	Iprad santé	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus gasseri</i>	1 gélule vaginale au coucher / jour pendant 8 jours
<a href="#"><u>Hydralin flora®</u></a>	Bayer santé	<i>Lactobacillus plantarum</i> P17630 10.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	Traitement d'attaque : 1 capsule vaginale/jour pendant 6 jours Traitement d'entretien : 1/semaine pendant 1 mois

**Tableau 6** Autres probiotiques utilisés par voie locale destinés à rééquilibrer la flore vaginale

Les probiotiques participent à l'inhibition de l'adhésion du *Candida* et contribuent ainsi à renforcer la flore vaginale. Les traitements par voie orale peuvent être associés aux traitements curatifs de la mycose et doivent être pris avec un grand verre d'eau en dehors des repas.

### Conclusion

Encore aujourd'hui, les études cliniques démontrant l'efficacité des probiotiques pour la prévention et le traitement des candidoses vaginales donnent lieu à des résultats très



contrastés. Des études cliniques standardisées s'intéressant à des populations de femmes bien définies doivent être mises en place. Il n'existe actuellement pas de preuves solides indiquant que l'administration par voie orale ou vaginale de probiotiques puisse éradiquer l'infection par les levures. Toutefois, il y a lieu de croire que l'ingestion de Lactobacilles et l'emploi vaginal peuvent réduire le risque de rechutes.

Ainsi, les probiotiques sont majoritairement des produits de conseil. Le rôle du pharmacien d'officine est primordial pour expliquer aux femmes les conditions optimales d'utilisation de ces produits sans oublier de dispenser des conseils simples d'hygiène pouvant contribuer à la guérison et à la prévention des récurrences de ces affections.

## 4.2 Le cas de Monsieur Z.

Monsieur Z. se présente à l'officine avec l'ordonnance comprenant :

- Imodium®, 2 gélules d'emblée puis 1 à chaque diarrhée
- Motilium®, 1 comprimé 1 à 3 fois par jour
- Doliprane®, 1 comprimé 1 à 4 fois par jour
- Ercéfuryl®, 1 gélule 4 fois par jour pendant 3 jours
- Malarone® 250mg/100mg, 1 comprimé par jour à prendre la veille ou le jour du départ et jusqu'à 7 jours après le retour. La durée du traitement est limitée à 3 mois.

Le patient demande également au pharmacien des répulsifs contre les moustiques et une protection solaire.

Après dispensation des conseils associés à l'ordonnance, le patient annonce au pharmacien qu'il part au Congo pour effectuer un safari-photo.

### ➤ A savoir

Avant de partir, il est important que le voyageur se renseigne sur les conditions de son voyage de façon à pouvoir ensuite s'informer sur les risques spécifiques auxquels il peut être exposé. Une consultation chez son médecin traitant et/ou dans un Centre de conseils aux voyageurs est indispensable pour préciser les vaccinations à effectuer ainsi que les différentes mesures à prendre avant le départ, sur place et au retour.

Certaines règles d'hygiène, des mesures de prévention contre les moustiques, la prise éventuelle d'un traitement antipaludique ainsi qu'une protection contre les températures extrêmes sont autant d'éléments à prendre en compte pendant le séjour.

De plus, comme l'indique l'ordonnance ci-dessus, il convient qu'il sache se traiter en cas de diarrhée du voyageur, également appelée Tourista.

La chimioprophylaxie antipaludique doit être poursuivie au retour et l'apparition d'une fièvre dans les mois suivants le retour nécessite une consultation en urgence.

### ➤ Conseils sur les modalités de prise du traitement

- Le ralentisseur du transit (Imodium®) est à prendre dès la survenue de l'épisode diarrhéique en commençant par 2 gélules d'emblée. Ensuite, une gélule à chaque selle liquide sans dépasser 8 gélules par jour.
- L'anti-émétique (Motilium®) doit être administré de préférence 15 à 30 minutes avant les repas sans dépasser 3 comprimés par jour.
- Le Doliprane peut être pris indifféremment pendant ou entre les repas en respectant un intervalle de 4 à 6 heures entre 2 prises.
- L'antiseptique intestinal (Ercéfuryl®) peut être réparti sur la journée en 2 à 4 prises.
- Enfin, les comprimés de Malarone® doivent être avalés de préférence avec un repas ou une boisson lactée, en une prise, à la même heure chaque jour.

### ➤ Mesures hygiénodiététiques

A cette occasion, le pharmacien ne doit pas manquer de rappeler au client de prendre un certain nombre de dispositions afin de préparer au mieux son voyage :

- Se faire vacciner

La constitution d'un « bagage immunitaire » est particulièrement importante surtout pour les destinations à risques infectieux élevés. La première étape repose sur la mise à jour des vaccinations obligatoires (diphtérie, tétanos, polio) en se reportant au calendrier vaccinal français. La seconde consiste à se renseigner sur les vaccinations obligatoires à l'échelle internationale (fièvre jaune, fièvre typhoïde, encéphalite japonaise, méningite...). Enfin, d'autres vaccinations peuvent être conseillées mais sont à discuter en fonction de la situation épidémiologique de la zone visitée, de la saison, des conditions et de la durée du séjour, de l'âge du sujet...

- Avoir une hygiène rigoureuse

Une bonne hygiène corporelle et alimentaire est importante, particulièrement dans les pays tropicaux, subtropicaux :

#### Hygiène alimentaire :

- Se laver les mains ou utiliser un gel hydroalcoolique systématiquement avant un repas et après être allé aux toilettes.
- Ne consommer que de l'eau de bouteille capsulée (bouteille ouverte devant soi) ou rendue potable après ébullition (1 minute à gros bouillons) ou par la combinaison d'une filtration suivie d'une désinfection. Les glaçons sont à éviter.
- Laver tous les fruits et légumes avec de l'eau non souillée ou les éplucher.
- Bien cuire les œufs, les viandes, les poissons et les crustacés.
- Eviter les crudités, les coquillages, les plats réchauffés, les jus de fruits frais préparés de façon artisanale.

#### Hygiène corporelle :

- Ne pas marcher pieds nus sur les plages ou s'allonger à même le sol.
- Porter des chaussures fermées sur les sols boueux ou humides.
- Apporter un soin particulier en cas de plaie ou de blessure cutanée : laver, couvrir, ne pas laisser macérer.
- Eviter l'ensoleillement excessif et se protéger du soleil (ombre, lunettes, chapeaux, vêtements longs, crème d'indice de protection élevée dont l'application doit être renouvelée régulièrement).

- Des mesures antivectorielles doivent également être appliquées. Ceci passe par :
  - Le port de vêtements longs, couvrant et imprégnés d'insecticide.
  - L'application d'un répulsif sur les parties découvertes du corps.
  - Le recours à une moustiquaire imprégnée d'insecticide.(175),(172),(176)

#### ➤ Propositions de vente(s) complémentaire(s)

Afin d'améliorer le confort intestinal du patient à destination de zones à risque et de limiter la survenue de diarrhées du voyageur, le pharmacien peut lui proposer des probiotiques. Ces derniers vont permettre de préparer l'intestin avant le départ et de le renforcer une fois sur place. Le pharmacien dispose par exemple de produits tels que :

<u>Nom commercial</u>	<u>Laboratoire</u>	<u>Souche</u>	<u>Posologie/ Schéma d'utilisation</u>
<u>Lactibiane voyage®</u>	Pileje	<i>Lactobacillus acidophilus LA 201</i> <i>Lactobacillus casei LA 205</i> <i>Lactobacillus plantarum LA 301</i> 2.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	1 gélule/jour avec un grand verre d'eau en dehors des repas A commencer 2 jours avant le départ, poursuivre pendant toute la durée du séjour et jusqu'à 2 jours après le retour
<u>Ergyphilus confort®</u>	Nutergia	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> 6.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	2 à 4 gélules/jour, de préférence le matin en dehors des repas
<u>Lactophar®</u>	Longévie	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> 2,5.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	1 gélule/jour avec un grand verre d'eau en dehors des repas A commencer avant le départ, et poursuivre jusqu'au retour

**Tableau 7** Exemple de probiotiques destinés à préparer et à protéger l'intestin de voyageurs en zones à risque

### Conclusion

Le pharmacien se trouve en première ligne pour conseiller les patients désireux de voyager en toute sérénité. Mieux vaut, en effet, prévenir les nombreux maux bénins mais cependant extrêmement gênants qui peuvent gâcher les vacances.

Dans le cadre de la diarrhée du voyageur, il est possible de conseiller l'usage de probiotiques en complément des mesures d'hygiène. Cependant, les résultats des études utilisant les probiotiques restent controversés et ne permettent pas au pharmacien de tenir un discours universel. En effet, de nombreux paramètres sont à prendre en compte tels que l'agent pathogène incriminé, la réceptivité individuelle, les formulations et la variabilité de la fréquence d'administration selon les produits...

Les probiotiques en pharmacie sont aujourd'hui considérés comme une alternative aux traitements ou un outil de prévention.

Rappelons que devant toute symptomatologie comprenant des signes de déshydratation (soif intense, sécheresse de la bouche ou des muqueuses, urines concentrées...), des diarrhées abondantes (plus de 10 selles par jour) et persistantes (plus de 48 heures), une forte fièvre, du sang dans les selles, des douleurs abdominales intenses, des vomissements ainsi qu'une altération importante de l'état général, ... une consultation médicale s'impose.

### 4.3 Le cas de Monsieur Y.

Monsieur Y. présente au pharmacien son ordonnance sur laquelle figurent les spécialités suivantes :

- Augmentin® : 1 gramme 2 fois par jour
- Solupred® 20mg : 3 comprimés /jour
- Doliprane® 500mg : 1 à 2 comprimés si douleurs, à renouveler si nécessaire
- Aturgyl® : 1 pulvérisation 3 fois par jour

QSP 7 jours

➤ A savoir :

Quels que soient son dosage, sa marque, la durée du traitement, le mode d'administration, tout antibiotique peut déstabiliser la flore intestinale. Lors de la délivrance du traitement, le pharmacien doit expliquer au patient qu'il est important de prendre l'antibiotique au cours des repas en raison du risque de troubles gastro-intestinaux occasionnés par ce dernier et notamment des diarrhées.

➤ Conseils sur les modalités de prise du traitement

- La posologie de l'Augmentin® (Amoxicilline/Acide clavulanique) est de 1 gramme (soit 2 comprimés à 500mg/62.5mg ou 1 sachet à 1g/125mg) 2 ou 3 fois par jour au cours des repas.
- Le Solupred® est à prendre en une prise unique matinale lors du repas. La durée de prescription étant inférieure à 10 jours, l'arrêt peut se faire sans paliers de doses dégressives. Le traitement ne nécessite pas les précautions alimentaires habituelles à respecter lors de traitement au long cours.
- Pour le Paracétamol, la posologie est de 500mg à 1g par prise en respectant un intervalle de 4 à 6 heures entre les prises (sans dépasser 4g/jour)
- Enfin, concernant l'Aturgyl®, vasoconstricteur à usage nasal, la posologie usuelle recommandée dans cette indication est de 1 pulvérisation dans chaque narine, 2 à 3 fois par jour sans dépasser 3 à 5 jours de traitement. L'utilisation prolongée (supérieure à 7 jours) expose à un risque de rhinite vasomotrice iatrogène. De plus, des instillations répétées et/ou prolongées peuvent entraîner un passage systémique non négligeable des principes actifs.

➤ Mesures hygiéno-diététiques

- Des lavages de nez au sérum physiologique ou à l'eau de mer peuvent être proposés en complément du vasoconstricteur local.
- Le recours à des inhalations (à base d'huiles essentielles ou de plantes par exemple) se révèle souvent très efficace lors de sinusite.
- Utiliser un humidificateur en cas de sinusite permet d'humidifier les muqueuses du nez et des sinus et donc de fluidifier le mucus et ainsi d'apaiser la sinusite.

De plus en cas de diarrhées, il est recommandé :

- D'augmenter sa ration hydrique afin de pallier une éventuelle déshydratation
- De suivre un régime adapté composé par exemple de riz, bananes, carottes, compote de pommes ou de coings, tout en évitant les fruits et les légumes crus, les œufs, les laitages, les boissons froides...

➤ Propositions de vente(s) complémentaire(s)

Afin de prévenir et de limiter les troubles gastro-intestinaux résultant de la prise d'antibiotiques, le pharmacien peut conseiller au patient d'associer à son traitement des probiotiques parmi lesquels on retrouve :

<u>Nom commercial</u>	<u>Laboratoire</u>	<u>Souche</u>	<u>Posologie/Schéma d'utilisation</u>
<a href="#"><u>Lactibiane ATB®</u></a>	Pileje	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 6.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	2 gélules/jour à avaler avec un grand verre d'eau, à prendre avant un repas. Complémentation de 7 jours, à renouveler.
<a href="#"><u>Lactibiane référence®</u></a>	Pileje	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> 10.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	1 gélule/jour avec un grand verre d'eau, à prendre avant un repas
<a href="#"><u>Ergyphilus confort®</u></a>	Nutergia	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> 6.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	2 à 4 gélules/jour, de préférence le matin en dehors des repas
<a href="#"><u>Lactophar®</u></a>	Longévie	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> 2,5.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	1 gélule/jour avec un grand verre d'eau en dehors des repas
<a href="#"><u>Ultralevure®</u></a>	Biocodex	<i>Saccharomyces boulardii</i> gélules à 50 et 200 mg sachets à 100 mg	<u>Adulte et enfant de plus de 6 ans</u> : 2 gélules à 50mg 2 fois/jour ou 1 gélule de 200mg/jour <u>Adulte et enfant de plus de 2 ans</u> : 1 sachet 2 fois/jour
<a href="#"><u>Probiolog®</u></a>	Mayoly spindler	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> 1.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	2 gélules/jour à avaler avec un grand verre d'eau au moment des repas

**Tableau 8** Exemple de probiotiques pouvant être associés à une antibiothérapie

Ils aident à recoloniser très rapidement la flore digestive et évitent ainsi par exemple le développement de mycoses (intestinales ou vaginales) et d'autres conséquences du traitement antibiotique.

Quelques points importants sont à préciser au patient :

- Ne surtout pas tarder à démarrer la supplémentation. Dès les premières prises d'antibiotiques commencer en parallèle les probiotiques.
- Espacer d'environ 2 heures la prise d'antibiotiques et celle des probiotiques (au risque de rendre inefficaces les probiotiques).
- La supplémentation en probiotiques doit être poursuivie au moins deux semaines après la fin du traitement antibiotique.
- Face à des diarrhées intenses et une perte de poids conséquente, le traitement médical doit être suspendu et une consultation médicale s'impose.(177),(178),(172)

### Conclusion

Certains probiotiques peuvent prévenir la diarrhée associée aux antibiotiques ainsi que l'infection à *Clostridium difficile*. Il est pertinent de les proposer à des patients présentant un risque accru de diarrhée lors de la prise d'antibiotiques.

L'utilisation à court terme de probiotiques conjointement à des antibiotiques semble être sûre et efficace chez les patients qui ne sont pas immunodéprimés ou gravement affaiblis. Cependant, leur effet thérapeutique curatif reste à démontrer.

De plus, devant toute symptomatologie très similaire à celle énoncée dans le cas précédent, le pharmacien doit orienter le patient vers son médecin traitant.

## **4.4 Le cas du bébé de Madame M.**

Madame M. se présente à la pharmacie avec son nourrisson alors âgé de quelques semaines. Elle explique au pharmacien que son enfant est sujet à des crises de larmes répétées. Lors de ces épisodes, il se tortille dans tous les sens, devient tout rouge et semble souffrir sans raison visible. Il est parfois ballonné, avec le ventre dur. Ces crises ont lieu plus particulièrement en fin d'après-midi ou en début de soirée et lorsque le bébé est en position allongée.

### ➤ A savoir :

Les coliques du nourrisson se caractérisent par des douleurs spasmodiques abdominales. Elles apparaissent en général chez l'enfant à partir de la 2<sup>e</sup> ou 3<sup>e</sup> semaine de vie et disparaissent généralement entre 3 et 6 mois.

Très fréquentes, elles touchent environ 25% des nourrissons. Elles s'observent aussi bien chez les enfants allaités que chez ceux nourris au biberon et dans la grande majorité des cas, il s'agit d'un phénomène bénin et transitoire.

Elles sont définies par des crises de larmes paroxystiques inconsolables chez les nourrissons en bonne santé et sans cause évidente pendant au minimum :

- 3 heures par jour
- 3 jours par semaine
- Persistant au moins 1 semaine

Malgré les nombreuses années d'études, l'origine de ces coliques est encore difficile à déterminer. Plusieurs hypothèses ont été toutefois avancées parmi lesquelles on retrouve une immaturité transitoire du système digestif entraînant des perturbations de la microflore intestinale.

Chez le nourrisson souffrant de coliques, on enregistre un taux faible de Lactobacilles, par rapport aux bébés sains, au profit d'une quantité anormalement élevée de bactéries pathogènes (entraînant des perturbations de la tolérance orale et un inconfort digestif).

### ➤ Mesures hygiénodiététiques

- Donner le biberon dans une atmosphère calme et détendue, préférer les tétines à faible débit pour que votre bébé boive lentement.
- Utiliser des biberons spéciaux (anti-coliques) afin que le bébé n'avale pas d'air.

- Lui masser le ventre dans le sens des aiguilles d'une montre.
  - En cas d'allaitement, limiter les épices, les boissons gazeuses, les légumes secs (haricots secs, flageolets)...qui favorisent les ballonnements et les gaz.
  - Toujours utiliser le même lait. Ne pas changer de lait sans demander l'avis d'un médecin.
- Propositions de vente(s) complémentaire(s)
- Des boissons digestives telles que :
    - Calmosine (fenouil, tilleul, et fleur d'oranger) : 1 cuillère à café avant chaque repas, à boire pur.
    - Picot boisson fenouil bio (dès 4 mois) : 1 sachet pour 100ml d'eau dans le biberon.
  - Des médicaments homéopathiques :
    - Colocynthis 5CH
    - Lycopodium 5CH...

3 granules de chaque 2 à 3 fois par jour, à dissoudre au préalable dans une petite quantité d'eau, à donner à la petite cuillère ou avec une pipette.
  - Des huiles de massage :
    - Weleda huile de massage : réchauffer quelques gouttes de produit entre les mains puis masser en appuyant doucement sur le ventre de bébé. Le massage s'effectue par mouvements circulaires dans le sens des aiguilles d'une montre, en allant du nombril vers la périphérie. A réaliser 30 minutes après la fin du repas.
    - Ou d'autres huiles de massage : huile de massage Mustela, huile d'amande douce...(179),(180)
  - Des cures de probiotiques peuvent également être proposées afin de soulager les coliques du nourrisson. Parmi eux, on peut citer :

<u>Nom commercial</u>	<u>Laboratoire</u>	<u>Souche</u>	<u>Posologie/Schéma d'utilisation</u>
<u>Lactibiane® enfant</u>	Pileje	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> 4.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	1 sachet/jour, à diluer dans de l'eau. A prendre avant un repas. Complémentation de 10 jours à 1 mois renouvelable.
<u>Ergyphilus® enfant</u>	Nutergia	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> 3.10 <sup>9</sup> UFC/gélule	1 sachet par jour à diluer dans le premier biberon tiède
<u>Biogaia®</u>	Pediact	<i>Lactobacillus reuteri protectis</i>	5 gouttes/jour en une seule prise

**Tableau 9** Exemple de probiotiques utilisés dans les coliques du nourrisson

### Conclusion

Il n'existe actuellement que trop peu d'études consacrées aux probiotiques dans le cadre des coliques du nourrisson. Des recherches supplémentaires sont nécessaires afin de conclure sur leur efficacité dans ce domaine.

Récemment, de nombreuses marques de lait se sont lancées dans les laits enrichis en probiotiques ou prébiotiques en indiquant une diminution des coliques et des ballonnements, un effet préventif sur les diarrhées ou encore régulateur du transit en cas de constipation (Gallia Lactofidus, Gallia Galliagest, Guigoz Evolia, Blédilait Premium 2, Nidal Pelargon,...). Cependant, aucun avantage cliniquement significatif d'aliments enrichis en probiotiques par rapport à ceux non enrichis n'a jusqu'ici été apporté.

De plus, certaines questions restent en suspens. N'est-il pas prématuré d'enrichir les laits avec des composants dont on ignore encore beaucoup de choses et sur lesquels nous avons peu de recul ? Le consommateur est-il suffisamment informé quant à la teneur en probiotiques du lait destiné à son enfant ?

De manière générale, les nourrissons atteints d'une maladie cardiaque ou d'un déficit immunitaire ainsi que tous ceux sous traitements immunosuppresseurs ne devraient pas, étant donné la sécurité insuffisamment prouvée dans cette situation, être supplémentés en probiotiques.



On sait aujourd'hui que l'homéostasie intestinale résulte de liens symbiotiques établis entre une triade : le microbiote, l'épithélium et le système immunitaire intestinal.

Le microbiote et son environnement (l'hôte, son alimentation) participent au maintien de cet équilibre et à la santé de l'individu.

Toutefois, cet équilibre est fragile et toute modification de l'un ou l'autre de ses constituants est susceptible de perturber le fonctionnement de l'ensemble et d'engendrer des réactions pathologiques qu'elles soient métaboliques, inflammatoires, immunitaires ou infectieuses.

Une approche nouvelle et puissante représentée par la métagénomique qui consiste à analyser les génomes de tous les micro-organismes d'une niche écologique donnée (ici l'intestin) a permis de mettre en évidence le rôle délétère exercé par le microbiote (on parle alors de microbiote déséquilibré) dans diverses affections intestinales aiguës ou chroniques telles que les diarrhées, les troubles fonctionnels intestinaux, le cancer colorectal mais aussi les maladies inflammatoires chroniques intestinales... Dans ce contexte, l'administration de probiotiques pourrait s'avérer justifiée et permettrait de rétablir ne serait-ce que temporairement l'équilibre.

Les nombreuses études recensées consacrées aux probiotiques constituent les témoins de l'intérêt grandissant qu'accorde la communauté scientifique au potentiel thérapeutique de ces microorganismes.

Cependant, les données actuelles montrent que l'efficacité de souches probiotiques est fonction de plusieurs variables : la pathologie en elle-même, la souche probiotique utilisée, les doses utilisées...

Grâce à leurs effets directs au niveau de la lumière intestinale ou sur la paroi intestinale au contact du système immunitaire et à leurs effets indirects liés aux modifications du microbiote, les probiotiques présentent un véritable bénéfice dans la prise en charge de diverses pathologies, même si leur utilisation nécessite davantage de preuves scientifiques.

Dans le cadre des MICI, les résultats des essais sur les probiotiques sont encourageants mais encore beaucoup trop inégaux. Aucun niveau de preuves suffisant n'a été obtenu avec les probiotiques dans le traitement ou le maintien en rémission de la maladie de Crohn. En revanche, les probiotiques ont apporté des bénéfices similaires aux traitements conventionnels pour la rectocolite hémorragique et ont prouvé leur efficacité dans le maintien en rémission pour les pouchites.

Les efforts de recherche doivent donc se poursuivre afin de mieux cerner l'implication du microbiote dans la pathogénèse des MICI et ainsi cibler les souches probiotiques les plus efficaces.

Nous pouvons espérer que, dans les années à venir, les probiotiques seront de plus en plus utilisés, aussi bien lors d'affections digestives qu'extra-digestives. De plus, le développement de probiotiques génétiquement modifiés possédant une activité ciblée, capables de produire des molécules spécifiques, laisse envisager de nouvelles perspectives dans le spectre d'activités des probiotiques. Ainsi l'avenir des probiotiques semble très prometteur.

L'intestin est un véritable champion par le nombre de neurones qu'il compte (plus de 200 millions, c'est-à-dire autant que la moelle épinière) et par sa capacité à synthétiser des neuromédiateurs. Il l'est davantage par la richesse de connexions pouvant envoyer 9 messages au cerveau qui lui en envoie un seul en retour. Mais, il ne loge pas sous notre crâne, mais dans notre ventre. La première place étant déjà occupée, la seconde lui revenait. Ainsi, l'intestin ne constituerait-il pas notre deuxième cerveau ?

Il est à la base de notre « capital santé » et le premier pilier de la micronutrition. Ce carrefour de la transformation alimentaire est le garant de l'assimilation, de l'entente symbiotique avec

nos précieuses alliées, les bactéries. Il apporte à nos cellules les nutriments essentiels pour croître, se multiplier, s'éliminer sans oxydation excessive et assure l'élimination des protéines étrangères inutiles et indésirables.

Néanmoins, tout dysfonctionnement de l'intestin, pouvant être qualifié « d'organe à part entière » contribue à la mise en place de cascades de perturbations fonctionnelles du corps (migraines, troubles articulaires, allergies...). Il constitue le maillon faible à prendre en compte pour toute déstabilisation et est très souvent le responsable silencieux et parfois caché de nombreuses affections.

Certaines découvertes offrent aujourd'hui d'immenses espoirs. Notamment pour des maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson, qui pourrait, selon certaines hypothèses, trouver son origine dans notre ventre. Une simple biopsie du côlon pourrait bientôt permettre de diagnostiquer la maladie de Parkinson avant les premiers symptômes.

Plus étonnant encore, notre deuxième cerveau abrite une colonie spectaculaire de bactéries qui, selon certains travaux, dicteraient notre comportement, influenceraient notre personnalité et nos choix (nous rendant plus timides ou au contraire plus téméraires, donnant lieu à des états dépressifs, à de l'anxiété...).

Les recherches sur les probiotiques doivent donc continuer afin de proposer, qui sait, demain, des yaourts antidépression, des yaourts contre les maladies de Parkinson et d'Alzheimer, contre l'autisme,... Il est permis de rêver... Le rêve se réalise parfois.

1. Goulet O. La flore intestinale: un monde vivant à préserver. *J Pédiatrie Puériculture*. mai 2009;22(3):102-6.
2. Corthier G. Le microbiote : un monde polymorphe aux fonctions multiples. *Cah Nutr Diététique*. avr 2007;42:21.
3. Ducluzeau R. Ecosystème microbien du tube digestif. *EMC- Gastro-Entérologie*. 1998;8:1-0.
4. Hindré T. Le microbiote intestinal humain. *Laboratoire adaptation et pathogénie des micro-organismes*; 2012.
5. Eckburg PB. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*. 10 juin 2005;308(5728):1635-8.
6. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. juill 2010;90(3):859-904.
7. Rampal P, Beaugier L, Marteau P, Corthier G. Colites infectieuses de l'adulte. *John Libbey eurotext*; 2000. 260 p.
8. Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic Approaches for Defining the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Host Microbe*. juin 2008;3(6):417-27.
9. Mackiewicz V. Séquençage des acides nucléiques. *EMC- Biol Médicale*. 2003;1-0.
10. Lamoril J, Ameziane N, Deybach J-C, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN: une révolution en marche. Première partie. *Immuno-Anal Biol Spéc*. oct 2008;23(5):260- 79.
11. Andriamahery rasolofo E. Analyse du microbiote du lait par les méthodes moléculaires. *Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université Laval Québec*; 2010.
12. Gendron M-C. Cytométrie en flux. *EMC- Biol Médicale*. 2003;1-0.
13. Poitras E, Houde A. La PCR en temps réel: principes et applications. *Rev Biol Biotechnol*. déc 2002;2(2):2-11.
14. Coconnier MH, Klaenhammer TR, Kerneis S, Bernet MF, Servin AL. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture. *Appl Environ Microbiol*. juin 1992;58(6):2034-9.
15. Makhouloufi KM. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. [Sorbonne]: Université pierre et marie curie; 2012.
16. Laboratoire Pileje. Le microbiote intestinal dans tous ses états. 2013
17. Marteau P. Le microbiote intestinal en 20 questions. *John Libbey eurotext*. 2012.

18. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R, et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* juill 2010;51(1):77-84.
19. Metagenomics of the Human Intestinal Tract [Internet]. [cité 20 déc 2013]. Disponible sur: <http://www.metahit.eu>
20. Yazigi A, Andreelli F. Flore intestinale et obésité. *Médecine des maladies métaboliques.* 28 févr 2008;1(2):42-43.
21. Cani PD, Delzenne NM. Lipides et inflammation postprandiale: impact du microbiote intestinal. *Cah Nutr Diététique.* nov 2011;46(5):230-3.
22. Corthier G, Doré J. Une ère nouvelle dans le domaine des interactions entre le microbiote et la santé humaine. *Gastroentérologie Clin Biol.* sept 2010;34(4):1-6.
23. Gérard P. Trois types de flore intestinale différencient les individus. *Prat En Nutr.* déc 2011;7(28):4.
24. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 8 juin 2011;474(7353):666-666.
25. Marteau P. Microbiote intestinal. *EMC- Gastro-Entérologie.* 2013;8:1-8.
26. Tahar A. Contribution à l'étude du pouvoir immunomodulateur des bifidobactéries: analyse in vitro et étude ex vivo des mécanismes moléculaires impliqués. [Québec]: Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université Laval; 2005.
27. Chatel J-M. Le microbiote intestinal humain et son impact sur la santé. INRA Centre de recherche de Jouy; 2012.
28. Campeotto F, Waligora-Dupriet A-J, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel M-J. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie Clin Biol.* mai 2007;31(5):533-42.
29. Sakata H, Yoshioka H, Fujita K. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. *Eur J Pediatr.* juill 1985;144(2):186-90.
30. Woodmansey E j. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol.* 2007;102(5):1178-86.
31. Fan C. L'influence de la lactoferrine, de probiotiques et du SM3 (extrait enrichi en sphingolipides) sur des fonctions immunitaires de la souris. Institut des Sciences et Industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech); 2008.
32. Langhendries J-P, Maton P, François A, Marguglio A, Marion W, Smeets S, et al. Établissement du microbiote intestinal en bas âge et qualité de l'immunité ultérieure. *Arch Pédiatrie.* sept 2010;17:S110-8.
33. Gérard P, Bernalier-Donadille A. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *Cah Nutr Diététique.* 16 févr 2008;42:28-36.
34. Bernalier-Donadille A. Activités métaboliques du microbiote intestinal humain. *Gastroentérologie Clin Biol.* sept 2010;34(4):17-23.

35. Cerf-Bensussan N, Guy-Grand D, Jarry A, Brousse N. Système immunitaire associé à l'intestin. EMC- Gastro-Entérologie. 1991;1-0.
36. Ezine S, Bach J-F. Physiologie et différenciation des cellules lymphoïdes. EMC- Hématologie. 1993;7.
37. Clot J, Sany J. Introduction à l'immunologie. EMC- Gastro-Entérologie. 1991;7:1-0.
38. Fasano A. Comprendre le dialogue: l'interaction entre les micro-organismes et l'hôte. Ann Nestlé Ed Fr. 2009;67(1):9-18.
39. Poligné J. La capacité du système immunitaire à tolérer les bactéries commensales et à les « utiliser » pour être plus réactif face aux pathogènes. Université de Rennes 1. 2011.
40. Corthier G. Flore intestinale et santé: quels enjeux? Nutr Clin Métabolisme. juin 2007;21(2):76-80.
41. Apoil P-A. Bases immunologiques de la tolérance orale. Rev Fr Allergol. avr 2013;53(3):239-42.
42. Lebranchu Y. Tolérance, aspects théoriques et cliniques: implications pour la transplantation. Flammarion Médecine-Sci. 2004.
43. Poligné J. Bactéries commensales de l'homme: bactéries commensales intestinales, comment faisons-nous pour les tolérer? Université de Rennes 1. 2013.
44. Ducluzeau R. Le concept de probiotique: historique, définition et principales caractéristiques. Antibiotiques. déc 2002;4:234-8.
45. Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Probiotics and Prebiotics. World Gastroenterology Organisation; 2011.
46. Probiotiques, Prébiotiques, Symbiotiques: définitions. Cah Nutr Diététique. avr 2007;42(2).
47. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. J Nutr. sept 2010.
48. Merck Médication Familiale. Probiotiques par voie orale: la solution de fond. 2011.
49. FAO/WHO Working Group. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 2002.
50. Saarela M, Lähteenmäki L, Crittenden R, Salminen S, Mattila-Sandholm T. Gut bacteria and health foods: the European perspective. Elsevier Science; 2002.
51. Fando ngamba ST. Isolation et caractérisation des lactobacilles dans les fèces de poules. [Yaounde]; 2012.
52. Izquierdo Alegre E. Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique. IPHC de Strasbourg; 2009.
53. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U. Overview of gut flora and probiotics. Int J Food Microbiol. mai 1998;41:85-101.

54. Innocuité, Qualité et Efficacité des Probiotiques. Université Laval (Canada): Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels; 2006.
55. Flourié B, Nancey S. PROPRIÉTÉS FONCTIONNELLES DES PROBIOTIQUES. Cah Nutr Diététique. 16 févr 2008;42:38-44.
56. Drouault S, Corthier G. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. EDP Sciences. 2001.
57. Chou L-S, Weimer B. Isolation and Characterization of Acid- and Bile-Tolerant Isolates from Strains of *Lactobacillus acidophilus*. J Dairy Sci. janv 1999;82(1):23-31.
58. Chou L, Weimer B. Isolation and Characterization of Acid- and Bile-Tolerant Isolates from Strains of *Lactobacillus acidophilus*1. J Dairy Sci. 1999;82.
59. Marteau P, Minekus M, Havenaar R, Huis in't Veld JH. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. J Dairy Sci. juin 1997;80(6):1031-7.
60. Gaudier E, Hoebler C. Rôles physiologiques des mucines dans la barrière colique. Gastroentérologie Clin Biol. août 2006;30(8-9):965-74.
61. Jonard L, Banh L, Pressac M, Just J, Bahuau M. Les défensines en physiopathologie humaine. Immuno-Anal Biol Spéc. déc 2006;21(6):342-7.
62. afssa. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. février 2005.
63. Thonart P, Dortu C. Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Base. 13 mars 2009.
64. Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, et al. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. FEMS Microbiol Ecol. 1 avr 2005;52(2):145-52.
65. Hajer J. Effet du stress gastro-intestinal sur la physiologie et le métabolisme des bactéries lactiques et probiotiques. [Québec]: Université Laval; 2007.
66. Belgnaoui AA. Influence d'un traitement probiotique (*Lactobacillus farciminis*) sur les altérations de la sensibilité viscérale liées au stress: rôle de la barrière épithéliale colique. [Toulouse]: INRA (Unité de Neuro-Gastroentérologie); 2006.
67. Schlee M, Wehkamp J, Altenhoefer A, Oelschlaeger TA, Stange EF, Fellermann K. Induction of Human -Defensin 2 by the Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 Is Mediated through Flagellin. Infect Immun. mai 2007;75(5):2399-407.
68. Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol. 1 avr 1999;276(4):G941-50.
69. Solis-Pereyra B, Aattouri N, Lemonnier D. Role of food in the stimulation of cytokine production. Am J Clin Nutr. août 1997;66(2):521S-525S.

70. Heyman M. EFFETS DES PROBIOTIQUES SUR LE SYSTÈME IMMUNITAIRE: MÉCANISMES D'ACTION POTENTIELS. *Cah Nutr Diététique*. 16 févr 2008;42:69-75.
71. Campeotto F, Waligora-Dupriet A-J, Dupont C, Butel M-J. Peut-on prévenir l'atopie de l'enfant par l'administration de probiotiques chez la femme enceinte? *Cah Nutr Diététique*. 2003;38(6):369-375.
72. Giovannini M, Agostoni C, Riva E, Salvini F, Ruscitto A, Zuccotti GV, et al. A Randomized Prospective Double Blind Controlled Trial on Effects of Long-Term Consumption of Fermented Milk Containing *Lactobacillus casei* in Pre-School Children With Allergic Asthma and/or Rhinitis. *Pediatr Res*. août 2007;62(2):215-20.
73. Ruemmele F-M, Goulet O. PROBIOTIQUES ET PATHOLOGIES DIGESTIVES DE L'ENFANT. *Cah Nutr Diététique*. avril 2007;42:45-50.
74. Isolauri E, Arvola T, Sütas Y, Moilanen E, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy*. 1 nov 2000;30(11):1605-10.
75. Butel M-J. Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *J Anti-Infect*. juin 2014;16(2):33-43.
76. Surawicz C-M. Le microbiote dans les diarrhées infectieuses. *Gastroentérologie Clin Biol*. sept 2010;34(4):31-40.
77. Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF. Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(2):CD003048.
78. Schneider SM. Probiotiques. *Médecine des maladies métaboliques*. 30 sept 2008;2(4):363-367.
79. Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Dias JA, Casali LG, Hoekstra H, et al. *Lactobacillus GG* administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. janv 2000;30(1):54-60.
80. Szajewska H, Skórka A, Dylag M. Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther*. 1 févr 2007;25(3):257-64.
81. Szajewska H, Skórka A. *Saccharomyces boulardii* for treating acute gastroenteritis in children: updated meta-analysis of randomized controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther*. 1 nov 2009;30(9):960-1.
82. Ruemmele F-M, Goulet O. PROBIOTIQUES ET PATHOLOGIES DIGESTIVES DE L'ENFANT. *Cah Nutr Diététique*. avril 2007;42:45-50.
83. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet*. 15 oct 1994;344(8929):1046-9.
84. Szajewska H, Mrukowicz JZ. Probiotics in the Treatment and Prevention of Acute Infectious Diarrhea in Infants and Children: A Systematic Review of Published Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. oct 2001;33.
85. Marteau P, Seksik P, Boutron-Ruault M-C, Jian R. Probiotiques et prébiotiques: effets démontrés en physiologie ou pathologie digestive chez l'homme. *Hépatogastro Oncol Dig*. 1 sept 2004;11(5):331-8.

86. Carré D. Conduite à tenir devant une diarrhée aiguë. Étiologies. EMC Gastro-Entérologie. 2004.
87. Kotowska M, Albrecht P, Szajewska H. Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. Aliment Pharmacol Ther. 1 mars 2005;21(5):583-90.
88. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, et al. Prevention of  $\beta$ -lactam-associated diarrhea by Saccharomyces boulardii compared with placebo. The American Journal of Gastroenterology. 1995.
89. Szajewska H, Mrukowicz J. Meta-analysis: non-pathogenic yeast Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. Aliment Pharmacol Ther. 1 sept 2005;22(5):365-72.
90. Vanderhoof J, Whitney D, Antonson D. In children receiving antibiotics, does coadministration of Lactobacillus GG reduce the incidence of diarrhea? West J Med. déc 2000;173(6):397.
91. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of Clostridium difficile disease. Am J Gastroenterol. avr 2006;101(4):812-22.
92. Barbut F, Beaugerie L, Petit J-C. «Clostridium difficile» et pathologie digestive. EMC - Mal Infect. janv 2008;5(2):1-11.
93. Im E, Pothoulakis C. Progrès récents dans la recherche sur Saccharomyces boulardii. Gastroentérologie Clin Biol. sept 2010;34(4):67-75.
94. Castagliuolo I, LaMont JT, Nikulasson ST, Pothoulakis C. Saccharomyces boulardii protease inhibits Clostridium difficile toxin A effects in the rat ileum. Infect Immun. déc 1996;64(12):5225-32.
95. Carré D, Simon F, Hance P, Coton T, Delpy R, Guisset M. Diarrhée du voyageur. EMC - Gastro-Entérologie. janv 2006;1(1):1-11.
96. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. Travel Med Infect Dis. mars 2007;5(2):97-105.
97. Hilton E, Kolakowski P, Singer C, Smith M. Efficacy of Lactobacillus GG as a Diarrheal Preventive in Travelers. J Travel Med. 1 mars 1997;4(1):41-3.
98. Black FT, Andersen PL, Ørskov J, Ørskov F, Gaarslev K, Laulund S. Prophylactic Efficacy of Lactobacilli on Traveler's Diarrhea. In: Steffen PD med R, Lobel DH, Haworth DJ, FIPHE PDJBM, DM, FRCPath, FFCM, FRCP, FIBiol, Hon, éditeurs. Travel Medicine. Springer Berlin Heidelberg; 1989. p. 333-5.
99. Lesbros-Pantoflickova D, Michetti P, Fried M, Beglinger C, Blum AL. Meta-analysis: the treatment of irritable bowel syndrome. Aliment Pharmacol Ther. 1 déc 2004;20(11-12):1253-69.
100. Korpela R, Niittynen L. Probiotics and irritable bowel syndrome. Microb Ecol Health Dis. 18 juin 2012;23.
101. Drouault-Holowacz S, Bieuvelet S, Burckel A, Marteau P. Probiotiques et intestin irritable: à propos d'une étude randomisée en double aveugle contre placebo sur l'efficacité du mélange de souches Lactibiane Référence sur les symptômes associés à l'intestin irritable. Médecine Nutr. 2007;43(4):157-60.



102. Ducrotté P. Syndrome de l'intestin irritable: options thérapeutiques actuelles. *Presse Médicale*. nov 2007;36(11):1619-26.
103. Schneider SM, Giudicelli S. PROBIOTIQUES ET AUTRES PATHOLOGIES DIGESTIVES: PERSPECTIVES. *Cah Nutr Diététique*. avril 2007;42:60-66.
104. Merck Médication Familiale. Importance des probiotiques en gynécologie. 2008.
105. Bohbot J-M, Lepargneur J-P. La vaginose en 2011: encore beaucoup d'interrogations. *Gynécologie Obstétrique Fertil*. janv 2012;40(1):31-6.
106. Senok AC, Verstraelen H, Temmerman M, Botta GA. Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;(4):CD006289.
107. McIntosh GH. Probiotics and colon cancer prevention. *Asia Pac J Clin Nutr*. 1996;5:48-52.
108. Boutron-Ruault M-C. Probiotiques et cancer colorectal. *Nutr Clin Métabolisme*. juin 2007;21(2):85-8.
109. Novotny Núñez I, Maldonado Galdeano C, de Moreno de LeBlanc A, Perdígón G. Evaluation of immune response, microbiota, and blood markers after probiotic bacteria administration in obese mice induced by a high-fat diet. *Nutrition*. nov 2014;30(11-12):1423-32.
110. Dewulf E, Cani P, Claus S, Fuentes S, Puylaert P, Neyrinck A, et al. Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. *Gut*. oct 2012.
111. Delzenne N. Intérêt des approches prébiotiques et probiotiques dans le contrôle du métabolisme énergétique. Université Catholique de Louvain, Bruxelles. 2013.
112. Cani PD. Modulation nutritionnelle du microbiote intestinal: impact sur la perméabilité intestinale et les désordres métaboliques. *Médecine des maladies métaboliques*. juin 2009;3(3).
113. Delzenne NM, Cani PD. Modulation nutritionnelle de la flore intestinale: une nouvelle approche diététique dans la prise en charge de l'obésité? *Cah Nutr Diététique*. févr 2009;44(1):42-6.
114. Schneider SM, Giudicelli S. PROBIOTIQUES ET AUTRES PATHOLOGIES DIGESTIVES: PERSPECTIVES. *Cah Nutr Diététique*. avr 2007;42:60-6.
115. Vergnolle N. Des bactéries pour traiter les maladies inflammatoires de l'intestin. Fondation pour la recherche médicale. 2013.
116. Braat H, Rottiers P, Hommes DW, Huyghebaert N, Remaut E, Remon J, et al. A Phase I Trial With Transgenic Bacteria Expressing Interleukin-10 in Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. juin 2006;4(6):754-9.
117. Jacques H, Pr CJ, Dr HM-W. OGM - Des bactéries probiotiques génétiquement modifiées sont utilisées en thérapie génétique [Internet]. [cité 7 avril 2014]. Disponible sur <http://yonnelautre.fr>.
118. afssa. OGM et alimentation: peut-on identifier et évaluer des bénéfices pour la santé? 2004.
119. Olivier I. Les tissus adipeux mésentériques et le tissu rampant dans l'inflammation intestinale: Description et implication physiopathologique. [Toulouse]; 2011.

120. Hugot JP, Cézard JP, Thomas G. Epidémiologie et génétique des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. La presse médicale. 1998;27(1).
121. Cortot A, Pineton de Chambrun G, Vernier-Massouille G, Vigneron B, Gower Rousseau C. Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin: maladies génétiques ou de l'environnement? Gastroentérologie Clin Biol. août 2009;33(8-9):681-91.
122. Desreumaux P. Rôle central du gène candidat pour la maladie de Crohn CARD15/Nod2 dans la susceptibilité aux infections bactériennes. Gastroentérologie Clin Biol. 2002;26(11):1065-1066.
123. Lamoril J, Deybach J-C, Bouizegarène P. Maladie de Crohn et génétique: connaissances actuelles. Immuno-Anal Biol Spéc. juin 2007;22(3):137-50.
124. De Saussure P, Bouhnik Y. Maladie de Crohn de l'adulte. EMC - Gastro-Entérologie. janv 2007;2(3):1-18.
125. Jantchou P, Monnet E, Carbonnel F. Les facteurs d'environnement dans la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique (tabac et appendicectomie exclus). Gastroentérologie Clin Biol. juin 2006;30(6-7):859-867.
126. Bull TJ, McMinn EJ, Sidi-Boumedine K, Skull A, Durkin D, Neild P, et al. Detection and Verification of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in Fresh Ileocolonic Mucosal Biopsy Specimens from Individuals with and without Crohn's Disease. J Clin Microbiol. juill 2003;41(7):2915-23.
127. Schmutz GR, Racette R, Benko A, Chapuis F, N'Guyen D, Engelholm L. Maladie de Crohn. EMC- Radiologie et imagerie médicale. 1996.
128. Marteau P, Jian R. Maladie de Crohn. EMC- AKOS (traité de médecine). 2013;8(2):1-8.
129. Bouhnik Y. Manifestations extradiigestives des maladies inflammatoires chroniques intestinales. Rev Médecine Interne. juin 2006;27:S51-3.
130. Colombel J-F, Mesnard B. Maladie de Crohn. EMC- Gastro-entérologie. 1993.
131. Farahat K, Sobhani I, Bonnaud G, Vallot T, Mignon M, Vissuzaine C. Rectocolite ulcérohémorragique: épidémiologie, physiopathologie, diagnostic, histoire naturelle et stratégie thérapeutique. EMC- Gastro-entérologie. 1999;7(4):1-24.
132. l'Afa. Maladie de Crohn et RCH [Internet]. Association français au petit. [cité 3 août 2014]. Disponible sur: <http://www.afa.asso.fr>
133. Buisson A, Bommelaer G, Peyrin-Biroulet L. Rectocolite hémorragique: épidémiologie, physiopathologie, diagnostic, histoire naturelle et stratégie thérapeutique. EMC- Gastro-entérologie. oct 2012;7(4):1-19.
134. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. Gut. avr 2001;48(4):526-35.
135. Seksik P. PROBIOTIQUES ET MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES INTESTINALES. Cah Nutr Diététique. avril 2007;42:51-59.

136. Munkholm P, Langholz E, Hollander D, Thornberg K, Orholm M, Katz KD, et al. Intestinal permeability in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis and their first degree relatives. *Gut*. janv 1994;35(1):68-72.
137. Targan SR, Karp LC. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunol Rev*. août 2005;206:296-305.
138. Shale M, Ghosh S. Beyond TNF, Th1 and Th2 in inflammatory bowel disease. *Gut*. 10 janv 2008;57(10):1349-51.
139. Liu Z-J, Yadav PK, Su J-L, Wang J-S, Fei K. Potential role of Th17 cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol WJG*. 14 déc 2009;15(46):5784-8.
140. Abraham C, Cho J. Interleukin-23/Th17 pathways and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 1 juill 2009;15(7):1090-100.
141. Desreumaux P. Immunologie du tube digestif et maladie de Crohn. *Arch Pédiatrie*. juin 2004;11(6):539-41.
142. Abraham C, Cho J. Bugging of the intestinal mucosa. *N Engl J Med*. août 2007;
143. Chauveau A, Delaperrière N, Cholet F, Binard A, Youinou P, Renaudineau Y. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin: quels autoanticorps choisir? *Immuno-Anal Biol Spéc*. févr 2009;24(1):24-31.
144. Bernstein C, Fried M, Krabshuis J., Cohen H, Eliakim R, Fedail S, et al. Maladies inflammatoires chroniques intestinales: une approche globale. 2009.
145. TNF-KINOÏDE | Neovacs [Internet]. Disponible sur: <http://neovacs.fr/produits/tnf-kinoide/>.
146. Faure S. Maladie de Crohn, vers un premier vaccin thérapeutique? *Actualités pharmaceutiques*. 2 févr 2009;48(482):8.
147. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell*. 23 juill 2004;118(2):229-41.
148. Rambaud J-C, Buts J-P, Corthier G, Flourié B. Flore microbienne intestinale: physiologie et pathologie digestives. John Libbey Eurotext; 2004. 274 p.
149. Seksik P. Microbiote intestinal et MICI. *Gastroentérologie Clin Biol*. sept 2010;34(4):48-55.
150. Malchow HA. Crohn's disease and Escherichia coli. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease? *J Clin Gastroenterol*. déc 1997;25(4):653-8.
151. Dray X, Marteau P. Nutrition orale et entérale thérapeutique dans la maladie de Crohn de l'adulte: études et stratégies récentes. *Nutr Clin Métabolisme*. mars 2006;20(1):17-25.
152. Plein K, Hotz J. Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea--a pilot study. *Z Für Gastroenterol*. févr 1993;31(2):129-34.

153. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci.* juill 2000;45(7):1462-4.
154. Marteau P, Lémann M, Seksik P, Laharie D, Colombel JF, Bouhnik Y, et al. Ineffectiveness of *Lactobacillus johnsonii* LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: a randomised, double blind, placebo controlled GETAID trial. *Gut.* juin 2006;55(6):842-7.
155. Prantera C, Scribano ML, Falasco G, Andreoli A, Luzi C. Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut.* 9 janv 2002;51(3):405-9.
156. Bousvaros A, Guandalini S, Baldassano RN, Botelho C, Evans J, Ferry GD, et al. A randomized, double-blind trial of *Lactobacillus GG* versus placebo in addition to standard maintenance therapy for children with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* sept 2005;11(9):833-9.
157. Fedorak R, Demeria D. Probiotic Bacteria in the Prevention and the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. 2012.
158. Kruis W, Schütz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* oct 1997;11(5):853-8.
159. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet.* 21 août 1999;354(9179):635-9.
160. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukás M, Fixa B, Kascák M, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut.* nov 2004;53(11):1617-23.
161. Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, et al. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 15 nov 2004;20(10):1133-41.
162. Zocco MA, dal Verme LZ, Cremonini F, Piscaglia AC, Nista EC, Candelli M, et al. Efficacy of *Lactobacillus GG* in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 1 juin 2006;23(11):1567-74.
163. Sood A, Midha V, Makharia GK, Ahuja V, Singal D, Goswami P, et al. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc.* nov 2009;7(11):1202-9, 1209.e1.
164. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol.* févr 2009;104(2):437-43.
165. Sang L-X, Chang B, Zhang W-L, Wu X-M, Li X-H, Jiang M. Remission induction and maintenance effect of probiotics on ulcerative colitis: A meta-analysis. *World J Gastroenterol WJG.* 21 avr 2010;16(15):1908-15.
166. Frossard J-L, Girardin M. Place des probiotiques dans le traitement des maladies inflammatoires intestinales. *Rev Med Suisse.* 5 sept 2012;Volume 352(30):1674-1678.

167. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. août 2000;119(2):305-9.
168. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, Poggioli G, Schreiber S, Talbot IC, et al. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut*. janv 2004;53(1):108-14.
169. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. mai 2003;124(5):1202-9.
170. Kuisma J, Mentula S, Jarvinen H, Kahri A, Saxelin M, Farkkila M. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. *Aliment Pharmacol Ther*. 15 févr 2003;17(4):509-15.
171. Borruel N, Carol M, Casellas F, Antolin M, de Lara F, Espin E, et al. Increased mucosal tumour necrosis factor- $\alpha$  Production in Crohn's disease can be downregulated ex vivo by probiotic bacteria. *Gut*. nov 2002;51(5):659-64.
172. Faure S, Pubert C, Rabiller J, Taillez J, Yvain A-L. Les probiotiques, quel intérêt en prévention? *Actual Pharm*. sept 2013;528.
173. Bohbot J-M. Infections génitales basses. *Rev Prat Médecine Générale*. oct 2007;21:782-783.
174. Pouzaud F, Le Craz S, Bontemps F. Les mycoses au comptoir. *Monit Pharm*. mai 2008;2728.
175. Brousse G. Conseils aux voyageurs. *EMC - Traité Médecine AKOS*. janv 2010;5(2):1-8.
176. Berthélémy S. Conseils aux voyageurs. *Actual Pharm*. juin 2010;49(497):37-40.
177. BakirKhodja-Chorfa L, Calop J. 50 Ordonnances à la loupe. Wolters Kluwer France; 2009. 370 p.
178. Moreddu F. Le conseil associé à une ordonnance. Wolters Kluwer France; 2007. 204 p.
179. Ferey D. Conseils en pharmacie. Maloine. 2014.
180. Festy D. Le grand livre des probiotiques et des prébiotiques. Quotidien malin éditions. 2014.

<i>Annexe 1</i> : Exemples de probiotiques commercialisés et indications .....	II
<i>Annexe 2</i> : Induction et maintien en rémission de la maladie de Crohn : résumé des études utilisant les probiotiques.....	III
<i>Annexe 3</i> : Induction et maintien en rémission de la rectocolite hémorragique : résumé des études utilisant les probiotiques .....	IV
<i>Annexe 4</i> : Mise en évidence de l'effet des probiotiques dans le traitement des pochites .....	VI

## Annexe 1 : Exemples de probiotiques commercialisés et indications

Produit	Souche	Effets revendiqués
<b>Bion®3</b>	Lactobacillus gasseri Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium longum Vitamines et minéraux	Renforce les défenses naturelles de l'organisme, aide à retrouver la forme.
<b>Ultralevure®</b>	Saccharomyces boulardii	Anti-diarrhéique
<b>Lactéol®</b>	Lactobacillus inactivés	Anti-diarrhéique
<b>Lactibiane référence®</b>	Lactobacillus helveticus Bifidobacterium longum Lactococcus lactis Streptococcus thermophilus	Améliore les troubles intestinaux, maintient l'équilibre de la flore intestinale et renforce les défenses immunitaires.
<b>Hydralin flora®</b>	Lactobacillus plantorum	Restaure l'équilibre naturel de la flore vaginale.
<b>Ergyphilus confort®</b>	Lactobacillus plantorum Lactobacillus rhamnosus Lactobacillus acidophilus Bifidobacterium longum Bifidobacterium bifidum	Maintien l'équilibre de la flore intestinale et favorise le confort intestinal.
<b>Biogaïa®</b>	Lactobacillus reuteri protectis	Rééquilibre et renforce la flore intestinale.
<b>Immunostim®</b>	Lactobacillus helveticus Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium infantis	Renforce les défenses immunitaires de l'organisme.

## Annexe 2 : Induction et maintien en rémission de la maladie de Crohn : résumé des études utilisant les probiotiques(157)

First Author, Date	Design Duration	Group (dose/d)		Concomitant Therapy	Results
		Probiotic	Comparator		
<b>Crohn disease: induction of remission</b>					
Gupta et al, 2000	O 6 mo	LGG ( $2 \times 10^{10}$ CFU) n = 4	None	Prednisone, immunomodulatory agents, metronidazole	Improved CDAI scores compared with baseline ( $P < .05$ )
McCarthy et al, 2001	O N/A	<i>L salivarius</i> UCC118	None	N/A	Improved CDAI scores
Schultz et al, 2004	DB, R, C 6 mo	LGG ( $2 \times 10^9$ CFU) n = 5	Placebo n = 6	Ciprofloxacin, metronidazole, corticosteroids	NSD
Fujimori et al, 2007	O $13 \pm 4.5$ mo	<i>B breve</i> ( $3 \times 10^{10}$ CFU), <i>L casei</i> ( $3 \times 10^{10}$ CFU), <i>B longum</i> ( $1.5 \times 10^{10}$ CFU), Psyllium (9.9 g) n = 10	None	Aminosalicilate, prednisolone, home enteral nutrition	Improved CDAI and IOIBD scores compared with baseline (255-136, $P =$ .009, and 3.5-2.1, $P = .03$ , respectively). 60% (6/10) achieved remission
Steed et al, 2010	DB, R, C 6 mo	<i>B longum</i> ( $4 \times 10^{11}$ CFU) and Synergy 1 (12 g) n = 13	Placebo n = 11	Steroids and/or immunomodulators	Reductions in TNF- $\alpha$ expression and CDAI at 3 months ( $P = .041$ )
<b>Crohn disease: maintenance of remission</b>					
Malchow et al, 1997	DB, R, C 1 y	<i>E coli</i> Nissle 1917 ( $5 \times 10^{10}$ CFU) n = 16	Placebo n = 12	Prednisolone	NSD
Guslandi et al, 2000	R, C 6 mo	<i>S boulardii</i> (1 g) and mesalamine (2 g) n = 16	Mesalamine (3 g) n = 16	Not indicated	Increased duration of remission ( $P < .05$ )
Prantera et al, 2002	DB, R, C 1 y	LGG ( $1.2 \times 10^{10}$ CFU) n = 23	Placebo n = 22	Loperamide, cholestyramine	NSD
Bousvaros et al, 2005	DB, R, C 2 y	LGG ( $4 \times 10^{10}$ CFU) n = 39	Placebo n = 36	Aminosalicylates, 6-mercaptopurine, azathioprine, corticosteroids	NSD
Marteau et al, 2006	DB, R, C 6 mo	<i>L johnsonii</i> LA1, Nestle ( $2 \times 10^9$ CFU) n = 43	Placebo n = 47	Loperamide, cholestyramine, corticosteroids tapered to nil by wk 3	NSD for endoscopic scores *Dropout rate (n = 8)
Chermesh et al, 2007	DB, R, C 2 y	Synbiotic 2000 n = 7	Placebo n = 2	Not indicated	NSD regarding postoperative recurrence of symptoms *High dropout rate (n = 21)
Vilela et al, 2008	R, C 3 mo	<i>S boulardii</i> ( $1.2 \times 10^9$ CFU) n = 14	Placebo n = 17	Mesalamine, immunosuppressants, thalidomide	Improved intestinal permeability vs placebo ( $P = .0005$ )

### Abréviations :

- C : Controlled
- DB : Double blind
- LGG : Lactobacillus rhamnosus GG
- N/A : Not available
- NSB No significant difference
- O : Open label
- R : Randomised
- CDAI : Crohn disease activity index
- IBD : Inflammatory bowel diseases



### Annexe 3 : Induction et maintien en rémission de la rectocolite hémorragique : résumé des études utilisant les probiotiques(157)

First Author, Year	Design Duration	Group (dose/d)		Concomitant Therapy	Results
		Probiotic	Comparator		
<b>Ulcerative colitis: induction of remission</b>					
Rembacken et al, 1999	DB, R, C 1 y	<i>E coli</i> Nissle 1917 ( $1 \times 10^{11}$ CFU) n = 57	Mesalamine (2.4 g) n = 59	Prednisolone or hydrocortisone enemas	As effective as mesalamine at attaining remission
Borody et al, 2003	Case reports 2–13 y	Fecal enema n = 6	None	None	100% Remission
Guslandi et al, 2003	O 4 wk	<i>S boulardii</i> (750 mg) n = 25	None	Mesalamine	Reduction in UCDAI scores
Kato et al, 2004	DB, R, C 12 wk	<i>Bifidobacterium</i> -fermented milk (100 mL) n = 10	Placebo n = 10	Sulfasalazine and mesalamine	Reduction in UCDAI ( $P < .05$ )
Tursi et al, 2004	R, O 8 wk	Balsalazide (2.25 g) and VSL3 ( $1 \times 10^{11}$ CFU) n = 30	Balsalazide (4.5 g) n = 30 Mesalamine (2.4 g) n = 28	None	Balsalazide and VSL3 outperformed the 2 comparator groups (symptoms assessment, endoscopic appearance, and histologic evaluation)
Bibiloni et al, 2005	O 6 wk	VSL3 ( $3.6 \times 10^9$ CFU) n = 32	None	Mesalamine, steroids, or immunosuppressants	Remission (UCDAI $\leq 2$ ) achieved in 18, response (UCDAI $\geq 3$ ) achieved in 8 whereas 3 did not have a response and 3 others worsened
Furrie et al, 2005	DB, R, C 1 mo	<i>B longum</i> and Synergy 1 n = 8	Placebo n = 8	Mesalamine, immunosuppressants, steroids	NSD re sigmoidoscopy scores
Tsuda et al, 2007	O 4 wk	BIO-THREE n = 20	None	Mesalamine or 6-mercaptopurine	Remission achieved in 9/20 patients, no response in 8/20, and worsening in 1/20
Miele et al, 2009	DR, R, C 8 wk	VSL3 (weight-based dosing) n = 19	Placebo n = 10	Corticosteroids, immunosuppressants, mesalamine	Remission achieved in 92% of probiotic-treated patients
Huynh et al, 2009	O	VSL3 (weight-based dosing) n = 18	None	Patients were failing standard ulcerative colitis induction therapy	Remission achieved in 56% of probiotic treated-patients
Sood et al, 2009	DB, R, C 12 wk	VSL3 ( $3.6 \times 10^9$ CFU) n = 77	Placebo n = 70	Oral mesalamine and immunosuppressants	43% Achieved remission in probiotic group ( $P < .001$ )
Tursi et al, 2010	DB, R, C 8 wk	VSL3 ( $3.6 \times 10^9$ CFU) n = 71	Placebo n = 73	5-ASA or immunosuppressants	Remission achieved in 48% for the probiotic group
Ishikawa et al, 2011	R, C 1 y	<i>B breve</i> strain Yakult ( $3 \times 10^9$ CFU) and galacto-oligosaccharide (5.5 g) n = 21	Placebo n = 20	Salazosulfapyridine, mesalamine, steroids	Endoscopic score was significantly reduced in probiotic group compared with baseline ( $P < .05$ )
<b>Ulcerative colitis: maintenance of remission</b>					
Kruis et al, 1997	DB, DD, R 3 mo	<i>E coli</i> Nissle 1917 (CFU $> 10^{10}$ ) n = 50	Mesalazine (1.6 g) n = 53	None	NSD for relapse rates, CAI scores, global assessment

Rembacken et al, 1999	DB, R, C 1 y	<i>E coli</i> Nissle 1917 (CFU > 10 <sup>10</sup> ) n = 39	Mesalamine (1.6 g) n = 44	Prednisolone (tapered to nil over 4 mo)	NSD
Venturi et al, 1999	O 1 y	VSL3 (1 × 10 <sup>12</sup> CFU) n = 20	None	None	75% Maintained clinical and endoscopic remission
Ishikawa et al, 2003	R, C 1 y	BFM n = 11	Placebo n = 10	Salazosulfapyridine, mesalazine, and steroids	Reduced exacerbation of symptoms (P<.01)
Cui et al, 2004	DB, C 8 mo	BIFICO (1.26 g) (1 × 10 <sup>7</sup> CFU) n = 15	Placebo n = 15	Sulphasalazine and glucocorticoids	P<.01 Where 93% of placebo relapsed vs 20% of active treatment group
Kruis et al, 2004	DB, R, C 1 y	<i>E coli</i> Nissle 1917 (2.5–25 × 10 <sup>9</sup> CFU) n = 162	Mesalamine (1.6 g) n = 165	None	As effective as mesalamine at maintaining remission (SE, P = .003)
Zocco et al, 2006	O 1 y	<i>L rhamnosus</i> GG (1.8 × 10 <sup>10</sup> CFU) n = 65	Mesalazine (2.4 g) n = 60 Mesalazine and LGG n = 62	None	NSD in relapse rates at 12 months; but probiotic more effective than mesalazine for prolonging duration of remission (P<.05)
Wildt et al, 2011	DB, R, C 1 y	<i>L acidophilus</i> La-5 and <i>B animalis</i> and <i>Lactis BB</i> n = 20	Placebo n = 12	None	Insignificant number of patients achieved remission (P = .37)

Abréviations :

- BFM : commercial product containing Yakult live strains of *B. breve*, *B. bifidum*, and *L. acidophilus* YIT0168.
- BIFICO : commercial probiotic capsule containing *Enterococci*, *Bifidobacteria*, and *Lactobacilli* triple therapy.
- C : Controlled
- CAI : Clinical activity index
- DB : Double blind
- NSD : No significant difference
- O : Open label
- R : Randomized
- SE : Significant equivalent

#### Annexe 4 : Mise en évidence de l'effet des probiotiques dans le traitement des pouchites(157)

First Author, Year	Design Duration	Group (dose/d)		Concomitant Therapy	Results
		Probiotic	Comparator		
<b>Pouchitis: induction of remission</b>					
Kuisma et al, 2003	DB, R, C 3 mo	<i>Lactobacillus</i> GG ( $1 \times 10^{10}$ CFU) n = 10	Placebo n = 10	Not indicated	No difference in pouch disease activity index
Laake et al, 2004	O 4 wk	<i>L acidophilus</i> and <i>B lactis</i> -fermented milk (500 mL) n = 51	None	Loperamide	Improved pouch disease activity index; no difference in histology
Pronio et al, 2008	O 1 y	VSL3 n = 31	None	None	Reduction in pouch disease activity index
<b>Pouchitis: maintenance of remission</b>					
Gionchetti et al, 2000	DB, R, C 9 mo	VSL3 (6 g) n = 20	Placebo n = 20	None	Increased duration of remission ( $P < .001$ )
Gionchetti et al, 2003	DB, R, C 1 y	VSL3 ( $1 \times 10^{11}$ CFU) n = 20	Placebo n = 20	None	Increased duration of remission ( $P < .05$ )
Gosselink et al, 2004	R, C 3 y	<i>L rhamnosus</i> GG (CFU $> 10^{10}$ ) n = 78	Placebo n = 39	Not indicated	Increased duration of remission ( $P = .011$ )
Mimura et al, 2004	DB, R, C 1 y	VSL3 (6 g) n = 20	Placebo n = 16	Not indicated	Increased duration of remission ( $P < .0001$ )

Abréviations :

- C : Controlled
- DB : Double blind
- O : Open label
- R : Randomized

Université de Lille 2  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2014/2015

**Nom :** Milliot-Stoclin

**Prénom :** Raphaëlle

**Titre de la thèse :** Les probiotiques : VENI, VIDI, MICI

**Mots-clés :** microbiote intestinal, dysbiose, probiotiques, bactéries lactiques, bifidobactéries, lactobacilles, effet barrière, immunomodulation, maladie de Crohn, Rectocolite hémorragique, VSL#3, pochites, mycose vaginale, maladie du voyageur, coliques du nourrisson.

---

### **Résumé**

La maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique font partie de ce que l'on appelle les MICI. Il s'agit de pathologies digestives chroniques relativement fréquentes et invalidantes. Elles se caractérisent par une inflammation de certains segments du tube digestif.

Le microbiote intestinal est reconnu aujourd'hui comme un acteur majeur, garant de l'homéostasie intestinale. De par ses fonctions métaboliques, trophiques, de barrière, son implication dans la physiopathologie des MICI a été récemment révélée.

A l'heure où le marché des probiotiques connaît une véritable expansion, le recours à ces bactéries favorables à la santé de leur hôte pourrait constituer une alternative thérapeutique extrêmement séduisante pour rétablir la normobiose.

Les résultats des essais sur les probiotiques sont encourageants mais encore beaucoup trop inégaux ; les données actuelles ne permettent pas de conclure à leur efficacité. Des recherches de plus large envergure doivent être entreprises afin de confirmer ou invalider les études préliminaires.

---

### **Membres du jury :**

**Président :** M. Thierry Dine, Professeur de Pharmacie Clinique, Praticien Hospitalier, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologie de Lille

**Assesseur(s) :** M. Emmanuel Hermann, Maître de Conférences en Immunologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologie de Lille

M. Benjamin Bertin, Maître de Conférences en Immunologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologie de Lille

**Membre(s) extérieur(s) :** M. Sylvain Backelandt, Docteur en Pharmacie, Pharmacie de la Colme à Hoymille

