

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 15 juin 2018
Par BOIDIN Manon**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**L'INTERET DE L'ADMINISTRATION DES BIFIDES
CHEZ L'HOMME EN TANT QUE PROBIOTIQUES POUR LES
PATHOLOGIES INTESTINALES.**

Membres du jury :

Président : Madame NEUT Christel, Maître de conférences, laboratoire de bactériologie.

Assesseur : Monsieur HERMANN Emmanuel, Maître de conférences, laboratoire d'Immunologie.

Membre extérieur : Monsieur LELONG Fabien, Docteur en pharmacie.



Faculté de Pharmacie 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 de Lille

Président : Jean-Christophe CAMART

Premier Vice-président : Damien CUNY

Vice-présidente Formation : Lynne FRANJIE

Vice-président Recherche : Lionel MONTAGNE

Vice-président Relations Internationales : François-Olivier SEYS

Directeur Général des Services : Pierre-Marie ROBERT

Directrice Générale des Services Adjointe : Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen : Bertrand DÉCAUDIN

Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche : Patricia MELNYK

Assesseur aux Relations Internationales : Philippe CHAVATTE

Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :

Thomas MORGENROTH

Assesseur à la Pédagogie : Benjamin BERTIN

Assesseur à la Scolarité : Christophe BOCHU

Responsable des Services : Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL

Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

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	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
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.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie

Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Lab. de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOUT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	• GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie

M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

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.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie

Faculté de Pharmacie 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 Madame le Professeur Christel NEUT, Présidente du jury.

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse. Pour votre aide, votre investissement et vos conseils. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Emmanuel HERMANN, Assesseur du jury.

Qui me fait l'honneur de siéger dans ce jury. Merci de l'intérêt que vous avez bien voulu témoigner à ce travail, par votre présence.

A Monsieur Fabien LELONG, Docteur en pharmacie.

Pour m'avoir fait le grand plaisir d'accepter de juger cette thèse. Merci pour le temps que tu as su consacré dans la préparation de cette soutenance malgré ton emploi du temps surchargé entre la pharmacie et la médecine. Je te souhaite d'ailleurs beaucoup de réussite dans cette nouvelle voie.

A Monsieur Pierre BLOND, Pharmacien d'officine.

Je vous remercie de votre précieux investissement dans la rédaction de cette thèse et de tous vos conseils.

A Madame Claire WILPART, et toute l'équipe officinale de la pharmacie de l'Horloge.

Un grand merci de m'avoir accueilli parmi vous, pour avoir participé à ma formation et pour l'expérience que vous m'avez apportée. Merci pour votre patience, vos conseils et votre gentillesse.

A Madame Myriam MAHIEU, et toute l'équipe officinale de la pharmacie Mahieu.

Merci de m'avoir accordée votre confiance pour ce premier emploi en tant que pharmacien assistant dans votre officine. Je garderai un excellent souvenir de ce premier poste. Charlotte, merci beaucoup pour ton aide dans la recherche de documents.

A Madame Noémie DELACROIX des laboratoires PiLeJe.

Un grand merci de m'avoir fournis plusieurs documents et études qui m'ont apporté une aide précieuse dans la rédaction de cette thèse. Merci pour votre confiance.

A Monsieur Bruno BESSON des laboratoires MAYOLI.

Merci de m'avoir fournis des documents qui m'ont aidé dans la rédaction de cette thèse.

A mes parents,

Merci pour tout ce que vous m'apportez au quotidien. Maman, merci pour tout ce que tu as fait pour moi durant toutes ces études...pour ton aide, tes conseils, ton grand réconfort pendant les examens. Papa, merci de m'avoir soutenue et permis de réaliser ces études. Je vous dédie cette thèse.

A mes sœurs adorées Louise, Léa, Claire et mon petit Marcel,

Pour tout le bonheur que vous m'apportez.

A mes grands-parents,

Pour chaque bon moment que l'on passe ensemble en famille.

A toute ma famille,

C'est toujours un grand plaisir de se retrouver tous ensemble, pour tous les bons moments partagés en famille !

A Cassandra,

Merci pour ton aide dans la préparation de cette soutenance. Pour tout le soutien que tu m'as apporté et surtout merci d'avoir su m'aider à décompresser durant ces années... A toutes nos soirées, il y en aura encore, ne t'inquiète pas !

A Chloé et Delphine,

Merci pour votre soutien depuis tant d'années, d'être toujours là au bon moment, dans les coups durs comme dans les joies !!

A Benji,

Pour m'avoir motivée jusqu'au bout à écrire cette thèse. Merci de m'avoir supportée durant toutes ces années et de m'avoir toujours écoutée... je sais qu'il t'a fallu beaucoup de patience mais c'est ce qui soude notre très belle amitié...

A Camille, Maram et Justine,

A tous nos bons moments passés ensemble... Et bien sûr à nos voyages et nos futurs voyages !!

A tous mes amis,

Merci pour tous les bons moments que nous passons ensemble...

Abréviations :

AGCC : acide gras à chaîne courte

AG : acides gras

CPA : cellule présentatrice de l'antigène

EMP : Emden-Meyerhof Parmas

EPEC : entéro-pathogène

ETEC : entérotoxinogène

FAO : food and agriculture organization of the united nations

FOS : fructo-oligosaccharide

F6PPK : fructose-6-phosphocétolase

GH : glycosyl hydrolase

GOS : galacto-oligosaccharide

HMO : oligosaccharides du lait humain

IgA : immunoglobuline A

MICl : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

OMS : organisme mondiale de la santé

PEP-PTS : phosphoénolpyruvate – phosphotransférase

RCC : répression catabolique du carbone

SII : syndrome de l'intestin irritable

TFI : troubles fonctionnels intestinaux

TGI : Tractus gastro intestinal

Sommaire

I)	Introduction.....	16
II)	Généralités	16
A.	Le microbiote intestinal.....	16
1.	Définition.....	16
2.	Outils d'étude du microbiote intestinal	17
3.	Composition	19
4.	Les fonctions majeures du microbiote intestinal	21
5.	Microbiote intestinal et système immunitaire.....	24
B.	Les bifides.....	31
1.	Caractéristiques générales du genre Bifidobacterium	31
2.	Caractéristiques générales de la bifidobactérie.....	32
3.	Ecologie bifidobactérienne.....	32
4.	Population bifidobactérienne dans l'intestin selon l'âge.....	33
III)	Les Bifides chez l'Homme	34
A.	Capacités métaboliques des bifides	34
1.	Métabolisme glucidique bifidobactérien	34
2.	Stratégies d'absorption des glucides par les bifidobactéries	36
3.	Le mécanisme d'alimentation croisé bifidobactérien	37
4.	Contrôle du métabolisme bifidobactérien des glucides.....	38
B.	Caractéristiques physiologiques des Bifides	39
1.	Capacité d'adhérence à l'épithélium intestinal et colonisation.....	39
2.	Production de métabolites et abaissement du pH.....	39
3.	Libération de bactériocines.....	40
4.	Amélioration de la barrière épithéliale	40
5.	Effets immunomodulateurs	41
6.	Exclusion concurrentielle des pathogènes.....	41
IV)	Modification du taux de bifides : indicateur d'une dysbiose	42
A.	De l'eubiose à la dysbiose :	42
B.	L'origine d'une dysbiose :.....	42
C.	Changement de la composition en bifidobactéries en cas de dysbiose	42
1.	L'obésité :	43
2.	Maladies allergiques :.....	43
3.	Maladies intestinales.....	43
V)	Modulations nutritionnelles.....	48

A.	Les prébiotiques	49
1.	Définition	49
2.	Bifidobactéries et aliments fonctionnels.....	49
B.	Les probiotiques	49
1.	Définition	49
2.	Propriétés des probiotiques - garantie d'un complexe probiotique efficace :	50
3.	Mécanisme d'action des probiotiques	52
VI)	Etudes démontrant l'intérêt de l'administration des Bifides dans certaines pathologies digestives.....	54
A.	La constipation	55
B.	La diarrhée.....	55
1.	La diarrhée associée aux antibiotiques chez l'enfant :.....	55
2.	Diarrhée virale chez l'enfant	55
C.	Le syndrome de l'intestin irritable	56
VII)	Exemple de Bifides sous forme de probiotiques utilisés en pratique à l'officine	58
A.	LACTIBIANE Référence de PiLeJe.....	58
B.	LACTIBIANE Tolérance de PiLeJe	59
C.	LACTICHOC de PiLeJe.....	60
D.	LACTIBIANE enfant	61
E.	Alflorex des laboratoires BIOCODEX	62
F.	Probiolog des laboratoires MAYOLY SPINDLER.....	62
G.	Exemple d'un cas de comptoir à l'officine	63
VIII)	Conclusion	65
IX)	Liste des figures.....	66
X)	Liste des tableaux.....	66
XI)	BIBLIOGRAPHIE :.....	67

I) Introduction

Le microbiote intestinal joue de plus en plus un rôle vital dans divers aspects de la santé humaine. En effet, plusieurs études ont lié des altérations du microbiote intestinal avec le développement de différentes maladies.

Les probiotiques occupent une place importante dans l'activité du pharmacien d'officine. Ceux-ci font l'objet d'un intérêt grandissant de la part des patients attirés par les médecines alternatives. Le pharmacien d'officine est donc confronté à délivrer des probiotiques aussi bien en préventif qu'en curatif, dans le cadre d'une prescription, d'une demande spontanée ou d'un conseil associé.

Parmi la vaste communauté des bactéries intestinales, les membres du genre *Bifidobacterium* sont parmi les premiers microbes à coloniser le tractus gastro-intestinal humain et plusieurs études ont démontré qu'elles exercent des effets bénéfiques sur leur hôte. C'est pour cela, que cette thèse portera sur les bifidobactéries utilisées en tant que probiotiques et l'intérêt de leur utilisation.

Dans un premier temps, nous allons définir ce qu'est le microbiote intestinal. Nous détaillerons sa composition ainsi que ses fonctions métaboliques majeures. Nous parlerons ensuite des bifides ainsi que leurs rôles et leurs caractéristiques chez un sujet sain. Puis, nous étudierons les pathologies rencontrées lorsqu'un déficit en bifides existe dans l'intestin de l'hôte.

Dans un second temps, nous définirons les probiotiques et à l'aide d'études scientifiques, nous démontrerons l'intérêt de l'administration de bifides utilisés en tant que probiotiques.

Enfin, nous terminerons en présentant des exemples de probiotiques contenant des bifides que l'on peut obtenir en officine.

II) Généralités

A. Le microbiote intestinal

1. Définition

Le microbiote intestinal est un ensemble important de bactéries (cent mille milliards) réparties le long du tractus intestinal et dont la composition globale est variable selon la localisation, les individus, l'âge et les périodes de la vie d'un même individu. (1)

A la naissance, le tube digestif du nouveau-né est dépourvu de bactéries. La colonisation microbienne débute dès l'accouchement. Les niveaux de population du tube digestif du nouveau-né atteignent rapidement 10^{11} bactéries par gramme de contenu. La colonisation suit néanmoins un schéma relativement organisé, sous la dépendance de facteurs exogènes (d'origine maternelle, environnementale, alimentaire) et endogènes tels que les sécrétions du tube digestif mais aussi les produits des premiers micro-organismes colonisateurs qui globalement conditionnent la physicochimie du biotope. Il faut environ deux à trois ans pour avoir un microbiote mature. Au fur et à mesure de son installation, le microbiote va pouvoir exprimer ses propriétés physiologiques et devenir essentiel pour le développement harmonieux de l'hôte.

Le nombre de bactéries augmente progressivement depuis l'estomac (moins de 10^4 par gramme de contenu), jusqu'au colon (10^9 à 10^{12} par gramme) en passant par le duodénum (10^3 à 10^4 par gramme), le jéjunum (10^5 à 10^6 par gramme) et l'iléon (10^7 à 10^8 par gramme). (1)

L'ensemble constitue un écosystème qui fonctionne comme un organe à part entière en étroite symbiose avec notre organisme et forme avec lui un supra-organisme.

2. Outils d'étude du microbiote intestinal

Pour les bactéries comme pour tous les êtres vivants, il existe une classification comportant plusieurs niveaux. Le règne (Procaryotae) est le premier niveau de classification. Vient ensuite le domaine (Bacteria), le phylum, la classe, l'ordre, la famille, le genre et l'espèce. Les bactéries ont longtemps été classées selon des critères morphologiques et fonctionnels (capacité fermentaire des souches en culture par exemple). Cependant, ce type de classification est totalement inadapté à l'étude du microbiote intestinal car elle nécessite la culture *in vitro* des bactéries, alors qu'à peine 30 % des bactéries de ce microbiote sont cultivables.

Ce sont d'abord les techniques basées sur le séquençage de l'ARN 16S (présente dans toutes les bactéries), qui ont permis d'identifier des espèces nouvelles, non cultivables par les techniques classiques de la microbiologie. (figure 1) (2).

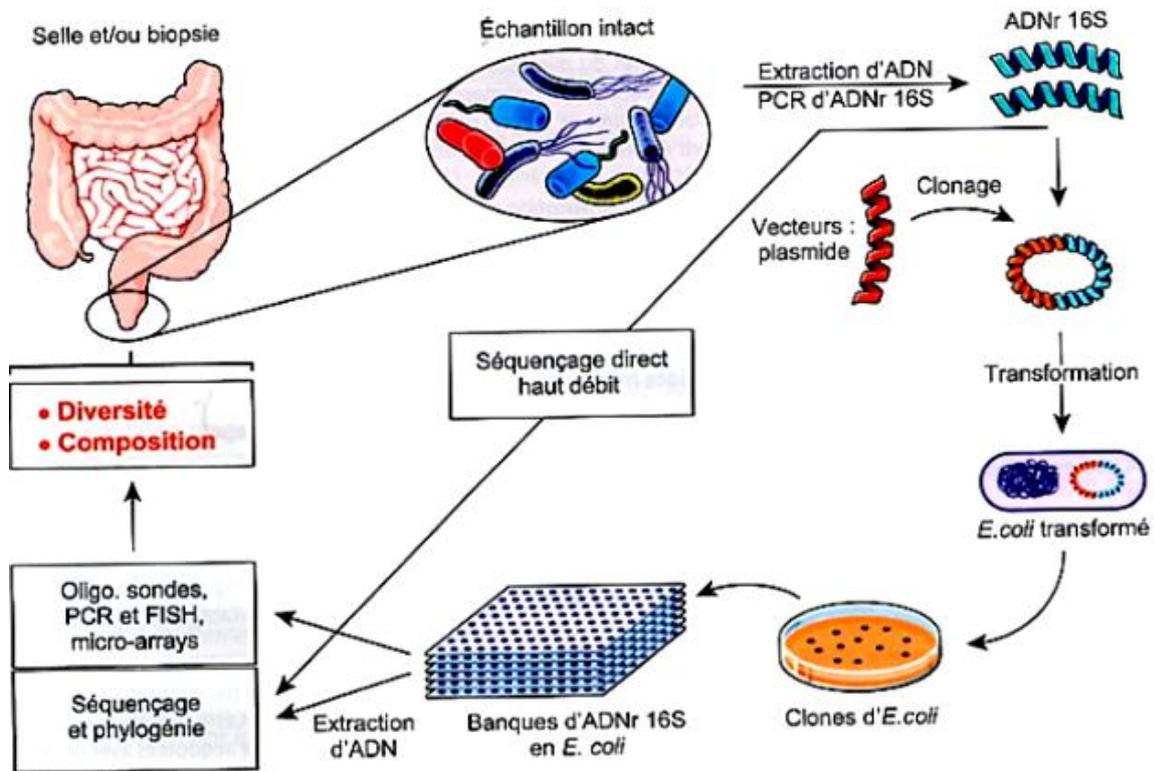


Figure 1 : Schéma opérationnel de l'approche ribosomale basée sur le clonage d'ARN 16S entiers. (2)

Puis, suite à la mise au point du séquençage de l'ADN à haut débit, il a été possible de séquencer et identifier tous les gènes des bactéries présentes dans l'écosystème digestif humain. Il s'agit de l'approche métagénomique.(2) (figure 2)

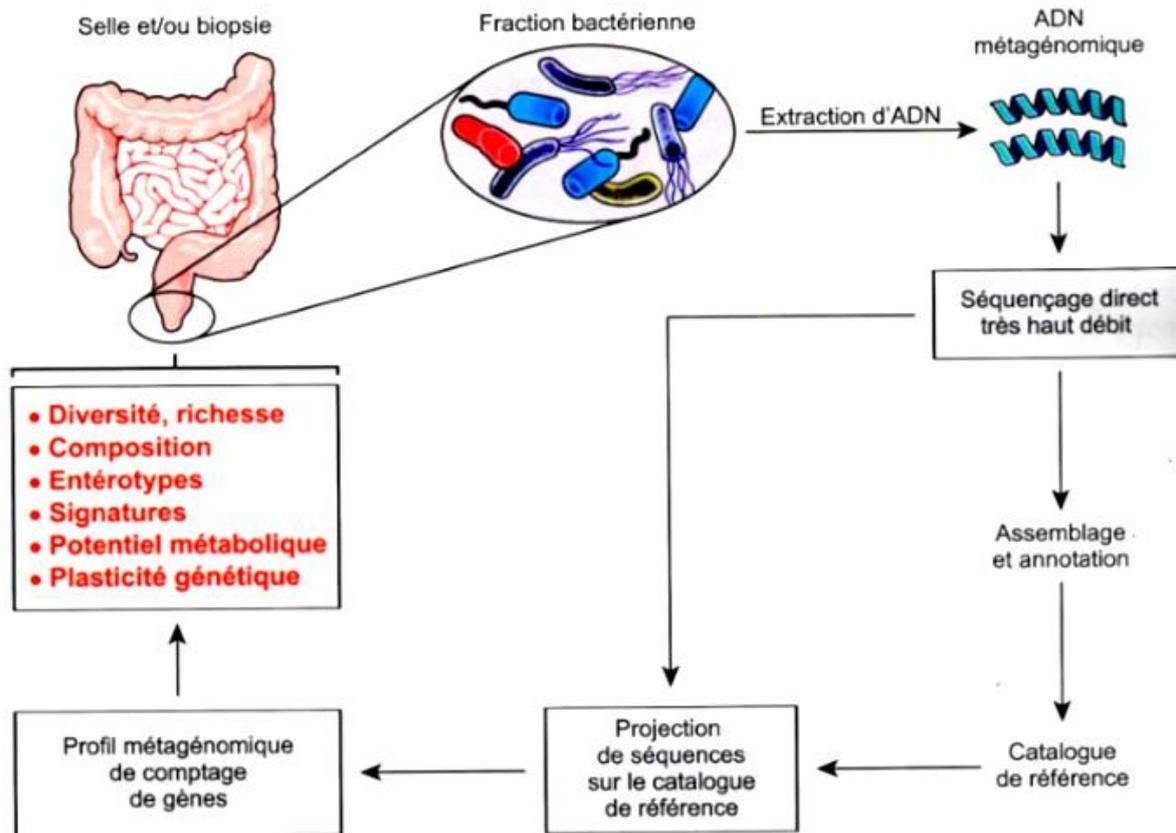


Figure 2 : L'approche métagénomique quantitative. (2)

3. Composition

On estime aujourd'hui que chaque individu adulte héberge en dominance dans son tube digestif un millier d'espèces bactériennes différentes. La densité bactérienne atteint son maximum dans le côlon distal avec 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme de contenu. L'utilisation d'outils moléculaires a montré que la plus grande partie (deux tiers environ) des espèces dominantes observées dans le microbiote fécal d'un individu lui est propre. Cependant, l'analyse en taxa (genres bactériens et/ou grands groupes phylogénétiques) fait ressortir l'existence de composantes récurrentes, retrouvées chez tous les individus. Trois phyla bactériens, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria* rassemblent la plus grande part des bactéries fécales dominantes. Le phylum des *Firmicutes* (bactéries à Gram positif) est toujours fortement représenté. Il comprend tout d'abord le groupe dit *Eubacterium rectale* – *Clostridium coccoides* qui est souvent le plus important (14 à 31 % des bactéries totales en moyenne suivant les études). Ce groupe est composé d'espèces bactériennes appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrovibrio*. Le phylum des *Firmicutes* comprend également le groupe *Clostridium leptum*, avec notamment les espèces *Fæcalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*, groupe qui est aussi très souvent dans la dominance (16 à 22 % en moyenne). Les *Bacteroidetes* sont représentés par les genres apparentés à *Bacteroides* (*Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*). Ils sont toujours présents

et partagent la dominance avec les groupes précédents (9 à 42 % des bactéries totales suivant les études). Le phylum *Actinobacteria* est moins systématiquement détecté en dominance mais il représente en moyenne quelques pour cents des bactéries totales. On y trouve les bifidobactéries (0,7 à 10 %) et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium* (0,3 à 3,7 % en moyenne). Les entérobactéries sont plus rarement observées dans le microbiote fécal dominant (en moyenne 0,4 à 1 %), de même que les lactobacilles et streptocoques (2 %). Si l'on reconnaît ainsi des caractéristiques très conservées en termes de composition au niveau des phyla et grands groupes phylogénétiques, au niveau des espèces, la caractéristique principale semble être la présence de nombreuses espèces sujet-spécifiques. Ceci laisse penser que le microbiote d'un individu lui est propre et qu'il existe au plan fonctionnel une interchangeabilité entre les espèces. Les données récentes de métagénomique vont dans ce sens, en montrant que les fonctions portées par les gènes du microbiote sont similaires d'un sujet à l'autre. (3)

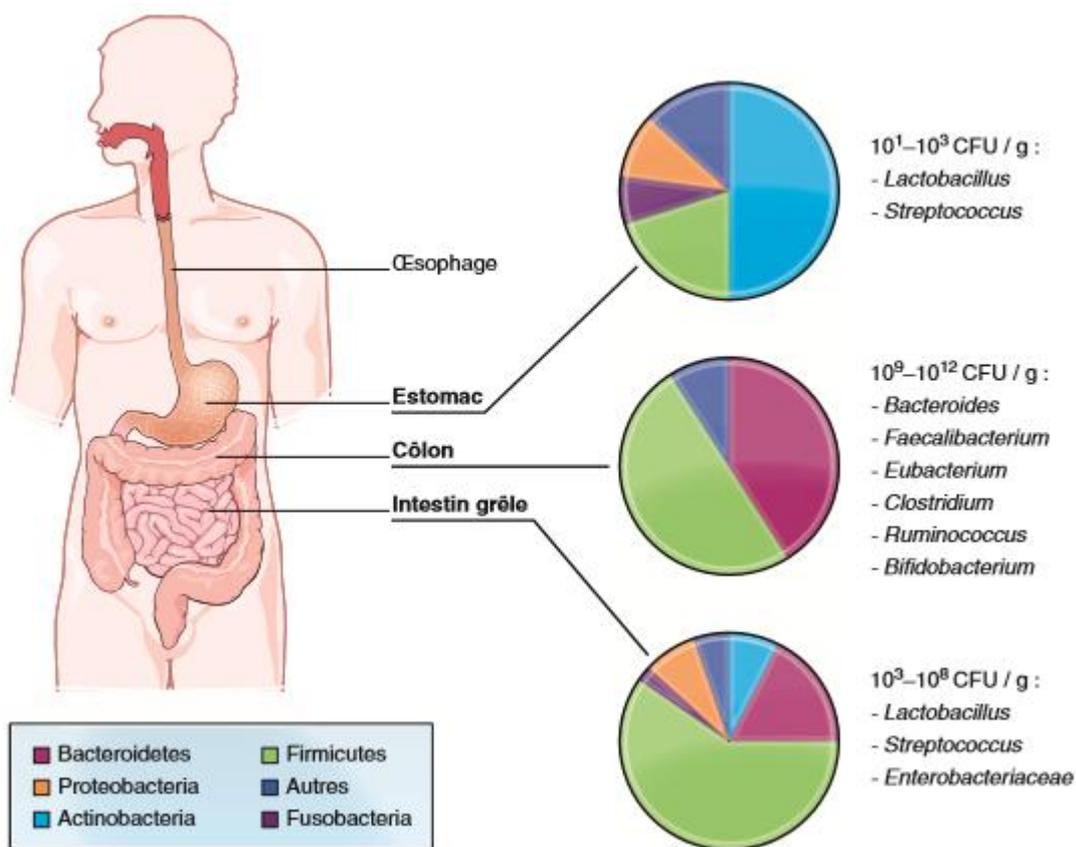


Figure 3: Composition et densité du microbiote intestinal. (3)

4. Les fonctions majeures du microbiote intestinal

a) *Métabolisme des glucides*

Les glucides disponibles au niveau du colon sont principalement représentés par les polysides rencontrés dans les céréales, les fruits et les légumes (fibres alimentaires). Il s'agit majoritairement de la partie de l'amidon résistant aux α -amylases de l'hôte, des polysides composant la paroi des végétaux ainsi que des glucides de réserve et des composés algaux, auxquels s'ajoutent des oligosides ou des sucre-alcool non assimilés par l'organisme. La quantité totale de glucides parvenant au colon est de 10 à 60 g par jour en fonction du régime alimentaire. (4)

Différents groupes bactériens du microbiote colique avec des activités complémentaires forment une chaîne trophique de dégradation anaérobie des polymères glucidiques en métabolites fermentaires. La première étape est la dégradation des différents polymères en fragments plus petits (oligosides, oses...) qui fait intervenir une grande variété d'hydrolases. Ces enzymes sont produites par les bactéries du microbiote colique dites « fibrolytiques » appartenant principalement aux genres *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, *Prevotella*. Les bactéries glycolytiques transforment les glucides ainsi produits en pyruvate en utilisant la voie de la glycolyse. (5)

Le pyruvate est ensuite transformé selon différentes voies en produits terminaux de fermentation que sont l'acétate, le propionate et le butyrate ainsi que les gaz (hydrogène, dioxyde de carbone et méthane chez certains sujets)

La dégradation des fibres permet en outre la libération de micronutriments et vitamines ayant des propriétés anti-oxydantes et/ou anti-inflammatoires qui deviennent ainsi disponibles pour l'hôte. (figure 4) (2)

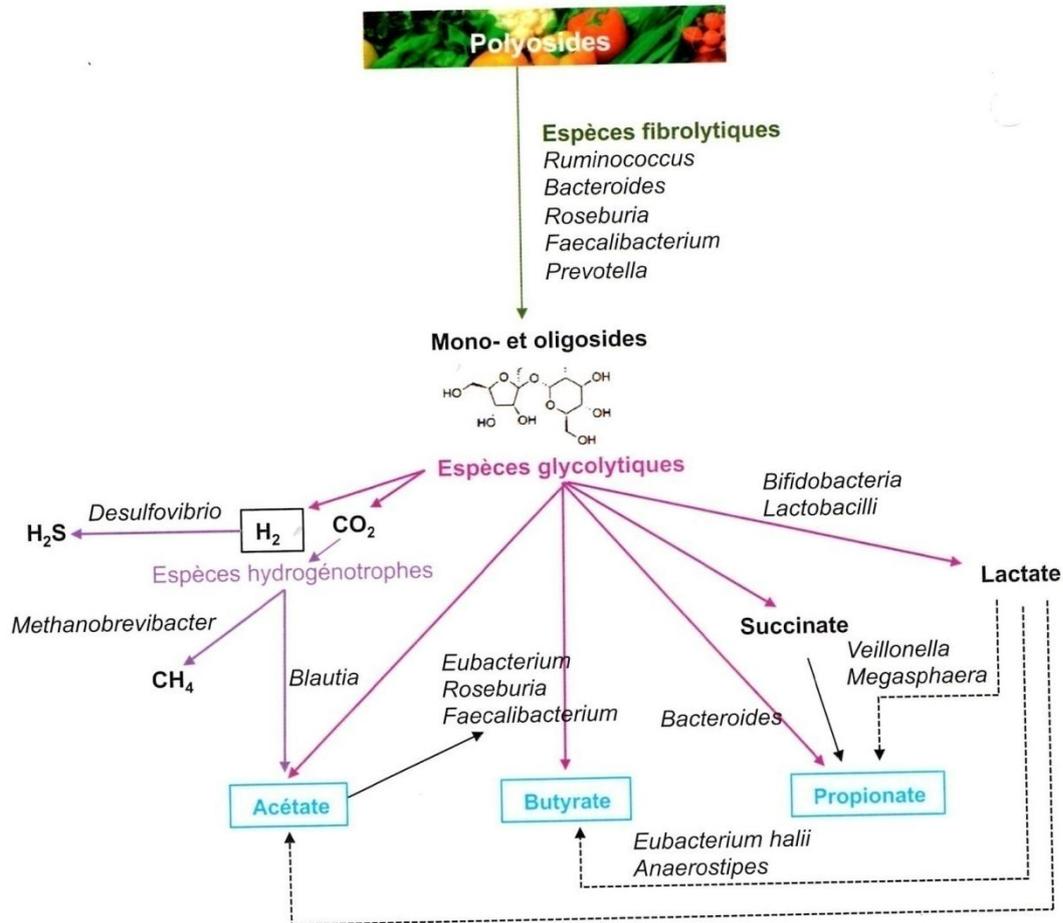


Figure 4: Chaîne trophique de la fermentation des glucides. (2)

b) Métabolisme des protéines

Les protéines parvenant au colon (environ 12 à 18 g/j) sont soit des protéines alimentaires résiduelles, soit des protéines d'origine endogène (, mucines, etc.). Elles représentent la principale source d'azote pour le microbiote intestinal. Le métabolisme des protéines fait intervenir plusieurs espèces ayant des activités complémentaires. (2) Les bactéries « protéolytiques » appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus* sont capables d'hydrolyser les protéines en petits peptides. Certaines espèces bactériennes peuvent assimiler ces peptides, ce qui s'accompagne fréquemment de la libération d'acides aminés libres qui seront utilisés par d'autres bactéries incapables d'assimiler directement des peptides. (5) Les réactions majeures sont la désamination et la décarboxylation des acides aminés. La réaction de désamination aboutit à la production d'ammoniaque (NH₃), qui est un composé potentiellement toxique pour l'hôte pouvant être impliqué dans les mécanismes d'initiation du cancer colique. C'est une source d'azote pour un grand nombre de bactérie du microbiote colique. La désamination conduit également à la production d'acétate, propionate et butyrate, des composés phénoliques, de l'indole, des

sulfures... La décarboxylation aboutit à la production d'amines qui peuvent être des précurseurs de la nitrosamine. (2) (Figure 5)

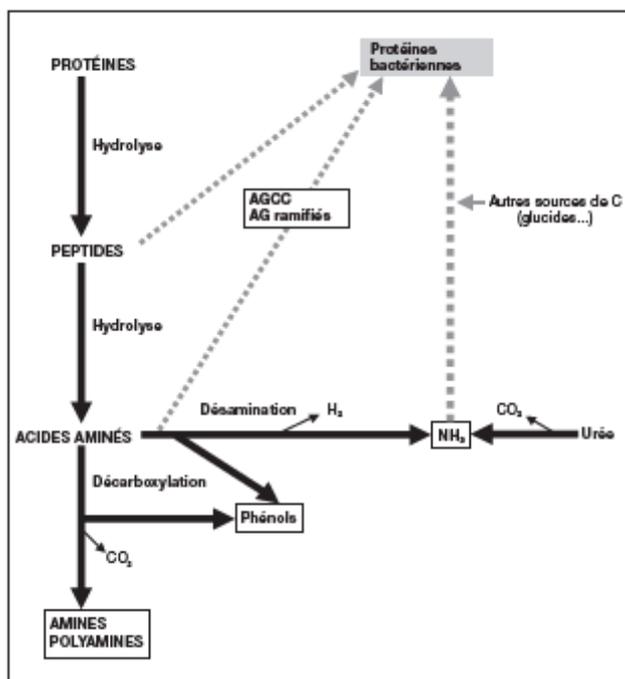


Figure 5: Métabolisme microbien des protéines. (4)

c) Métabolisme des lipides

Les lipides sont majoritairement absorbés dans l'intestin grêle. La fraction lipidique arrivant au colon reste faible, entre 5 et 8 g par jour. De nombreuses espèces bactériennes possèdent des lipases permettant d'hydrolyser les triglycérides à chaîne longue. Le microbiote intestinal est également capable de convertir le cholestérol en coprastonol. L'ingestion des lipides est associée à la sécrétion d'acides biliaires (acide cholique et désoxycholique) qui peuvent être transformés en composés bioactifs par le microbiote intestinal. Environ 5 % des sels biliaires échappent au cycle entéro-hépatique et parviennent au côlon où ils sont métabolisés par le microbiote en acides biliaires secondaires. Chez l'Homme, les deux principaux acides biliaires secondaires sont les acides désoxycholiques et lithocholiques. Les acides biliaires primaires, synthétisés à partir du cholestérol dans le foie, sont conjugués à la glycine ou à la taurine et sécrétés dans le tube digestif. Ils sont ensuite déconjugués (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, et *Bacteroides sp.*) puis transformés par d'autres espèces du microbiote intestinal en métabolites pouvant être potentiellement carcinogènes ou au contraire exercer des effets anti-inflammatoires.

Les hormones stéroïdiennes qui subissent le cycle entéro-hépatique sont conjuguées au niveau du foie à un glucuronide ou à un sulfate puis excrétées dans la bile. Ces hormones stéroïdiennes sont ensuite métabolisées par le microbiote intestinal, principalement par déconjugaison. Cette réaction est effectuée par l'intermédiaire des glucuronidases trouvées chez *Escherichia coli*, mais aussi chez certaines espèces de *Bacteroides* et par des sulfatases chez des espèces appartenant au genre *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Bacteroides* et *Peptococcus*. (2)

d) *Métabolisme des gaz*

L'hydrogène est le gaz majoritairement produit lors des processus fermentaires, et ce, en grande quantité de façon quotidienne dans le côlon. Son élimination, essentielle à l'efficacité du processus fermentaire, est possible de plusieurs manières. Il peut être excrété par l'émission de gaz rectaux ou par voie pulmonaire, mais la plus grande partie de l'hydrogène est transformée in situ par des bactéries du microbiote colique dites hydrogénotrophes. Les trois types de transformation principaux sont : en méthane par les archées méthanogènes (présents dans le microbiote colique de 30 à 50 % des adultes), en acétate par les bactéries acétogènes, et enfin, en sulfure au potentiel délétère pour le colonocyte par les bactéries sulfatoréductrices. (5)

5. *Microbiote intestinal et système immunitaire*

a) *Organisation :*

Le système immunitaire intestinal comporte une grande variété de types cellulaires. On peut séparer l'immunité intestinale en une composante innée constituée des cellules épithéliales et des cellules présentatrices de l'antigène et une composante adaptative constituée des lymphocytes. La composante adaptative peut elle-même être séparée en sites inducteurs et en sites effecteurs de la réponse. Les sites inducteurs sont essentiellement les plaques de Peyer et les follicules lymphoïdes isolés. Les sites effecteurs sont les cellules immunitaires qui peuplent toute la hauteur de la muqueuse. Les plaques de Peyer, les ganglions lymphatiques mésentériques et l'appendice sont des structures identifiables macroscopiquement. Apparentés aux plaques de Peyer, les nodules lymphoïdes isolés constituent des structures plus petites mais très nombreuses, réparties dans tout le tube digestif, avec une prédominance dans l'iléon. Il existe par ailleurs un tissu lymphoïde diffus tapissant de façon plus ou moins dense la lamina.

b) *Immunité Innée*

❖ Rôle de barrière :

La barrière intestinale désigne la fonction de l'intestin qui nous protège contre le passage des bactéries pathogènes, de toxines ou de composés alimentaires dans le sang. C'est une structure complexe aussi bien physique que chimique. Lorsque la barrière intestinale est altérée, par l'alimentation, les antibiotiques, des infections, on dit que la perméabilité intestinale est augmentée.

La composante physique est constituée de deux éléments principaux :

- les jonctions serrées qui sont des jonctions étanches entre les cellules épithéliales empêchant la diffusion de molécules et de pathogènes.
- la couche de mucus qui est fabriquée par les cellules caliciformes. L'épaisseur de la couche de mucus varie le long du tube digestif et est maximale dans l'iléon terminal et surtout le côlon.

Le renouvellement rapide des cellules épithéliales participe aussi au maintien physique de la barrière. (Figure 6)

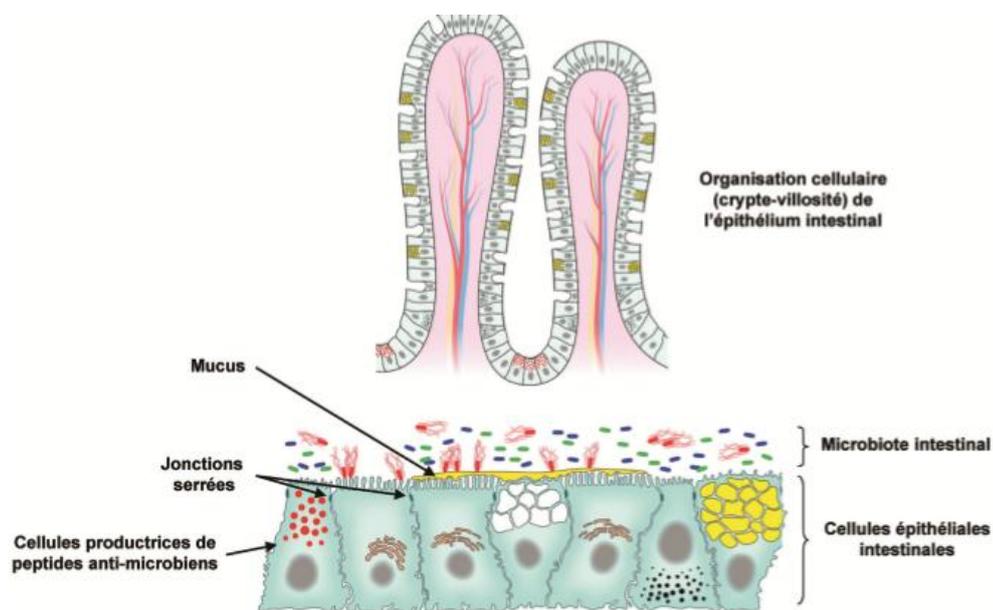


Figure 6: Système de défense de l'épithélium gastro-intestinal. (6)

La composante chimique est constituée principalement de molécules antimicrobiennes (les défensines par exemple) qui sont synthétisées essentiellement par les cellules épithéliales et qui détruisent ou inhibent la croissance des bactéries et/ou levures. Certains de ces peptides antimicrobiens sont synthétisés de manière constitutive et d'autres sont inductibles (principalement par des composés microbiens via certains récepteurs de l'immunité innée). Toutes les cellules

épithéliales synthétisent des molécules antimicrobiennes, mais certains types cellulaires en font une spécialité. Les cellules de Paneth situées au fond des cryptes intestinales (figure 7) synthétisent ces peptides antimicrobiens de manière exclusive.

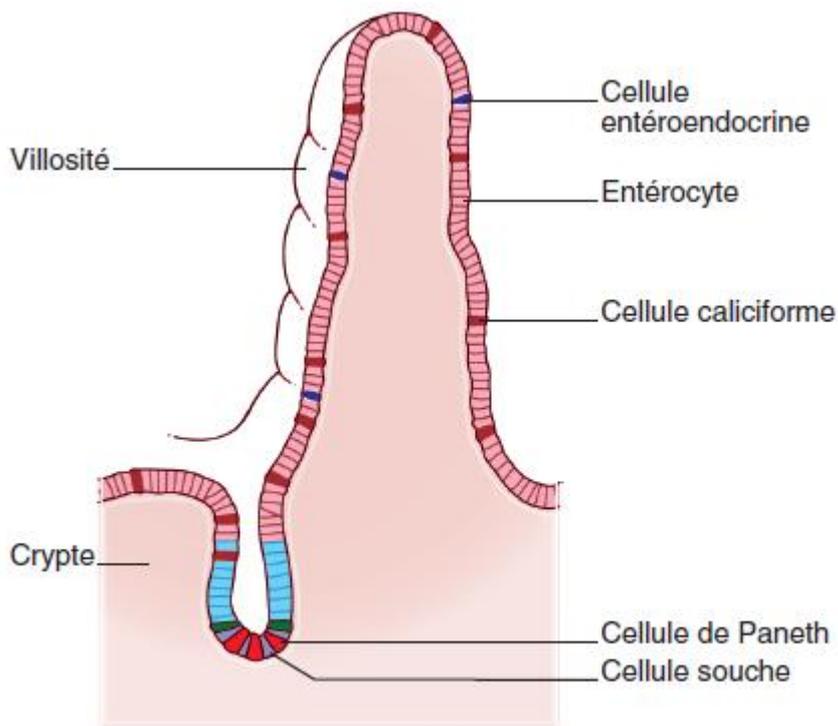


Figure 7: Schéma d'une cellule de Paneth. (3)

❖ Les récepteurs de l'immunité innée :

Les motifs associés aux pathogènes (pathogen associated molecular pattern, PAMP) sont des motifs moléculaires invariants présents chez la plupart des micro-organismes. Le lipopolysaccharide (LPS), l'ARN double brin et la flagelline qui sont présents respectivement dans les bactéries à Gram négatif, les virus à ARN et les bactéries flagellées en sont des exemples.

Il existe des récepteurs reconnaissant ces motifs (pattern recognition receptor, PRR) qui constituent les récepteurs de l'immunité innée. Ces récepteurs sont exprimés dans les cellules présentatrices de l'antigène et, pour certains, dans d'autres cellules immunitaires et dans les cellules épithéliales. Il en existe de différents types (figure 8) :

-Les *Toll-like receptors* (TLR) sont les mieux caractérisés. Ce sont des récepteurs transmembranaires présents à la surface de la cellule ou des endosomes. Il en existe dix chez l'homme et ils reconnaissent une grande variété de PAMPs bactériens, fongiques, parasitaires et viraux.

-Les *NOD-like receptors* (NLR) sont une famille de plus de 20 récepteurs intracellulaires. Leur principal rôle est la détection des PAMPs cytoplasmiques et des signaux de danger.

-Les *RIG-I-like receptors* (RLR) sont une famille de trois récepteurs cytoplasmiques aux ARN viraux.

-Les *C-type lectin-like receptors* (CLR) sont une grande famille de récepteurs membranaires détectant des motifs hydrocarbonés (sucres) contenus principalement dans les parois fongiques. (figure 8) (3) (6)

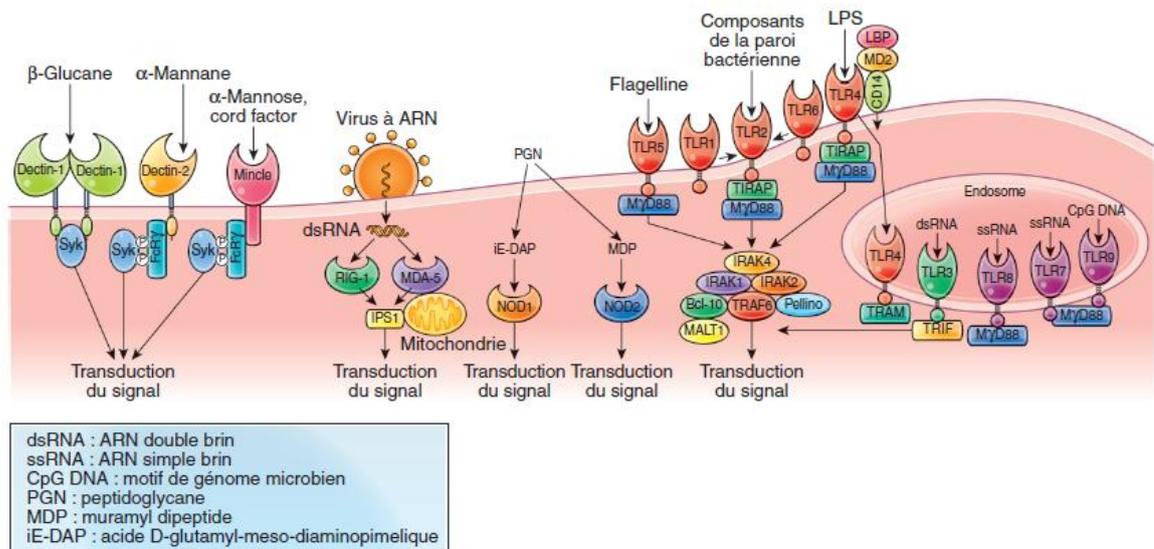


Figure 8: Principaux récepteurs de l'immunité innée. (3)

❖ Cellule présentatrice de l'antigène :

Dans l'intestin, les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) sont présentes dans la *lamina propria*. On les distingue classiquement en cellules dendritiques et en macrophages. Parmi les fonctions principales des cellules dendritiques intestinales résidentes, on peut noter l'échantillonnage des antigènes luminaux (via des dendrites étendues entre les cellules épithéliales). Ces cellules jouent le rôle d'intermédiaire entre immunité innée et immunité adaptative. (3)

c) Immunité adaptative

❖ Capture des antigènes de la lumière intestinale :

Les antigènes de la lumière intestinale peuvent être capturés de trois manières différentes :

- par les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés.

- par les cellules dendritiques émettant des prolongements dans la lumière intestinale.
- directement par les cellules épithéliales.

Les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés constituent les sites inducteurs majeurs de l'immunité adaptative intestinale. Leur épithélium particulier comporte des cellules épithéliales dédifférenciées appelées cellules M présentant de nombreuses microvésicules et une forme particulière leur permettant un contact étroit avec des cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes au niveau de leur membrane basale. Ces cellules captent de façon sélective les microparticules, souvent antigéniques, qui parviennent à leur contact. Elles leur font traverser leur cytoplasme sous forme de vésicules (d'où l'aspect vacuolé de ces cellules) et les libèrent dans le microenvironnement immunocompétent sur lequel elles reposent. Les cellules lymphoïdes naïves T et B sont ainsi informées et sélectionnées, les cellules B prolifèrent et constituent le centre germinatif des nodules solitaires ou les plus nombreux centres germinatifs des plaques de Peyer. Les ganglions mésentériques de voisinage peuvent aussi contribuer à cette réponse immunitaire spécifique.

Un sous-type de cellules dendritiques est capable de détecter les antigènes directement dans la lumière intestinale par des dendrites étendues dans la lumière, entre les cellules épithéliales. Ces cellules migrent ensuite vers les ganglions mésentériques de voisinage.

Bien que cela représente une voie plus minoritaire, les cellules épithéliales peuvent aussi capter les antigènes et même les présenter directement aux lymphocytes par une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de type II.

❖ Réponse adaptative B :

Les lymphocytes B produits dans un nodule lymphoïde isolé, une plaque de Peyer ou un ganglion mésentérique quittent ces structures par le système lymphatique efférent qui les draine, puis gagnent la circulation lymphatique et se déversent par le canal thoracique dans la circulation systémique. Ces lymphocytes B activés colonisent alors tous les territoires muqueux, par voie sanguine, en quittant la circulation périphérique au niveau des veinules postcapillaires particulières qui irriguent ces tissus. Ces veinules à haut endothélium ou HEV (high endothelial venules) captent les cellules de par leurs propriétés d'adhésion spécifiques et leur permettent de gagner la *lamina propria*. Les lymphocytes B activés quelques heures auparavant au contact de l'antigène terminent à ce niveau leur différenciation en plasmocytes et produisent des immunoglobulines A (IgA) spécifiques de cet antigène. Les IgA sécrétoires présentent la particularité de résulter de la combinaison d'IgA dimériques (deux molécules d'IgA et une pièce de jonction ou pièce J) synthétisées par les plasmocytes de la *lamina propria* des muqueuses et de la pièce sécrétoire (encore appelée récepteur d'Ig polymériques) élaborée dans les cellules épithéliales. Leur association se fait lors d'un phénomène de transcytose dirigée permettant aux IgA

dimériques captées par la pièce sécrétoire au niveau basolatéral des cellules épithéliales, d'être internalisées et libérées au pôle apical sous forme d'IgA sécrétoires complètes (figure 9). En tapissant la surface des muqueuses, elles peuvent capter les antigènes et empêcher leur entrée dans le tissu sous-jacent.

❖ Réponse adaptative T :

Après présentation des antigènes par les CPA aux lymphocytes T résidents (principalement CD4+) de la lamina propria, les lymphocytes T sont activés. En fonction de l'environnement inflammatoire (notamment la présence de cytokines), les lymphocytes T naifs prendront un phénotype pro-inflammatoire (ou effecteur) ou anti-inflammatoire (ou régulateur). Les cellules dendritiques ont un rôle majeur dans cette phase car elles vont intégrer l'ensemble des paramètres environnementaux et génétiques qui vont conduire à la réponse T. Parmi ces paramètres, des signaux d'induction de la tolérance peuvent provenir des cellules épithéliales et mésenchymateuses (par exemple TGF- β , IL-10, TSLP) ou des signaux pro-inflammatoires (de danger) provenant des différents types cellulaires présents (par exemple TNF- α , IL-8, IL-12, IL-6). En fonction de cet environnement, la réponse T sera soit effectrice, soit régulatrice.

Schématiquement, on distingue trois types de lymphocytes T effecteurs (figure 10) :

- les Th1 qui dépendent de la présence d'IL-12 et d'IFN- γ , des facteurs de transcription Stat1, Stat4 et Tbet, qui synthétisent de l'IL-2 et de l'IFN- γ et qui sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes intracellulaires.
 - les Th2 qui dépendent de la présence d'IL-4, des facteurs de transcription Stat6 et Gata3, qui synthétisent de l'IL-4, IL-5 et IL-13 et qui sont impliqués dans la réponse aux infections parasitaires
 - les Th17 qui dépendent de la présence d'IL-6, de TGF- β et d'IL-23, des facteurs de transcription Stat3 et ROR- γ t, qui synthétisent de l'IL-17 et de l'IL-6 et qui sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes extracellulaires et fongiques.
- (3)

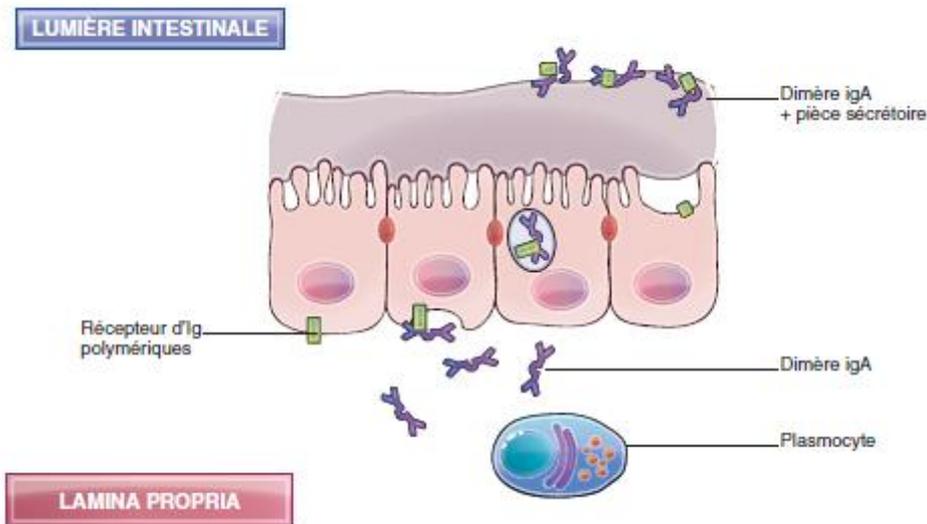


Figure 9: Transcytose des immunoglobines A. (3)

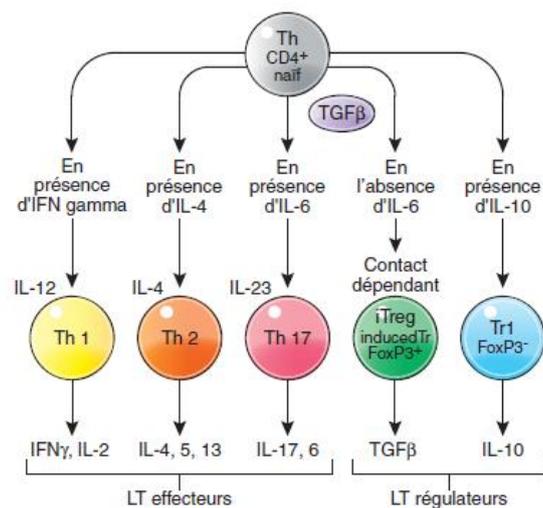


Figure 10: Lymphocytes T effecteurs et régulateurs: différenciation et production cytokiniques. (3)

Il existe deux types principaux de lymphocytes T régulateurs dans l'intestin (figure 10) :

- les T régulateurs induits (iTreg) qui dépendent de la présence de TGF- β (en l'absence d'IL-6), du facteur de transcription FoxP3, qui synthétisent du TGF- β .
- les T régulateurs 1 (Tr1) qui dépendent de la présence d'IL-10 et qui synthétisent de l'IL-10.

❖ Autres cellules immunes intestinales :

Les lymphocytes T intraépithéliaux ou IEL (intraépithélial lymphocytes) sont des cellules particulières des muqueuses. Elles sont au contact direct des cellules épithéliales, réparties le long des muqueuses à raison d'environ un IEL toutes les 10 à 20 cellules épithéliales dans l'intestin grêle. Contrairement à la majorité des lymphocytes T de la *lamina propria*, les IEL expriment le marqueur CD8+. Elles ont une activité cytotoxique et sont capables de produire des cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN- γ . Les cellules lymphoïdes innées ont été récemment identifiées. Elles ont certaines caractéristiques communes avec les lymphocytes T effecteurs, mais n'ont pas de récepteur T et ne sont donc pas spécifiques d'un antigène. Il en existe plusieurs sous-types, correspondant à plusieurs profils de sécrétion cytokiniques. Ces cellules joueraient un rôle important dans la défense contre les infections et le maintien de l'homéostasie intestinale. (3)

B. Les bifides

1. Caractéristiques générales du genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* est un membre de la famille des bifidobacteriaceae, appartenant au phylum des actinobactéries. Les bifidobactéries sont des microorganismes à Gram + à forte teneur en ADN G + C, qui ont d'abord été isolées des fèces d'un nourrisson nourri au sein par Tissier en 1899, puis nommées *bacillus bifidus*.

Cependant, en raison de leurs caractéristiques morphologiques et physiologiques, qui sont similaires à celles des lactobacilles, ils ont été classés comme membres du genre *Lactobacillus*, pendant la plus grande partie du 20ème siècle et seulement à partir de 1974 ont été reconnus comme un genre distinct.

Actuellement, le genre *Bifidobacterium* est composé de 48 taxons différents, dont 40 ont été isolés du contenu du tractus gastro-intestinal (TGI) de mammifères, d'oiseaux ou d'insectes, tandis que les huit restants proviennent des eaux usées et du lait fermenté.

En outre, deux taxons bifidobactériens, à savoir, *Bifidobacterium crudilactis* et *Bifidobacterium mongoliense* ont été isolés à partir de fromage au lait cru. En tenant compte de leurs différentes niches écologiques et en combinant ces informations avec une analyse comparative de leurs séquences d'ARNr 16S, ainsi qu'avec d'autres gènes d'entretien, les différents taxons de bifidobactéries peuvent être regroupés en six groupes phylogénétiques désignés par : *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium asteroides*, *Bifidobacterium boum-*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium pullorum* et *Bifidobacterium pseudolongum*. (Figure 11).

L'espèce *Bifidobacterium bifidum* ne correspond à aucun de ces groupes phlogénétiques mentionnés ci-dessus : Celui-ci contient des caractéristiques génétiques uniques et spécifiques (7) .

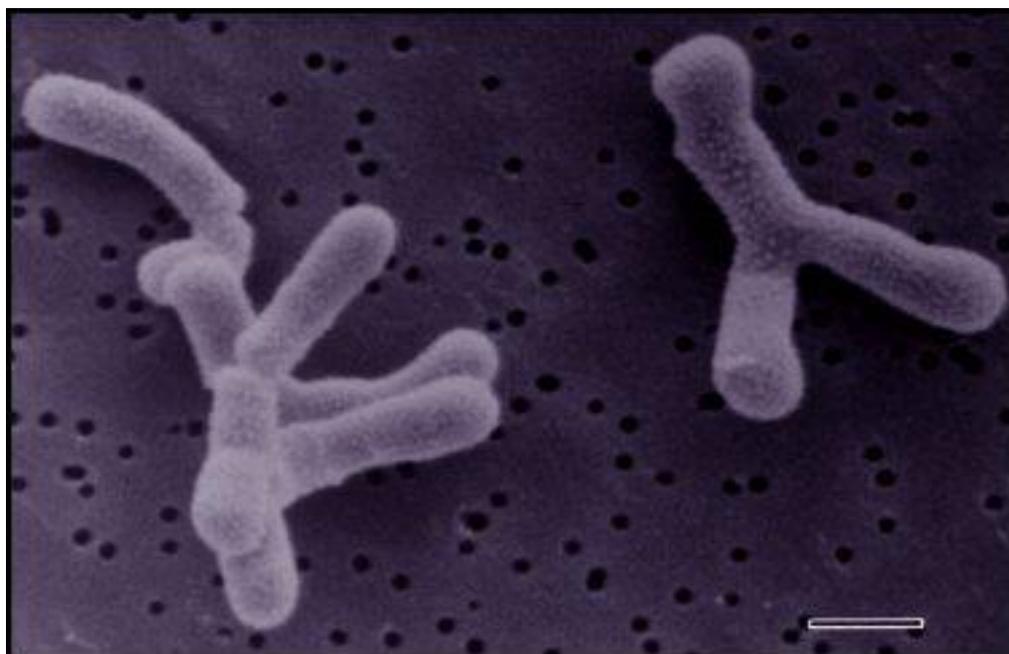


Figure 11: Photographie d'un bifide : *Bifidobacterium adolescentis* (8)

2. Caractéristiques générales de la bifidobactérie

Ce sont des bacilles à Gram positif, asporogènes, immobiles se présentant sous forme de bâtonnets incurvés aux contours irréguliers et ondulés (en forme de Y). Leurs extrémités sont effilées, bifurquées ou spatulées. Ce sont des bactéries anaérobies strictes. Elles se développent sur un grand nombre de milieux et nécessitent l'addition d'un agent réducteur tel que le chlorhydrate de cystéine. Ce sont des germes acidophiles, qui se développent à pH 5 ou 6. La température optimale de croissance est 39°- 40°C.

La fructose-6-phosphate phosphocétolase (F6PPK) définit actuellement le genre. **(Se référer à la partie III – p.34)**

3. Ecologie bifidobactérienne

Les bifidobactéries ont été isolées dans six niches écologiques différentes. Les bifidobactéries sont largement distribuées parmi les animaux dont les progénitures bénéficient de soins parentaux, tels que les mammifères, les oiseaux, les insectes sociaux. Bien que les bifidobactéries soient communément présentes dans l'intestin

des animaux, ces micro-organismes ont également été trouvés dans d'autres niches écologiques: sang humain, eaux usées et produits alimentaires. Ces niches écologiques atypiques sont assez différentes de celles de l'intestin humain, et il est possible que l'identification des bifidobactéries dans ces milieux soit la conséquence de contaminations de l'intestin humain. Notamment, les bifidobactéries qui appartenant à l'espèce *B. animalis*, *B. adolescentis*, *B. dentium* et *B. catenulatum* qui affichent un style de vie plus cosmopolitain.

B. bifidum, *B. breve* et *B. longum* sont spécifiquement identifiés dans l'intestin humain et se sont avérés représenter une partie des membres bactériens dominants du microbiote intestinal des nourrissons allaités. (7)

4. Population bifidobactérienne dans l'intestin selon l'âge

Les populations de bifidobactéries sont le genre le plus abondant dans l'intestin du nourrisson.

A l'âge adulte, les niveaux diminuent considérablement mais restent relativement stables, diminuant à nouveau durant la vieillesse. (figure 11) (9)

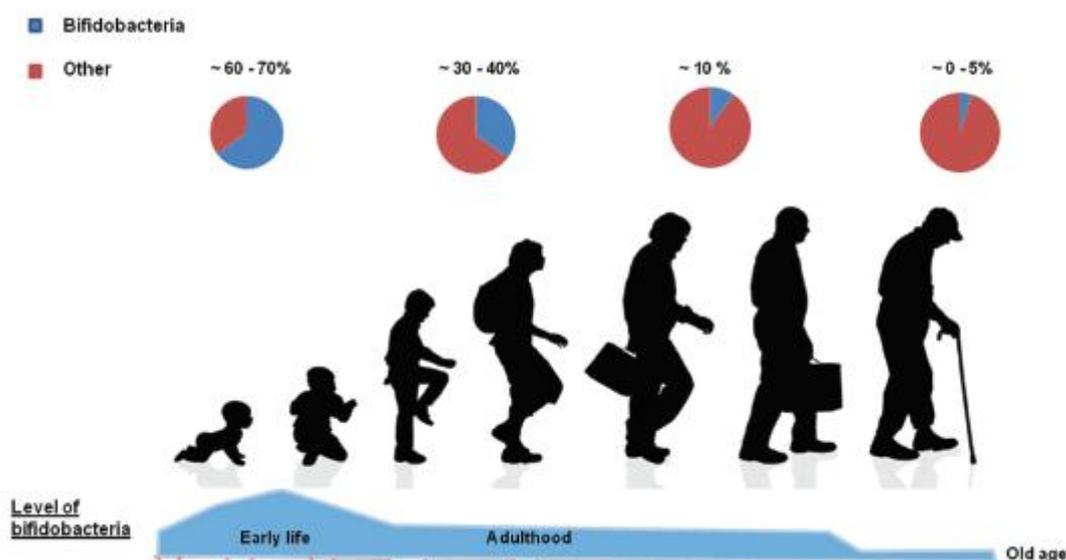


Figure 12: Variation du taux de bifides selon l'âge. (8)

En termes d'espèces, *B. longum*, *B. breve* et *B. bifidum* sont les espèces les plus abondantes chez les nourrissons. (7) A l'âge adulte, on observe des niveaux plus élevés de *B. adolescentis*, *B. catenulatum* suivi de *B. longum*. (9) (Tableau 1)

B. longum est l'espèce la plus abondante au cours de la vie dans l'intestin humain.

(A) Human population	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Techniques	Reference
Infants			
Breast-fed, 22–24 days of age	<i>B. breve</i> ^a <i>B. longum</i> ssp. <i>longum</i> , <i>B. longum</i> ssp. <i>infantis</i> ^b	PCR	Matsuki et al., 1999
Breast- and Formula fed, 28–90 days of age	<i>B. longum</i> ssp. <i>infantis</i> <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> ssp. <i>longum</i>	PCR	Haarman and Knol, 2005
Breast-fed, 1 month of age	<i>B. longum</i> <i>B. bifidum</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. breve</i>	PCR	Grönlund et al., 2007
Breast-fed, 3–6 weeks of age	<i>B. breve</i> <i>B. longum</i> ssp. <i>longum</i> , <i>B. longum</i> ssp. <i>infantis</i>	PCR	Mikami et al., 2009
Full-term, 1 month of age	<i>B. longum</i>	q-PCR	Grzeskowiak et al., 2015
Preterm, CS, 1 month of age	<i>B. longum</i> , <i>B. lactis</i>		
Preterm, Vaginal, 1 month of age	<i>B. longum</i> , <i>B. bifidum</i>		
Twins, 1 month of age	<i>B. breve</i>	16S Metagenomics	Murphy et al., 2015
Fraternal Infant, 1 month of age	<i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> <i>B. dentium</i> , <i>B. adolescentis</i>		
Adults			
23–54 years old, Japanese	<i>B. catenulatum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. adolescentis</i>	PCR	Matsuki et al., 1999
25–59 years old, Japanese	<i>B. longum</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. catenulatum</i>	q-PCR	Matsuki et al., 2004
≤57 years old, Russian	<i>B. adolescentis</i>	MALDI-TOF	Chaplin et al., 2015
20–40 years old, Finnish	<i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i>	q-PCR	Guelmonde et al., 2007
18–39 years old, lean subjects (BMI = 19.83 ± 0.94 kg/m ²)	<i>B. longum</i>	q-PCR	Mayorga Reyes et al., 2016
Elderly			
69–89 years old, French	<i>B. adolescentis</i> <i>B. longum</i>	DNA–DNA hybridization	Gavini et al., 2001
67–75 years old, Scottish	<i>B. angulatum</i> <i>B. longum</i>	Culture-based analyses	Woodmansey et al., 2004
>70 years old, Finnish	<i>B. catenulatum</i> <i>B. longum</i> , <i>B. bifidum</i>	q-PCR	Guelmonde et al., 2007
77–95 years old, Spanish	<i>B. longum</i> <i>B. bifidum</i> , <i>B. pseudocatenulatum</i>	q-PCR	Salazar et al., 2013
Centenaries			
100–104 years old, Italian	<i>B. longum</i> <i>B. adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i>	Culture-based analyses	Drago et al., 2012
80–108 years old, Chinese	<i>B. dentium</i> <i>B. longum</i>	q-PCR	Wang et al., 2015

Tableau 1: Distribution des espèces les plus abondantes des bifidobactéries dans l'intestin humain à différents stades de la vie. (8)

III) Les Bifides chez l'Homme

A. Capacités métaboliques des bifides

1. Métabolisme glucidique bifidobactérien

Le génome humain est supposé coder huit glycosyl hydrolases (GH) directement liées à la digestion des glucides. Par conséquent, de nombreux glucides complexes de la diète demeurent non digérés et se retrouvent dans le côlon où ils sont souvent dégradés par les membres du microbiote.

L'abondance et la composition du microbiote intestinal dépendent (entre autres) du

régime alimentaire de son hôte et les membres du microbiote ont développé des mécanismes efficaces pour utiliser les nutriments disponibles.

Les sucres digestibles et simples tels que le lactose et le saccharose sont métabolisés dans l'intestin supérieur par l'hôte et par des bactéries telles que les lactobacilles, habitants prédominants de l'intestin supérieur. Un ensemble divers de glucides non digestibles sont métabolisés dans l'intestin inférieur, y compris des polysaccharides complexes dérivés des plantes, des glucides dérivés de l'hôte (tels que la mucine et les glycosphingolipides) et des polysaccharides extracellulaires produits par des membres du microbiote intestinal.

En moyenne, plus de 12% des cadres de lecture ouverts annotés dans les génomes bifidobactériens sont prédits codant pour des enzymes impliquées dans le métabolisme des glucides. En fait, une étude récente réalisée sur les séquences génomiques des souches types de chacune des 48 (sous-) espèces de bifidobactéries a révélé que 5,5% des séquences codantes du génome bifidobactérien de bas sont associées au métabolisme glucidique. Les bifidobactéries présentes dans l'intestin de l'enfant sont présumées métaboliser les oligosaccharides du lait humain (HMO). Les génomes de *B. bifidum* et de *B. longum subsp. infantis* sont en effet adaptés au métabolisme HMO.

B. breve et *B. longum subsp. longum*, bien que ne codant pas le même arsenal catabolique HMO trouvé dans *B. bifidum* et *B. longum subsp. infantis*, peuvent cependant dégrader certaines HMO et peuvent également se débarrasser des glucides libérés par d'autres bactéries.

Après le sevrage, la composition de la population bifidobactérienne évolue vers des espèces capables de s'adapter au métabolisme des sucres dérivés de plantes. Par exemple, *B. longum susp. longum* et *B. adolescentis* peuvent utiliser de tels glucides dérivés de l'alimentation, tandis que *B. bifidum* peut déplacer ses capacités métaboliques HMO vers la dégradation de la mucine.

Les bifidobactéries manquent d'un certain nombre d'enzymes-clés impliquées dans les voies Emden-Meyerhof Parnas (EMP) (=glycolyse). Les bifidobactéries métabolisent les sucres hexoses par une voie métabolique appelée «**shunt bifide**» qui est centrée autour de l'enzyme clé, la fructose-6-phosphocétolase (F6PPK) (Figure 12).

En outre, l'action d'enzymes supplémentaires permet de canaliser une variété de sources de carbone à travers cette voie. La fermentation à travers le shunt bifide est très avantageuse pour les bifidobactéries car cette voie permet la production d'une plus grande quantité d'énergie à partir des glucides par rapport à celle produite par la voie de fermentation EMP. Cette voie aboutit en théorie à la formation de 3 molécules d'acétate et de 2 molécules de lactate. (10) (Figure 13)

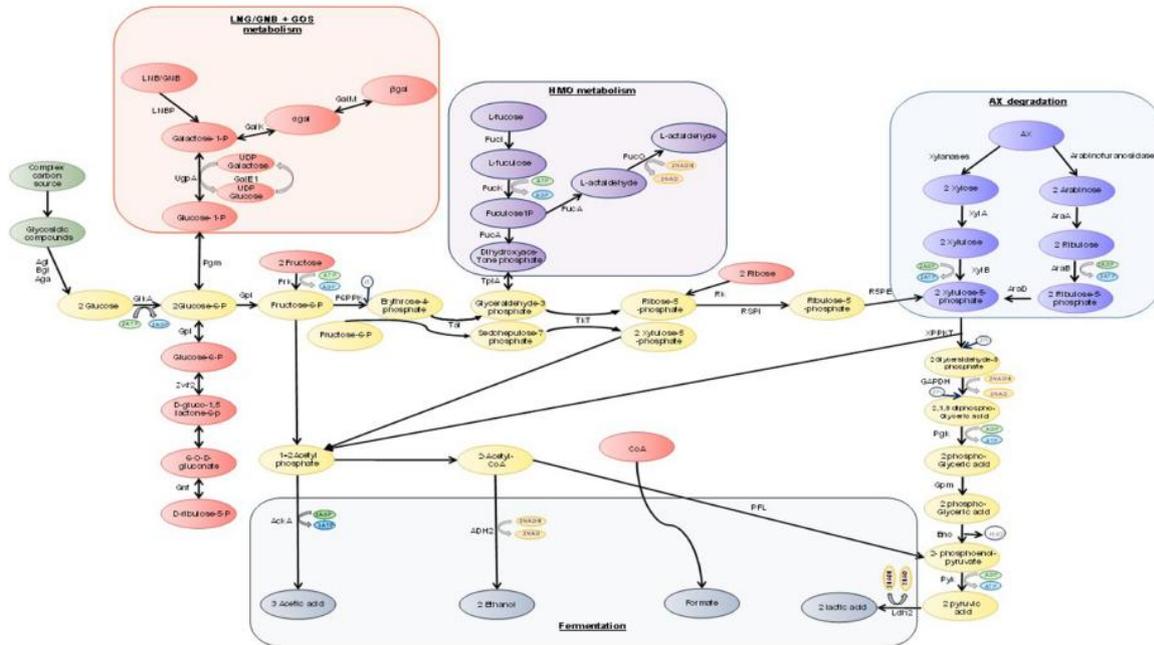


Figure 13: Schéma représentatif de la dégradation des carbohydrates par le "bifid shunt" des bifidobactéries. (9)

2. Stratégies d'absorption des glucides par les bifidobactéries

Les bifidobactéries internalisent les hydrates de carbone par des transporteurs ABC dépendants de l'ATP, des symporteurs protoniques ou des systèmes phosphénolpyruvate-phosphotransférase (PEP-PTS).

-Les transporteurs ABC couplent l'hydrolyse de l'ATP à l'internalisation efficace des sucres et semblent représenter les principaux systèmes de transport des hydrates de Carbone pour les bifidobactéries.

-Les systèmes PEP-PTS permettent le transport concomitant et la phosphorylation des hydrates de carbone. Ils peuvent également être impliqués dans la régulation de diverses voies métaboliques. Le composant PTS du système est impliqué dans l'internalisation et la phosphorylation concomitante des hydrates de carbone, tandis que le PEP agit comme donneur de phosphate (indirect) au glucide receveur. Ces systèmes sont présents dans de nombreuses bactéries et ont également été identifiés dans la plupart des génomes bifidobactériens. L'action du PEP-PTS a été démontrée expérimentalement chez les bifidobactéries où un système PEP-PTS de *B. breve* UCC2003 s'est avéré impliqué dans l'internalisation du glucose. Depuis lors, un certain nombre de systèmes PEP-PTS ont été identifiés et étudiés chez d'autres espèces bifidobactériennes.

B. longum subsp. longum DJO10A et NCC2705 sont connus pour représenter 10 et 13 transporteurs ABC différents, respectivement, responsables de l'absorption des glucides, alors qu'ils codent chacun un seul système PEP-PTS spécifique au glucose.

L'analyse de la séquence du génome de *B. bifidum* PRL2010 a révélé que cette souche code deux transporteurs ABC, quatre systèmes PEP-PTS et quatre transporteurs secondaires qui sont attendus pour le transport de mono et disaccharides.

L'analyse transcriptionnelle a révélé qu'un transporteur ABC et deux des systèmes PEP-PTS sont associés à l'internalisation des produits de dégradation des glycanes dérivés de l'hôte, en particulier ceux qui se trouvent dans la mucine. Les transporteurs ABC identifiés dans *B. bifidum* PRL2010 se sont avérés être liés à l'absorption de monosaccharides tels que le turanose.

B. breve UCC2003 est également prévu pour coder quatre systèmes PEP-PTS et il a été montré expérimentalement qu'un système dans *B. breve* UCC2003 est un système de capture de fructose / glucose inductible par le fructose. Cependant, *B. breve* UCC2003 emploie typiquement des transporteurs de type ABC pour l'absorption de glucides. (10)

3. Le mécanisme d'alimentation croisé bifidobactérien

Plusieurs études ont suivi l'impact sur le microbiote intestinal de l'alimentation croisée bifidobactérienne en hydrates de carbone.

On a démontré que certains membres de la communauté bifidobactérienne peuvent coopérer afin de dégrader, en plus des sucres simples, des polysaccharides volumineux et complexes qui seront à leur tour disponible pour d'autres membres du microbiote intestinal. Ceci a été démontré pour les polysaccharides dérivés de plantes et également pour les hydrates de carbone dérivés de l'hôte tels que la mucine. Les souches bifidobactériennes ont eu une influence supplémentaire sur la production d'AGCC.

Les activités d'alimentation croisée dans l'intestin sont généralement réalisées par des agents de dégradation primaires tels que les bifidobactéries et sont facilitées par une hydrolyse extracellulaire partielle de carbohydrates complexes spécifiques qui fournissent des glycanes à d'autres habitants intestinaux microbiens. Le métabolisme fermentatif successif de ces hydrates de carbone génère des métabolites terminaux, tels que l'acétate et le lactate, qui peuvent servir de substrats pour les dégradations secondaires comme les bactéries coliques productrices de butyrate. (11)

A titre d'exemple, *B. bifidum* PRL2010 est une souche spécialisée dans la dégradation extracellulaire des glycanes hôtes et, par conséquent, dans la libération de sucres simples qui peuvent être utilisés par d'autres membres de la communauté

bifidobactérienne. Le métabolisme fermentatif ultérieur de ces hydrates de carbone génère des métabolites terminaux, tels que l'acétate et le lactate, qui sont les principaux produits finaux du catabolisme des bifidobactéries. L'acétate libéré dans l'intestin par les bifidobactéries est utilisé comme substrat pour d'autres fermenteurs microbiens de l'intestin, principalement les producteurs de butyrate et de propionate.

Il a été démontré que la production de ces deux principaux métabolites d'acides gras à chaîne courte a des effets anti-inflammatoires, favorise et régule le pool de cellules Treg du côlon. (12)

4. Contrôle du métabolisme bifidobactérien des glucides

La répression catabolique du carbone (RCC) est un système de régulation présent dans de nombreuses bactéries dans lesquelles l'expression ou l'activité des protéines impliquées dans l'utilisation ou l'absorption des sources de carbone disponibles est inhibée par la présence d'une source de carbone préférée. Il existe des preuves qu'un mécanisme de RCC opère dans les bifidobactéries, bien qu'aucun système de régulation de type RCC n'ait encore été décrit pour aucun des membres de ce genre.

Le premier rapport sur le métabolisme du RCC chez les bifidobactéries était dans *B. animalis subsp.lactis*. Cette étude a rapporté une induction dans les activités métabolisant le saccharose lorsque cette souche était cultivée sur du saccharose, du raffinose ou de l'oligofructose, alors qu'une répression dans les mêmes activités métaboliques était rapportée pour la croissance sur glucose.

Un RCC inverse apparent a été rapporté pour *B. longum* NCC2705, on a remarqué que le transport de glucose a été réprimé lorsque le lactose était présent dans le milieu de croissance.

Il existe deux rapports distincts sur la réglementation de type RCC dans *B. breve* UCC2003. La première étude a rapporté que la transcription de l'opéron RBS, responsable du métabolisme du ribose, est induite quand *B. breve* UCC2003 est cultivée sur ribose, alors que la transcription de cet opéron n'est pas induite (ou réprimée) lorsque la souche est cultivée sur ribose et glucose.

La deuxième étude sur *B. breve* UCC2003 a démontré que lorsqu'elle est cultivée sur saccharose ou Actilight (une source commerciale de FOS à chaîne courte), la transcription de l'opéron FOS, qui est impliqué dans le métabolisme du FOS, est induite. Cependant, cet opéron n'a pas été induit lorsque *B. breve* UCC2003 est cultivé sur une combinaison de saccharose et de glucose, ou de saccharose et de fructose. (10)

B. Caractéristiques physiologiques des Bifides

1. Capacité d'adhérence à l'épithélium intestinal et colonisation

L'adhésion à la muqueuse intestinale (et surtout au mucus) est un besoin primordial pour la bactérie afin qu'elle puisse exercer ses effets. Cela peut être réalisé par différents mécanismes exploitant les glycanes de surface de la cellule hôte et des récepteurs aux lectines, des polysaccharides et des capsules bactériennes. (Figure 13) (12)

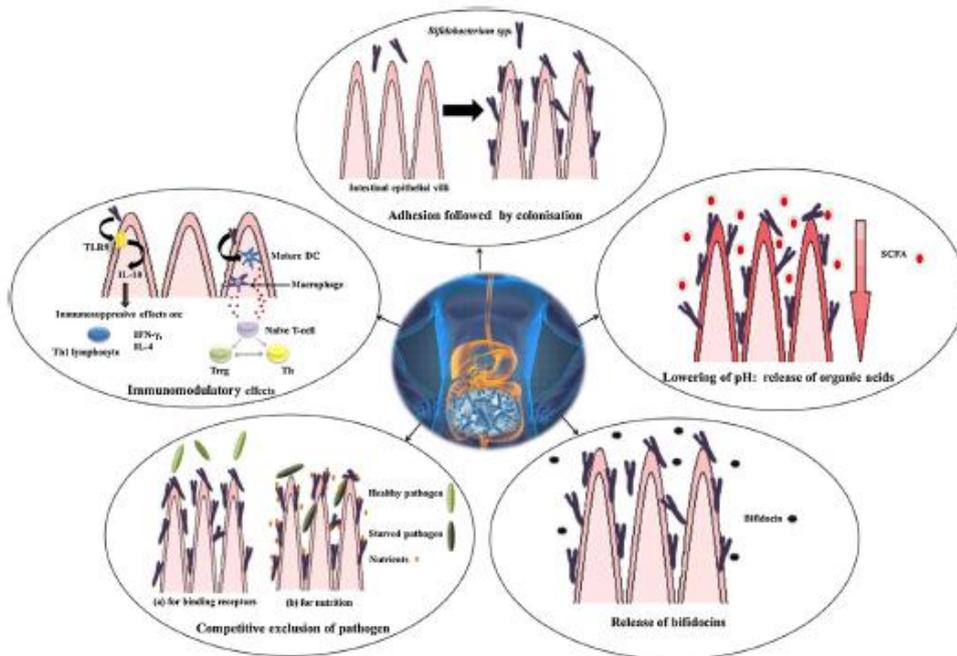


Figure 14: Représentation schématique du mécanisme de protection des bifidobactéries contre l'invasion pathogène et l'immunomodulation dans l'épithélium intestinal de l'hôte. (12)

2. Production de métabolites et abaissement du pH

Le métabolisme des constituants diététiques par les bifides peut générer des molécules ayant une importance physiologique. Les enzymes telles que la β -glucosidase, la galactosidase et la fructofuranosidase impliquées dans la cassure des composés d'hydrate de carbone des résidus alimentaires ont été reportées pour être exprimées par des souches probiotiques dans l'intestin. Les métabolites produits par fermentation tels que des acides gras à chaîne courte, des acides gras polyinsaturés, du peroxyde d'hydrogène, des diacétyles et dioxyde de carbone sont connus pour exercer un effet inhibiteur sur la croissance des pathogènes. Les acides

gras à chaînes courtes et d'autres acides organiques jouent un rôle clé dans la réduction du pH intestinal, dans la prévention et la colonisation des pathogènes sensibles à l'acide. Les acides gras à chaînes longues ont des propriétés anti-carcinogène, anti-inflammatoire et anti-diabétique.

Ainsi la fermentation des composés d'hydrate de carbone des résidus alimentaires par les bifidobactéries a un rôle bénéfique sur la santé. (12)

3. Libération de bactériocines

L'un des mécanismes populaires de l'effet probiotique des bifidobactéries est la libération de composés connus sous le nom de bactériocines et plus spécifiquement bifidocines. Ces composés présentent généralement une activité de large portée contre certaines espèces des genres *Bacillus*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Shigella*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*. Il s'agit le plus souvent de peptides anti-microbiens.

Les bactériocines favorisent l'activité anti-microbienne par la formation/perméabilisation de pores conduisant à la lyse cellulaire et empêchant la biosynthèse de la paroi cellulaire. (12)

4. Amélioration de la barrière épithéliale

Le tractus gastro-intestinal humain est recouvert d'un revêtement épithélial décoré d'une couche de villosités productrices qui isole l'intérieur du corps de l'environnement externe. L'espace entre les deux est scellé par des jonctions serrées qui régulent les protéines trans-membranaires et le cytosquelette d'actine. Les jonctions épithéliales dynamiques mais étroites entre les villosités empêchent l'entrée d'agents pathogènes et de métabolites indésirables dans la circulation sanguine tout en permettant à des éléments nutritifs essentiels de passer à travers cette barrière. Cependant, certains pathogènes comme *Vibrio cholerae* et *Clostridium perfringens* libèrent des toxines endogènes, augmentant la perméabilité des jonctions épithéliales. Cela conduit souvent à des troubles chroniques graves connus sous le nom de syndrome de l'intestin irritable ; ces symptômes comprennent l'inflammation et l'irritation permettant l'afflux ininterrompu de toxines pathogènes dans la circulation sanguine compromettant le système endocrinien et lymphatique.

Les invasions de pathogènes, les toxines, les cytokines pro-inflammatoires, les médiateurs inflammatoires, les mastocytes, les conditions diététiques, le stress oxydatif et la production de peroxyde d'hydrogène sont des facteurs contribuant à l'abaissement de la fonction de barrière épithéliale de l'intestin humain. Les bifidobactéries en tant que probiotiques renforcent la barrière intestinale de plusieurs façons. Ils stimulent la sécrétion de mucus, une couche qui est constamment

remplacée, empêchant ainsi la forte adhésion des agents pathogènes. Les mesures de résistance électrique transépithéliale montrent une prévention de la perturbation médiée par le TNF-alpha de la barrière épithéliale par certaines espèces de bifidobactéries. L'amélioration de la barrière avec augmentation de la fonction de jonction serrée est également attribuée à la modulation des protéines trans-membranaires des jonctions serrées. (12)

5. Effets immunomodulateurs

La plupart des molécules de signalisation bioactives immunomodulatrices des probiotiques sont des motifs moléculaires associées aux microbes (MAMPS) qui interagissent avec les récepteurs de reconnaissance de motifs de l'hôte trans-membranaires (PRR) comme les récepteurs de type toll-like-receptor (TLRs). Le mécanisme exact de l'interaction chez les bifidobactéries est encore largement inconnu, mais peut être médié par le domaine CHAP de TgaA ou par la cartographie MAMP-TLR2. (12)

Se référer au mécanisme d'action des probiotiques pour les exemples in vitro page 52.

6. Exclusion concurrentielle des pathogènes

Le microbiote intestinal est un environnement naturel hébergeant une collection diverse de microbes. La clé de l'existence des espèces individuelles est l'espace pour la croissance, les sites de liaison aux récepteurs et l'accès aux ressources nutritionnelles dans le tractus gastro-intestinal. Par conséquent, la compétition entre les espèces détermine la composition homéostatique du microbiote intestinal.

Les bactéries probiotiques utilisent des mécanismes antagonistes spécifiques de la souche pour l'exclusion compétitive des agents pathogènes. Par exemple, *B. breve* CNCMI- 4035 se révèle présenter des effets inhibiteurs sur la croissance des bactéries entérotoxigènes (ETEC) et entérotoxigènes (EPEC), tandis que d'autres espèces ont été trouvées pour inhiber l'adhésion de pathogènes sur le mucus intestinal. Les interactions MAMP-PRR jouent un rôle clé dans l'association des agents pathogènes avec les épithéliums intestinaux. Les probiotiques expriment également des modèles moléculaires qui reconnaissent les mêmes récepteurs trans-membranaires que les agents pathogènes, bloquant ainsi les sites d'accès pathogène par exclusion compétitive et déplaçant parfois des pathogènes déjà attachés. La capacité des bifidobactéries à séquestrer efficacement le fer dans l'intestin est un mécanisme de compétition pour les nutriments, provoquant un manque de fer dans les bactéries EPEC. (12)

IV) Modification du taux de bifides : indicateur d'une dysbiose

A. De l'eubiose à la dysbiose :

Le microbiote intestinal « normal » et « équilibré », ou encore qualifié d'eubiose, est celui qui est présumé remplir toutes les conditions pour nous faire bénéficier de ses effets santé. (métabolisme, immunité, trophicité, effet barrière).

Malheureusement, dans un certain nombre de cas, on rencontre des microbiotes « déviants » ou dysbiose dont la résultante finale va aller de la simple dérégulation à la pathologie, concernant des maladies immunitaires, métaboliques ou dégénératives.

La dysbiose est le reflet d'un déséquilibre entre le microbiote et son hôte, faisant suite à des modifications de la composition de la flore bactérienne.

B. L'origine d'une dysbiose :

Le stress, une alimentation déséquilibrée, la prise d'antibiotiques ou de certains anti-inflammatoires, les modes d'accouchement et la période péri-natale sont des facteurs de déséquilibre du microbiote intestinal.

Lorsque la dysbiose est installée, elle peut entraîner différentes problématiques de santé :

-troubles fonctionnels intestinaux (ballonnements avec douleurs abdominales appelés colopathies, gastro-entérite ou diarrhées post-antibiotiques)

-allergies chez le jeune enfant.

-maladie inflammatoire de l'intestin (maladie de Crohn).

-fibromyalgie, syndrome de fatigue chronique.

-et plus récemment l'obésité et le diabète. (13)

Tous ces facteurs peuvent entraîner une modification du microbiote de façon plus ou moins durable : les bactéries néfastes peuvent devenir dominantes, les bactéries protectrices plus rares, la diversité microbienne moins riche.

C. Changement de la composition en bifidobactéries en cas de dysbiose

Étant donné l'utilisation généralisée des bifidobactéries comme probiotiques (que nous verrons dans la partie III), elles ont fait l'objet d'études approfondies et, par conséquent, la diversité ou les changements dans leur abondance relative ont été signalés dans plusieurs études.

1. L'obésité :

Affectant les enfants et les adultes, l'obésité est une maladie mondiale communément associée à une altération du microbiote. Certaines études ont montré des niveaux plus faibles de bifidobactéries, liées à une prévalence plus élevée d'entérobactéries ou de staphylocoques chez les enfants obèses. On a constaté que les femmes qui prennent du poids pendant la grossesse ont présenté des taux plus faibles de bifidobactéries que les femmes enceintes ayant un poids normal. Ces résultats sont corrélés avec les niveaux réduits de bifidobactéries chez les bébés dont la mère a pris un poids significatif pendant la grossesse. (9)

2. Maladies allergiques :

En termes de maladie allergique, on a observé des niveaux plus faibles de *Bifidobacterium* chez les patients souffrant d'asthme à long terme. La même étude a montré une prédominance de *B. adolescentis* chez les asthmatiques à court et à long terme, ceci en accord avec d'autres études antérieures. Cette espèce n'a été trouvée que chez les nourrissons de mères allergiques, qui présentaient des taux plus faibles de bifidobactéries dans leur lait maternel.

Une étude turque a décrit une différence statistique entre les niveaux accrus de *B. longum* chez les enfants en bonne santé (30,3 %) par rapport aux enfants ayant des mères allergiques (11.1%), suggérant que *B. longum* peut jouer un rôle bénéfique dans la maladie et peut donc être utile comme probiotique pour la prévention des pathologies allergiques. (9)

3. Maladies intestinales

a) Généralités

Différentes études ont porté sur la relation entre le microbiote intestinal et la pathogenèse du syndrome de l'intestin irritable, montrant que le microbiote intestinal est altéré et modifié chez ces patients, avec un taux de *Bifidobacterium* diminué.

- Une méta-analyse des effets aléatoires des études évaluant le taux de bifidobactéries a montré que les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) avaient une plus faible abondance de bifidobactéries dans l'intestin que le patient atteint de MICI en rémission. (14)

- Dans le microbiote intestinal des personnes âgées, lorsque l'on analyse l'impact de la diarrhée associée à *Clostridium difficile*, on décrit une réduction du nombre de bifidobactéries chez les personnes âgées souffrant de l'infection par rapport à un groupe témoin en bonne santé. (9)

- Une étude regroupant le résultat de chaque étude Pubmed a été réalisée afin de démontrer l'impact qu'avait la quantité des bifidobactéries et lactobacilles chez les patients souffrant du syndrome de l'intestin irritable. On a observé que l'abondance de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* diminuait chez les patients atteints du SII. (15)

On a également observé une diminution du nombre de bifidobactéries dans d'autres maladies comme la mucoviscidose, l'hépatite B et les deux types de diabète 1 et 2. (9)

Conclusion : Dans l'ensemble, il existe une tendance répétitive entre une baisse du nombre de bifidobactéries et une variété d'états pathologiques communs, suggérant un rôle des bifidobactéries dans la santé.

Pour cette thèse, nous nous intéresserons plus particulièrement aux pathologies intestinales telles que, la constipation, la diarrhée et le syndrome de l'intestin irritable.

b) Définitions des pathologies retrouvées lors d'un déficit en bifides au niveau intestinal :

Un taux de bifide élevé est indicateur d'une flore intestinale « en bonne santé ». Dans le cas où ceux-ci disparaissent, on observe l'apparition de certaines pathologies intestinales :

(1) La constipation :

La constipation est un symptôme qui correspond à une insatisfaction du malade lors de la défécation, due :

- soit à des selles peu fréquentes (moins de 3 selles hebdomadaires) ;
- soit à une difficulté pour exonérer ;
- soit aux deux.

Les difficultés pour exonérer peuvent se traduire par des efforts de poussée, une sensation de gêne au passage des selles ou d'évacuation incomplète, l'émission de selles dures, un temps d'exonération anormalement prolongé ou la nécessité de manœuvres digitales pour obtenir une vacuité rectale. Cette définition clinique est imprécise, car elle repose sur une association symptomatique et sur la perception subjective des malades, mais elle est plus pratique qu'une définition physiopathologique fondée sur une réduction du poids quotidien des selles, inapplicable en pratique clinique. Selon les critères internationaux (appelés critères de Rome), le caractère chronique de la constipation est défini par une durée d'évolution des symptômes supérieure à 6 mois. L'émission de selles liquides n'élimine pas une constipation, surtout si ces selles liquides précèdent ou suivent une période sans évacuation et/ou sont associées à l'élimination initiale d'un bouchon de selles dures (fausses diarrhées). Elle touche environ 15 à 20 % de la population, avec une prédominance féminine. (16)

(2) Les diarrhées :

Une diarrhée est définie par l'émission de selles trop fréquentes, trop abondantes, de consistance anormale (liquide ou très molle). En pratique clinique, on parle de diarrhée, selon l'OMS, lorsqu'il y a au moins trois selles très molles à liquides par jour. Une diarrhée est dite aiguë lorsqu'elle évolue depuis moins de 2 semaines, prolongée lorsqu'elle évolue depuis 2 à 4 semaines, chronique lorsqu'elle évolue depuis plus d'un mois. (17)

Certains traitements antibiotiques sont réputés pour être responsables de troubles digestifs, en particulier de diarrhées. La survenue de la diarrhée s'explique par un déséquilibre de l'écosystème bactérien intestinal lié à l'antibiothérapie. La prise d'un antibiotique entraîne une modification de la composition de la flore responsable de la perte de l'effet barrière. Le métabolisme bactérien se retrouve lui aussi modifié, provoquant une baisse des activités hydrolytiques et de la fermentation de la flore. (18)

La fréquence des diarrhées associées aux antibiotiques varie selon les molécules utilisées : plus l'antibiothérapie possède un spectre large, plus la durée de

l'antibiothérapie sera longue et plus le risque sera élevé. La survenue des diarrhées dépend également de l'individu : les sujets aux âges extrêmes de la vie et les personnes hospitalisées présentent un plus grand risque.

Les diarrhées osmotiques sont les plus fréquentes et surviennent en général quelques jours après le début de l'antibiothérapie. Mais elles peuvent se déclencher également suite à l'arrêt du traitement et ce, jusqu'à 6 semaines après. Elles régressent à l'issue du traitement. (17)

(3) Syndrome de l'intestin irritable :

Le syndrome de l'intestin irritable (SII) est le syndrome fonctionnel digestif le plus fréquent. Il touche environ 5% de la population française. Le diagnostic repose sur l'association de douleurs abdominales chroniques, de ballonnements et de troubles du transit. Il est défini selon les critères de Rome IV (tableau 2), avec des critères :

- de fréquence : au moins 1 jour par semaine sur les 3 derniers mois.
- de durée : depuis au moins 6 mois. (19)

Selon la forme et la consistance des selles, définies par l'échelle de Bristol (figure 14), il est possible d'identifier différents sous-groupes :

- diarrhée prédominante (SII-D).
- constipation prédominante (SII-C).
- mixte avec alternance de diarrhée et de constipation (SII-M).
- formes inclassées : SII non défini.

Alors qu'initialement le SII était considéré comme un trouble de la motricité digestive, les multiples travaux réalisés ces 20 dernières années ont clairement démontré qu'il s'agit d'un syndrome complexe associant à des degrés divers des troubles de la motricité digestive, une hypersensibilité viscérale, un état micro-inflammatoire de la muqueuse digestive voire systémique, une augmentation de la perméabilité digestive, des anomalies dans le contrôle de la douleur viscérale au niveau médullaire, des anomalies dans l'intégration de la douleur viscérale au niveau cortical, des facteurs psychosociaux, une dysbiose de la flore bactérienne colique, une augmentation de la flore digestive...

Toutes ces anomalies peuvent être plus ou moins associées mais elles se manifestent par une symptomatologie identique. Il n'existe donc pas une cible thérapeutique au cours du SII mais plusieurs cibles thérapeutiques potentielles. Mais ni la simple analyse des symptômes ni les examens complémentaires standards ne

permettent d'identifier le mécanisme physiopathologique responsable, donc de définir un profil de répondeur à un traitement ciblé. (20)

<p>Douleur abdominale récurrente survenant en moyenne au moins 1 jour par semaine dans les 3 derniers mois avec au moins 2 des critères suivant :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Associée à la défécation - Associée à une modification de la fréquence des selles - Associée à une modification de la consistance (aspect) des selles.
<p>Les sous-groupes se définissent en fonction de la consistance des selles selon l'échelle de Bristol * (voir Echelle de Bristol, annexe 2)</p>
<p>SII avec constipation prédominante (SII-C) : Bristol 1-2 \geq 25% du temps et Bristol 6-7 \leq 25% du temps</p>
<p>SII avec diarrhée prédominante (SII-D) : Bristol 6-7 \geq 25% du temps et Bristol 1-2 \leq 25% du temps.</p>
<p>SII avec alternance diarrhée-constipation (SII-M) : Bristol 1-2 25% du temps et Bristol 6-7 25% du temps.</p>
<p>SII non spécifié : absence de critères suffisants pour répondre aux critères du SII-C, SII-D ou SII-M.</p>

Tableau 2 : Critères de Rome IV. (19)

<i>Type 1</i>		Selles dures et morcelées (en billes) d'évacuation difficile
<i>Type 2</i>		Selles dures, moulées en saucisse et bosselées
<i>Type 3</i>		Selles dures, moulées en saucisse, à surface craquelée
<i>Type 4</i>		Selles molles mais moulées, en saucisse (ou serpentín)
<i>Type 5</i>		Selles molles morcelées, à bords nets et d'évacuation facile
<i>Type 6</i>		Selles molles morcelées, à bords déchiquetés
<i>Type 7</i>		Selles totalement liquides

Figure 15: Consistance des selles selon l'échelle de Bristol. (19)

V) Modulations nutritionnelles

Nous avons vu dans la partie IV, qu'il existe un nombre diminué de bifides dans certaines pathologies. Afin de remédier à cette situation, nous allons voir dans cette partie, que nous pouvons moduler et accroître cette population bifidobactérienne par l'apport de prébiotiques qui serviront de substrats aux bifides ainsi que par l'apport de bifides utilisés sous forme de probiotiques.

A. Les prébiotiques

1. Définition

Un prébiotique est un composé non digestible qui, par sa métabolisation par des micro-organismes dans l'intestin, module la composition et / ou l'activité du microbiote intestinal, conférant ainsi un effet physiologique bénéfique sur l'hôte. L'un des résultats de la fermentation des prébiotiques par le microbiote intestinal est la production d'AGCC tels que l'acétate, le butyrate et le propionate. (10)

2. Bifidobactéries et aliments fonctionnels

La production d'AGCC dans le tractus gastro-intestinal se traduit par un pH plus bas, une meilleure disponibilité du calcium et du magnésium ainsi qu'une inhibition des bactéries potentiellement pathogènes. Les bifidobactéries et les lactobacilles produisent de l'acétate, contribuant ainsi aux effets du prébiotique sur la santé, bien que ces deux micro-organismes ne produisent pas de butyrate et / ou de propionate.

En outre, une étude récente a démontré que l'acétate produit par *B. longum* NCC2705 agit comme un co-substrat essentiel pour la production de butyrate.

Les oligosaccharides non digestibles, typiquement obtenus à partir de carbohydrates complexes ou enzymatiques produits à partir de disaccharides, représentent un groupe de glycanes qui comprennent divers prébiotiques. Des exemples de ceux-ci sont le fructo-oligosaccharides (FOS) et les galacto-oligosaccharides (GOS), qui sont parmi les prébiotiques les mieux documentés et les plus couramment utilisés sur le marché européen et japonais.

Les effets des prébiotiques de FOS, GOS, inuline et lactulose ont été évalués dans des essais humains et un grand nombre d'études suggèrent que ces carbohydrates sont sélectionnés pour augmenter le nombre de bifidobactéries et diminuer le nombre de *E.coli* et entérocoques. (10)

B. Les probiotiques

1. Définition

Le terme « probiotique », issu des termes grecs « pros » et « bios », signifie « pour la vie ». Utilisé pour la première fois en 1965 par Daniel Lilly et Rosalie Stillwell, il désigne les « substances produites par les micro-organismes et qui favoriseraient la

croissance d'autres micro-organismes ». R.B. Parker modifie cette définition en 1974 pour y inclure les micro-organismes ainsi que les métabolites microbiens produits. Les probiotiques sont, selon lui, des « organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore ».

En 1989, Roy Fuller désigne un probiotique comme étant « un complément nutritionnel microbien vivant qui a un effet positif sur l'animal hôte en améliorant son équilibre intestinal ». Cette nouvelle description souligne la nature microbienne des probiotiques.

Plus récemment, un groupe d'experts européens a proposé une définition plus large qui regroupe « les micro-organismes ayant des mécanismes d'actions indépendants d'une modification de la microflore intestinale ». Pour ce groupe, les probiotiques sont des « micro-organismes ayant des mécanismes d'action indépendants d'une modification de la microflore intestinale ». Pour ce groupe, les probiotiques sont des « micro-organismes vivants qui, administrés en quantité adéquate, sont bénéfiques pour la santé de l'hôte ». Cette proposition de définition a été adoptée en 2001 par le groupe de travail mandaté par l'Organisation des Nations Unies pour l'agriculture et l'alimentation (FAO pour Food and Agriculture Organization of the United Nations) et par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). (17)

Les probiotiques sont constitués de bactéries ou de levures naturellement présents chez l'Homme, notamment au niveau de la flore digestive. Quatre grands groupes de micro-organismes probiotiques peuvent être distingués :

- Les bactéries lactiques (lactobacilles et coques), les plus représentées, qui fermentent les glucides pour induire la production d'acide lactique.
- Les bifidobactéries, qui dégradent le glucose en acide lactique et acétique.
- Les levures, qui proviennent de la souche *Saccharomyces cerevisiae var boulardii* et d'autres souches.

Les probiotiques peuvent être retrouvés dans l'alimentation (yaourts), les compléments alimentaires ou dans des médicaments.

Le concept de probiotique fait appel à 3 notions importantes :

-un probiotique est un micro-organisme vivant.

-un probiotique est ingéré par voie orale.

-un probiotique exerce un effet bénéfique : seules les bactéries connues par leur effets favorables devraient être retenues dans cette définition. (17)

2. Propriétés des probiotiques - garantie d'un complexe probiotique efficace :

Les probiotiques doivent répondre à des propriétés particulières pour être efficaces :

- Identification de la souche : toutes les souches probiotiques n'ont pas les mêmes effets sur la santé. Les effets bénéfiques d'une souche ou d'une association de souches lui sont propres et ne peuvent pas être extrapolés à une autre souche même de genre identique. Les effets observés dépendent des souches probiotiques utilisées. Les résultats ne peuvent donc pas être extrapolés d'une souche ou d'un mélange de souche à l'autre et il ne faut pas généraliser les effets d'un produit à l'autre. La démonstration de l'efficacité de chaque produit contenant des probiotiques passe impérativement par des essais randomisés en double aveugle contre placebo sur des échantillons représentatifs de la population ciblée. De plus, l'étude doit être réalisée avec le produit pour lequel une allégation est revendiquée afin de prendre en compte et l'effet souche ou structure-dépendant et l'effet de la matrice alimentaire. Ainsi, selon le rapport de l'Afssa établi en 2005, les allégations attribuées à une souche par un fournisseur ne peuvent être utilisées dans le cas où la souche est commercialisée dans un produit fini présentant une matrice différente. A titre d'exemple, les effets mis en évidence pour une souche probiotique consommée sous forme lyophilisée ne le seront plus si la souche est consommée sous forme de lait fermenté et vice versa. (21)

- Effet dose : le bénéfice santé mis en évidence avec une quantité précise de probiotiques ne le sera pas pour une quantité inférieure. Il est par conséquent important de considérer que les effets bénéfiques des probiotiques sont souches et doses dépendants. (21)

- Survie au cours du tractus digestif : il est indispensable que les probiotiques soient tolérés par l'organisme et capables de résister à l'environnement de notre tractus digestif (acidité gastrique et sels biliaires). (23)

- Origine humaine : Les bactéries, comme n'importe quels autres être vivants, sont bien adaptés à leur environnement spécifique. Les cultures lactiques, par exemple, connaissent une croissance optimale à une température comprise entre 40 et 42°C, ne résistent pas au passage dans l'estomac, sont tuées par les sels biliaires, et sont incapables de s'établir dans le tube digestif. A l'opposé, les souches d'origine humaine poussent à 37 °C, sont résistantes aux acides et aux sels biliaires, et en général peuvent s'établir au moins transitoirement dans l'intestin humain. (22)

- Lors du processus de production, de conservation et de distribution, la teneur en probiotique doit être maintenue dans le produit fini et les caractéristiques de souches ne doivent pas être altérées. Par conséquent, les souches probiotiques doivent être sélectionnés à partir d'études précliniques et cliniques et en utilisant des critères objectifs et mesurables. (21)

- Une innocuité pour l'Homme. (24)

- Induit un bénéfice pour l'hôte. (23)

3. Mécanisme d'action des probiotiques

a) *Amélioration de la digestion du lactose :*

Le lactose des produits laitiers est digéré dans l'intestin grêle de l'homme par une enzyme membranaire, la lactase. Dans la plupart des ethnies, il existe un déclin génétiquement programmé de l'activité lactase qui survient au moment de l'adolescence. Ainsi, à l'âge adulte, la plupart des habitants de la Terre ont une malabsorption partielle du lactose ingéré par déficit primaire acquis en lactase ; si les quantités de lactose non absorbées dans l'intestin grêle sont importantes, il peut en résulter des symptômes digestifs. On parle alors d'intolérance au lactose.

Les probiotiques améliorent la digestion du lactose par l'apport enzymatique de lactase bactérienne libérée dans le grêle proximal par lyse cellulaire sous l'effet de l'acidité gastrique. (25)

b) *Modulation de la réponse immunitaire :*

Les probiotiques sont capables de moduler la réponse immunitaire intestinale et systémique. Au niveau du tissu lymphoïde de la muqueuse intestinale se crée une interaction avec les cellules immunitaires y résidant ou y circulant. En résulte une augmentation du nombre de monocytes, macrophages et de cytokines pro- ou anti-inflammatoires. Ils agissent également sur les lymphocytes B et T, ce qui module la sécrétion d'IgA sécrétoires, et sur d'autres cellules immunitaires. On observe un renforcement de l'immunité sécrétoire IgA au niveau de la muqueuse intestinale, vis-à-vis des pathogènes viraux ou bactériens. (17)

In vitro, plusieurs travaux ont démontrés les effets immunomodulateurs des bifidobactéries :

- La bifidobactérie ne présente pas seulement des variations entre espèces, mais une immunomodulation spécifique des souches *B. adolescentis* DB-2458 et *B. longum subsp. infantis* GB-146 isolée à partir de lait maternel exerçant de forts effets immunomodulateurs grâce à la régulation des Th1/Th2 cytokines associées. Cela augmente la portée de leur incorporation dans la formulation probiotique pour les nourrissons.

-Une régulation dépendante de la dose de Th1 / Th2 cytokines est observée dans les cellules mononucléaires du sang périphérique humain stimulées par les mitogènes (PBMC), par les souches *B. bifidus* et *B. infantis* en association avec *L. acidophilus*.

- Les cellules dendritiques forment la porte d'entrée de notre système immunitaire. *B. breve* CNCM1-4035 et son surnageant de culture sont capables d'améliorer les réponses immatures innées des cellules dendritiques intestinales humaines contre les salmonelles pathogènes à *S. enterica* serovar *thyphi* à travers des voies de signalisation TLR.

- La modulation des réponses immunitaires in vitro par l'induction de la production d'IL-10 a également été rapportée chez certains membres de *B. adolescentis*, *B. longum* et *B. bifidum*.

-On rapporte qu'une combinaison de *L. rhamnosus* et *B. breve* M-16V supprime les réponses immunitaires induites par la fumée de cigarette.

L'expression in vitro d'IL-1 β , IL6, IL10, IL23, TNF- α , CXCL-8 et HMGB1 dans des macrophages THP-1 humains ainsi que l'activation induite par la fumée de cigarette des voies de signalisation TLR4, TLR9 et NF κ B ont été supprimés par les microorganismes probiotiques.

Conjointement *B. breve* BR03 et *L. salivarius* LS01 montrent une efficacité clinique dans l'atténuation des symptômes d'asthme allergique, améliorant le fonctionnement du poumon. Ils augmentent la libération de IL-10, un inhibiteur des cytokines pro-inflammatoires, IL-13, IL-17 et TGF β et rééquilibrent les niveaux Th1 / Th2.

-Les serines protéases forment une classe importante de molécules effectrices codées par des gènes trouvés dans plusieurs espèces bifidobactériennes. Ils inhibent l'action des protéases humaines comme les neutrophiles et les élastases pancréatiques qui se trouvent au site de l'inflammation intestinale.

-Dans une étude menée chez des enfants sains, l'administration d'une formule fermentée contenant des bifidobactéries a entraîné une augmentation significative des IgA fécales totales et des IgA antipoliavirus pendant la prise du produit.

Dans l'ensemble, les résultats indiquent un renforcement de l'immunité sécrétoire IgA au niveau de la muqueuse intestinale, vis-à-vis de pathogènes viraux ou bactériens, par certains probiotiques. (24)

c) *Amélioration de la sensibilité viscérale :*

Une perturbation de la sensibilité viscérale est la principale anomalie objective mise en évidence au cours du syndrome de l'intestin irritable. Celui-ci se caractérise par des douleurs ou un inconfort abdominal, associé à une modification du transit et de l'évacuation des selles. Plus récemment, il a été montré que chez certains patients développant un syndrome de l'intestin irritable, celui-ci était précédé de la survenue d'une infection intestinale. Cette perturbation de l'immunité locale pourrait stimuler les voies sensitives, et les probiotiques, par leurs propriétés anti-inflammatoires, pourraient avoir un effet bénéfique. (25)

d) Réalisation d'un rôle trophique sur la muqueuse intestinale :

Les probiotiques stimulent la motricité colique, la production d'acides gras à chaînes courtes à effet trophique ainsi que la production de mucus. (25)

e) Protection vis-à-vis des micro-organismes pathogènes :

Les probiotiques renforcent l'effet barrière anti-pathogène. Ils s'opposent à l'implantation des micro-organismes pathogènes par compétition sur le site d'adhésion microvillositaires grâce à leur potentiel d'adhésion à la muqueuse intestinale.

De plus ils exercent une action anti-bactérienne :

-directe, par la production de substances antimicrobiennes comme les bactériocines et défensines, certains acides organiques et le peroxyde d'hydrogène.

-indirecte, par la création d'un environnement défavorable à l'implantation et à la prolifération de bactéries pathogènes spécifiques par modification du pH intestinal. Les probiotiques conduisent à la formation d'acides gras à chaînes courtes qui acidifient le milieu intestinal. Cette acidification entraîne la solubilisation des minéraux, en particulier du calcium, qui améliore leur absorption digestive. Au contraire, le pH acide insolubilise les sels biliaires, réduisant leur assimilation et augmentant leur excrétion fécale. (17)

VI) Etudes démontrant l'intérêt de l'administration des Bifides dans certaines pathologies digestives.

La rupture de la barrière probiotique contre les pathogènes conduit souvent à des problèmes gastro-intestinaux tels que la constipation, le syndrome de l'intestin irritable et des diarrhées.

Plusieurs études ont été réalisées afin de démontrer le bénéfice de l'utilisation des bifidobactéries en tant que probiotiques pour diminuer ces symptômes.

A. La constipation

- Une étude a montré, chez des volontaires sains, âgés de 21 à 42 ans que l'ingestion quotidienne de trois pots de yaourt contenant *B. animalis* DN 173010 pendant 11 jours diminuait le temps de transit colique d'environ 20% par rapport à une période d'ingestion du même yaourt chauffé afin de détruire le probiotique. Une autre étude contrôlée a montré que le temps de transit colique total et dans le recto-sigmoïde, mesuré chez des jeunes femmes en bonnes santé âgées de 18 à 45 ans est raccourci respectivement de 15 à 19 %, lors de l'ingestion pendant 10 jours de trois pots de yaourts enrichis en *B. animalis* DN 173010. (25)

- Il a été démontré que la consommation de lait fermenté contenant *B. animalis* DN-173010 par des personnes âgées entraînait une réduction du temps de transit intestinal proportionnel à la quantité de bactéries probiotiques présentes. Les effets sont durables 2 à 4 semaines après l'arrêt de la consommation. (26)

B. La diarrhée

1. La diarrhée associée aux antibiotiques chez l'enfant :

- Une méta-analyse des résultats publiés de l'essai contrôlé randomisé de l'utilisation de probiotiques dans la prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques chez les enfants indique un effet bénéfique. Un traitement avec un probiotique a été commencé lorsque l'antibiothérapie a été initiée pour le traitement d'une infection respiratoire aiguë (otite moyenne) dans la plupart de ces études. Le traitement par probiotiques par rapport au placebo a réduit le risque de développer une diarrhée associée aux antibiotiques de 28,5% à 11.9 %. *B. lactis*, *S. thermophilus* et *S. boulardii* ont été les agents les plus couramment utilisés dans les essais contrôlés randomisés. Environ 1 cas sur 7 de diarrhée associée aux antibiotiques a été prévenu par l'utilisation d'un probiotique. Dans ces études, les enfants ont reçu soit une préparation contenant des probiotiques, soit un probiotique distinct comme traitement préventif. Selon une méta-analyse rapportée, le traitement probiotique a significativement réduit les probabilités de diarrhée associée aux antibiotiques par rapport au placebo pour le sous-produit de la levure. (27)

2. Diarrhée virale chez l'enfant

Des études ont démontré que l'utilisation des probiotiques aide à prévenir et à réduire la durée ainsi que la récurrence de la diarrhée infectieuse à rotavirus (virus le plus souvent rencontré dans les gastro-entérites) chez les nouveau-nés, une

cause courante de morbidité infantile dans les pays développés. Des données appuieraient l'utilisation des probiotiques en cas de diarrhées virales par la stimulation des anticorps IgA anti-rotavirus.

- Saavedra et al. ont rapporté que l'addition de *B. bifidum* et *S. thermophilus* à une forme lactée infantile protégeait les enfants de la survenue de diarrhées à rotavirus. (28)

- Dans un essai contrôlé par placebo en double aveugle par Weizman et al. 201 nourrissons (âgés de 4 à 10 mois) ont reçu une préparation de probiotiques, contenant soit du *B.lactis* ou du *L. reuteri*, ou une formule de contrôle sans probiotique ajouté sur une période d'étude de 12 semaines. L'étude a été menée dans 14 centres de garde différents sur une période de deux ans. Les nourrissons nourris avec une préparation contenant des probiotiques présentaient des épisodes de diarrhée moins nombreux et plus courts que les nourrissons du groupe témoin. Les nourrissons du groupe témoin avaient en moyenne 0,59 jour de diarrhée par nourrisson contre 0,37 jour dans le groupe *B. lactis* et 0,15 jour dans le groupe d'étude sur le probiotique *L. reuteri*. Au cours de la période d'étude de 12 semaines, les nourrissons du groupe témoin présentaient une moyenne de 0,31 épisode de diarrhée, comparativement à 0,12 épisode et 0,02 dans les groupes supplémentés par *B. lactis* et *L reuteri*, respectivement. (27)

C. Le syndrome de l'intestin irritable

- Hong et al. ont évalué les effets des probiotiques LAB (bactéries à acides lactiques) et des bifidobactéries de lait fermenté (*L. sp.*HY7801, *L.brevis* HY7401 et *B. longum* HY8004) sur soixante-quatorze patients atteints du SII, grâce à des paramètres cliniques et à l'utilisation de la résonance magnétique nucléaire (RMN) du sang périphérique. Cette étude a rapporté une diminution des taux de glucose et de tyrosine et une augmentation du taux de lactate dans les sérums des patients mais pas chez les volontaires sains. Ils ont soutenu que cette augmentation de lactate dans le sang pourrait être causée par des microbiotes intestinaux qui produisent du lactate par fermentation en raison de l'augmentation des populations de LAB intestinale après l'administration de probiotiques. Ils ont en outre relié les faibles niveaux de glucose sérique à une glycolyse élevée dans l'organisme afin de satisfaire la demande d'énergie plus élevée causée par une faible absorption des nutriments. Ils ont également suggéré que la diminution de la tyrosine est liée à la maladie hépato-biliaire, l'une des manifestations extra-intestinales les plus courantes des SII, car le métabolisme de la tyrosine se produit principalement dans le foie.

- En outre, Dughera et al. ont confirmé que l'administration d'un agent symbiotique chez les patients souffrant du SII à dominance de constipation, améliorerait la fonction intestinale et améliorerait les manifestations cliniques de la maladie. La préparation synbiotique comprenait des souches de *B. longum* W11, l'une des espèces les plus

représentatives de micro-organismes intestinaux ainsi que des oligosaccharides, qui exercent un effet positif sur la motilité intestinale et favorisent le développement de bifidobactéries dans l'intestin. (27)

- 116 patients souffrant de TFI (troubles fonctionnels intestinaux) identifiés selon le critère de Rome II ont été inclus dans une étude clinique randomisée en double insu contre placebo. Ils ont reçu pendant quatre semaines un placebo ou un mélange probiotique contenant *Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactococcus lactis* LA 103, *Lactobacillus acidophilus* LA 102, *Streptococcus thermophilus* LA 104 (1×10^{10} ufc une fois par jour).

Les symptômes étudiés ont inclus l'inconfort, la douleur abdominale, ainsi que la fréquence et la qualité des selles.

Résultats : cent sujets ont terminé l'étude (48 sous probiotique, 52 sous placebo). Le mélange probiotique ne s'est pas révélé supérieur au placebo dans le soulagement des symptômes associés aux TFI (42.6 versus 42.3 % d'amélioration). Cependant, la diminution de la douleur abdominale entre la première et la dernière semaine de traitement était significativement plus importante chez les patients ayant consommé le mélange de probiotique (-41.9 versus -24.2 % $p=0.048$). De plus, l'analyse de sous- groupe (TFI avec diarrhée, constipation ou alternance des deux) a permis de mettre en évidence une diminution du score de douleur abdominale chez les patients avec alternance diarrhée-constipation et une augmentation dès les premières semaines de traitement de la fréquence des selles chez les patients souffrant de TFI avec constipation prédominante. ($p=0.043$) (29)

- Une étude contrôlée, randomisée, en double aveugle, multicentrique, versus placebo a été réalisée chez des patientes atteintes du SII pendant 4 semaines. On a administré chez des patientes souffrant du SII du *B. infantis* 35624 10^8 UFC que l'on a comparé à un groupe de patients ayant reçu un placebo. Au bout de 4 semaines, on a une amélioration significative ($p=0.023$) des douleurs abdominales et une diminution significative des ballonnements ($p=0.046$) chez les patients ayant reçu *B. infantis* 35624. (30)

Ainsi, cette partie a permis de démontrer à l'aide d'études que l'utilisation des Bifides en tant que probiotiques présente un intérêt pour atténuer les symptômes de certaines pathologies digestives.

VII) Exemple de Bifides sous forme de probiotiques utilisés en pratique à l'officine

A. LACTIBIANE Référence de PiLeJe



- 4 souches microbiennes dosées à 10 milliards par gélule ou sachet de 2,5g.
- Composé de :
 - *Bifidobacterium longum* LA101
 - *Lactobacillus helveticus* LA102
 - *Lactobacillus lactis* LA103
 - *Streptococcus thermophilus* LA 104
- Indication : Syndrome de l'intestin irritable à dominante constipation.
- Posologie: 1 gélule ou 1 sachet par jour pendant 30 jours, à renouveler.
- Résultats : On observe une amélioration de la constipation dès la première semaine et une diminution de la douleur abdominale dès la 4^{ème} semaine.

B. LACTIBIANE Tolérance de PiLeJe



- 5 souches microbiennes dosées à 10 milliards par gélule ou sachet de 2,5g.

- Composé de :

- *Bifidobacterium lactis* LA303
- *Lactobacillus acidophilus* LA 201
- *Lactobacillus plantarum* LA 301
- *Lactobacillus salivarius* LA 302
- *Bifidobacterium lactis* LA 304

-Indication : syndrome de l'intestin irritable à dominante diarrhées ou alternance diarrhées/constipation.

-Posologie : 1 gélule ou 1 sachet / jour

-En situation inflammatoire, le LACTIBIANE Tolérance entraîne une diminution des douleurs intestinales, corrige l'hypersensibilité intestinale et restaure la muqueuse intestinale.

C. LACTIHOOC de PiLeJe



- Un mix de 8 souches pour une haute concentration microbiennes dosée à 80 milliards par jour :

- *Bifidobacterium lactis* LA304
- *Bifidobacterium bifidum* LA803
- *Bifidobacterium lactis* LA804
- *Bifidobacterium breve* LA805
- *Lactobacillus acidophilus* LA201
- *Lactobacillus rhamnosus* LA801
- *Lactobacillus gasseri* LA806
- *Lactobacillus acidophilus* LA807

-Posologies : 2 gélules / jour avant un repas pendant 10 jours.

-indications : Les phénomènes installés de dysbioses, comme par exemple, syndrome de l'intestin irritable, longues prises d'antibiotiques ou prises répétées, lavages coliques, post-coloscopie, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

D. LACTIBIANE enfant



- 5 souches microbiennes dosées à 2 milliards par dose de 1 ml ou 4 milliards par sachet.

-composé de :

- *Bifidobacterium longum* LA101
- *Lactobacillus helveticus* LA102
- *Lactococcus lactis* LA103
- *Streptococcus thermophilus* LA104
- *Lactobacillus rhamnosus* LA801

+ vitamine D3

-indications :

- ✓ Constipation
- ✓ Coliques
- ✓ Diarrhée associée aux antibiotiques
- ✓ Gastro-entérites

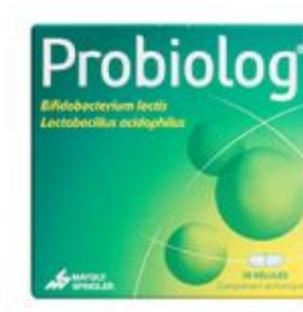
-Posologie: 1ml ou 1 sachet par jour, pendant 30 jours. Renouvelable.

E. Alflorex des laboratoires BIOCOCODEX



- Composé de *Bifidobacterium infantis* 35624
- Indications : utilisé dans le syndrome de l'intestin irritable.
- On aura une amélioration significative des douleurs abdominales, de la distension abdominale et du transit intestinal.
- Posologie: 1 gélule par jour pendant 1 mois.

F. Probiolog des laboratoires MAYOLY SPINDLER



- Probiolog® est une association de 2 souches bactériennes :

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Bifidobacterium lactis*

-Se présente sous forme de gélules contenant chacune un milliard de bactéries vivantes.

-indications : épisodes occasionnels ou répétés de diarrhées.

-Posologie : 2 gélules par jour chez l'adulte, à avaler avec un verre d'eau au moment des repas.

G. Exemple d'un cas de comptoir à l'officine

Madame X se présente à l'officine en se plaignant de douleurs décrites comme « des spasmes douloureux », « l'impression d'un ventre qui se tord » ou « des bulles qui éclatent dans le ventre » avec des diarrhées fréquentes et cela depuis quelques mois. En automédication, elle dit avoir déjà pris du météospamyl*, spafon* et lopéramide sans observer une amélioration des symptômes dans le temps.

- Prise en charge du patient par le pharmacien :

- Nous sommes face à un patient qui souffre du syndrome de l'intestin irritable. Pour ne pas risquer de passer à côté d'une pathologie grave, il faut toujours questionner un patient se plaignant de douleurs abdominales sur la présence ou non de sang dans les selles et d'antécédents de cancer digestif dans la famille. Ce type de symptôme peut en effet refléter un cancer du côlon, du rectum ou évoquer une maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) telle que la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique. Toute évolution soudaine du transit et altération de l'état général doivent également donner lieu à une consultation du médecin généraliste, voire du gastro-entérologue.

-Le rôle du pharmacien est d'expliquer au patient que les traitements déjà utilisés sont des traitements symptomatiques mais qu'ils ne traitent pas le fond, d'où la récurrence des symptômes. Il doit aussi expliquer au patient qu'il souffre d'un phénomène de dysbiose, avec une diminution de la quantité ou de la variabilité des bactéries de l'intestin ce qui explique ses symptômes.

-Une cure de probiotique pendant un mois comme le LACTIBIANE tolérance ou ALFLOREX est à proposer.

-En complément, on lui conseille de suivre des règles hygiéno-diététiques :

- Manger à heure fixe, dans le calme et de façon fractionnée.
- Une bonne mastication améliore l'absorption et diminue la fermentation (gaz) et les ballonnements qui provoquent des douleurs abdominales, des flatulences et de l'aérophagie.
- Pratiquer toute technique ou thérapie permettant de diminuer le stress (sport, relaxation, hypnose...)
- Le café, l'alcool et les épices, peuvent favoriser ou aggraver la survenue des symptômes et doivent être évités.
- Eviter ou limiter les aliments FODMAPS (Fermentable Oligosaccharides Disaccharides Monosaccharides et Polyols) (tableau 3) et l'apport en matières grasses. En effet, certains aliments sont responsables de l'aggravation des symptômes du SII, car ils favorisent la production de gaz par fermentation colique. Il est important de les repérer afin de les exclure de l'alimentation.

Fructoses en excès	Lactose	Fructanes	Galacto-oligo-saccharides	Polyols
<ul style="list-style-type: none"> - pomme - melon - fruits en conserves - édulcorants - jus de fruits - miel 	<ul style="list-style-type: none"> - lait, crème, fromages - dessert à base de lait et crème glacée - poudre de lait 	<ul style="list-style-type: none"> - Choux (Bruxelles, brocolis...) - Artichaut - Asperge - All et oignon - Blé en grande quantité 	<ul style="list-style-type: none"> - pois chiche - lentille - haricot rouge - fève de soja 	<ul style="list-style-type: none"> - Abricot, nectarine, cerise, prune... - champignon - avocat - menthe

Tableau 3: Les principaux aliments riches en FODMAP (30)

- Les aliments à conseiller sont :
 - Protéines : viandes et volailles, poissons, œufs, fruits de mer et crustacés.
 - Laitages : produits laitiers sans lactose, lait végétal, beurre en petite quantité, limiter les fromages et favoriser ceux à pâte dure.
 - Céréales : riz, tapioca, maïs, quinoa, épeautre, pâte sans gluten, avoine, sarrasin.
 - Légumes : poivron, aubergine, salade, concombre, carotte, haricot vert, courgette, algues, bambou, cœur de palmier, endive.
 - Fruits : banane, ananas, avocat, tomate, fraise, raisin, melon, kiwi, rhubarbe, noix de coco, fruit de la passion, papaye, amandes.
 - Condiments/assaisonnements : Herbes et condiments non épicés, huiles végétales, citron, vinaigre, stévia, sucre blanc ou de canne.
 - Boissons : eaux plates et non riches en magnésium, tisanes de menthe, tilleul, verveine, lait végétal.

VIII) Conclusion

Il est bien établi que les bifidobactéries confèrent des avantages pour la santé de l'hôte par leurs activités métaboliques.

De plus, nous savons qu'avec l'âge et au sein de plusieurs maladies, les taux de bifidobactéries et la diversité de ses espèces diminuent. D'après les nombreux attributs favorisant la santé associés à leur utilisation, il est incontestable que ces bactéries jouent un rôle important dans le maintien et la protection de la santé humaine. Les études présentées lors de cette thèse confirment que l'apport de bifidobactéries pour la santé de l'hôte dans certaines pathologies intestinales démontre un intérêt.

Nous pouvons conclure que l'utilisation de bifidobactéries porte un intérêt indéniable majeur dans les formules probiotiques que nous retrouvons à l'officine.

La rédaction de cette thèse m'a permis d'élargir mes connaissances dans le domaine de la micronutrition et me permettra d'apporter d'avantages de conseils lors de la dispensation des probiotiques à l'officine.

IX) Liste des figures

<i>Figure 1 : Schéma opérationnel de l'approche ribosomale basée sur le clonage d'ARN 16S entiers. (2)</i>	18
<i>Figure 2 : L'approche métagénomique quantitative. (2)</i>	19
<i>Figure 3: Composition et densité du microbiote intestinal. (3)</i>	20
<i>Figure 4: Chaîne trophique de la fermentation des glucides. (2)</i>	22
<i>Figure 5: Métabolisme microbien des protéines. (4)</i>	23
<i>Figure 6: Système de défense de l'épithélium gastro-intestinal. (6)</i>	25
<i>Figure 7: Schéma d'une cellule de Paneth. (3)</i>	26
<i>Figure 8: Principaux récepteurs de l'immunité innée. (3)</i>	27
<i>Figure 9: Transcytose des immunoglobines A. (3)</i>	30
<i>Figure 10: Lymphocytes T effecteurs et régulateurs: différenciation et production cytokiniques. (3)</i>	30
<i>Figure 11: Photographie d'un bifide : Bifidobacterium adolescentis (8)</i>	32
<i>Figure 12: Variation du taux de bifides selon l'âge. (8)</i>	33
<i>Figure 13: Schéma représentatif de la dégradation des carbohydrates par le "bifid shunt" des bifidobactéries. (9)</i>	36
<i>Figure 14: Représentation schématique du mécanisme de protection des bifidobactéries contre l'invasion pathogène et l'immunomodulation dans l'épithélium intestinal de l'hôte. (12)</i>	39
<i>Figure 15: Consistance des selles selon l'échelle de Bristol. (21)</i>	48

X) Liste des tableaux

<i>Tableau 1: Distribution des espèces les plus abondantes des bifidobactéries dans l'intestin humain à différents stades de la vie. (8)</i>	34
<i>Tableau 2 : Critères de Rome IV. (20)</i>	47
<i>Tableau 3: Les principaux aliments riches en FODMAP (30)</i>	64

XI) BIBLIOGRAPHIE :

1. Bourlioux P. Actualité du microbiote intestinal. *Ann Pharm Fr.* janv 2014;72(1):15-21.
2. Marteau P, Doré J, Cossart P. Le microbiote intestinal : un organe à part entière. Montrouge: Éditions John Libbey eurotext; 2017.
3. CDU-HGE chap-13_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf [Internet]. [cité 10 oct 2017]. Disponible à:
http://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Formation/chap-13_fondamentaux-pathologie-digestive_octobre-2014.pdf
4. Gérard P, Bernalier-Donadille A. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *cah. Nutr.Diét.* 42, Hors-série 2,. 2007; p.2S28-2S34.
5. Landman C, Quévrain E. Le microbiote intestinal: description, rôle et implication physiopathologique. *La revue de médecine interne* 37 2016; p. 418-423.
6. Service médico scientifique groupe PiLeJe. Le système immunitaire: de ses mécanismes aux micronutriments stimulants. 2012 p. 1-12.
7. Turroni F, Duranti S, Bottacini F, Guglielmetti S, Van Sinderen D, Ventura M. *Bifidobacterium bifidum* as an example of a specialized human gut commensal. *Front Microbiol.* 2014;5:437.
8. Montpetit D. The Food Research and development centre in Canada. 2006.
9. Arboleya S, Watkins C, Stanton C, Ross RP. Gut Bifidobacteria Populations in Human Health and Aging. *Front Microbiol* [Internet]. 19 août 2016 [cité 24 oct 2017];7. Disponible à: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.01204/abstract>
10. O'Callaghan A, van Sinderen D. Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota. *Front Microbiol* [Internet]. 15 juin 2016 [cité 19 mars 2018];7. Disponible à: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.00925/abstract>
11. Turroni F, Milani C, Duranti S, Ferrario C, Lugli GA, Mancabelli L, et al. Bifidobacteria and the infant gut: an example of co-evolution and natural selection. *Cell Mol Life Sci.* janv 2018;75(1):103-18.
12. Ruiz L, Delgado S, Ruas-Madiedo P, Sánchez B, Margolles A. Bifidobacteria and Their Molecular Communication with the Immune System. *Front Microbiol* [Internet]. 4 déc 2017 [cité 19 mars 2018];8. Disponible à:
<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02345/full>
13. Benedetti L. Echos de la micronutrition n°29. Institut Européen de Diététique et Micronutrition; 1999; p.2-8.
14. Prosberg M, Bendtsen F, Vind I, Petersen AM, Gluud LL. The association between the gut microbiota and the inflammatory bowel disease activity: a systematic review and meta-analysis. *Scand J Gastroenterol.* déc 2016;51(12):1407-15.

15. Liu H-N, Wu H, Chen Y-Z, Chen Y-J, Shen X-Z, Liu T-T. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis.* avr 2017;49(4):331-7.
16. Hagiage M. La flore intestinale: de l'équilibre au déséquilibre. Paris Vigot; 1994.
17. Faure S, Pubert C, Rabiller J, Taillez J, Yvain A L. Intérêt des probiotiques en préventif au niveau des différentes flores de l'organisme. *Actualité pharmaceutiques* n° 528. septembre 2013 p.22-26.
18. Morard I, Hadengue A. diarrhées médicamenteuses: revue médicale suisse. 2008;volume 4 1867-1872.
19. Sabaté JM, Jouët P, SNFGE; Prise en charge du syndrome de l'intestin irritable. CP034 2016 .p1-8.
20. Coffin B. Troubles fonctionnels intestinaux: données récentes. *hepato-gastro et oncologie digestive* 2010; p.95-100
21. Burckel A, Holowacz S. Les probiotiques, critères d'efficacité et bénéfices démontrés. *Nutriform' Magazine* 2006. p. 1-4
22. Secretin M. Pro-prebiotiques: développement et mise au point dans les formules infantiles. *Les JTA*; 2001;
23. Schneider S.M. Probiotiques. *medecine des maladies métaboliques* 2008; vol 2; n°2; p363-367.
24. Sarkar A, Mandal S. Bifidobacteria-Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. *Microbiol Res.* nov 2016;192:159-71.
25. Flourié B, Nancey S. Propriétés fonctionnelles des probiotiques. *Cah.Nutr.Diét*; 42; 2007; p.2S38-2S44.
26. Martin L. INSERM; Probiotiques, prébiotiques, symbiotiques et métabiotiques: ce qu'il faut savoir. unité 523 - centre de physiopathologie Toulouse Purpan; 2009.
27. Thomas DW, Greer FR, Committee on Nutrition; Section on Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Probiotics and Prebiotics in Pediatrics. *PEDIATRICS.* 1 déc 2010;126(6):1217-31.
28. Heyman M, Heuvelin É, Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique : le paradoxe. *Nutr Clin Métabolisme.* juin 2006;20(2):85-94.
29. Drouault-Holowacz S, Bieuvelet S, Burckel A, Cazaubiel M, Dray X, Marteau P. A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome. *Gastroentérologie Clin Biol.* févr 2008;32(2):147-52.
30. Whorwell PJ, et all. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in woman with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2006 101(7):1581-90

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2017/2018

Nom : BOIDIN
Prénom : Manon

Titre du mémoire / thèse :

**L'INTERET DE L'ADMINISTRATION DES BIFIDES CHEZ L'HOMME EN TANT
QUE PROBIOTIQUES POUR LES PATHOLOGIES INTESTINALES**

Mots-clés : Microbiote intestinale, bifidobactéries, probiotiques, pathologies digestives.

Résumé : Les probiotiques occupent un place de plus en plus importante dans l'activité du pharmacien d'officine. Parmi la vaste communauté des bactéries intestinales, les membres du genre bifidobactérium sont parmi les premières bactéries à coloniser le tractus gastro-intestinal humain. Plusieurs études ont démontré qu'elles exercent des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Lorsqu'un déficit en bifides existe dans l'intestin de l'Homme, on retrouve des pathologies telles que la constipation, la diarrhée ou le syndrome de l'intestin irritable. Cette thèse démontrera l'intérêt de l'administration de bifidobactéries utilisés en tant que probiotiques pour soulager les symptômes de ces pathologies.

Membres du jury :

Président : Madame NEUT Christel, Maître de conférences, laboratoire de bactériologie.

Assesseur : Monsieur HERMANN Emmanuel, Maître de conférences, laboratoire d'immunologie.

Membre extérieur : Monsieur LELONG Fabien, Docteur en pharmacie.