

Année : **2015**

Thèse : **2015 / TOUT3 / 2008**

THESE D'EXERCICE

pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue par **Coralie LAFFARGUE**

Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologies et conseils en officine

Le 21 Janvier 2015

Directeurs de thèse : Docteur Peggy GANDIA
Docteur Pierre POMIES

JURY

Président : Professeur Nicolas FABRE
1^{er} assesseur : Docteur Peggy GANDIA
2^{ème} assesseur : Docteur Pierre POMIES
3^{ème} assesseur : Docteur MAUROUX-LEYGUE Agnès

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} octobre 2014

Professeurs Émérites

M. BASTIDE R.	Pharmacie Clinique
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
Mme FOURASTÉ I.	Pharmacognosie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CHATELUT E.	Pharmacologie	Mme BARRE A.	Biologie
M. FAVRE G.	Biochimie	Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
M. HOUIN G.	Pharmacologie	Mme BENDERBOUS S.	Mathématiques – Biostat
M. PARINI A.	Physiologie	M. BENOIST H.	Immunologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie	Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	Mme COUDERC B.	Biochimie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie	M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique	Mme DOISNEAU-SIXOU S.	Biochimie
M. SIÉ P.	Hématologie	M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. VALENTIN A.	Parasitologie	M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
		Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
		Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
		M. SALLES B.	Toxicologie
		Mme SAUTEREAU A-M.	Pharmacie galénique
		M. SÉGUI B.	Biologie Cellulaire
		M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
		Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
		M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P	Pharmacie Clinique	Mme ARÉLLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme GANDIA-MAILLY P (*)	Pharmacologie	Mme AUTHIER H	Parasitologie
Mme JUILLARD-CONDAT B	Droit Pharmaceutique	M. BERGÉ M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F	Pharmacie Clinique	Mme BON C	Biophysique
Mme SÉRONIE-VIVIEN S	Biochimie	M. BOUJILA J (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F	Pharmacologie	Mme BOUTET E	Toxicologie - Sémiologie
		M. BROUILLET F	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C	Physiologie
		Mme CAZALBOU S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S	Bactériologie - Virologie
		Mme COSTE A (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N	Biochimie
		Mme DERAËVE C	Chimie Thérapeutique
		Mme ÉCHINARD-DOUIN V	Physiologie
		Mme EL GARAH F	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F	Toxicologie
		Mme GIROD-FULLANA S (*)	Pharmacie Galénique
		Mme HALOVA-LAJOIE B	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I	Biochimie
		Mme LEFEVRE L	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A	Biochimie
		M. MARTI G	Pharmacognosie
		Mme MIREY G (*)	Toxicologie
		Mme MONTFERRAN S	Biochimie
		M. OUCHON A	Biochimie
		M. PERE D	Pharmacognosie
		Mme PHILIBERT C	Toxicologie
		Mme PORTHE G	Immunologie
		Mme REYBIER-VUATTOUT K (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D	Hématologie
		Mme TOURRETTE A	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEELANDT M	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M	Mathématiques

(*) titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche	
Mme COOL C (**)	Physiologie	Mme PALOQUE L	Parasitologie
Mme FONTAN C	Biophysique	Mme GIRARDI C	Pharmacognosie
Mme KELLER L	Biochimie	M. IBRAHIM H	Chimie anal. - galénique
M. PÉRES M. (**)	Immunologie		
Mme ROUCH L	Pharmacie Clinique		
Mme ROZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique		

(**) Nomination au 1^{er} novembre 2014

Remerciements

Au Président du jury,

Monsieur Nicolas FABRE,
Professeur des Universités, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de
Toulouse

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse et d'avoir bien voulu assister à cette soutenance pour nous faire part de votre point de vue en tant que Professeur.

Aux directeurs de thèse,

Madame Peggy GANDIA
Maître de Conférences des Universités, Faculté des Sciences
Pharmaceutiques de Toulouse
Praticien Hospitalier, Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie, CHU
Purpan, Toulouse

Monsieur Pierre POMIES
Docteur en Pharmacie

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de juger mon travail de thèse et ce, malgré votre emploi du temps bien rempli et les nombreuses charges que vous avez à assumer.

A Madame Agnès MAUROUX-LEYGUE,

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse, pour m'avoir formée durant toutes ces années d'études, d'avoir renforcée cet amour du métier mais également pour m'avoir donnée l'envie de traiter ce sujet de thèse.

A mes parents,

Merci de m'avoir soutenue et encouragée dans tous mes choix. Merci d'avoir toujours été derrière moi pour me pousser au travail et de n'avoir jamais désespéré même lorsque je vous en donnais l'occasion ! (et oui j'y suis arrivée, j'ai fini !).

Merci d'avoir toujours répondu présent dans toutes les situations et d'avoir passé toutes ces heures au téléphone durant ces années ! Merci de toujours m'avoir aidée et surtout supportée durant toutes les périodes d'examens (ou pas d'ailleurs !).

Merci à toutes ces impressions, toutes ces relectures et toutes ces corrections d'orthographe.

Merci d'avoir fait ce que je suis.

A ma sœur,

Merci à ma petite sœur chérie râleuse d'avoir toujours été là, de m'avoir supportée en colocation, et d'avoir fait des allers retours pour me faire réciter du droit pharmaceutique les veilles d'examens ! Merci pour tes corrections, tes relectures et ton aide aux heures tardives pour lire du chinois mélangé au japonais par endroit !

Toutes ces chamailleries entretiennent notre complicité, qu'elles continuent à nous réunir !

Au « club des cinqs »,

Merci à **Mélanie** pour me supporter depuis 12 ans, pour m'avoir supportée en colocation durant 3 années, pour tous les fous rires, pour toutes les sorties, pour tous les bons moments qu'on a pu passer et qu'on passera encore ! C'est à ton tour maintenant !

Merci à **Riana** la boulette pour toutes ces révisions qu'on a pu faire ensemble. Merci de me faire découvrir la France en m'accueillant dans toutes les villes où tu passes !

Merci à **Lucie** avec son débit de parole unique difficile à comprendre par moment surtout quand c'est pour expliquer un cours! (Je ne t'en tiendrais pas rigueur).

Merci à **Lucie**, la plus raisonnée de toutes, pour m'avoir motivée à aller en cours (peut-être pas assez d'ailleurs !).

Les deux LucieS se reconnaîtront !

Ne changez rien, vous êtes magiques ! Vous avez fait que toutes ces années d'études restent gravées dans ma mémoire !

Merci à toutes également pour m'avoir soignée lors de mes brûlures ! Promis je serai plus prudente!

A ma bibi,

Merci à Julie pour ces années de binômes inoubliables remplies de boulettes dès la première séance de TP ! Ton tour aux remerciements viendra, mais bouge toi !!!

A la série A,

Merci à cette série unique, sûrement la meilleure. Nous avons fait désespérer les professeurs avec notre bonne entente, notre bonne humeur, nous avons fait désespérer bon nombre de restaurateurs, mais toujours dans la bonne humeur !

A Karine,

Merci pour m'avoir accompagnée durant un an au sport sans relâche pour ensuite oublier tous les efforts lors des goûters diététiques bananes Nutella pour décompresser !

A Renaud, mon Amour

Merci à sa motivation, ses encouragements, son réconfort, aux corrections orthographiques et au dynamisme qu'il m'a apportée pour clore ce travail !

A l'équipe de la pharmacie FOUNEAU,

Merci à M. FOUNEAU d'avoir eu la patience d'attendre que je passe ma thèse et pour m'avoir soutenue!

Merci à Tony et Ingrid pour m'avoir supportée.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	7
Partie I- Données bibliographiques.....	19
I Généralités.....	20
I.1 Flore intestinale.....	20
I.1.A Profil de la flore intestinale.....	21
I.1.A.a Différents types de flores.....	21
I.1.A.b Analyse de la flore intestinale.....	22
I.1.B Évolutions du microbiote intestinal.....	25
I.1.B.a Variabilité longitudinale.....	26
I.1.B.b Variabilité transversale	28
I.1.B.c Variabilité dans le temps	28
I.1.C Rôles du microbiote intestinal	33
I.1.C.a Principales fonctions métaboliques	33
I.1.C.b Principales fonctions de défenses	38
I.1.D De l'eubiose à la dysbiose	41
I.1.E Microbiome intestinal humain.....	42
I.2 Les probiotiques.....	44
I.2.A Généralités.....	44
I.2.A.a Définitions de probiotiques	44
I.2.A.b Prébiotiques et symbiotiques.....	45
I.2.A.c Classification des probiotiques	46
I.2.B Survie, dosages et qualité.....	46
I.2.B.a Survie des Probiotiques en transit dans l'intestin	46
I.2.B.b Quantité nécessaire pour un effet bénéfique.....	47
I.2.B.c Démonstration des effets bénéfiques	47
I.2.C Innocuité	48
I.2.D Allégations santé.....	49
I.2.D.a Définition	49
I.2.D.b Dossier scientifique pour obtenir une allégation	50
I.2.D.c Décision des Autorités de Santé Européenne	51
I.2.D.d Règles d'étiquetages	51
II Lien entre probiotiques et système immunitaire	52

II.1 L'immunologie en résumé	52
II.1.A Réponse immunitaire innée et adaptative	52
II.1.A.a Réponse innée	53
II.1.A.b Réponse adaptative	57
II.1.B Le GALT : Gut-associated lymphoid tissue	61
II.1.B.a Constitution du GALT	61
II.1.B.b Fonctionnement du GALT	63
II.2 Intérêt des probiotiques en thérapeutique	64
II.2.A.a Affections gastro-intestinales	65
II.2.A.b Affections allergiques	72
II.2.A.c Affections ORL	73
Partie II- Questionnaires destinés aux patients puis aux Pharmaciens d'Officine	79
I Evaluation de l'intérêt des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales chez l'enfant	80
I.1 Matériel et Méthodes	80
I.2 Résultats	85
II Evaluation de la connaissance des Pharmaciens d'Officine sur le domaine des probiotiques	87
II.1 Matériel et méthodes	87
II.2 Résultats	90
II.2.A Généralités	90
II.2.B Question n°1 : rôle d'un déséquilibre de la flore intestinale	91
II.2.C Questions n°2/6 : analyse de la définition des probiotiques	92
II.2.D Question n°3 : les probiotiques quand et pour qui?	93
II.2.E Question n°7 : quelles souches pour quelles indications ?	95
II.2.F Question n°8/9 : conseil de probiotiques au comptoir	96
Partie III -Discussion, perspectives et conclusion	99
I Discussion	100
I.1 Interprétation du premier outil destiné aux patients	101
I.1.A Les points positifs et négatifs	102
I.1.B Les limites	102
I.1.C Interprétation	103
I.2 Interprétation du second outil destiné aux Pharmaciens Officinaux	104
I.2.A Les points positifs et négatifs	104

I.2.B	Les limites	105
I.2.C	Interprétation.....	105
II	Perspectives	106
III	Conclusion	109

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Flore fécale cultivable [3]	22
Figure 2 : Schéma simplifié du principe de RT-PCR [6]	23
Figure 3 : Schéma simplifié du principe de la PCR [7]. Exemple de 3 cycles ; elle est généralement réalisée sur beaucoup plus de cycles, c'est variable d'une recherche à une autre.....	24
Figure 4 : Exemple de nomenclature des bactéries [8]	25
Figure 5 : Répartition de la flore intestinale bactérienne le long de l'intestin [11]..	27
Figure 6 : Variation transversale du microbiote intestinal [11]	28
Figure 7 : Évolution du microbiote intestinal au cours du temps [13]	29
Figure 8 : Histogramme du nombre de bactéries colonisant l'intestin du nouveau-né suivant qu'il soit né par césarienne ou par voie naturelle ou qu'il soit allaité ou nourri au lait infantile. Des données sont manquantes pour les enfants allaités nés par césarienne [9].....	31
Figure 9 : Chaîne trophique de dégradation et de fermentation des glucides par la microflore colique [18]. AGCC= Acides gras à courte chaîne	34
Figure 10 : Métabolisme des protéines par la microflore colique	36
Figure 11 : Étapes hépatiques, biliaires et intestinales du métabolisme du cholestérol et des acides biliaires [19]	37
Figure 12 : Schéma simplifié d'une jonction serrée [23]	39
Figure 13 : Schéma simplifié représentant la structure de la Plaque de Peyer [24]	40
Figure 14 : De l'eubiose à la dysbiose [11]	42
Figure 15 : Schéma général de l'approche génomique [28]	43
Explication de la Figure 15 :	43
Figure 16 : Schéma synthétique des principaux mécanismes de l'immunité innée et acquise [44]	53
Figure 17 : Spécificités et fonctions des TLR [44].....	55
Figure 18 : Principales cytokines de l'immunité innée [44]	56
Figure 19 : Schéma synthétique de la balance Th1/Th2 [2].....	58
Figure 20 : Signalisation induite par le récepteur d'antigènes des lymphocytes B [44]	59

Figure 21 :	Fonctions effectrices des anticorps. [44].....	60
Figure 22 :	Schéma synthétique du GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) [46] 62	
Figure 23 :	Schéma synthétique récapitulant les conséquences d'un dysfonctionnement du GALT [20]	64
Figure 24 :	Actions démontrées des probiotiques sur l'immunité intestinale [20].	65
Figure 25 :	Mécanisme de l'amélioration de l'immunité anti-virale contre l'infection au virus respiratoire syncytial (RSV) grâce à l'administration par voie nasale de <i>Lactobacilli</i> [33].....	74
Figure 26 :	Questionnaire destiné aux patients pour évaluer l'intérêt des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales.....	84
Figure 27 :	Questionnaire destiné aux Pharmaciens Officinaux	88
Figure 28 :	Analyse (par question et exprimée en pourcentages) des réponses correctes obtenues au questionnaire soumis aux Pharmaciens Officinaux dans le but d'évaluer leurs connaissances dans le domaine des probiotiques.	90
Figure 29 :	Réponses obtenues à la question n° 1 : « A quoi peut conduire un déséquilibre de la flore intestinale ? »	91
Figure 30 :	Analyse des réponses obtenues à la question N° 2: « Qu'est-ce qu'un probiotique ? »	92
Figure 31 :	Analyses des réponses obtenues à la question n°6 : « Parmi ces micro-organismes, lesquels sont des probiotiques ? »	93
Figure 32 :	Analyse des réponses à la question n°3 : « Quand peut/doit – on prendre des probiotiques ? »	94
Figure 33 :	Analyse des réponses obtenues à la question n°5 : « A qui s'adressent les probiotiques ? »	95
Figure 34 :	Analyse des réponses obtenues à la question n°7 : « Quelle(s) souche(s) est/sont utilisée(s) dans quelle(s) indication(s) ? »	96
Figure 35 :	Analyse des réponses obtenues à la question n°8 : « Si vous conseillez les probiotiques, quelle(s) est/sont la (les) indication(s) habituelle(s) » ...	97
Figure 36 :	Analyse des réponses obtenues à la question n°9 : « Si vous ne conseillez pas de probiotiques, précisez votre (vos) raison(s) ».....	98
Figure 37 :	Questionnaire permettant d'évaluer les outils de formation	108

TABLES DES TABLEAUX

Tableau 1 : Groupes bactériens présents le long de l'intestin grêle et du côlon (les phylums de faible abondance ont été omis dans le calcul des pourcentages).	27
Tableau 2 : Pourcentages d'ARNr 16S spécifique par tranches d'âge: enfants (16 mois à 7ans), adultes (21 à 34 ans) et personnes âgées en bonne santé (67 à 88 ans) [13]	32
Tableau 3 : Résultat de l'étude de Salazar-lind et al. [51]	67
Tableau 4 : Synthèse de l'intérêt des probiotiques en thérapeutique	78
Tableau 6 : Résultats synthétiques au questionnaire permettant d'évaluer l'intérêt des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales	86

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1. Présentation PowerPoint destinée à former les équipes officinales sur le sujet des probiotiques.....	110
Annexe 2. Maquette d'un poster pour l'aide au conseil au comptoir des probiotiques.....	121

GLOSSAIRE

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AGCC : Acide Gras à Courte Chaîne

AMP: Anti-Microbial Peptide

ANSES : Agence Nationale chargée de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (fusion de l'AFSSA et de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (AFSSET))

ARN : acide ribonucléique

ARNr : acide ribonucléique ribosomique

ADNc : acide désoxy ribonucléique complémentaire

BALT: Bronchus Associated Lymphoid Tissue (Tissus lymphoïdes associés aux bronches)

CPA: Cellules Présentatrices d'Antigènes

DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

EFSA : European Food Safety Authority (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments)

FAO : Food And Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)

GALT: Gut Associated Lymphoid Tissue (Tissus lymphoïdes associés aux intestins)

IEC : Intestinal Epithelial Cells (Cellules épithéliales intestinales)

IgA: Immunoglobuline A

IFN : Interferon

LAB: Lactic Acid Bacteria (Bactéries lactiques)

LTA: Lipoteichoic acid (Acide lipoteichoïque)

LT CD4+ : lymphocytes T auxiliaires activés non cytotoxiques et non différenciés

L Th 1 : Lymphocytes T auxiliaires activés caractérisé par la production d'interféron gamma et d'interleukine 12

L Th2 : Lymphocytes T auxiliaires activés caractérisé par la production d'interleukine 4, d'interleukine 5 et d'interleukine 13

Lymphocytes Th 17: lymphocytes T helper (= auxiliaires) produisant des interleukines 17

MALT: Mucous Associated Lymphoid Tissue (Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses)

MAMP: Microbe-associated Molecular Pattern (Motif moléculaire associé au microbe) encore appelé PAMP

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques Intestinales

NFκB : Nuclear Factor Kappa B

NK: Natural Killer (tueur naturel)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAMP : Pathogen-associated molecular patterns (Motifs moléculaire associé à un groupe pathogène) = encore appelé MAMP

PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction polymérase en chaîne)

PNN : Poly Nucléaire Neutrophile

PRR : Pattern Recognition Receptor (Récepteur de reconnaissance de motif moléculaire)

RCH : Recto- Colite Hémorragique

RSV: Respiratory Syncytial Virus

RT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain reaction (réaction polymérase en chaîne avec transcription inverse)

SIgA : Secretory Immunoglobulin A (Immunoglobuline A sécrétoire)

SII : Système Immunitaire Intestinal

TFI : Troubles Fonctionnels Intestinaux

TGF β: Transforming Growth Factor Beta (Facteur de croissance Beta)

TLR: Toll Like Receptor (récepteur de type Toll)

UFC : Unité Formant Colonies

Introduction

Mon expérience officinale m'a permis de découvrir des compléments alimentaires, appelés probiotiques, pouvant avoir des effets positifs sur la flore intestinale. Cette matière étant peu, voire pas développée durant les cycles universitaires, j'ai trouvé intéressant de rédiger une thèse relative aux effets des probiotiques sur certaines pathologies et plus particulièrement sur la prévention des pathologies hivernales.

Dans le contexte actuel où les patients sont de plus en plus acteur de leur santé et non plus passif - *via* notamment internet, les publicités papiers et les publicités télévisuelles - où les patients ont un « ras le bol » de la chimie, la micronutrition, l'aromathérapie, la phytothérapie ainsi que l'homéopathie prennent de l'ampleur.

Le rôle du Pharmacien Officinal pour orienter ou réorienter correctement les patients dans ce nouveau domaine que sont les probiotiques est donc indéniable.

La flore intestinale est constituée de différentes bactéries et autres micro-organismes qui se trouvent naturellement dans les organes composants le tube digestif.

Le microbiote intestinal, c'est-à-dire l'ensemble des micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) vivant dans notre intestin, peut évoluer dans le temps et dans l'espace. Il varie et se complexifie avec l'âge ainsi pour une personne donnée, il ne sera pas le même à la naissance et en fin de vie.

Ce microbiote intestinal a deux fonctions principales:

- des fonctions métaboliques (métabolisme des glucides, des protéines, des stérols, synthèse de vitamines) ;
- des fonctions de défense (actions directes inhibitrices sur l'adhésion et la croissance des pathogènes, restauration de la barrière intestinale et contrôle des cellules immunitaires du GALT, Gut Associated Lymphoid Tissue).

La flore intestinale peut être déséquilibrée ; nous pouvons nous demander s'il est possible de rétablir cet équilibre grâce aux probiotiques.

Les probiotiques sont définis selon la FAO (Food And Agriculture Organization of the United Nations) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) comme des micro-organismes vivants (bactéries ou levures) qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte au-delà des effets nutritionnels traditionnels.

Dans une première partie, nous allons rappeler les caractéristiques de la flore intestinale, en développant son profil, son rôle ainsi que les conséquences d'un déséquilibre aussi appelé dysbiose.

Ensuite, nous définirons les probiotiques en indiquant les dosages, leur innocuité mais également la procédure européenne pour leur apposer une allégation de santé. Nous ferons un bref rappel sur les mécanismes immunitaires impliqués dans la réponse innée et adaptative et sur le GALT (Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses intestinales) ; nous analyserons uniquement les mécanismes pouvant être impactés par les probiotiques.

Après avoir défini toutes ces notions, nous mettrons en lien les probiotiques, le système immunitaire et certaines pathologies pour ainsi retranscrire les effets de ces compléments alimentaires ou médicaments sur des patients.

Dans la seconde partie, nous nous intéresserons dans un premier temps à l'avis de parents de jeunes enfants sur les probiotiques puis dans un second temps aux acquis des Pharmaciens d'Officine concernant les probiotiques et les conseils y afférant.

Dans une troisième et dernière partie, nous synthétiserons les résultats obtenus avec les différents questionnaires puis nous conclurons en rappelant l'intérêt des probiotiques, les potentielles raisons de leur développement mais également sur les connaissances que ces recherches m'ont permis d'acquérir. Enfin, cette partie nous permettra de présenter un outil d'aide à la formation et au conseil des probiotiques par les Pharmaciens Officinaux.

Partie I-

Données

bibliographiques

I Généralités

I.1 Flore intestinale

Le corps humain est habité par un grand nombre de bactéries, virus et organismes eucaryotes unicellulaires vivant en symbiose, coexistant avec leur hôte et constituant la microflore, également appelée microbiote.

Cet écosystème microbien contiendrait, en moyenne, 10^{14} bactéries (soit dix fois plus que le total des cellules de notre corps) avec plus de 500 à 1 000 espèces différentes, correspondant environ à 2 kg de notre poids et à 40% de la masse fécale [1].

Le microbiote colonise chaque surface du corps humain exposé à l'environnement extérieur comme la peau, l'appareil génito-urinaire, l'appareil respiratoire et l'appareil gastro-intestinal qui est de loin le plus colonisé. A lui seul, le côlon représente plus de 70% des bactéries du corps humain car il est riche en molécules utilisées comme nutriments (prébiotiques) par les bactéries [1].

Pour mieux comprendre la flore intestinale, nous allons commencer par définir son profil puis s'intéresser à ses évolutions et à son rôle ; ensuite nous aborderons l'équilibre de la flore intestinale pour ensuite terminer avec la présentation du microbiome intestinal humain.

I.1.A Profil de la flore intestinale

Il y a différents types de flores intestinales mais également différentes méthodes pour les analyser (ces méthodes ayant évolué au cours du temps).

I.1.A.a Différents types de flores

Il y a deux types de flores : une flore autochtone (permanente) et une flore allochtone (en transit) (Figure 1).

La première est une flore qui varie peu au cours du temps. Elle évolue toutefois avec différents facteurs spécifiques de l'individu ; on parle alors de « carte d'identité bactérienne ». Cette flore, permanente dans le microbiote intestinal, est capable de coloniser et de proliférer dans des sites spécifiques.

Elle est divisée en deux sous-groupes (Figure 1):

- la flore dominante (1% des espèces bactériennes totales),
- la flore sous-dominante.

La flore allochtone, encore appelée flore de transit ou flore de passage (en opposition avec la première), fluctue dans le temps et tout le long de l'intestin car elle possède un pouvoir d'implantation transitoire ; cette dernière reflète les infections, les changements environnementaux ainsi que les modifications alimentaires [2].

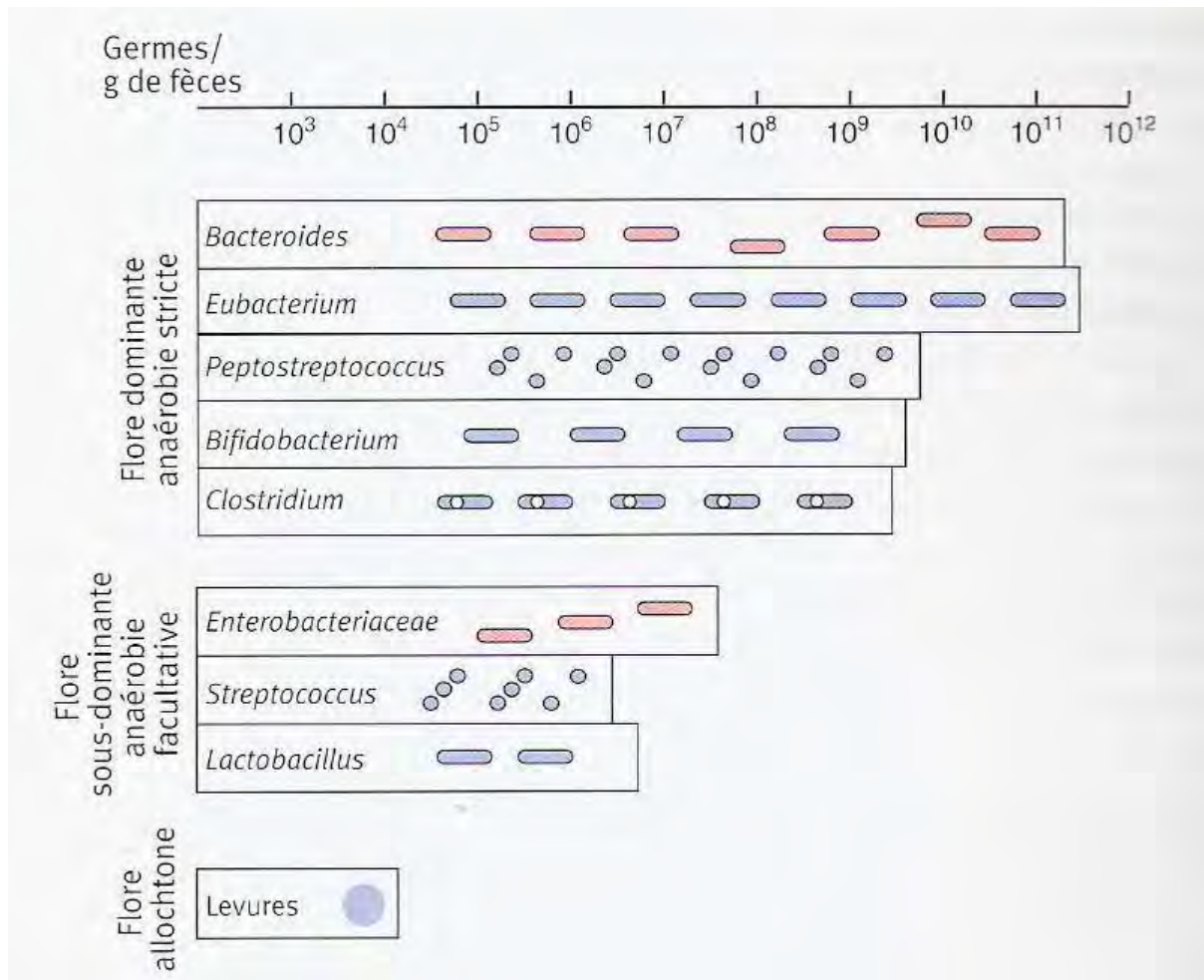


Figure 1 : Flore fécale cultivable [3]

I.1.A.b Analyse de la flore intestinale

Il y a encore quelques années, l'identification de la flore intestinale reposait sur des critères morphologiques et biochimiques impliquant des techniques d'ensemencement, de culture, d'isolement et d'identification des microorganismes [4]. Grâce à ces différentes méthodes, il a été mis en évidence qu'une grande partie de la flore était non cultivable.

Aujourd'hui, l'étude de la flore intestinale se fait grâce à des méthodes de RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) ; cette technique moléculaire permet d'étudier la sous-unité 16S de l'ARN ribosomique (16S ARNr) de chaque bactérie trouvée dans la flore fécale.

La technique de RT-PCR est une technique d'amplification exponentielle ciblée d'une séquence d'ARN.

Tout d'abord, il est impératif de recopier les brins d'ARN en ADNc simple brin ; la synthèse du second brin d'ADNc ainsi que la PCR sont effectuées dans un deuxième temps par la Taq polymérase (ou par une autre ADN polymérase thermorésistante) (Figure 2).

L'amplification des brins d'ADN sera effectuée *in vitro* par extension de deux amorces situées de part et d'autre de la région considérée à l'aide d'une ADN polymérase thermostable. Les cycles pourront se répéter X fois en fonction de la quantité nécessaire pour réaliser la recherche souhaitée (Figure 3).

Cette technique permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie [5].

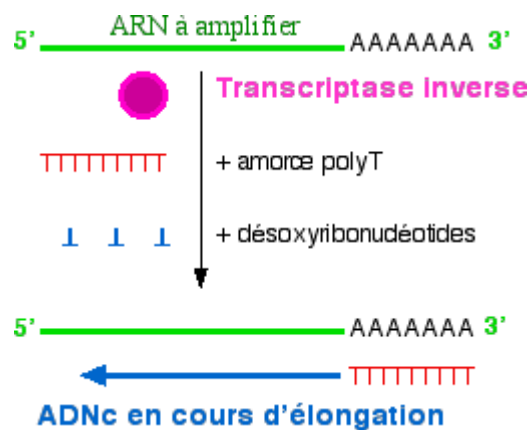


Figure 2 : Schéma simplifié du principe de RT-PCR [6]

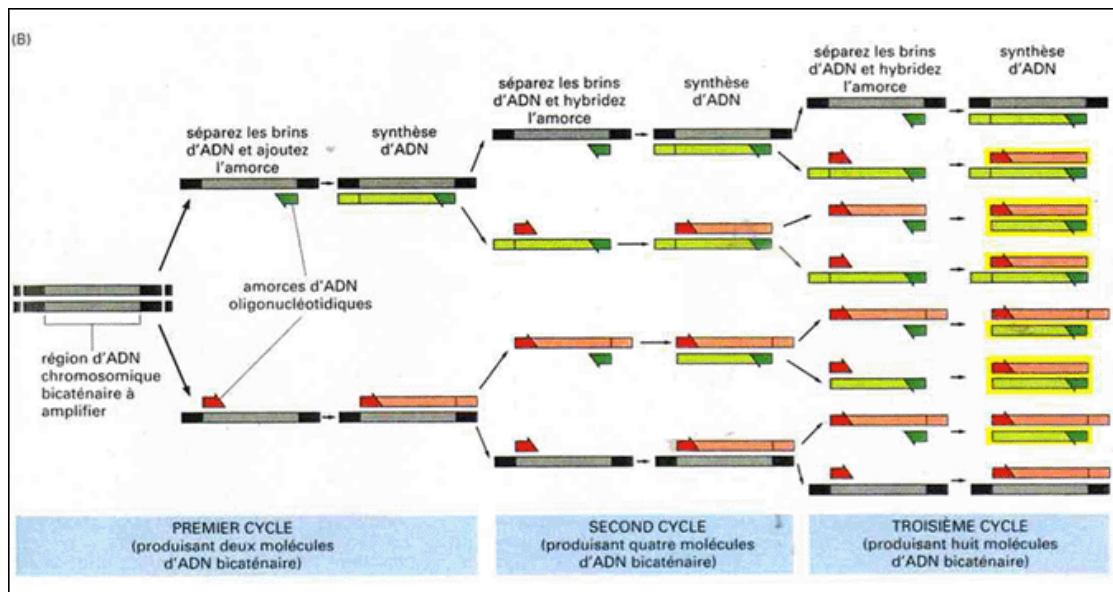


Figure 3 : **Schéma simplifié du principe de la PCR [7].** Exemple de 3 cycles ; elle est généralement réalisée sur beaucoup plus de cycles, c'est variable d'une recherche à une autre.

Il existe d'autres techniques permettant d'identifier les microorganismes en fonction de leur morphologie au microscope (forme des colonies, coloration de leur paroi, mobilité, etc...), de leur type énergétique (aérobie, anaérobie, etc...) et de leur critères biochimiques ; cela permettra, ensuite, de les classer.

La dénomination d'une bactérie se fait selon différents niveaux taxonomiques (ou groupes) de plus en plus élevés, tels qu'Espèces, Genre, Famille, Ordre, Classe, Phylum, Règne et Domaine (Figure 4). Les noms des bactéries sont désignés par deux noms latins : le nom de genre, écrit avec une majuscule, est suivi du nom d'espèce, écrit en minuscule ; l'ensemble du nom est écrit en italiques (Ex. : *Escherichia coli*). Pour identifier les bactéries, les techniques traditionnelles sont généralement utilisées mais elles peuvent présenter quelques limites (existence de bactéries non cultivables, délais importants nécessaires à certaines cultures, techniques difficilement automatisables). C'est dans ces cas que la PCR ou la RT-PCR deviennent intéressantes, pour remplacer ou compléter les informations obtenues par culture.

Domaine	Ex. : <i>Bacteria</i>
Règne	<i>Prokaryotae</i>
Phylum	
Classe	<i>Schizomycetes</i>
Ordre	<i>Micrococcales</i>
Famille	<i>Micrococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>S. aureus</i>

Figure 4 : Exemple de nomenclature des bactéries [8]

L'approche moléculaire permet de détecter les groupes bactériens dominants alors que les cultures, elles, permettent de détecter les groupes bactériens sous-dominants grâce à l'utilisation de milieux sélectifs. La technique des cultures donne une estimation du nombre de bactéries exprimée en Unités Formant des Colonies par millilitres (UFC/ml) qui est une mesure absolue du nombre de microorganismes. Contrairement aux techniques moléculaires, les estimations sont exprimées en pourcentage par rapport au nombre total de bactéries ; ces deux techniques ne peuvent donc pas se substituer mais sont complémentaires [9].

Il est inutile de définir de façon exhaustive l'ensemble des espèces d'une flore quelle qu'elle soit car il y a une évolution constante comme nous le développerons plus tard.

De ce fait, il n'est pas possible de définir un profil de flore idéale car chaque groupe est en proportion variable chez chaque individu ; environ 80% de la flore est spécifique à l'individu [10].

Chaque individu dispose d'un « code barre » bactérien unique et variable qui résulte de son histoire personnelle depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte voire jusqu'à sa mort.

I.1.B Évolutions du microbiote intestinal

Plus de 99% de notre flore est représentée par seulement 30 à 40 espèces de bactéries ; l'estimation du nombre d'espèces bactériennes dans notre microbiote intestinal varie selon les études mais, il est toléré de façon consensuelle qu'il contient entre 800 et 1 000 espèces bactériennes différentes. Plus récemment, Frank et al.

[10] ont rapporté que ce microbiote était très certainement composé de plus de 35 000 espèces bactériennes.

La composition du microbiote n'est pas figée ni dans l'espace, ni dans le temps ; elle varie longitudinalement, transversalement ainsi que dans le temps. Ces différents types de variabilité sont développés ci-dessous.

I.1.B.a Variabilité longitudinale

La Figure 5 illustre les variations quantitatives longitudinales de la microflore de l'estomac au côlon. Cette variabilité le long du tractus digestif est la conséquence de [11] :

- l'acidité de l'estomac qui empêche une prolifération trop importante des bactéries,
- le péristaltisme intestinal qui empêche la « fixation » des bactéries au niveau de la muqueuse intestinale du duodénum, du jéjunum et de l'iléon, conduisant à une colonisation bactérienne croissante du haut vers le bas de l'intestin. L'absence de péristaltisme au niveau du côlon justifie également une présence bactérienne quantitativement plus forte : $10^1 - 10^3$ UFC/g au niveau de l'estomac, $10^3 - 10^6$ UFC/g au niveau du duodénum, $10^3 - 10^9$ UFC/g dans l'iléon, et $10^9 - 10^{11}$ UFC/g dans le côlon.

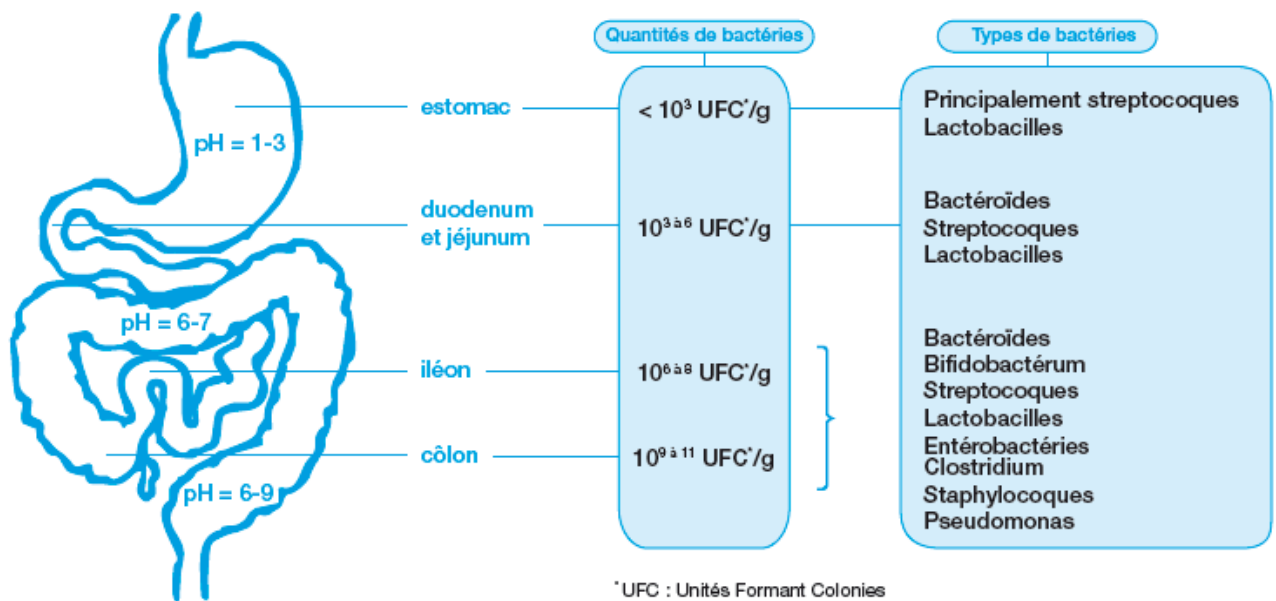


Figure 5 : Répartition de la flore intestinale bactérienne le long de l'intestin [11]

Outre la variabilité quantitative, il existe une variabilité qualitative des bactéries présentes le long de l'intestin (Tableau 1) [10].

	Intestin grêle	Côlon
<i>Firmicutes Lachnospiraceae</i>	20 %	40 %
<i>Firmicutes Bacillus</i>	25 %	15 %
<i>Firmicutes Miscella-Neous</i>	10 %	5 %
<i>Proteobacteria</i>	10 %	10 %
<i>Bacteroidetes</i>	15 %	25 %
<i>Actinobacteria</i>	5 %	5 %

Tableau 1 : Groupes bactériens présents le long de l'intestin grêle et du côlon (les phylums de faible abondance ont été omis dans le calcul des pourcentages).

Le côlon est plus riche en *Firmicutes lachospiraceae* et en *Bacteroides* que l'intestin grêle ; en revanche, ce dernier possède une population plus importante de *Firmicutes bacillus* ainsi que de *F. miscella-neous* que le côlon. La quantité en *Actinobacteria* est identique dans l'intestin grêle et le côlon.

I.1.B.b Variabilité transversale

La Figure 6 illustre les variations transversales pouvant être observées ; les bactéries présentes dans la lumière intestinale n'ont pas accès à la couche de mucus et aux cryptes épithéliales [1]. Cela explique l'absence d'inflammation chronique de la muqueuse ; la couche de mucus protégerait les cellules épithéliales intestinales (IEC) du grand nombre de bactéries lumineuses.

En revanche certaines bactéries ont accès à cette couche comme les *B. bifidum* ou les *B. fragilis*. Elles jouent différents rôles dont celui de libérer des monosaccharides de la couche de mucus pour apporter des nutriments à l'écosystème du côlon où la population bactérienne lumineuse y est trop importante.

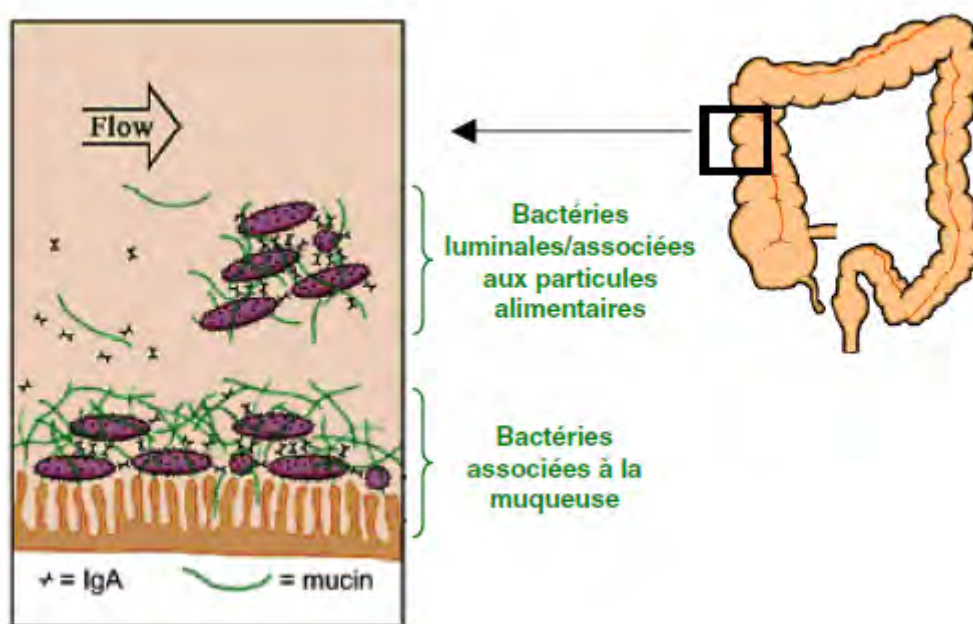


Figure 6 : **Variation transversale du microbiote intestinal [11]**

I.1.B.c Variabilité dans le temps

Le microbiote intestinal varie tout au long de la vie et se complexifie avec l'âge (aux environs de 65 ans) ; même si l'évolution du microbiote intestinal peut être grossièrement divisée en trois grandes périodes (Figure 7), il ne cesse d'évoluer au cours de la vie.

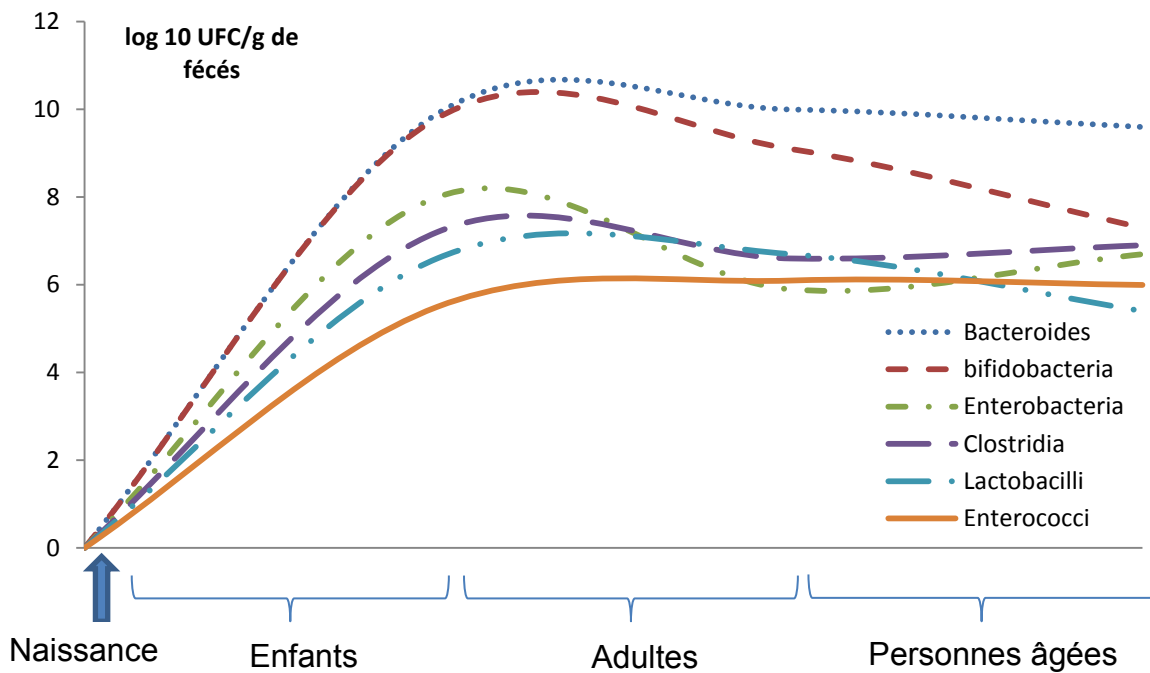


Figure 7 : Évolution du microbiote intestinal au cours du temps [13]

I.1.B.c.i Du nouveau-né à l'enfant

Le nouveau-né, stérile *in utero*, est rapidement colonisé dès sa naissance.

Cette toute nouvelle flore est constituée de bactéries provenant :

- de la flore fécale de la mère, principalement des entérobactéries et des bifidobactéries ;
- de la flore vaginale de la mère, principalement des lactobacilles (accouchement par voie basse) ;
- et/ou de la flore provenant de l'environnement proche incluant l'air et le personnel soignant (accouchement par césarienne).

Toutefois, toutes les bactéries auxquelles est exposé le nouveau-né ne s'implanteront pas [9 ; 14].

Sa nouvelle flore évolue, par la suite, en fonction, de son alimentation (lait maternel ou artificiel, diversification alimentaire), de son milieu de vie et du contact avec les personnes proches *via* les caresses, les baisers et les tétées (pour l'allaitement maternel) jusqu'à se stabiliser vers l'âge de 2 à 4 ans [9 ; 14].

Des études menées par Ley et al. [1] sur des souris, ont montré qu'il existe un lien étroit entre le microbiote du souriceau et celui de la mère ; toutefois, chez les humains, rien n'a encore été prouvé.

Cependant, Zoetendal et al. [1] ont démontré que le microbiote de jumeaux monozygotes et dizygotes était similaire, suggérant ainsi que les facteurs génétiques ne sont pas en cause mais que le microbiote de la mère détermine la future flore de l'enfant.

Néanmoins, il convient de prendre des précautions quant aux conclusions que l'on peut tirer de ces études car d'une part l'alimentation peut varier entre ces différentes études et, d'autre part, elles ont été menées dans des conditions aseptiques conduisant à une colonisation quasi exclusive par la flore maternelle [1].

A l'âge de 2 ans, l'enfant possède une flore intestinale de même type que celle de l'adulte avec plusieurs centaines d'espèces ; toutefois, de nombreux facteurs peuvent perturber cette cinétique d'implantation comme le mode d'accouchement, le terme à la naissance, le mode d'alimentation, la prise d'antibiotiques, la vaccination précoce ou encore l'environnement de l'enfant [15]. Ces différents points sont abordés ci-après.

➤ alimentation

Un des facteurs les plus étudiés à ce jour est la nutrition infantile par le lait maternel ou le lait infantile ; le premier a une composition plus propice à la colonisation par les bifidobactéries tandis que le second favorise l'implantation d'une flore plus diversifiée mais moins protectrice.

La quantité de bactéries implantées est légèrement plus faible chez les nouveau-nés nourris au lait infantile et encore plus faible pour les nouveau-nés nés par césarienne (Figure 8) [9].

Cependant, avec l'amélioration de la qualité des laits infantiles, leur composition se rapproche de plus en plus de celle du lait maternel [9 ; 14] ; à titre d'exemple, de nombreuses études ont été réalisées pour juger du bienfait de l'adjonction du TGF β (Transforming Growth Factor Beta), présent dans le lait maternel, dans le lait infantile donné aux nourrissons. Par ailleurs, la méta-analyse d'Oddy WH et al. [16] faite sur 12 études a montré un effet bénéfique de la supplémentation du lait infantile par le TGF β contre l'allergie. Néanmoins, dès l'instauration d'une alimentation diversifiée, les effets bénéfiques s'estompent ; chaque enfant développe alors une flore avec une base individuelle et un noyau commun à tous [17].

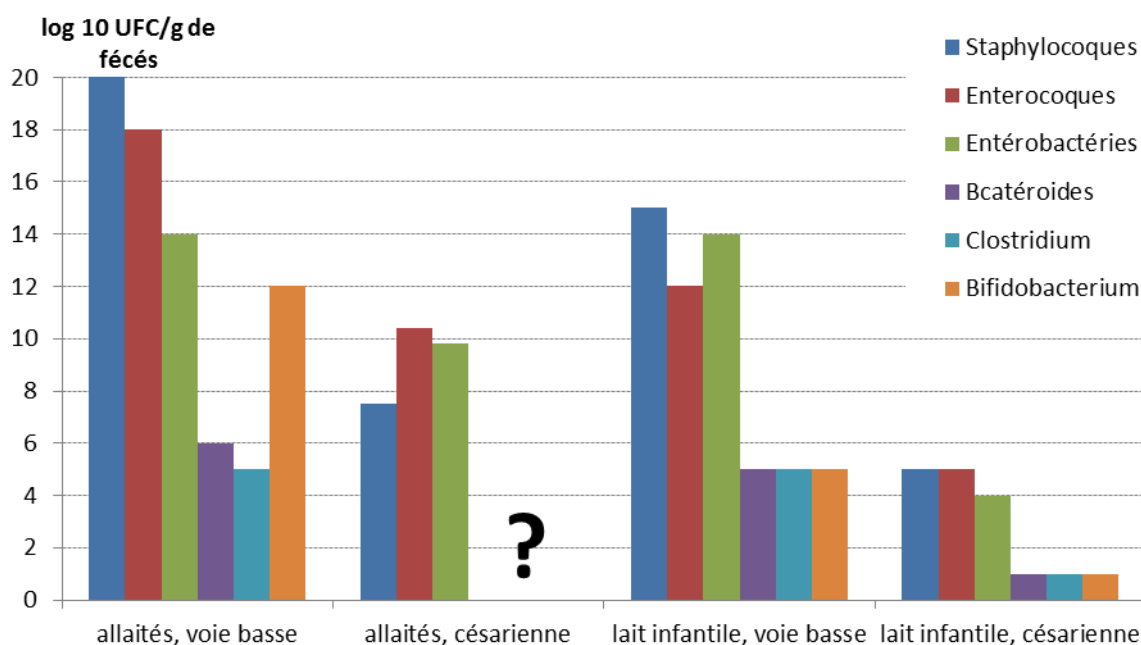


Figure 8 : **Histogramme du nombre de bactéries colonisant l'intestin du nouveau-né suivant qu'il soit né par césarienne ou par voie naturelle ou qu'il soit allaité ou nourri au lait infantile. Des données sont manquantes pour les enfants allaités nés par césarienne [9]**

➤ prise d'antibiotiques

L'administration d'antibiotiques chez la mère enceinte et/ou chez l'enfant en *post-partum*, retarde l'implantation de la flore ainsi que le nombre de bifidobactéries [15].

➤ autres facteurs

D'autres facteurs interviennent au moment de la naissance comme le fait que les enfants soient nés dans un pays développé ou dans un pays en voie de développement, en milieu rural ou urbain au sein d'un même pays, en milieu hospitalier ou à domicile.

Un retard d'implantation de la flore normale peut s'expliquer aussi par des conditions d'hygiène trop strictes au moment de l'accouchement : nettoyage du périnée maternel, mesures importantes d'asepsies prises par le personnel soignant ainsi que par les parents de retour à domicile.

Toutes ces mesures réduiraient l'exposition et donc la transmission de la flore mère/enfant mais aussi environnement/enfant [2 ; 9 ; 14].

I.1.B.c.ii De l'adulte à la personne âgée

Mature à l'âge de deux ans, la microflore ne cesse d'évoluer en fonction de différents facteurs (mode de vie, alimentation, prise de médicaments, etc ...). Le microbiote intestinal se diversifie et se complexifie avec l'âge comme en témoigne le Tableau 2.

	Enfants	Adultes	Personnes âgées en bonne santé
Bactéroides	14.8 %	9.1 %	9.7 %
Bifidobactéries	39.6 %	22.1 %	29.1 %
Entérobactéries	1.3 %	0.3 %	0.7 %

Tableau 2 : **Pourcentages d'ARNr 16S spécifique par tranches d'âge: enfants (16 mois à 7ans), adultes (21 à 34 ans) et personnes âgées en bonne santé (67 à 88 ans) [13]**

D'après la Figure 7 et le Tableau 2, nous pouvons noter que les bactéries appartenant au Phylum des bactéroïdètes (notamment le genre *bactéroïdes*) se

développent tout au long de l'enfance pour ensuite diminuer et stagner à partir de l'âge adulte jusqu'au décès [13].

Les probiotiques du genre des *entérobactéries*, des *bifidobactéries* ainsi que des *lactobacilli* suivent quasiment le même schéma avec une progression durant l'enfance puis une diminution à l'âge adulte pour ré-augmenter très légèrement chez la personne âgée [13].

En revanche pour les genres des *enterococci* et des *clostridia*, on observe un schéma différent avec une progression pendant l'enfance ainsi qu'une légère diminution des quantités à l'âge adulte comme pour les autres genres ; aux environs de 70 ans, la quantité de ces derniers genres augmente de nouveau [13].

Différents facteurs ont été proposés pour justifier la modification de la flore chez la personne âgée [11] :

- diminution de la diversification alimentaire ainsi que diminution des rations,
- diminution du péristaltisme intestinal,
- augmentation de la consommation de médicaments (antibiotiques, laxatifs, inhibiteurs de la pompe à protons, anti-inflammatoires, etc...),
- altération de la composition chimique du mucus de la paroi intestinale.

I.1.C Rôles du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal joue de nombreux rôles sur la santé et le bien-être de l'individu et aucun ne doit être sous-estimé ; il participe à deux fonctions majeures détaillées ci-dessous.

I.1.C.a Principales fonctions métaboliques

Cette activité métabolique assure la dégradation de composés d'origine alimentaires non digestibles. Une grande partie de nos aliments n'est pas digérée au niveau de l'intestin grêle, le rôle de notre flore est, alors, de les fermenter au niveau

du côlon. Cette réaction libère alors des acides gras à chaîne courte (acétate, propionate, butyrate) et des gaz (H_2 , CO_2 , CH_4) (Figure 7) [3].

1.1.C.a.i Métabolisme des glucides

Le métabolisme des polysides par le microbiote intestinal est influencé par différents facteurs [3]:

- le substrat (taille et forme),
- l'hôte : plus le transit est lent, meilleure est la métabolisation,
- des micro-organismes présents,
- du site colique : la métabolisation a lieu dans le côlon terminal.

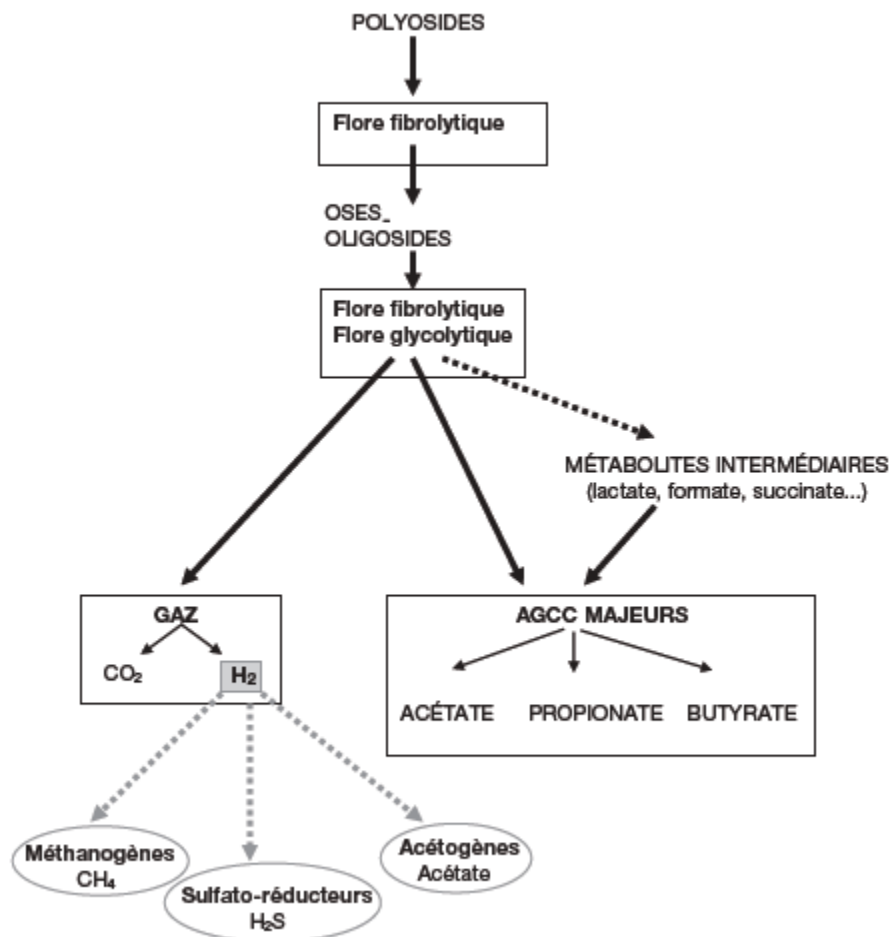


Figure 9 : Chaîne trophique de dégradation et de fermentation des glucides par la microflore colique [18]. AGCC= Acides gras à courte chaîne

Le métabolisme des glucides se fait grâce à la flore dite de fermentation (également nommée flore hydrolytique ou fibrolytique) ; elle est dominante dans la première partie du côlon droit et est composée d'espèces saccharolytiques. Les substrats utilisés sont les hydrocarbures tels que les fibres insolubles, les amidons résistants et l'inuline ; ainsi, grâce à leurs glucosidases et leurs polysaccharidases, les bactéries hydrolytiques, hydrolysent les polysides en fragments d'oses et d'oligosides.

Une autre flore, la flore hydrogénotrophe, vient compléter la précédente avec des espèces méthanogènes utilisant comme substrat l'hydrogène, les lactates, les succinates et l'éthanol, et des espèces sulfato-réductrices utilisant comme substrat des dérivés sulfates et nitrates (Figure 9).

Le microbiote dominant responsable de ce métabolisme est principalement composé de:

- *Bactéroides*,
- *Eubactérium*,
- *Bifidobacterium*,
- *Ruminococcus*,
- *Lactobacillus*,
- *Propionobacterium*,
- *Actinomyces*,
- *Streptococcus*.

I.1.C.a.ii Métabolisme des protéines

Le métabolisme des protéines repose sur la flore protéolytique prédominante dans le côlon distal car leurs enzymes ne fonctionnent que dans des conditions strictes de pH (6-9) (Figure 5) ; cette flore est constituée principalement de :

- *Peptostreptococcus*,
- *Peptococcus*,
- *Clostridium*,
- *Escherichia*,
- *Fusobacterium*.

Les protéines, dérivés protéiques et peptides sont hydrolysés par des bactéries protéolytiques possédant des activités protéases (sérine et cystéine protéase) et métalloprotéases (thermolysine et protéase de la matrice extracellulaire) en acides aminés.

Ils constituent le substrat énergétique de ces bactéries qui ne sont pas capables d'utiliser les polysaccharides comme substrats. (Figure 10).

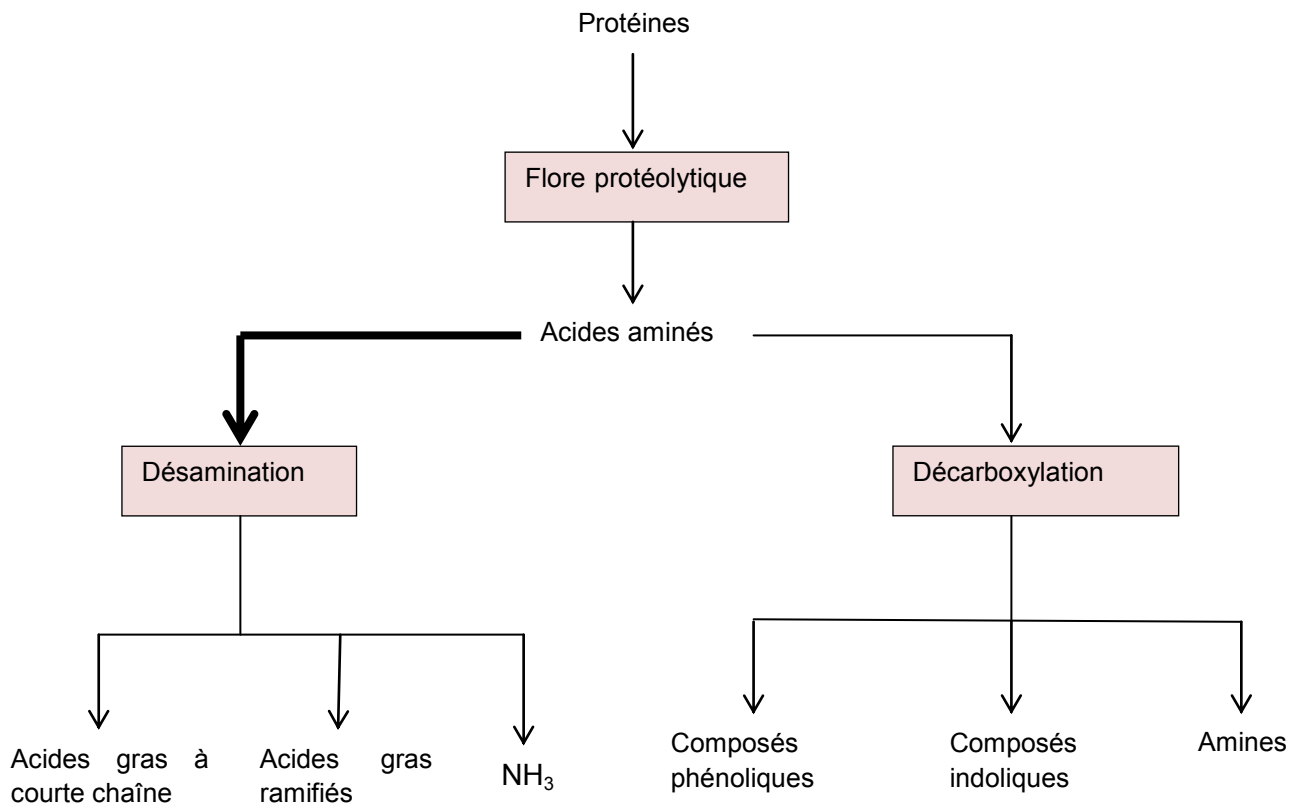


Figure 10 : **Métabolisme des protéines par la microflore colique**

Ces mécanismes démontrent qu'un équilibre est nécessaire entre ces flores ; un déséquilibre en faveur d'une flore de fermentation favorise le développement de levures ou de micro-organismes glucides-dépendants. *A contrario*, un déséquilibre en faveur de la flore de putréfaction réduit la protection cellulaire et aggrave la toxicité de certaines substances [3 ; 2].

I.1.C.a.iii Métabolisme des stérols

Tous les jours, 5 à 8 grammes de lipides transitent dans notre intestin ; ces acides gras, en arrivant dans le côlon, sont métabolisés par les bactéries du microbiote intestinal *via* une lipase pour donner des triglycérides. Ces triglycérides sont hydrolysés en acides gras avec 20 à 22 carbones non métabolisables, et des acides gras insaturés à 18 carbones qui eux seront réduits [2 ; 18] (Figure 11).

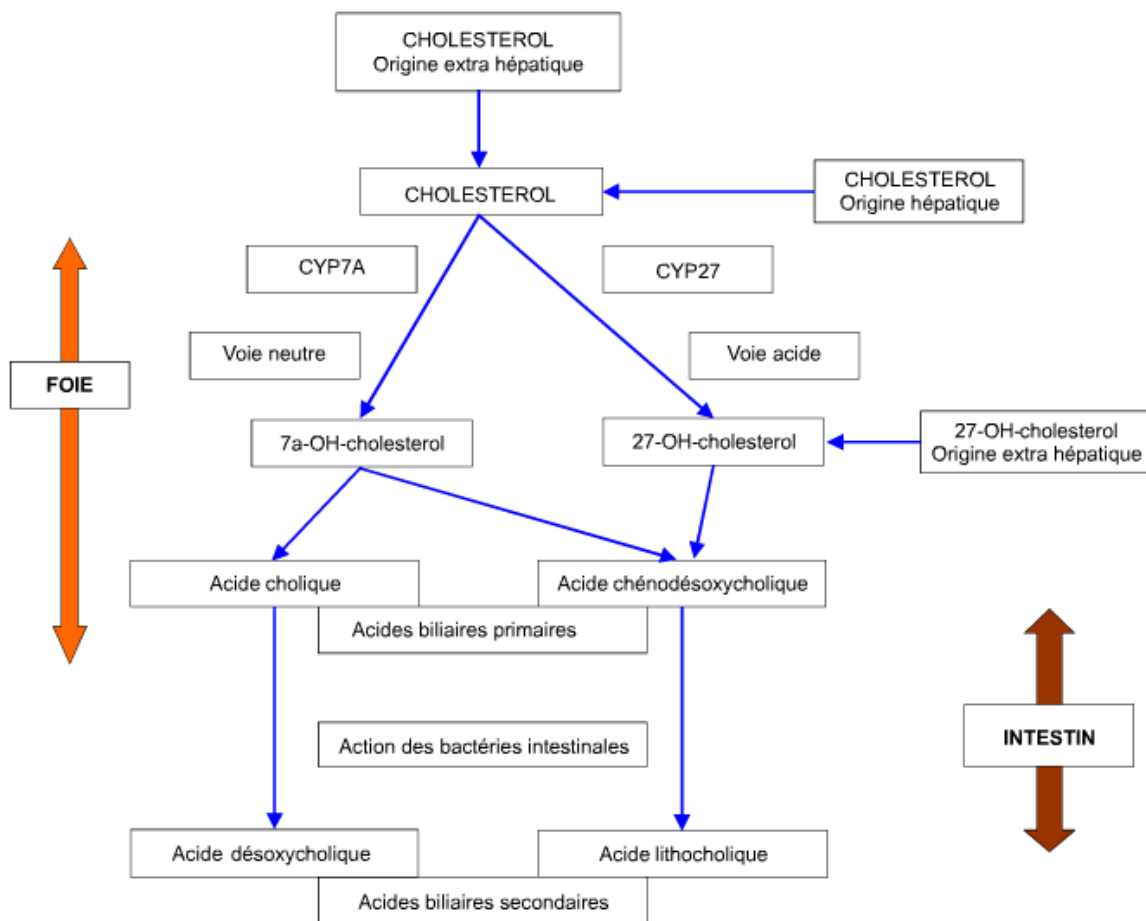


Figure 11 : **Étapes hépatiques, biliaires et intestinales du métabolisme du cholestérol et des acides biliaires [19]**

I.1.C.a.iv Synthèse de vitamines

La flore assure la synthèse des vitamines indispensables à l'homme (principalement vitamines K et B) à l'exception des vitamines A, C et D [2]. Les mécanismes ne sont pas bien identifiés, toutefois, une antibiothérapie réduirait le taux de vitamine K tout particulièrement chez le sujet âgé [2].

I.1.C.b Principales fonctions de défenses

Les probiotiques jouent un rôle sur trois niveaux de défense intestinale [20] :

- restauration de la barrière intestinale
- inhibition directe sur l'adhésion et la croissance des pathogènes (non développés ci-après)
- contrôle du SII (Système Immunitaire Intestinal) : le GALT

I.1.C.b.i Restauration de la barrière intestinale

À ce niveau, les probiotiques renforcent la flore intestinale et l'influencent favorablement afin de mieux jouer son rôle de première ligne défensive [21] ; à ce niveau, les micro-organismes ont différentes actions :

- action sur les jonctions serrées (Figure 12),
- protection des IEC (Intestinal Epithelial Cells) contre de potentielles agressions en contrôlant leur vitesse de prolifération,
- induction de la production et de l'exportation de SIgA (Secretory Immunoglobulin A) ainsi que des AMP (Anti-Microbial Peptide) dans la lumière intestinale comme Reg IIIg et α -défensine [22].

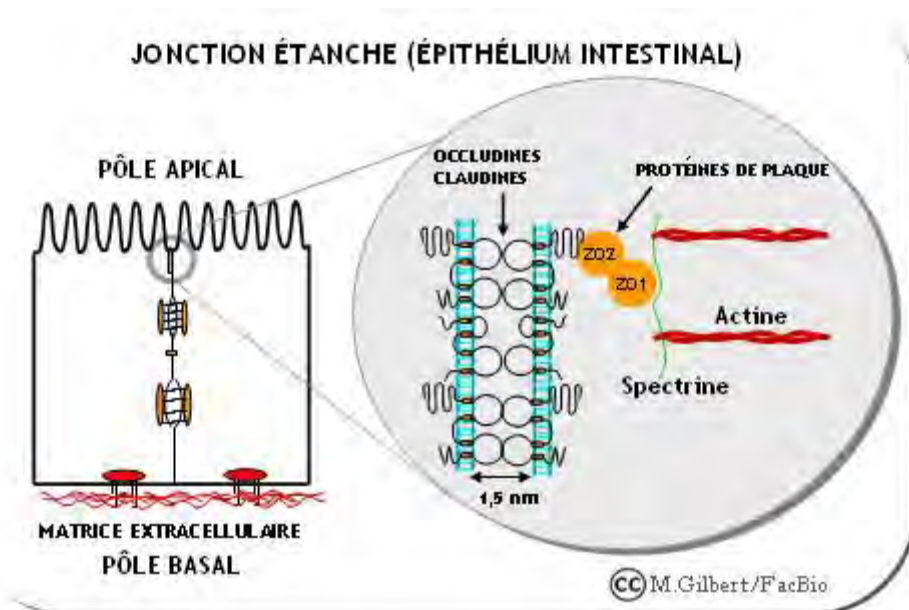


Figure 12 : Schéma simplifié d'une jonction serrée [23]

La muqueuse intestinale correspond à une frontière entre le monde extérieur et intérieur. Cette barrière est recouverte d'un film protecteur (mucus) de façon à ce que la majeure partie des bactéries commensales ne soient pas en contact direct avec l'épithélium et le SII. Les probiotiques stimulent la sécrétion de mucine par les cellules calciformes intestinales.

Le mucus est constitué principalement de mucines (protéines MUC2) et se présente sous forme de deux couches : une première couche dite interne et une seconde dite externe. Par rapport à cette dernière, la première couche, attachée aux IEC, est plus épaisse et plus visqueuse, ce qui la rend plus difficilement accessible aux bactéries ; elle est donc exempte de bactéries. Cette couche piège également la plupart des AMP sécrétés dans la lumière intestinale, les SIgA principalement.

Elle joue aussi le rôle de « concentrateur » des métabolites bactériens afin qu'ils puissent effectuer leur tâche en termes de signalisation. Des études [21 ; 22] ont montré qu'en cas de déficience de MUC2, l'inflammation intestinale ainsi que la susceptibilité aux infections intestinales étaient accrues dû à un accès trop grand des bactéries aux IEC et au SII.

I.1.C.b.ii Contrôle du système immunitaire intestinal : le GALT

La flore intestinale a un rôle essentiel dans le développement et la maturation de la réponse immunitaire (cellulaire et humorale). Les bactéries commensales sont impliquées dans le développement du GALT par le biais des informations transmissent aux entérocytes et aux cellules M (Figure 13) puis *in fine* aux cellules présentatrices d'antigènes (CPA).

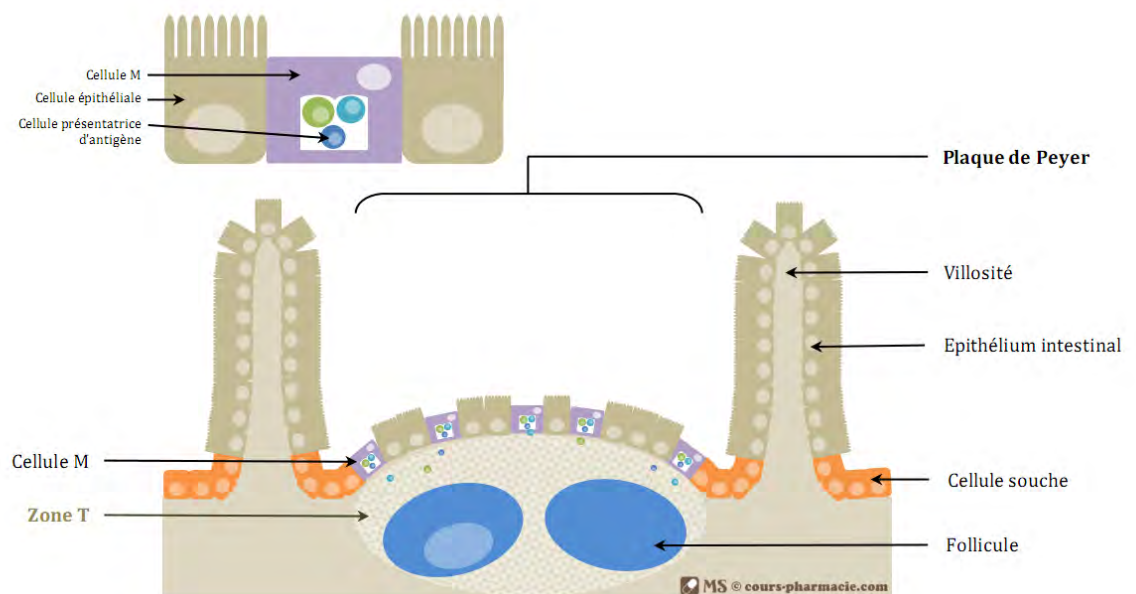


Figure 13 : **Schéma simplifié représentant la structure de la Plaque de Peyer [24]**

Les plaques de Peyer sont des agrégats de 5 à 200 follicules lymphoïdes situés à intervalles réguliers dans la partie terminale de l'iléon. Ces follicules lymphoïdes, composés en grande partie de lymphocytes B et de lymphocytes T, sont séparés de la lumière intestinale par des cellules épithéliales particulières, appelées cellules M.

Il y a, durant le cours de la vie, un véritable « dialogue » entre les cellules épithéliales et les bactéries [13]. La composition et le fonctionnement du GALT est détaillé ci-après.

Le système immunitaire intestinal a deux fonctions principales qui peuvent sembler contradictoires [18]:

- un rôle de défense immunitaire à proprement parler avec une fonction protectrice contre les virus, les bactéries et les parasites endopathogènes,
- un rôle de régulation afin d'empêcher l'induction de réponses immunitaires envers les composants des aliments et des bactéries commensales présentes dans le tube digestif : phénomène de tolérance orale. Les bactéries du microbiote exercent une pression permanente sur la muqueuse intestinale afin d'acquérir progressivement une tolérance et de la maintenir [24]. Mazmanian S. et al. [18] ont observé chez des souris axéniques (souris dépourvues de microbiote intestinal) :
 - une hypoplasie des plaques de Peyer (Figure 13),
 - des lymphocytes inter-épithéliaux,
 - une chute des taux sériques en immunoglobulines,
 - une rate et des ganglions lymphatiques non structurés.

Lors de l'inoculation du microbiote issu de souris témoins aux souris axéniques, les anomalies ont disparu en l'espace de quelques semaines.

I.1.D De l'eubiose à la dysbiose

Dans son ensemble, la flore intestinale est « stable, équilibrée, et normale » : elle est alors qualifiée d'eubiose ou normobiose ; cette flore est propre à chaque individu conduisant à une forte variabilité inter-individuelle. Néanmoins, une variabilité plus ou moins ponctuelle est possible chez un même individu ; elle est alors qualifiée de dysbiose.

Il existe une grande variabilité d'espèces et de sous-espèces, ainsi qu'une multiplicité de facteurs génétiques (mutations sur certains gènes comme NOD2) pouvant influencer cette flore. De plus, d'autres facteurs exogènes viennent déstabiliser cet équilibre fragile [15], ces phénomènes peuvent conduire à la disparition ou l'apparition de certains symptômes (Figure 14) [11].

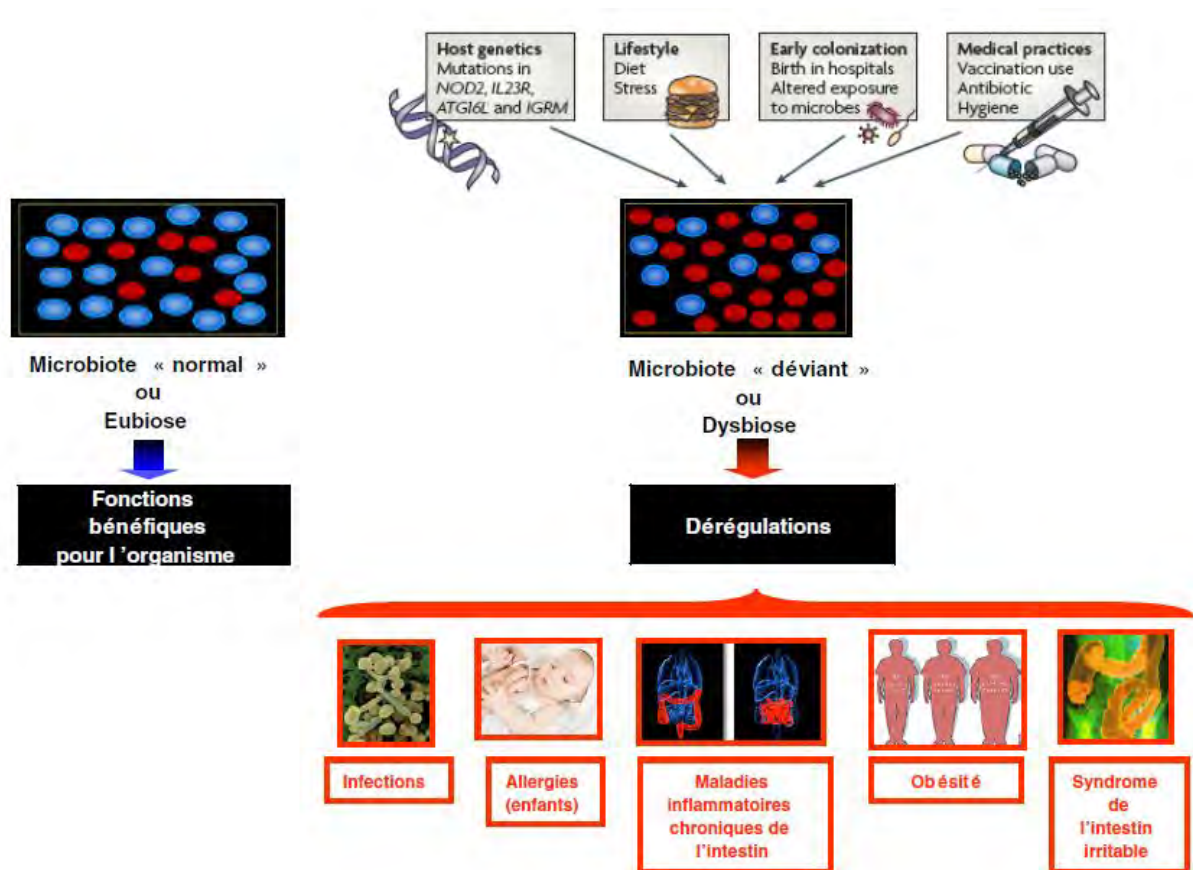


Figure 14 : De l'eubiose à la dysbiose [11]

I.1.E Microbiome intestinal humain

Des nouvelles techniques d'études sont apparues récemment venant compléter les techniques de culture ou de PCR décrites précédemment notamment pour l'étude du microbiome.

Le microbiome représente l'ensemble de tous les micro-organismes et de leur matériel génétique présent dans ou sur le corps humain ou dans un autre environnement. Le microbiome est un système qui interagit mutuellement entre les cellules hôtes et la communauté microbienne résidente [26].

A ce jour, la métagénomique serait l'approche la plus poussée pour caractériser le répertoire des gènes de tout contexte microbien complexe, que les constituants puissent être cultivés ou non [27] (Figure15).

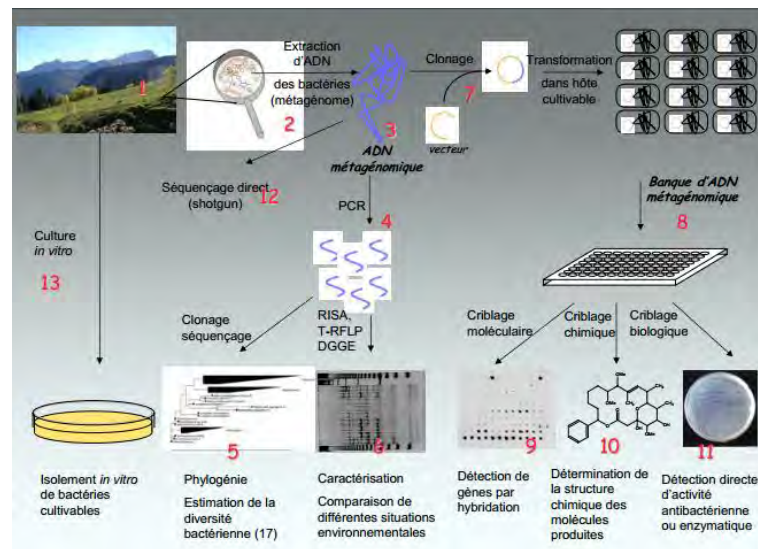


Figure 15 : **Schéma général de l'approche génomique [28]**

Explication de la Figure 15 :

A partir d'un échantillon prélevé dans l'environnement (1) (sol, eau, etc.) des traitements sont appliqués afin d'extraire et purifier l'ADN bactérien (2). Il est très important de comprendre qu'il n'y a pas de mise en culture des bactéries mais une récupération directe du génome des organismes procaryotiques [28].

Il existe plusieurs possibilités de traiter l'ADN « métagénomique » extrait (3) [28]:

- Une des méthodes parmi les plus utilisées est d'effectuer une étape d'amplification PCR (4), les produits ainsi générés pouvant être clonés et séquencés offrant, par exemple, la possibilité d'estimer la diversité bactérienne par génération d'arbres phylogénétiques (5). Une autre possibilité consiste à utiliser des méthodes de « finger printing » qui produisent des profils de bandes rendant compte de la diversité bactérienne au sein de l'échantillon analysé (6).
- La seconde approche consiste à cloner directement l'ADN métagénomique extrait (7) dans un hôte bactérien domestiqué comme *E. coli* permettant de générer des banques d'ADN métagénomique. Il existe au moins 3 méthodes pour cribler ces banques, de façon moléculaire par hybridation après que l'ADN ait été extrait et déposé sur membrane (9) mais aussi en analysant chimiquement le surnageant de culture de façon à identifier les composés produits suite à l'expression de l'insert (10). Enfin, une dernière

méthode consiste à étaler les clones métagénomiques sur un milieu sélectif ne révélant ainsi que ceux dont l'expression des gènes de l'insert permet la croissance (11). Dans ces deux dernières méthodes, l'expression des gènes métagénomiques est nécessaire requérant un changement d'hôtes d'expression de façon à cribler un nombre plus élevé d'inserts provenant de bactéries phylétiquement éloignées.

- La dernière approche d'exploitation de l'ADN métagénomique implique son séquençage direct par shotgun (12), approche qui nécessite cependant d'énormes capacités de séquençage pour fournir des résultats exploitables.

Ces différentes approches de métagénomique doivent compléter l'approche traditionnelle de culture in vitro (13) [28].

I.2 Les probiotiques

L'étude de la flore ainsi que l'établissement du lien entre dysbiose et pathologie a attisé la curiosité de nombreux chercheurs ; la porte de la grande famille des probiotiques a été ouverte.

Nous définirons le terme « probiotique » puis nous étudierons dans quel état, mort ou vivant, à quelle dose il est nécessaire d'administrer ces compléments alimentaires pour obtenir un effet bénéfique. Ensuite nous aborderont la question de l'innocuité de ces micro-organismes et pour finir nous verrons quelques points législatifs essentiels.

I.2.A Généralités

I.2.A.a Définitions de probiotiques

D'après la FAO et l'OMS [4 ; 12 ; 21], les probiotiques sont des microorganismes vivants (bactéries ou levures) qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte au-delà des effets nutritionnels traditionnels.

Ils peuvent être présents ou introduits dans certains aliments (compléments alimentaires) ou encore dans certains médicaments (ex : Lactéol[®] contenant des *Lactobacillus LB*). Les probiotiques les plus connus sont les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*) et les Bifidobactéries, largement utilisés dans les yaourts et autres produits laitiers fermentés [12 ; 29].

I.2.A.b Prébiotiques et symbiotiques

Il est fréquent de voir associé au terme probiotique celui de prébiotique. Les prébiotiques, à la différence des probiotiques, ne sont pas des micro-organismes mais des substances fermentescibles autrement dit des substances résistantes aux différentes étapes de la digestion.

Prébiotiques et probiotiques vivent en symbiose.

Les probiotiques possèdent un effet bénéfique sur la flore intestinale et donc sur l'hôte en stimulant de manière sélective la croissance favorable ou l'activité d'un nombre limité de bactéries autochtones [30-31].

Les prébiotiques sont, eux, des sucres de petites tailles (fructo, galacto-oligosaccharides, etc ...) mais aussi des fibres, des inulines, des lactuloses, des polyols, etc... [30-31] ; à titre d'exemple, la fermentation de l'oligofructose dans le côlon conduit d'une part à une augmentation du nombre de Bifidobactéries, et d'autre part à un accroissement de l'absorption calcique, à une augmentation du poids fécal, à un raccourcissement du temps de transit gastro-intestinal et éventuellement à une diminution du taux de lipides sanguins [31].

Les symbiotiques sont des associations appropriées de probiotiques et de prébiotiques [30-31] ; le prébiotique va favoriser le développement du probiotique et ainsi potentialiser l'effet bénéfique de ce dernier sur la santé [30].

I.2.A.c Classification des probiotiques

La classification d'un probiotique est stricte et organisée : elle dépend de son genre, de son espèce et de sa souche [12 ; 29 ; 31]. Par exemple, pour les Lactobacilles, on retrouve le *Lactobacillus rhamnosus* GG, le *Lactobacillus casei* DN-114 001 ainsi que le *Lactobacillus acidophilus* LA 401.

Cette classification est importante car les effets décrits dépendent de la souche et non de l'espèce ou du genre. En revanche, malgré cette classification, aucune réglementation n'existe quant aux noms commerciaux ou de marques [29 ; 31] : les laboratoires peuvent donc les commercialiser sous le nom qu'ils souhaitent (par exemple : LGG pour *Lactobacillus rhamnosus* GG).

I.2.B Survie, dosages et qualité

La supplémentation en probiotiques est intéressante mais il est possible d'en trouver sous toutes les formes et à des concentrations différentes.

I.2.B.a Survie des Probiotiques en transit dans l'intestin

Les probiotiques doivent être non seulement capables de résister à leur passage dans le tube digestif mais aussi avoir la capacité de proliférer dans l'intestin pour exercer leur effets bénéfiques sur l'hôte.

La quantité de probiotiques survivant lors du transit dans l'intestin humain dépend de la souche, de la dose ingérée, des facteurs liés à l'hôte (acidité, sels biliaires, etc ...) mais aussi de l'aliment vecteur ; en effet, une grande partie des souches de Bifidobactéries et de Lactobacilles survivent dans le transit intestinal pour arriver en grande quantité dans les fèces. *A contrario*, les souches *Lactococcus lactis* résistent mal au transit et peu de souches sont récupérées après ingestion (1% dans les fèces environ) [4]. Actuellement, les souches *Streptococcus thermophilus* ou encore *Lactobacillus bulgaricus* utilisées dans les yaourts meurent en grande partie dans la partie haute du tube digestif [4].

De façon générale, les probiotiques ingérés persistent durant la période de consommation puis sont éliminés en quelques jours ; ils n'y a pas de colonisation durable [4].

De plus, comme le précise la définition de l'OMS, les bactéries vivantes seraient plus efficaces en termes d'immunomodulation que l'ADN bactérien ou encore que leur paroi [32] ; cependant, d'autres études ont montré que même des probiotiques tués par la chaleur pouvaient être efficaces [33].

I.2.B.b Quantité nécessaire pour un effet bénéfique

Des concentrations de probiotiques supérieures ou égales à 10^6 UFC/mL dans l'intestin grêle et à 10^8 UFC/mL dans le côlon sont considérées comme suffisantes pour produire un « effet sur la santé » [4]. Cependant, les doses recommandées varient selon la souche et le produit (complément alimentaire, produit laitier, etc ...) ; en effet, la majorité des produits vendus sont au dosage 10^9 UFC/dose mais certains se sont révélés être efficaces à des doses plus basses alors que d'autres nécessitent des doses plus élevées [31].

Par ailleurs, le même probiotique à différentes doses peut soit promouvoir soit supprimer la réponse immunitaire. Ces bactéries pourraient donc être inefficaces ou même préjudiciables si elles n'étaient pas utilisées à des doses optimales [34].

Il est donc impossible d'établir un dosage standard pour tous les probiotiques.

I.2.B.c Démonstration des effets bénéfiques

Un effet bénéfique, également appelé effet bifidogène, peut être défini par une augmentation du niveau de la population des Bifidobactéries au sein de la flore du côlon et/ou fécale mais aussi par la stimulation d'une ou plusieurs fonctions qui leur sont spécifiques. La démonstration de cet effet nécessiterait une ou plusieurs études contrôlées chez l'homme notamment des études randomisées, en double aveugle, sur un nombre suffisant d'individus, avec un contrôle alimentaire et un « placebo »

adapté, etc ..., malheureusement à ce jour, toutes ces conditions sont rarement réunies dans les études réalisées [4].

I.2.C Innocuité

Il paraît important de préciser que peu d'études se focalisent sur cet aspect. Toutefois, depuis plusieurs décennies, les probiotiques sont couramment utilisés sans effets indésirables rapportés. Bien que cette procédure puisse être jugée très imprécise et non éthique pour la santé de l'individu, cette « absence » d'innocuité rapportée est considérée, à ce jour, comme une preuve. Chaque année, depuis 2007, l'EFSA (European Food Safety Authority) établit une liste des compléments alimentaires qualifiés sur leur présomption d'innocuité [35].

Les effets indésirables à long terme de la majorité des compléments alimentaires, autres que vitamines et minéraux, sont peu commentés ; les probiotiques étant rarement utilisés sur du long terme, cette absence d'information a peu d'intérêt dans notre situation.

Cependant les probiotiques pourraient être impliqués dans 4 types d'effets indésirables :

- les infections : les lactobacilles ainsi que les bifidobactéries ont été associées à des infections chez des personnes ayant un terrain immunodéprimé ; toutefois, chez un sujet sain, le risque est extrêmement rare [36-37] ;
- les activités métaboliques délétères : Connolly et al. [37] ont rapporté, lors de la prise de probiotiques, une augmentation des D-lactates associée à une acidose lactique ayant entraîné une hyperventilation et une encéphalite chez des enfants souffrant du syndrome du grêle court,
- une immuno-stimulation excessive
- un transfert de gènes [31 ; 38] : le transfert de gène de résistance aux antibiotiques est possible mais reste *a priori* très rare. Les recommandations sont donc d'éliminer les souches comportant des gènes acquis de résistances aux antibiotiques [39].

Après avoir vu quelques généralités sur les probiotiques, nous allons voir les points essentiels concernant l'obtention d'une allégation santé.

I.2.D Allégations santé

I.2.D.a Définition

Il existe plusieurs types d'allégations : les allégations santé et les allégations nutritionnelles.

Les allégations **santé** regroupent les allégations fonctionnelles génériques ainsi que celles portant sur la réduction d'un risque de maladies ou sur la présence de substances susceptibles d'améliorer ou de modifier des fonctions normales de l'organisme [40].

Exemples : « bon pour la mémoire », « favorise le transit intestinal », etc ...

Les allégations **nutritionnelles** concernent la teneur d'un aliment en un ou plusieurs nutriments [40].

Exemples : « light », « riche en calcium », « source naturelle de vitamine C », etc ...

Les denrées alimentaires, c'est-à-dire toute substance ou produit transformé, partiellement transformé ou non transformé, destiné à être ingéré ou raisonnablement susceptible d'être ingéré par l'être humain, faisant l'objet d'allégations nutritionnelles ou de santé doivent avant tout donner lieu à certaines exigences nutritionnelles globales appelées « profils nutritionnels » [40].

Ces « profils nutritionnels » ont pour objectif d'éviter que des allégations nutritionnelles ou de santé puissent induire les consommateurs en erreur quant à la qualité globale d'un aliment. La notion de « profil nutritionnel », fait référence à la composition nutritionnelle d'une denrée ou d'un régime alimentaire ; il permet de les classer par rapport à des usages spécifiques en fonction de leur composition alimentaire [41].

I.2.D.b Dossier scientifique pour obtenir une allégation

La Commission Européenne et les États Membres¹ ont établi un système destiné à définir ces « profils nutritionnels » et les déterminent en prenant en compte les conseils spécifiques de l'EFSA [4].

I.2.D.b.i Le rôle de l'EFSA

Les rôles de l'EFSA sont multiples et variés.

Tout d'abord, l'EFSA donne des conseils scientifiques sur l'établissement d'une liste positive des allégations de santé autorisées qui sera, par la suite, établie par la Commission Européenne ; en deux ans, l'EFSA a publié 125 avis positifs pour plus de 900 allégations santé parmi 4637 allégations soumises. Par ailleurs, cette Autorité, émet un avis, non seulement, sur des demandes individuelles d'autorisation d'allégation santé pour de nouvelles allégations fonctionnelles pour un produit spécifique, mais aussi, sur des allégations concernant la réduction du risque de maladies et de développement de maladies des enfants.

L'EFSA dispose d'un délai de 5 mois pour rendre son avis.

Enfin, cet Organisme dispense et fournit des conseils scientifiques sur les profils nutritionnels *via* son groupe scientifique sur les produits Diététiques, sur la Nutrition et sur les Allergies : NDA [12 ; 40].

I.2.D.b.ii Des conditions particulières doivent être respectées

Les allégations nutritionnelles et de santé doivent remplir des conditions particulières [42]. La présence, l'absence ou la teneur réduite d'un nutriment ou

¹ Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Italie, Lituanie, Lettonie, Luxembourg, Malte, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède

d'une substance faisant l'objet de l'allégation doit avoir un effet nutritionnel ou physiologique bénéfique et scientifiquement prouvé. Le nutriment, ou la substance faisant l'objet de l'allégation, doit être présent en quantité suffisante pour atteindre l'effet nutritionnel ou physiologique affirmé mais également sous une forme directement consommable.

I.2.D.c Décision des Autorités de Santé Européenne

Malgré les nombreux avis de l'EFSA et de la Commission Européenne sur les allégations santé des aliments et des compléments alimentaires [43] elles n'ont autorisé aucune allégation de santé relative aux probiotiques déposés par les industriels.

I.2.D.d Règles d'étiquetages

Les règles d'étiquetage concernant les allégations nutritionnelles et de santé doivent répondre au Règlement (CE) n°1924/2006 du Parlement Européen et du Conseil du 20 décembre 2006 [25] ; ce règlement permet de protéger le consommateur [42].

La réglementation impose certaines mentions obligatoires pour l'étiquetage, la présentation, ou la publicité des produits ayant une allégation santé [12]:

- une mention indiquant l'importance d'une alimentation variée et équilibrée et d'un mode de vie sain,
- la quantité de la denrée alimentaire et le mode de consommation assurant le bénéfice allégué,
- une mention à l'attention des personnes devant éviter cette substance,
- un avertissement sur les risques pour la santé en cas de consommation excessive.

En revanche, les allégations thérapeutiques sont interdites sur l'étiquette.

Il convient, pour terminer, de préciser que tous les compléments alimentaires mis sur le marché doivent être déclarés à la DGCCRF (Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes) [12,31].

Après avoir défini et décrit :

- la flore intestinale, ses rôles ainsi que les conséquences de son déséquilibre ;
- les probiotiques en précisant notamment leur classement, les doses efficaces, leurs innocuités ;
- le cadre législatif avec l'enregistrement auprès de la Commission des compléments alimentaires;

nous décrirons le lien que ces micro-organismes peuvent avoir avec le système immunitaire étant précisé que la flore intestinale est en lien constant avec ce dernier.

Avant de détailler ce lien identifié complexe, il semble important de rappeler succinctement, les différents mécanismes impactés par la prise de probiotique.

II **Lien entre probiotiques et système immunitaire**

II.1 **L'immunologie en résumé**

Le système immunitaire est un ensemble de réactions assez complexes destiné à prévenir et éradiquer les infections. Comme dit précédemment, un bref rappel est exposé ci-après pour permettre de mieux comprendre le rôle de certaines souches de probiotiques sur ce système immunitaire.

II.1.A **Réponse immunitaire innée et adaptative**

Les mécanismes de défense de l'hôte se composent d'une immunité innée, qui correspond à la première ligne de défense contre les infections, et d'une immunité acquise (encore appelée adaptative), qui se développe plus lentement mettant en œuvre une défense plus efficace contre les infections (Figure 16).

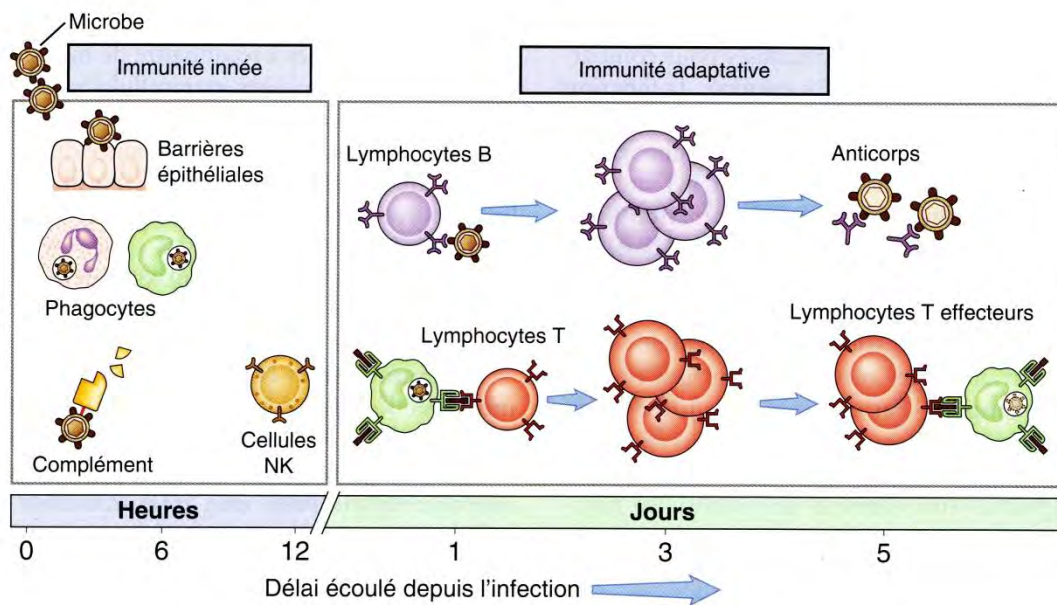


Figure 16 : **Schéma synthétique des principaux mécanismes de l'immunité innée et acquise [44]**

Ces deux mécanismes de défense diffèrent en de nombreux points (cf Figure 16), que ce soit par le type de cellules qu'ils font intervenir que par la durée nécessaire pour la mise en place du mécanisme.

II.1.A.a Réponse innée

La barrière anatomique est la première ligne de défense contre les infections bactériennes et virales ; cette première ligne de défense implique la peau et les muqueuses. Par ailleurs, l'organisme a mis en place différents autres obstacles chimiques ou mécaniques pour se protéger (pH gastrique acide, microflore bactérienne, mucus, cils, flux urinaire, etc ...).

Cette barrière fait intervenir des cellules telles que les mastocytes, les macrophages, les neutrophiles, les Natural Killer (NK) ayant pour but d'éliminer virus et bactéries.

La réponse innée est non spécifique et se met rapidement en place après la pénétration dans l'organisme de l'agent pathogène. Elle n'induit pas d'immunité dans le cas d'une seconde infection par le même agent pathogène.

Les macrophages, comme les neutrophiles (PNN), portent des récepteurs (au mannose, aux cytokines, des Toll Like Receptor ou TLR) capables de reconnaître l'agent pathogène impliqué dans l'activation de ces phagocytes. Ces récepteurs TLR situés à la surface de cellule, appartenant à la famille des PRR (Pattern recognition Receptor), sont spécifiques des différents composants microbiens. Des motifs PAMP (Pathogen-Associated Molecular Patterns) présents à la surface des agents microbiens seront reconnus par les TLR (Figure 17). La liaison des deux, est un signal de danger entraînant toute une cascade de signalisation : activation des facteurs de transcriptions (NF- κ B et IRF-3), et stimulation de l'expression de gènes codant des cytokines, des enzymes ainsi que d'autres protéines entraînant l'activation des fonctions antimicrobiennes, des phagocytes et des cellules dendritiques [44-45].

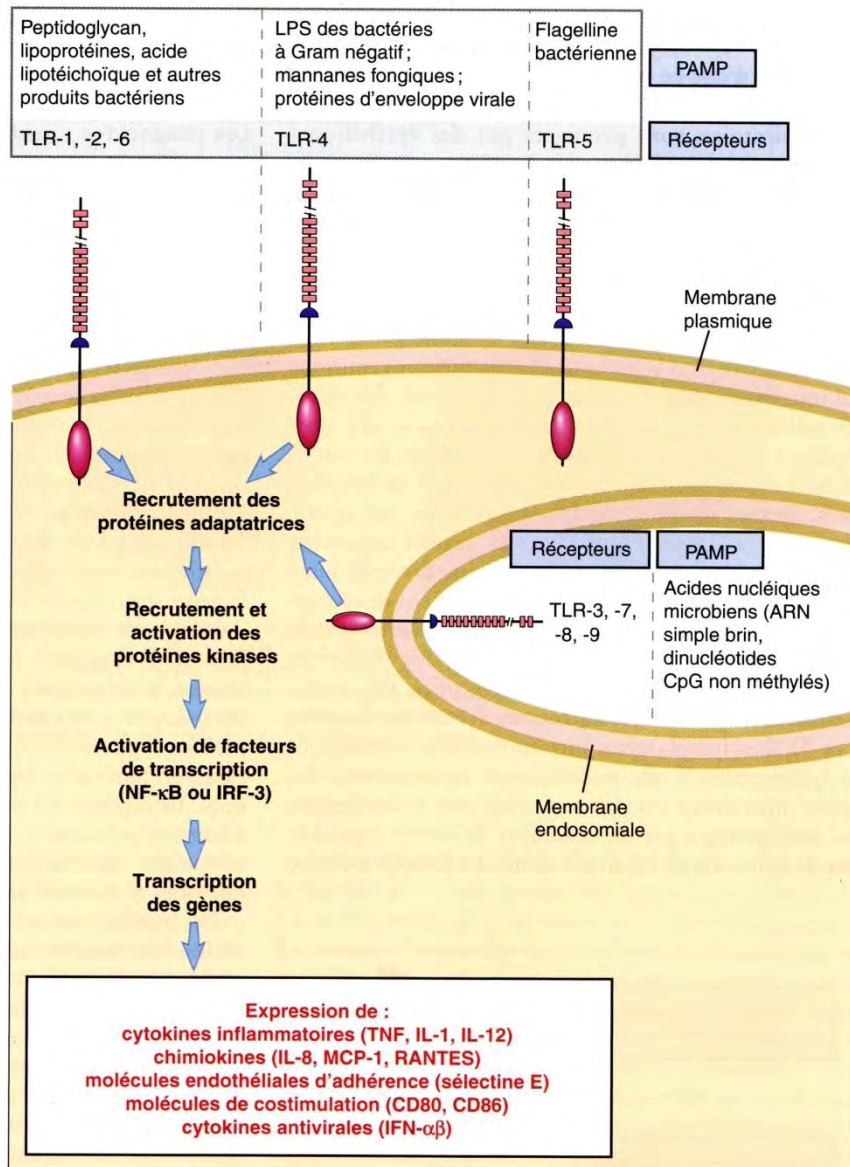


Figure 17 : Spécificités et fonctions des TLR [44]

Les cellules NK (Natural Killer), activées *via* les cytokines IL12, interviennent en détruisant soit des cellules infectées par un virus, soit les macrophages ayant phagocyté des bactéries [45] (Figure 18).

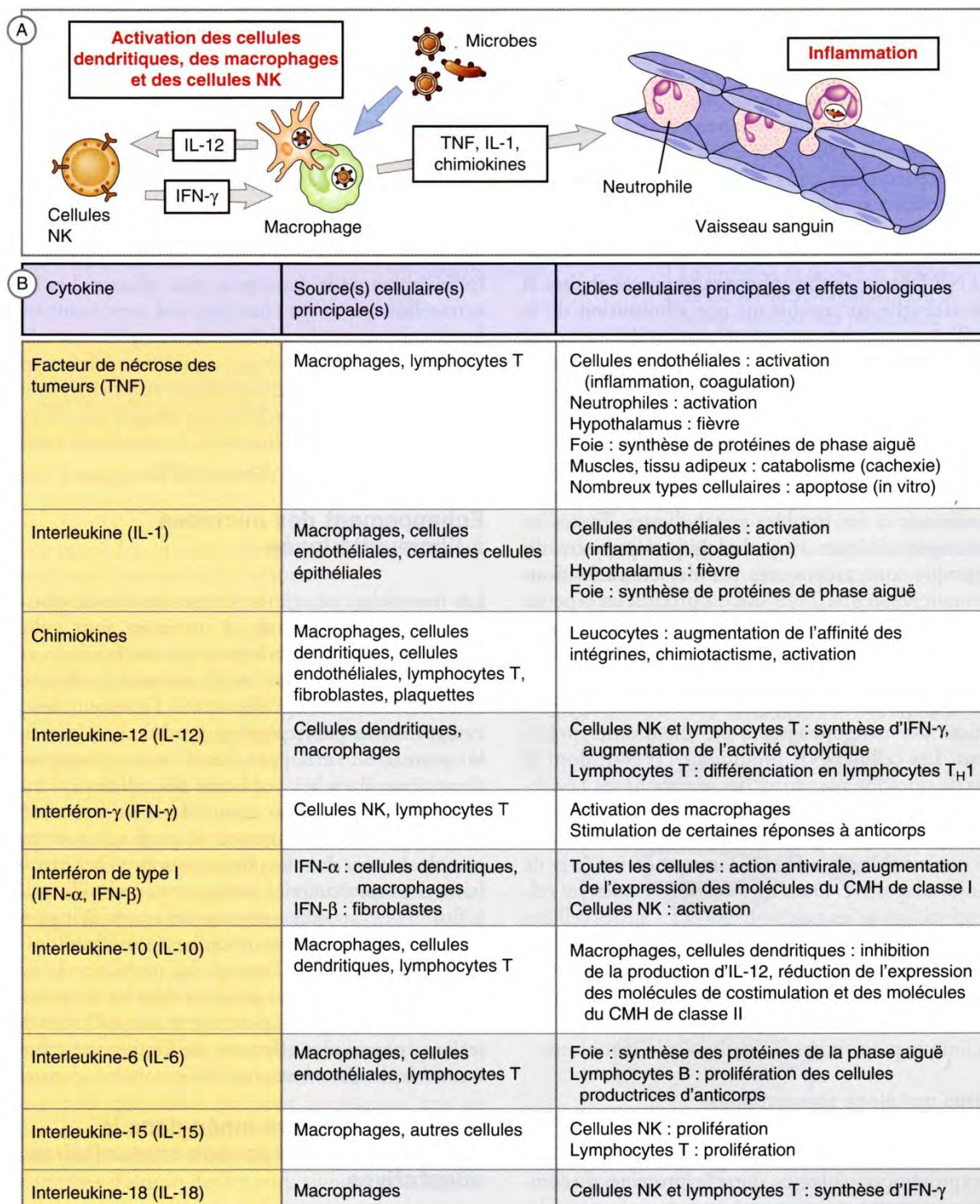


Figure 18 : **Principales cytokines de l'immunité innée [44]**

II.1.A.b Réponse adaptative

L'immunité adaptative s'ajoute à l'immunité innée afin d'activer conjointement, avec les antigènes, les lymphocytes T et B.

Les cellules de la réponse innée (cellules dendritiques, macrophages, et NK) activées expriment à leur surface des molécules de co-stimulation qui se lient à des récepteurs présents sur les lymphocytes T naïfs simultanément à la reconnaissance de l'antigène pour activer ces derniers ; c'est ce qu'on appelle l'immunité adaptative cellulaire [44].

Les agents pathogènes transportés par le sang activent une voie appelée système du complément (non détaillé dans cette thèse), qui a pour conséquence la reconnaissance simultanée par les lymphocytes B de l'antigène et d'une molécule du complément. Le processus de différenciation en cellules sécrétrices d'anticorps est activé ; c'est ce que l'on appelle l'immunité humorale [44].

II.1.A.b.i Réponse de type cellulaire

Les lymphocytes T auxiliaires CD4⁺ peuvent se différencier en sous-populations de cellules effectrices produisant différents groupes de cytokines assumant des fonctions distinctes.

Cette différenciation est régulée par des stimuli qu'ils reçoivent :

- les cytokines IL-12 produites par les macrophages activés et l'IFN- γ produit par les cellules NK orientent les LT CD4⁺ vers un profil Th1,
- les cytokines IL-4 provenant d'une autre source cellulaire orientent vers un profil Th2.

Ainsi, les bactéries intracellulaires orientent plutôt vers un profil Th1 alors que les bactéries extracellulaires orientent vers une réponse Th2 (Figure 19).

Les cellules Th1 stimulent l'ingestion et la lyse des micro-organismes par les phagocytes. L'IFN- γ , cytokine majoritairement produite, possède une action « inhibitrice » de l'infection virale. C'est également un activateur puissant des

macrophages favorisant la phagocytose des agents pathogènes ; en outre, elle permet d'amplifier les réponses lymphocytaires en stimulant la production d'IgM et d'IgG.

L'allergène, ou l'agent infectieux extracellulaire, induit la production d'IL-4 et d'IL-13 par différentes cellules ; ceci abouti à la différenciation de Th0 en Th2 productrices d'IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et IL-13. De plus, les cytokines IL-4 et IL-13 augmentent la production de mucus, ayant pour conséquence l'inhibition de l'entrée d'agents pathogènes. L'IL-4 a pour rôle de stimuler la production d'anticorps IgE et IgA.

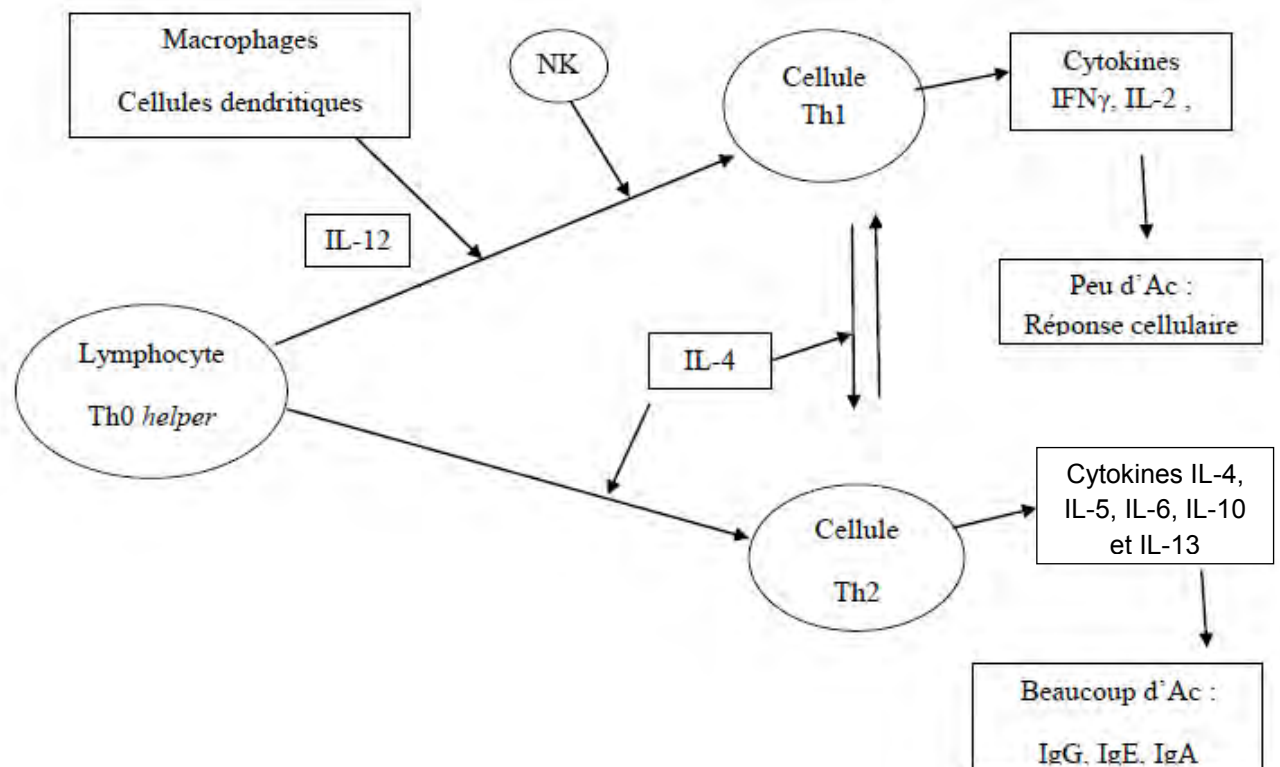


Figure 19 : **Schéma synthétique de la balance Th1/Th2 [2]**

Les lymphocytes Th17 sécrètent les cytokines IL-17 et IL-22 et sont les principaux médiateurs de l'inflammation dans plusieurs réactions immunitaires [44].

II.1.A.b.ii Réponse type humorale

L'immunité humorale est assurée par les anticorps qui neutralisent les bactéries et les virus extracellulaires. Le début de cette réaction est marquée par la reconnaissance de l'antigène par des immunoglobulines membranaires ce qui déclenche l'activation de différents signaux biochimiques, d'enzymes et de facteurs de transcription. (Figure 20) [44].

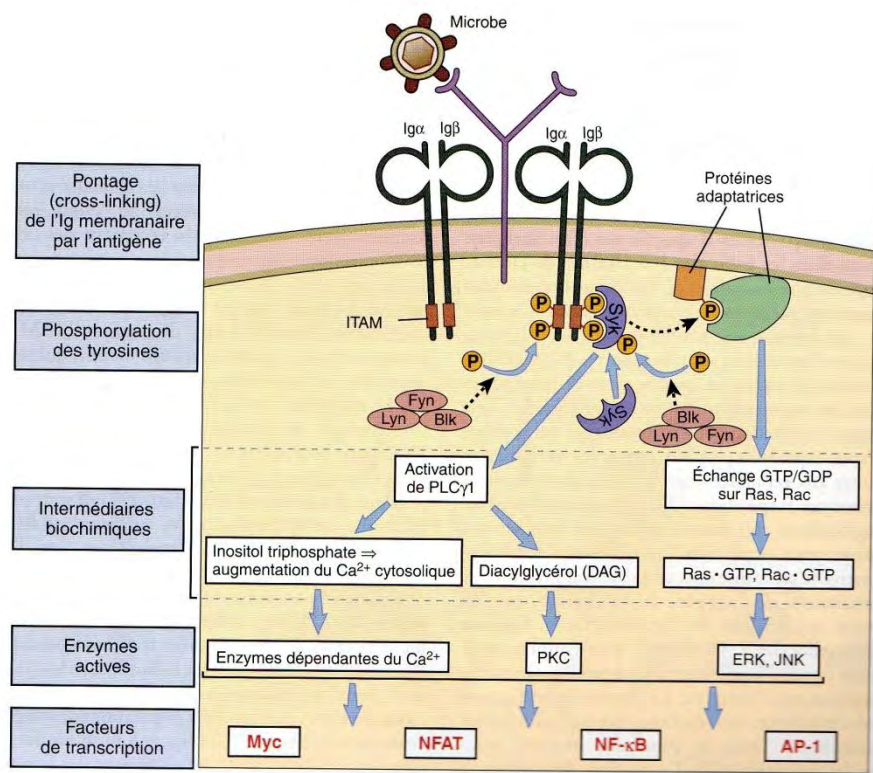


Figure 20 : **Signalisation induite par le récepteur d'antigènes des lymphocytes B [44]**

Lorsque qu'une quantité suffisante d'anticorps a été sécrétée, un complexe immun se forme avec l'antigène et inhibe l'activation des lymphocytes B.

Les anticorps de différentes classes assurent différentes fonctions effectrices (Figure 21).

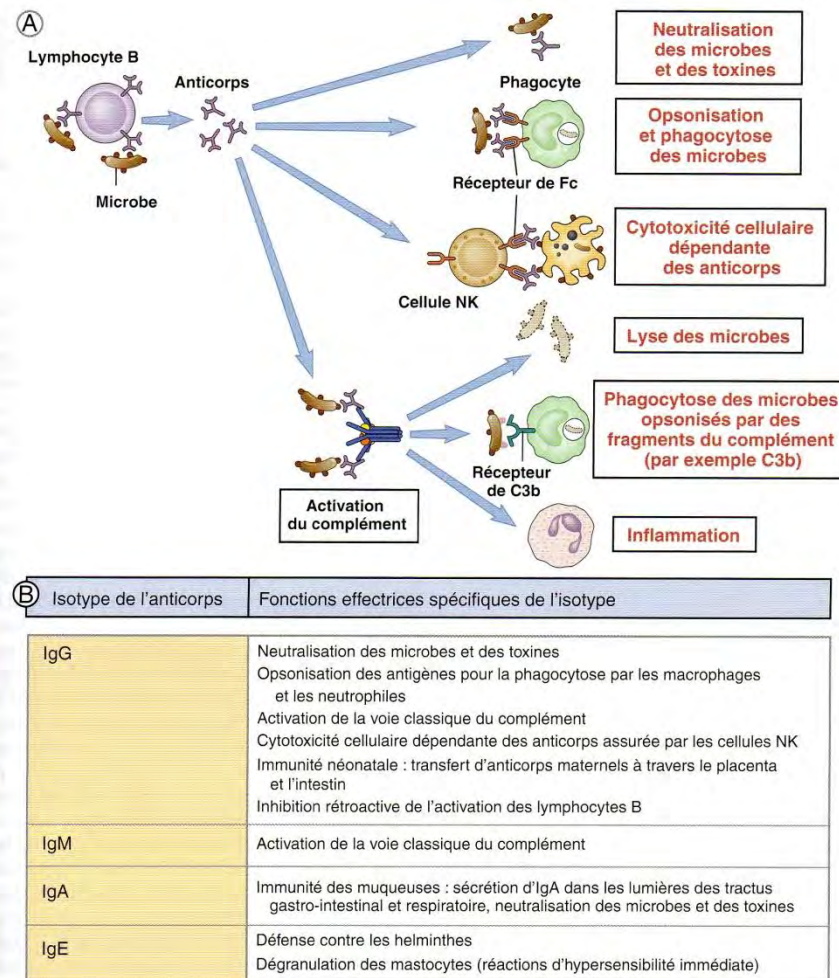


Figure 21 : **Fonctions effectrices des anticorps. [44]**

Les anticorps vont bloquer et/ou neutraliser le pouvoir infectieux des antigènes en les recouvrant, ce qui favorisera leur ingestion par les phagocytes ; c'est le phénomène d'opsonisation. Les cellules NK ainsi que d'autres leucocytes sont capables de se lier à des cellules recouvertes d'anticorps pour les détruire [44].

Dans la paroi des muqueuses de notre organisme siège un système immunitaire associé aux muqueuses appelé le MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) ; on le retrouve, par exemple, au niveau de l'arbre respiratoire, au niveau de l'appareil urinaire et génital, au niveau des glandes lacrymales, salivaires ou encore mammaires [46]. Au niveau intestinal, ce tissu lymphoïde s'appelle le GALT (Gut-associated lymphoid tissue).

Nous développerons, de façon succincte, ce système car c'est à ce niveau que les principaux échanges probiotiques/système immunitaire se réaliseront. Les cellules immunitaires sont concentrées pour 70 à 80% dans le côlon au niveau du GALT où elles y sont éduquées et contrôlées.

II.1.B Le GALT : Gut-associated lymphoid tissue

II.1.B.a Constitution du GALT

Dans la paroi du tube digestif siège un SII représenté par le GALT ; ce tissu lymphoïde associé au tube digestif comprend (Figure 22):

- des cellules lymphoïdes dispersées (lymphocytes B, lymphocytes T, plasmocytes, etc...),
- des cellules présentatrices d'antigènes (monocytes, macrophages, cellules dendritiques, etc ...),
- des follicules lymphoïdes,
- des amygdales, qui sont un ensemble de tissus lymphoïdiens jouant un rôle essentiel dans la défense immunitaire du fait de leurs localisations. Elles sont situées à l'entrée des voies respiratoires et du système digestif [46]. Il en existe cinq : palatines, vélo-palatines, linguales, pharyngées (aussi appelées végétations), et tubaires,
- l'appendice iléocæcale, qui est une petite poche creuse située à la jonction de l'intestin grêle et du côlon,
- les plaques de Peyer, qui sont des agrégats de follicules lymphoïdes primaires et secondaires au niveau de la partie terminale de l'iléon, contenant des lymphocytes B, T ainsi que des cellules accessoires [46].

Dans cette zone, l'épithélium contient des cellules particulières (cellules M) permettant le transport de l'antigène vers les plaques de Peyer.

Ce système de défense permet d'y détruire directement les éléments étrangers potentiellement dangereux [22].

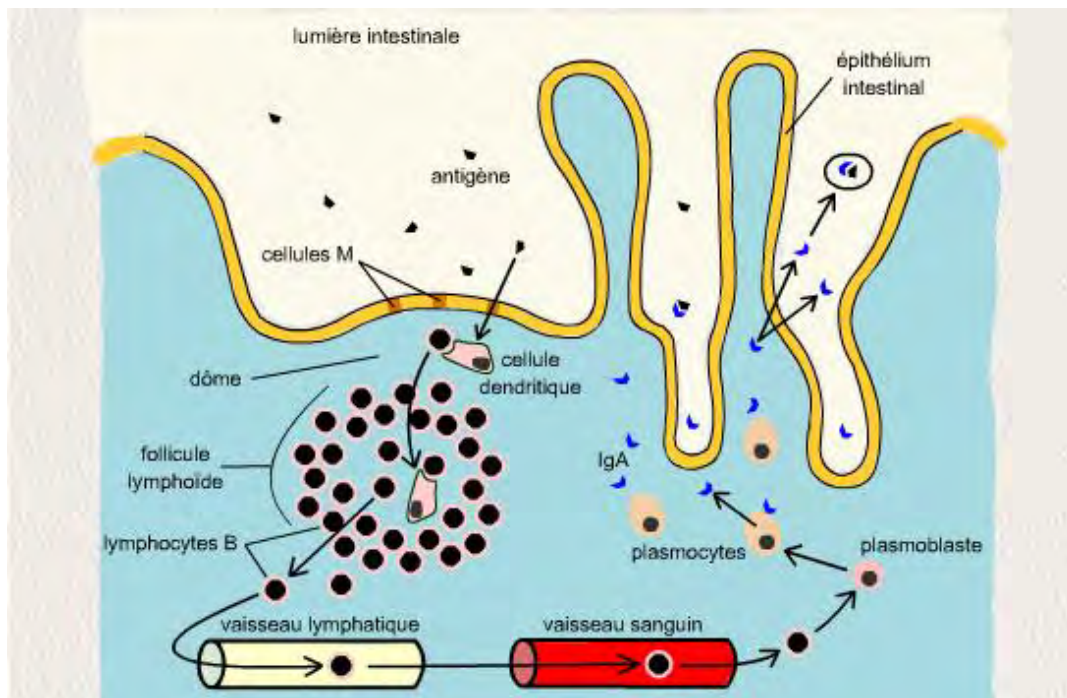


Figure 22 : Schéma synthétique du GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) [46]

II.1.B.b Fonctionnement du GALT

Comme dit précédemment, c'est dans le GALT que tout va se passer (figure 21).

- 1- L'antigène se trouvant dans la lumière intestinale est présenté aux cellules immunocompétentes situées dans les plaques de Peyer ainsi que dans des follicules isolés. Les cellules M incorporent par endocytose les antigènes pour les transférer ensuite aux cellules dendritiques qui les présentent à leur tour aux lymphocytes B. Tout cela entraîne l'activation et l'expansion clonale de ces lymphocytes qui vont ensuite acquérir l'isotype IgA par commutation de clones (switch). Débute enfin la maturation cellulaire grâce à l'action des lymphocytes T auxiliaires [46].
- 2- On assiste par la suite à la migration, *via* la voie lymphatique, des lymphocytes B activés synthétisant les IgA vers les ganglions mésentériques où se poursuit la maturation cellulaire en plasmoblastes à IgA.
- 3- On assiste ensuite au « *homing* » des plasmoblastes dans la muqueuse intestinale. C'est ici que s'achève la différenciation en plasmocytes sécrétant des IgA dimériques. En plus du « *homing* », quelques plasmoblastes vont également vers d'autres muqueuses comme les bronches, les glandes mammaires en lactation pour s'y différencier et y produire des IgA.
- 4- Pour finir, on assiste à la migration de SIgA vers la lumière intestinale.

Sur la Figure 23, on peut voir les conséquences d'un dysfonctionnement du GALT.

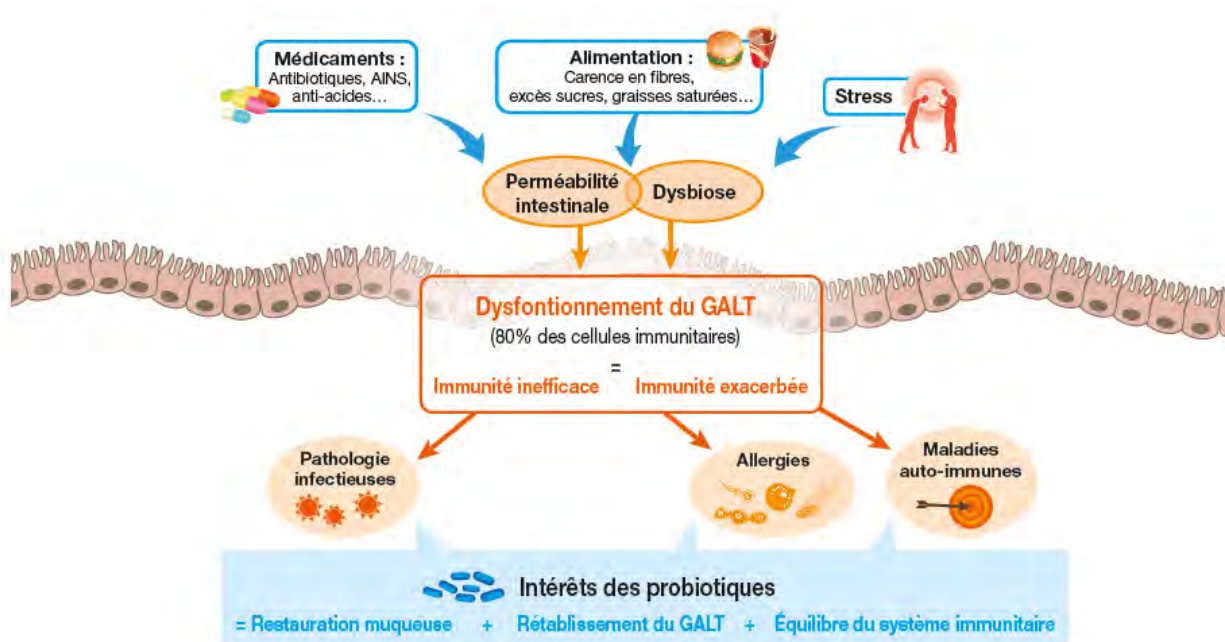


Figure 23 : **Schéma synthétique récapitulant les conséquences d'un dysfonctionnement du GALT [20]**

Après s'être remémoré quelques points importants du système immunitaire nous pouvons détailler les liens qu'il existe entre les probiotiques et le système immunitaire.

II.2 Intérêt des probiotiques en thérapeutique

Comme l'avons vu, le microbiote est en constante évolution et possède de nombreux rôles essentiels ; il est donc cohérent qu'un déséquilibre dans sa composition, encore appelé dysbiose, entraîne certaines pathologies. Les probiotiques auront dans ces cas tous leurs intérêts. La Figure 24 résume brièvement l'action des probiotiques sur le système immunitaire.

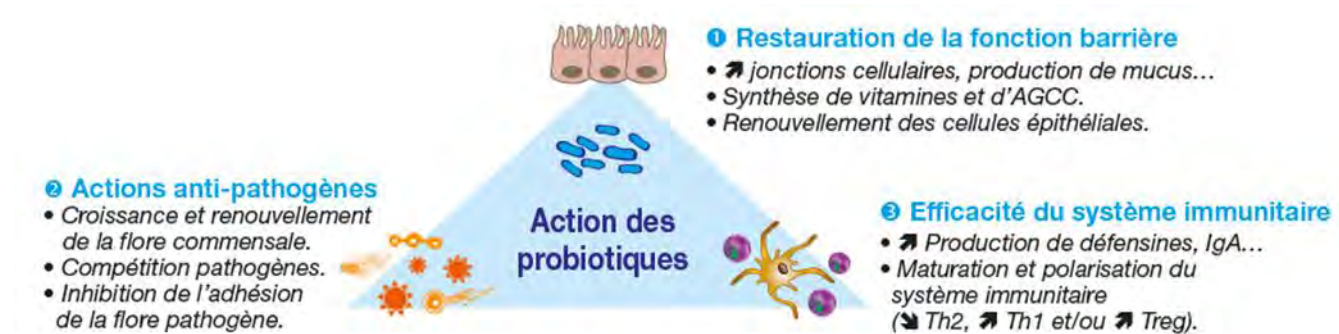


Figure 24 : **Actions démontrées des probiotiques sur l'immunité intestinale [20]**

Les probiotiques n'auraient pas le même effet en fonction du profil immunologique de l'hôte ; en effet, d'après des études menées par Heyman et al. [47] :

- chez l'homme sain, ils stimulent la réponse innée en diminuant l'évolution d'épisodes infectieux ou augmentent la quantité d'anticorps protecteurs lors d'une vaccination,
- chez l'hôte malade, les probiotiques auraient un effet anti-inflammatoire dans certaines maladies.

De plus, comme dit précédemment, les effets des probiotiques sont « souches-dépendants », c'est-à-dire que toutes les souches (même appartenant à un même genre bactérien) n'ont pas les mêmes pouvoirs immunomodulant d'où l'intérêt de combiner plusieurs souches dans un même complément alimentaire ou un médicament.

II.2.A.a Affections gastro-intestinales

II.2.A.a.i *Symptômes à type de ballonnements, et flatulences*

D'après une étude menée en 2007 par Drouault-Holowacz et al. [7] l'association des souches *Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactobacillus acidophilus* LA 102, *Lactococcus lactis* LA 103 et *Streptococcus thermophilus* LA 104 a fait ses preuves dans la diminution des douleurs abdominales et la régulation du transit à raison de 10^{10} UFC par jour pendant un mois, puis un jour sur deux pendant deux mois.

II.2.A.a.ii Diarrhées infectieuses

II.2.A.a.ii.1 Diarrhées infectieuses à Rotavirus

L'administration par voie orale de *Lactobacillus rhamnosus* GG (6.10^9 UI 2 fois par jour) à des jeunes enfants hospitalisés (pour autre chose qu'une diarrhée) durant tout le séjour a montré une réduction du risque de diarrhée à Rotavirus (6,70% pour le groupe traité contre 33,3% pour le groupe témoin) [48].

En complément de l'étude précédente, une autre menée en 2013 [49] sur les dommages induits par l'infection à Rotavirus a montré que les *Lactobacillus rhamnosus* GG avaient leur place dans le traitement des diarrhées : les aliments enrichis en LGG n'augmenteraient pas l'autophagie contrairement au cas sans probiotiques ; de plus, ils empêcheraient, en partie, les dommages sur les cellules épithéliales intestinales induits par le virus.

Des cellules en monocouches soumises à une infection par Rotavirus ou TGEV (Transmissible Gastroenteritis Virus) co-incubées avec des LAB (*Lactobacillus rhamnosus* GG et *Lactobacillus casei shirota*) ont bénéficié d'une grande protection. On peut donc déduire que les *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus casei* préviennent le risque de diarrhées à Rotavirus [50].

II.2.A.a.iii Diarrhées infectieuses à un autre agent que Rotavirus

L'étude de Salazar-lind et al. [51] a évalué l'efficacité des *Lactobacillus casei* (10^9 UFC/ml) dans un lait enrichi lors de diarrhées avec un agent infectieux autre que Rotavirus puis a mesuré le volume des selles ainsi que la durée des symptômes. Les résultats sont retranscrits dans le Tableau 3. Entre le groupe traité et le groupe témoin on ne peut pas dire qu'il y ait une différence significative en termes de durée ; en revanche en termes de sévérité, la différence est significative.

	Placebo (lait maternisé simple) : 89 garçons	Lait maternisé enrichi en LGG : 80 garçons
Quantité de selles	247,8 ml/kg	195,01ml/kg
Durée de la diarrhée	58,5h	50,4h

Tableau 3 : **Résultat de l'étude de Salazar-lind et al. [51]**

Une autre étude multicentrique, randomisée, en double aveugle, avec un groupe placebo contrôle, a été menée par Stephen J Allen et al. en 2013 [52] sur plus de 17 000 patients âgés de 65 ans et plus, traités par un ou plusieurs antibiotiques par voie orale. Les patients ont reçu une préparation contenant plusieurs souches de *Lactobacilli* et de *Bifidobacteria* à une dose de 6.10^6 UI pendant 21 jours pour le groupe testé et une préparation placebo pour le groupe contrôle. Aucune différence entre les deux groupes n'a été mise en évidence dans la prévention des diarrhées associées à un antibiotique. Cette étude est intéressante car elle a été réalisée sur un très grand nombre de patients. Cependant la doses de probiotiques administrée lors de l'essai est peut être faible sachant que la dose minimale efficace dans l'intestin grêle est de 10^6 UI/ml et de 10^9 UI/mL dans le côlon ; l'inefficacité du traitement peut venir de ce point. De plus, l'étude s'adresse à des patients de plus de 65 ans, déjà hospitalisés et subissant un traitement par un ou plusieurs antibiotiques; ils ont, de ce fait une flore intestinale très déséquilibrée, un traitement par seulement 6×10^6 UI/ml n'est sûrement pas assez important.

II.2.A.a.iv Syndrome de l'intestin irritable

Le syndrome de l'intestin irritable se caractérise par des douleurs, des inconforts chroniques de l'abdomen, des perturbations du transit intestinal à type de diarrhées, de constipations, ou encore une alternance des deux, sans qu'il y ait une anomalie particulière. Ce terme regroupe les troubles fonctionnels intestinaux (TFI) avec une inflammation de bas grade et les maladies inflammatoires chronique de l'intestin (MICI) avec cette fois ci, une inflammation de haut grade ; cette dernière regroupe la maladie de Crohn ainsi que la rectocolite hémorragique (RCH).

II.2.A.a.iv.1 Maladies inflammatoires chroniques intestinale : RCH et Crohn

Comme rappelé précédemment, le terme des MICI regroupe deux pathologies : la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique ; ce sont deux maladies qui se caractérisent par l'inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif, liée à une hyperactivité du système immunitaire digestif, source de lésions destructrices de type ulcération [4].

Une étude menée en 2012 par Claes et al. [53] a essayé de montrer l'importance du MAMP (acide lipoteïchoïque (LTA) du *Lactobacillus rhamnosus* GG) chez une bactérie dans la réaction immunitaire en créant un modèle et en le mutant de différentes manières.

La rencontre du LTA avec les récepteurs du macrophage déclenche la production de cytokines pro-inflammatoires, du monoxyde d'azote (NO) ainsi que des médiateurs pro-inflammatoires. Les chercheurs ont créé 3 modèles de LTA et ont regardé l'interaction avec les TLR 2 et 6 ainsi que l'activation de certains facteurs de transcription :

- le modèle mutant mLTA1, qui a subi une déacétylation, conserve une signalisation similaire, *via* TLR 2 et TLR 6, à celle du modèle sauvage,
- le modèle mutant mLTA2, qui a subi une déanylation, n'active pas le facteur de transcription NFkB (facteur de transcription qui améliore la production de médiateurs inflammatoires),
- le modèle mutant dltD, qui a subi une ablation de tous les motifs D-Ala, active le facteur de transcription NFkB mais moins que le type sauvage.

Pour les deux premiers modèles mutants, une très faible induction de la cytokine IL-8 a été observée suggérant que le groupe « acyl » ainsi que le groupe « ester » sont nécessaires à l'activité du LTA [53].

On peut alors en conclure que le LTA est un facteur important dans l'induction d'une réponse pro-inflammatoire. Le LTA muté étant moins inflammatoire que le type sauvage, il pourrait représenter une solution dans le cas du traitement de colites ou autres maladies inflammatoires dues à une réaction inflammatoire avec sa propre flore microbienne.

❖ *Rectocolite Hémorragique (ou RCH)*

Un groupe de 20 patients atteint de rectocolites hémorragiques précédemment traités par Mésalazine a été supplémenté pendant 12 semaines soit par un lait fermenté contenant *B. bifidum*, *B. breve*, et *L. acidophilus* soit par un placebo.

Dans le groupe « probiotique » on a pu remarquer des symptômes cliniques ainsi qu'un score histologique significativement diminué par rapport au groupe placebo ; de plus, les concentrations fécales en butyrate étaient plus élevées [54].

Le butyrate est un acide gras à courte chaîne (AGCC), principale source énergétique des cellules du côlon, qui exerce de nombreux effets physiologiques : sur l'immunité locale, sur le débit sanguin muqueux, sur la motricité, sur la sécrétion de mucus, puis sur la différenciation ainsi que la prolifération cellulaire colique. Lors des RCH, on observe une diminution de son taux dans la lumière colique [55].

Des études assez anciennes (1997 et 1999) [56 ; 57] ont montré l'efficacité d'une souche probiotique *Escherichia coli nissle 1917*, elle posséderait une efficacité équivalente au traitement conventionnel par anti-inflammatoire avec la Mésalazine (encore appelé 5-ASA).

Campieri et al. en 2000 [58] ont mené une étude sur 12 mois comparant deux groupes : le premier traité 12 mois par Mésalazine et le second traité 3 mois par Rifaximine puis 9 mois par les probiotiques *E. coli nissle 1917* ; il y a eu 40% de rechutes dans le premier groupe contre 20% dans le second. Les résultats sont significatifs.

D'autres chercheurs [59], ont essayé les levures *Saccharomyces boulardii* sur 32 malades traités pendant 6 mois soit par 3g/j de Mésalazine soit par 2g/j de Mésalazine associé à ces levures. Dans le cas témoin, on observe 6 cas sur 16 de rechute contre 1 cas sur 16 pour le second groupe.



Maladie de Crohn

Actuellement, il y a peu d'études montrant le bénéfice d'un traitement par probiotiques dans le maintien d'une rémission dans cette maladie.

Une équipe de chercheurs a trouvé que cette pathologie serait en grande partie due au déficit en alpha-défensines (peptide antimicrobien clef dans le processus de cette maladie). Le déficit en ce peptide entraîne une diminution des défenses antimicrobiennes dans la muqueuse iléale ; ce qui entraîne un changement dans la composition en bactérie de la flore intestinale.

Cette découverte ouvre de nouvelles perspectives sur une nouvelle stratégie : restaurer l'équilibre hôte/microbiote au niveau de la muqueuse intestinale [60].

D'après le rapport de l'ANSES (anciennement AFSSA) publié en 2005, les *Lactobacillus rhamnosus* GG augmenteraient l'activité des T CD4+ par la flore fécale. Cependant, la sécrétion des cytokines TNF α , IL-6, IFN- γ serait moins importante en présence de *Lactobacillus rhamnosus* GG alors que les sécrétions d'IL-10 et d'IL-4 seraient augmentées ; ceci induit une diminution de l'effet pro-inflammatoire au profit de l'effet anti-inflammatoire [4].

II.2.A.a.iv.2 Troubles Fonctionnels Intestinaux

Des études [61] ont essayé de montrer que ces symptômes étaient, en grande partie, dus à des troubles de la flore intestinale ; en effet, des essais ont été faits sur des animaux dépourvus de flore, une gastroparésie a été observée et lorsque la flore était reconstituée, ils ont pu constater une réapparition de la motricité du grêle, une expression accrue des enzymes impliquées dans la synthèse de neuromodulateurs et dans la synthèse de protéines musculaires spécifiques.

De plus, lors des crises, un excès de fermentation colique a été observé, on peut donc en déduire qu'en rééquilibrant la flore pour diminuer la production d'hydrogènes on pourrait améliorer ces symptômes.

C'est justement ce que d'autres études ont pu montrer. Dans un document synthétique rédigé en 2008 par un groupe d'experts en gastro entérologie, on constate que certains probiotiques ont pu réduire significativement les symptômes de cette maladie. On peut citer le *B. infantis* 35624 pour réduire les douleurs et provoquer un soulagement global et le *Lactobacillus reuteri* pour améliorer les symptômes diarrhéiques [61].

La souche *L. reuteri* 100-23 tués pas la chaleur incubée avec des cellules dendritiques de moelle osseuse de souris transgéniques entraine une augmentation de la production par ces dernières de cytokines anti-inflammatoires : IL-10, TGF- β et une diminution de la production d'IL-2 par rapport aux cellules témoins non traitées [62].

Dans une autre étude, la même souche bactérienne entraine une augmentation de cellules positives Foxp3, marqueur des cellules T CD4+, dans la rate et les ganglions lymphatiques. On peut donc en conclure que la souche *L. reuteri* 100-23 entraine le recrutement de cellules lymphocytaires T régulatrices dans l'épithélium gastro-intestinal [62].

Chez des porcelets ayant été traités par les souches *L. reuteri* 23272 et *L. acidophilus* NCFM, les chercheurs ont pu observer le recrutement de monocytes et de macrophages [62].

In vivo, la capacité de *L. reuteri* ATCC 55730 a coloniser le système gastro intestinal a été étudié chez des volontaires sains et chez des patients avec iléostomie ; il s'est avéré qu'après supplémentation, la quantité de lymphocytes B et CD4+ dans le duodénum a été significativement augmentée. [62]

II.2.A.a.v Coliques du nourrisson

Les coliques du nourrisson ont différentes étiologies : un trouble de la motricité ainsi que des troubles du transit.

En effet, les jeunes enfants ont une quantité de contractions coliques beaucoup plus importantes que chez les adultes ce qui est en grande partie responsable des douleurs.

De plus, on s'est aperçu que ces nourrissons produisaient beaucoup de gaz, ce qui est un signe de déséquilibre de la flore intestinale ; en creusant un peu plus, on a pu montrer que la flore de ces jeunes enfants était pauvre en *Lactobacillus* et riche en bactéries gram négatif. Des études ont alors été menées et ont montrés un effet positif des *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium lactis* et *Lactobacillus rhamnosus* [17].

II.2.A.b Affections allergiques

Un défaut dans la polarisation des cellules immunitaires et donc dues à un problème d'éducation dans le GALT est responsable des allergies; les bactéries intestinales sont le point de départ à la polarisation lymphocytaire.

L'interaction entre la microflore et les antigènes dans le tractus gastro-intestinal est le premier signal de l'environnement comme support à la maturation des cellules T (principalement Th1).

Un excès en lymphocytes Th2 provoque ce type d'affection ; d'où l'idée d'incorporer des probiotiques dans le traitement de ces maladies pour permettre le switch Th1/Th2 en faveur des Th1 [63-64].

La tolérance au microbiote est capable de supprimer la réponse inflammatoire (due à une régulation négative des NF- κ B) et d'exprimer sur la bactérie un médiateur pouvant être reconnu par un TLR à la surface des cellules immunitaire. Le fait de ne pas être exposé à des antigènes exogènes très tôt dans l'enfance pourrait augmenter le risque de maladies allergiques en retardant à la fois le développement de la tolérance immunitaire et en limitant le switch Th1/Th2 ; à la naissance Th2 prédomine.

La présence de LAB très tôt dans la vie peut être utile pour promouvoir la translocation Th1 et prévenir les désordres médiés par les Th2. [48]

Après un mois de traitement avec *Lactobacillus rhamnosus*, la dermatite atopique est diminuée, on observe une baisse du taux de TNF- α dans les fèces comparé au groupe placebo [48].

Chez une femme enceinte, ainsi que chez des nourrissons à haut risque de problèmes atopiques jusqu'à 6 mois, l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG a montré un effet positif notamment une diminution de l'asthme et de l'eczéma comparé à un groupe placebo [48].

Une augmentation de la réponse Th1, de la production d'IL-12 et IL-10 et de l'activité des cellules NK a été observé suite à l'administration pendant 30 jours de *Lactobacillus paracasei* I 1688 et *Lactobacillus salivarius* I 1794 chez des nouveau-nés atteints de dermatite atopique [48].

Un groupe finlandais (E. Isolauri) a pu montrer que l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG ou *Bifidobacterium lactis* Bb12 chez la mère et l'enfant en période néonatale diminuait l'apparition de dermatite atopique [4].

Les *Lactobacillus paracasei* ainsi que les *Lactobacillus acidophilus* diminuent les symptômes des rhinites allergiques [63-66] ; de plus, le *Lactobacillus acidophilus* diminue le taux d'éosinophiles [67].

Dans le traitement de ces pathologies, des études telle que celle de Kirjavainen et al. [68] montrent que la viabilité des souches de *Lactobacillus rhamnosus* GG est importante pour exercer un effet positif.

II.2.A.c Affections ORL

Une étude menée par Tomosada et al. [33] en 2013 a cherché à évaluer si l'administration nasale de *Lactobacillus rhamnosus* CLR 1505 (Lr 05) ou de *Lactobacillus rhamnosus* CLR 1506 (Lr 06) était capable d'améliorer la défense respiratoire anti-virale (contre un virus RSV) et de moduler positivement la réponse immune.

Il a été mis en évidence que sans RSV, la souche Lr 06 induisait principalement la production d'IFN α , IFN β et d'IL-6 alors que Lr 05 induisait principalement la production d'IFN γ et d'IL10 après administration du virus (Figure 25).

Lr 05 est la souche qui induit le plus l'IL-10 ; elle a montré avoir un rôle important dans la diminution des dommages inflammatoires ainsi que pulmonaires.

Les deux souches produisent des IFN γ , α et β qui régulent positivement la formation de Th1 ; cela suggère que ces deux souches modulent positivement la réponse immune contre RSV en induisant une résistance contre ce virus.

Pendant une infection à RSV, la réponse immune Th2 est favorisée du fait de l'augmentation de la production d'IL-4 par les basophiles entre autre ; c'est le switch Th1/Th2 qui permet d'enrayer l'infection. Pour la traiter, les souches de Lactobacilles semblent particulièrement pertinentes. La souche Lr 05 s'est montrée plus efficace que Lr 06 pour traiter cette infection d'après les différents marqueurs analysés [33].

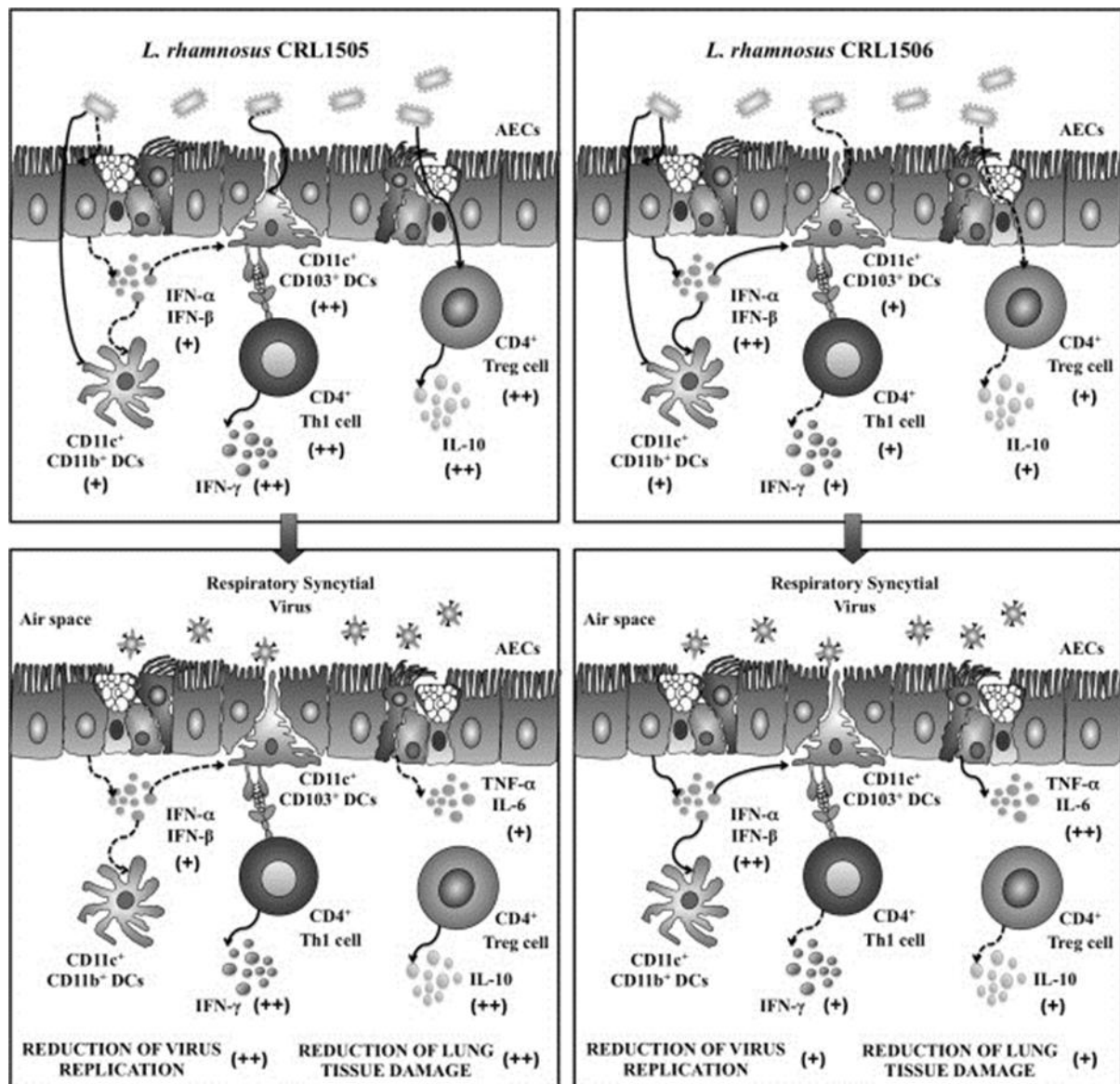


Figure 25 : Mécanisme de l'amélioration de l'immunité anti-virale contre l'infection au virus respiratoire syncytial (RSV) grâce à l'administration par voie nasale de *Lactobacilli* [33]

Une autre étude [69] menée sur 360 personnes saines traitées par du lait fermenté avec *S. thermophilus* + *L. bulgaricus* + *L. casei* ou par du lait simple (cas témoins) sur 12 semaines a montré le même taux d'infections hivernales par rapport aux témoins, mais la durée des infections a été plus faible (7 jours vs. 8,7 jours).

En 2010, Kotari et al. [70] avaient pour objectif de montrer l'augmentation de la sécrétion de SIgA dans la salive chez les personnes âgées traitées par *Lactobacillus pentosus* b240 tués par la chaleur ; habituellement, la concentration de ces anticorps diminue avec l'âge. Cette étude, portant sur un groupe de 80 personnes réparties en deux sous-groupes : un groupe témoin traité par 125 mL d'EPPI et le second traité par 125 mL EPPI + 4.10^9 *L. pentosus* b240, pendant douze semaines. La salive a ensuite été collectée douze semaines de suite et la concentration en SIgA a été mesurée ; le taux de SIgA a augmenté jusqu'à la 4ème semaine (environ 20% supplémentaire) puis est resté stable jusqu'à la 12ème semaine. Les auteurs ont conclu que les *Lactobacillus pentosus* b240 inactivés par la chaleur amélioraient le fonctionnement du MALT ainsi que la résistance contre les infections chez les personnes âgées.

D'autres études menées par Perdignon et al. [48] ont montré que des souches spécifiques de probiotiques étaient capables d'induire une réponse humorale directement responsable de la production d'IgA au niveau des muqueuses bronchiques. Ces souches sont *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* sp *bulgaricus*, *L. lactis* et *Streptococcus salivarius* sp *thermophilus*. L'administration de ces probiotiques a induit l'apparition rapide de plasmocytes à IgA diminuant la durée ainsi que la sévérité des rhumes et épisodes pseudo-grippaux.

Une diminution des infections respiratoires à Rhinovirus durant la première année de vie chez des prématurés a été montrée grâce à la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG ; elle réduit la colonisation des organismes pathogènes dans l'épithélium respiratoire et régule l'immunité muqueuse et systémique [71].

Lui S. et al [72] ont eux aussi montré une réduction de l'incidence des otites aiguës, des infections respiratoires hautes ainsi que de l'utilisation des antibiotiques grâce à cette même souche.

Pathologie	Souche(s) bactérienne(s)	Effet physiologique	sources
------------	-----------------------------	------------------------	---------

Affections Gastro-intestinales

Symptômes à type de ballonnements et flatulences	<i>Bifobacterium longum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	Diminution des douleurs abdominales + régulation du transit	[7]
Diarrhées infectieuses à Rotavirus	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	- réduction du risque de diarrhées à Rotavirus chez les enfants - diminution de la gravité des infections	[48,49]
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG <i>Lactobacillus casei shirota</i>	Diminution de la gravité des infections	[50]
Diarrhées infectieuses à un autre agent que Rotavirus	<i>Lactobacillus casei</i>	diminution de la sévérité des symptômes	[51]
RCH	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	augmentation des concentrations coliques en butyrate	[54]
	<i>Escherishia coli</i> nissle 1917	-efficacité équivalence à la Mésalazine -diminution du nombre de rechutes	[8, 56, 57]
	<i>Saccharomyces boulardii</i>	diminution des rechutes	[59]
Maladie de Crohn	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	- augmentation sécrétion IL10 et IL4 => effet anti inflammatoire	[4]
TFI	<i>Bifidobacterium infantis</i>	Réduction des douleurs	[61]
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	-réduction des diarrhées -augmentation de IL10 et TGFβ => effet anti-inflammatoire	[61] [62]
	<i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>	recrutement des monocytes et des macrophages	[62]
Coliques du nourrisson	<i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	- rééquilibre du transit - diminution de la production de gaz	[17]

Affections allergiques

	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	- diminution de TNF α => effet anti-inflammatoire - diminution de l'apparition d'asthme, d'eczéma et de dermatite atopique	[48]
	<i>Bifidobacterium lactis Bb12</i> <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>	Diminution de l'apparition des dermatites atopiques	[4]
	<i>Lactobacillus paracasei</i>	- Diminution des rhinites allergiques	[63] [66]
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	- Diminution des rhinites allergiques - Diminution du taux d'éosinophiles	[63][66][67]

Affections ORL			
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	- augmentation d'IL10 et IL4 => switch vers Th2 => diminution des infections - diminution des infections respiratoires au Rhinovirus chez les prématurés avec réduction colonisation des pathogène dans l'épithélium respiratoire - réduction de l'incidence des otites aiguës, des infections respiratoires hautes et de l'utilisation des antibiotiques.	[33] [67] [66]
	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus casei</i>	Durée des infections plus faible	[63]
	<i>Lactobacillus pentosus</i>	- augmentation du taux SIgA - améliore le fonctionnement du MALT => prévention des infections respiratoires	[64]
	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>L. delbruechii sp bulgaricus</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Streptococcus salivarius sp thermophilus</i>	augmentation du taux de plasmocytes à IgA => diminution de la sévérité des infections	[48]

Tableau 4 : Synthèse de l'intérêt des probiotiques en thérapeutique

Partie II-
Questionnaires
destinés aux
patients puis
aux
Pharmaciens
d'Officine

Le traitement par probiotiques est un domaine en plein essor. Mon expérience officinale a été l'occasion de rencontrer de nombreux patients demandeurs de renseignements et/ou de conseils sur leurs utilisations.

Par ailleurs, en échangeant sur ce sujet avec des confrères, je me suis aperçue que les probiotiques n'étaient pas toujours utilisés dans les conditions adéquates. A ce jour, les pharmacies développant peu de gammes de probiotiques ne les conseillent pas automatiquement, seules les officines ayant une gamme étendue les promeuvent.

Dans cette partie nous étudierons, tout d'abord, l'intérêt et l'opinion des patients pour les probiotiques pour ensuite apprécier les connaissances des Pharmaciens d'Officine sur ce sujet.

I **Evaluation de l'intérêt des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales chez l'enfant**

I.1 Matériel et Méthodes

Afin d'appréhender la connaissance sur les probiotiques de la patientèle, d'identifier si elle les utilisait et le cas échéant, si elle les trouvait efficaces, j'ai réalisé un questionnaire (Figure 26) que j'ai ensuite présenté aux patients de la Pharmacie Mauroux (Auch).

Les probiotiques étant régulièrement utilisés chez la femme enceinte ou chez les enfants en bas âge, nous avons sélectionné des patients ayant au moins un enfant afin que le questionnaire puisse être exploitable et complet.

Les patients auprès desquels j'ai réalisé ce questionnaire étaient intéressés par la démarche et ont pris le temps d'y répondre tout en me questionnant en cas de difficultés ; en outre, à l'issue du questionnaire, nous avons échangé sur les

probiotiques en expliquant ou en rappelant leurs utilités, les effets mais également à quelle périodicité les prendre.

Cette démarche a été généralement bien accueillie par les patients de la pharmacie ; en effet cela leur a permis d'étendre leurs connaissances sur les probiotiques.

Questionnaire réalisé dans le cadre d'une thèse d'étudiante en pharmacie

Les questions suivantes portent sur l'hiver dernier et sur celui en cours

1) Enfant :

Âge : Sexe :

2) Parents :

Mère : âge Père : âge

3) Comment votre enfant est-il gardé ?

- ☐ parents ☐ famille ☐ nourrice ☐ crèche
☐ école maternelle ☐ école primaire

4) Votre enfant a-t-il été allaité ?

- ☐ oui ☐ non

Combien de temps ?.....

5) L'enfant a-t-il une pathologie chronique ?

- ☐ asthme ☐ allergies
☐ autre :

6) Pour prévenir les pathologies hivernales, que lui avez-vous donné ?

- ☐ phytothérapie (cyprès/échinacée ...)
☐ aromathérapie
☐ homéopathie (occilococcinum ...)
☐ probiotiques
☐ rien

Concernant les probiotiques :

7) Connaissez-vous les probiotiques ? ☐ oui ☐ non

Comment les avez-vous connus ?

- ☐ par votre médecin
☐ par votre pharmacien

- ☐ par un(e) ami(e)
- ☐ par une publicité dans un magazine
- ☐ par une publicité à la télévision
- ☐ autre : précisez :

8) Pour vous, quelle est l'indication des probiotiques ?

.....

9) Savez-vous qu'ils stimulent vos défenses immunitaires ?

- ☐ oui ☐ non

10) En avez-vous déjà utilisé pour votre enfant ?

- ☐ oui ☐ non

Si oui :

Pour quelle(s) raison(s) les avez-vous donnés à votre enfant ?

- ☐ vous en avez pris pour vous, et vous avez trouvé efficace
- ☐ votre médecin vous les a conseillés
- ☐ votre pharmacien vous l'a conseillé
- ☐ vous les avez vus dans une publicité et avez voulu essayer
- ☐ autre :

Dans quel but les lui avez-vous donnés ?

- ☐ prévention des pathologies hivernales (gastro-entérite, rhume, otites etc...)
- ☐ traitement des coliques
- ☐ autre, précisez :

Dans le cas où vous les avez utilisés dans la prévention des pathologies hivernales,

Les avez-vous associés à autre chose ?

- ☐ non ☐ aromathérapie ☐ homéopathie ☐ phytothérapie

Lui ont-ils apporté un bénéfice ?

- ☐ non ☐ oui, lequel ?

Sous quelle forme les lui donnez-vous ?

- ☐ sirop, lequel ?
- ☐ lait infantile, lequel ?

- ☐ comprimés, lesquels ?
- ☐ sachets, lesquels ?

Comment les conservez-vous ?

.....

À quel rythme lui avez-vous donné? (ex : 4 jour par semaine ou 1 sachet tous les matins)

.....

11) Votre enfant a-t-il été malade durant l'hiver ?

- ☐ non ☐ oui

Si oui :

Qu'a-t-il eu ?

- ☐ bronchiolite ☐ gastro entérite ☐ rhume/rhinopharyngite ☐ méningite
☐ rubéole ☐ varicelle ☐ rougeole ☐ otite ☐ oreillons
☐ autre, laquelle ?

À quelle fréquence ? (ex : 1 fois /mois, 1 fois/semaine, 2 fois dans l'hiver)

.....

Merci de votre participation

Figure 26 : **Questionnaire destiné aux patients pour évaluer l'intérêt des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales.**

Cet outil m'a alors permis de comprendre que, malgré l'essor des probiotiques, cette notion était très mal appréhendée par les patients.

Malheureusement, de part cette méconnaissance je n'ai pas pu exploiter correctement ce questionnaire. Les résultats obtenus sont présentés de façon synthétique dans le Tableau 6.

I.2 Résultats

Dans le Tableau 6 sont retranscrits les résultats synthétiques obtenus au questionnaire soumis aux patients.

Mode de garde	Nombreux et variés (nourrice, parents, famille, crèche, école maternelle, école primaire)
Allaitement	- Oui pour 9 enfants /16 - Durée moyenne : 4 mois
Existences pathologies chroniques	Oui pour 2 enfants / 16
Méthode de prévention des pathologies hivernales	- Pour 4 enfants : aucune - Pour les 12 autres : prise de un ou plusieurs traitements
Utilisation des probiotiques chez les parents	Oui pour 13 parents / 16
Mode de découverte des probiotiques	- Majorité : via les professionnels de santé - Le reste via internet
D'après les parents, intérêts des probiotiques	- Lutter contre la constipation - Lutter contre les coliques - Stimuler le système immunitaire - Renforcer la flore intestinale - Equilibrer la flore intestinale - Lutter contre le Reflux Gastro Œsophagien (RGO)
But de leur utilisation	- Prévention de diarrhées lors d'un traitement antibiotique - Lutter contre la constipation - Prévention des pathologies hivernales - Lutter contre les coliques - Lutter contre le RGO ➔ La majorité ont utilisé les probiotiques en complément d'un autre traitement

Bénéfice → Motif	- Pour la majorité : oui • Pas ou très peu d'antibiothérapie durant l'hiver • Moins malade • Conservation d'une bonne forme • Pas de diarrhées lors de la prise d'antibiotiques
Compléments alimentaires utilisés	Lactibiane® sachet (Pileje) uniquement La pharmacie MAUROUX travaillait principalement avec ce laboratoire
Conservation des probiotiques	Au frais ou à température ambiante
Rythmes de prise	Différents MAIS correspondent aux recommandations de laboratoires
Conclusion	Les enfants ont été moins malades voire pas du tout durant l'hiver

Tableau 6 : **Résultats synthétiques au questionnaire permettant d'évaluer l'intérêt des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales**

Ce questionnaire a été proposé à peu de patients (16 enfants âgés de 2 mois à 5 ans) car je me suis rapidement aperçue que les parents interrogés ne maîtrisaient pas le sujet des probiotiques et mélangeaient différentes notions (probiotiques, homéopathie, phytothérapie, aromathérapie).

A la lecture du questionnaire, j'ai été agréablement surprise que les patients soient réceptifs aux conseils des professionnels de santé car leur connaissance sur les probiotiques émanaient de ces derniers.

Cependant, leur savoir dans ce domaine se limite aux principales indications telles que la lutte contre la constipation, contre les coliques, la stimulation du système immunitaire, le renforcement de la flore intestinale, etc ...

Ce questionnaire m'a toutefois permis de mettre en exergue l'efficacité supposée des probiotiques ; en effet, il semblerait que les parents soient intéressés par ces

compléments alimentaires car ils ont noté que leurs enfants traités étaient moins malades durant l'hiver.

Néanmoins, m'apercevant lors des échanges avec la patientèle que leurs connaissances étaient relativement ambiguës, j'ai décidé de réorienter mon sujet afin de comprendre pourquoi, malgré l'augmentation de la commercialisation des probiotiques, leur perception restait évasive.

II Evaluation de la connaissance des Pharmaciens d'Officine sur le domaine des probiotiques

Face à cette situation, nous avons décidé, avec mes directeurs de Thèse, les Docteurs P. Gandia et P. Pomies de proposer un nouveau questionnaire destiné aux Pharmaciens Officinaux.

Cette nouvelle orientation avait deux objectifs :

- ✓ évaluer les connaissances des Pharmaciens d'Officine sur une thématique non enseignée (ou très peu) à la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse
- ✓ proposer, à l'issue de l'analyse des questionnaires, une formation adaptée aux Professionnels de Santé.

II.1 Matériel et méthodes

Afin de proposer le nouveau questionnaire, que j'ai adapté aux nouveaux destinataires (Figure 27), je l'ai distribué avec l'aide de confrères, dans différentes pharmacies de plusieurs départements (Gers, Ile-de-France, Aveyron ou encore Haute-Garonne).

Questionnaire destiné aux Pharmaciens Officinaux dans le cadre d'une Thèse d'Exercice intitulée « Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologies et conseils en officine »

(Plusieurs réponses sont possible, cochez uniquement les mentions correctes)

- 1- Un déséquilibre de la flore intestinale peut conduire à :
 - ☐ Un état infectieux
 - ☐ Des allergies
 - ☐ Une appendicite
 - ☐ Une maladie inflammatoire chronique
 - ☐ Une infection à Herpès simplex virus 1 ou 2
 - ☐ Une surcharge pondérale
- 2- Un probiotique est ?
 - ☐ Une bactérie
 - ☐ Une levure
 - ☐ Un microorganisme vivant
 - ☐ Un microorganisme mort
 - ☐ Un microorganisme pathogène
 - ☐ Un microorganisme non pathogène
- 3- Quand peut/doit-on prendre un probiotique ?
 - ☐ Quand le patient est malade
 - ☐ N'importe quand (chez le sujet sain et le sujet malade)
 - ☐ En cure régulière
- 4- Un probiotique a-t-il des effets indésirables ?
 - ☐ Oui
 - ☐ Non
- 5- A qui s'adressent les probiotiques ?
 - ☐ Aux nourrissons
 - ☐ Aux enfants
 - ☐ Aux adolescents
 - ☐ Aux adultes
 - ☐ Aux femmes enceintes
 - ☐ Aux femmes allaitantes
 - ☐ Aux personnes âgées
 - ☐ Aux patients immunodéprimés
- 6- Parmi ces microorganismes, lesquels sont des probiotiques ?
 - ☐ *Candida Albicans*
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus*
 - ☐ *Lactobacillus Casei*
 - ☐ *Haemophilus Influenzae*
 - ☐ *Lactobacillus Acidophilus*
 - ☐ *Pseudomonas Aeruginosa*
 - ☐ *Streptococcus Salivarius*
 - ☐ *Lactobacillus Reuteri*
 - ☐ *Saccharomyces Boulardii*
- 7- Quelle(s) souche(s) est/sont utilisée(s) dans quelle(s) indication(s) ?
 - ☐ *Lactobacillus Paracasei* dans la dermatite atopique
 - ☐ *Escherichia Coli* dans la prévention des allergies
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus* dans la prévention des infections respiratoires
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus* dans la diminution du risque et de la virulence des diarrhées
 - ☐ *Lactobacillus Casei Shirota* dans la diminution du risque et de la virulence des diarrhées
 - ☐ *Lactobacillus Reuteri* dans l'augmentation des défenses immunitaires
 - ☐ *Candida Albicans* dans la prévention des diarrhées
- 8- Si vous conseillez les probiotiques, quelle(s) est/sont la(es) indication(s) habituelle(s) ?
 - ☐ Constipation
 - ☐ Diarrhées/Coliques
 - ☐ Lors d'une antibiothérapie
 - ☐ Allergies
 - ☐ Maladie de Chron
 - ☐ Lors d'un régime
 - ☐ En cas de fatigue
 - ☐ Lors d'un rhume
 - ☐ Pour renforcer les défenses immunitaires
- 9- Si vous ne conseillez pas de probiotiques, précisez votre (vos) raison(s) :
 - ☐ Ils ne sont pas efficaces
 - ☐ Ils sont dangereux pour la Santé Humaine
 - ☐ Ils sont trop chers
 - ☐ Je ne maîtrise pas suffisamment bien cette nouvelle « classe thérapeutique »

Données démographiques :

Date d'obtention du Diplôme de Pharmacien :

Sexe :

Coralie LAFARGUE – Etudiante (6ème année validée)
Thèse d'Exercice dirigée par les Dr Peggy GANDIA et Pierre POMIES

Figure 27 : Questionnaire destiné aux Pharmaciens Officinaux

Les réponses correctes au questionnaire présenté précédemment sont surlignées en jaune, j'y ai associé un barème de correction :

- ✓ Réponses correctes : + 0,5 pour les questions 6 et 7, +1 pour les questions 1, 3 et 5 et + 2 pour les questions 2 et 4,
- ✓ Réponses fausses : - 0,5 pour les questions 6 et 7, - 1 pour les questions 1, 3 et 5 et - 2 pour la question 2 et 4.

Les questions 8 et 9 ne requièrent que l'avis des pharmaciens et n'ont donc pas de barème.

- 1- Un déséquilibre de la flore intestinale peut conduire à :
 - ☐ Un état infectieux
 - ☐ Des allergies
 - ☐ Une appendicite
 - ☐ Une maladie Inflammatoire chronique
 - ☐ Une infection à Herpès simplex virus 1 ou 2
 - ☐ Une surcharge pondérale
- 2- Un probiotique est ?
 - ☐ Une bactérie
 - ☐ Une levure
 - ☐ Un microorganisme vivant
 - ☐ Un microorganisme mort
 - ☐ Un microorganisme pathogène
 - ☐ Un microorganisme non pathogène
- 3- Quand peut/doit-on prendre un probiotique ?
 - ☐ Quand le patient est malade
 - ☐ N'importe quand (chez le sujet sain et le sujet malade)
 - ☐ En cure régulière
- 4- Un probiotique a-t-il des effets indésirables ?
 - ☐ Oui
 - ☐ Non
- 5- A qui s'adressent les probiotiques ?
 - ☐ Aux nourrissons
 - ☐ Aux enfants
 - ☐ Aux adolescents
 - ☐ Aux adultes
 - ☐ Aux femmes enceintes
 - ☐ Aux femmes allaitantes
- 6- Parmi ces microorganismes, lesquels sont des probiotiques ?
 - ☐ Aux personnes âgées
 - ☐ Aux patients immunodéprimés
 - ☐ *Candida Albicans*
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus*
 - ☐ *Lactobacillus Casei*
 - ☐ *Haemophilus Influenzae*
 - ☐ *Lactobacillus Acidophilus*
 - ☐ *Pseudomonas Aeruginosa*
 - ☐ *Streptococcus Salivarius*
 - ☐ *Lactobacillus Reuteri*
 - ☐ *Saccharomyces Boulardii*
- 7- Quelle(s) souche(s) est/sont utilisée(s) dans quelle(s) indication(s) ?
 - ☐ *Lactobacillus Paracasei* dans la dermatite atopique
 - ☐ *Escherishia Coli* dans la prévention des allergies
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus* dans la prévention des infections respiratoires
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus* dans la diminution du risque et de la virulence des diarrhées
 - ☐ *Lactobacillus Casei Shirota* dans la diminution du risque et de la virulence des diarrhées
 - ☐ *Lactobacillus Reuteri* dans l'augmentation des défenses immunitaires
 - ☐ *Candida Albicans* dans la prévention des diarrhées

II.2 Résultats

II.2.A Généralités

Cette enquête a été réalisée auprès de 40 Pharmaciens Officinaux.

La médiane des dates d'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie est de 1996 (les diplômes ayant été obtenus entre 1978 et 2014).

Par ailleurs, deux fois plus de femmes (67,5%) que d'hommes ont répondu à ce questionnaire.

Les Pharmaciens Officinaux ont obtenu en moyenne 65% de réponses correctes (Figure 28).

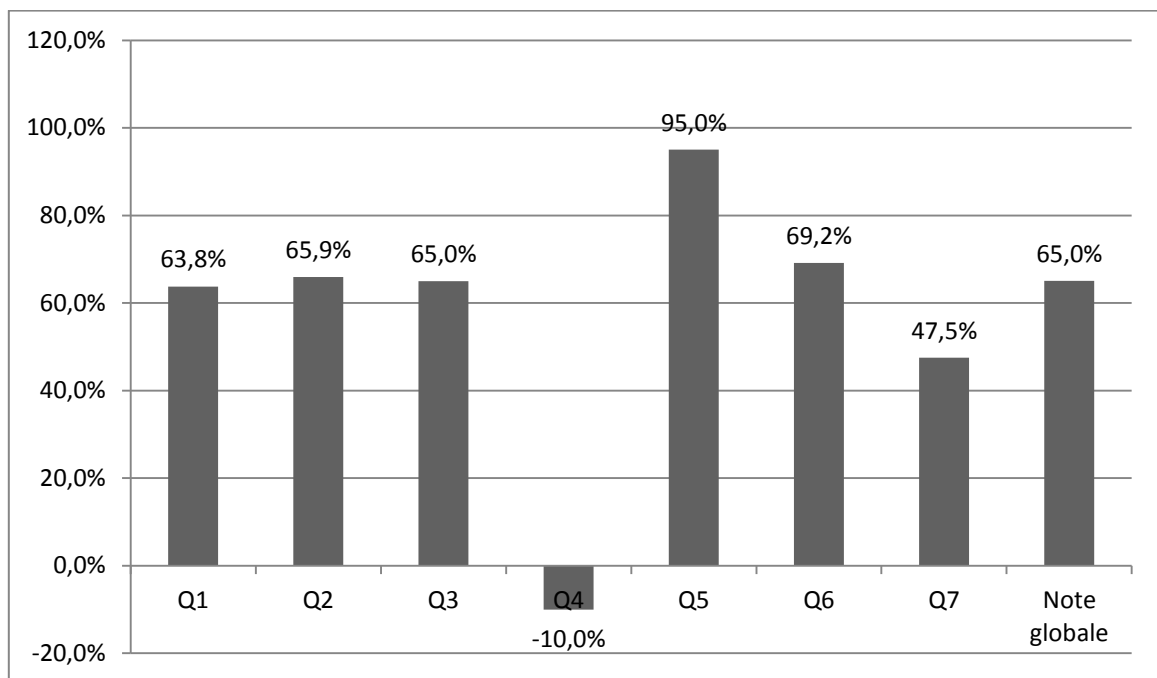


Figure 28 : **Analyse (par question et exprimée en pourcentages) des réponses correctes obtenues au questionnaire soumis aux Pharmaciens Officinaux dans le but d'évaluer leurs connaissances dans le domaine des probiotiques.**

La majorité de Pharmaciens a reconnu, durant nos échanges lors de la soumission du questionnaire, ne pas savoir clairement expliquer aux patients la notion (rôles, indications, doses, etc ...) de « probiotiques » ; ce point est à mettre en lien avec les résultats obtenus à la question 7.

II.2.B Question n°1 : rôle d'un déséquilibre de la flore intestinale

Les Pharmaciens sont conscients qu'un déséquilibre de la flore peut être responsable d'un état infectieux, d'allergies, de maladies inflammatoires chroniques ; en revanche, pour des sujets moins documentés comme la surcharge pondérale, seules 13 personnes ont répondu correctement (32,5% ; Figure 29).

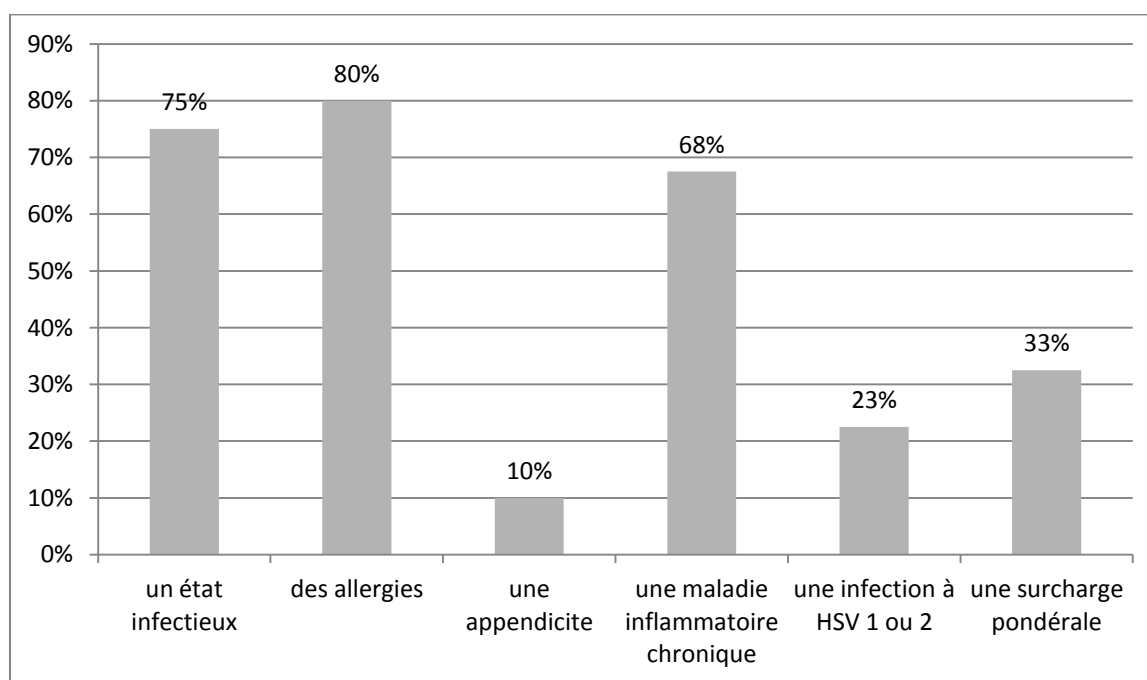


Figure 29 : **Réponses obtenues à la question n° 1 : « A quoi peut conduire un déséquilibre de la flore intestinale ? »**

II.2.C Questions n°2/6 : analyse de la définition des probiotiques

Pour 88% des Pharmaciens, le probiotique est un micro-organisme vivant, et pour seulement 70% d'entre eux, une bactérie ; en revanche, seulement 48% savaient que c'était une levure et 55% que c'était un micro-organisme non pathogène (Figure 30).

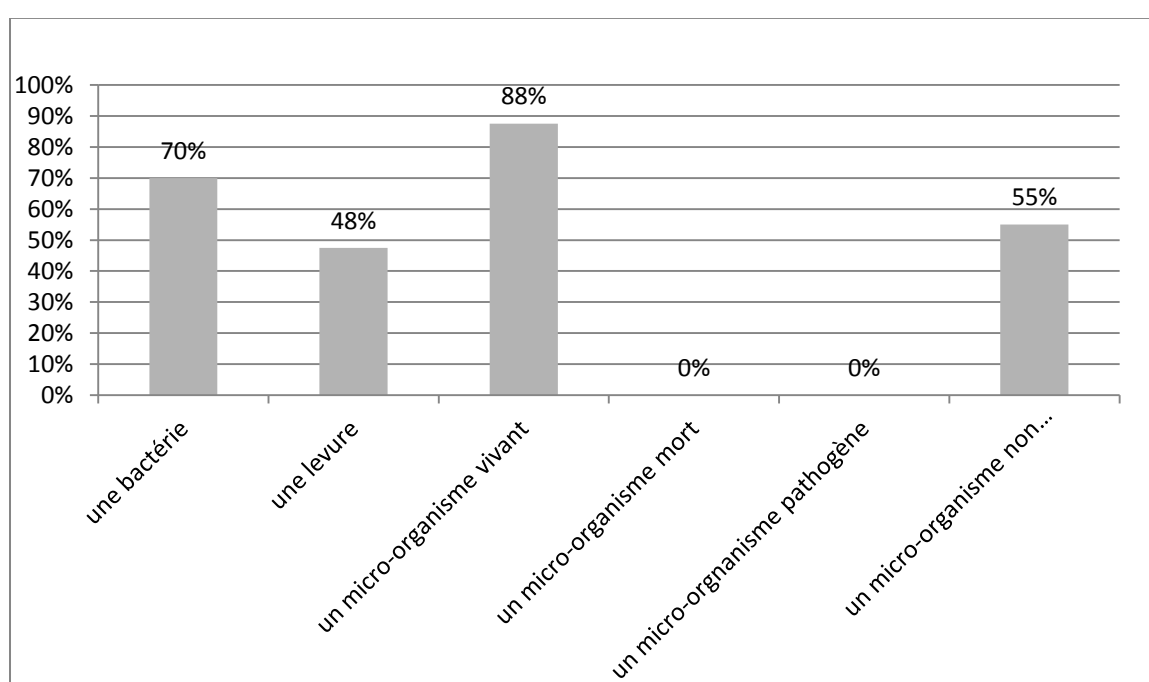


Figure 30 : **Analyse des réponses obtenues à la question N° 2: « Qu'est-ce qu'un probiotique ? »**

Les Lactobacilles ont été les souches les plus souvent nommées par les Pharmaciens interrogés. Ces réponses s'expliquent par le fait que ce sont les souches probiotiques les plus documentées et les plus présentes dans de nombreuses spécialités ; ainsi, nous pouvons voir qu'environ 70% d'entre eux ont répondu correctement pour les souches *Lactobacillus*.

En revanche, seulement 31% des Pharmaciens ont cité l'Ultra-levure® : *Saccharomyces boulardii*, pourtant un des plus vieux probiotique commercialisé ; le

Streptococcus salivarius, présent dans de nombreuses spécialités mais moins plébiscité, a été lui aussi largement oublié.

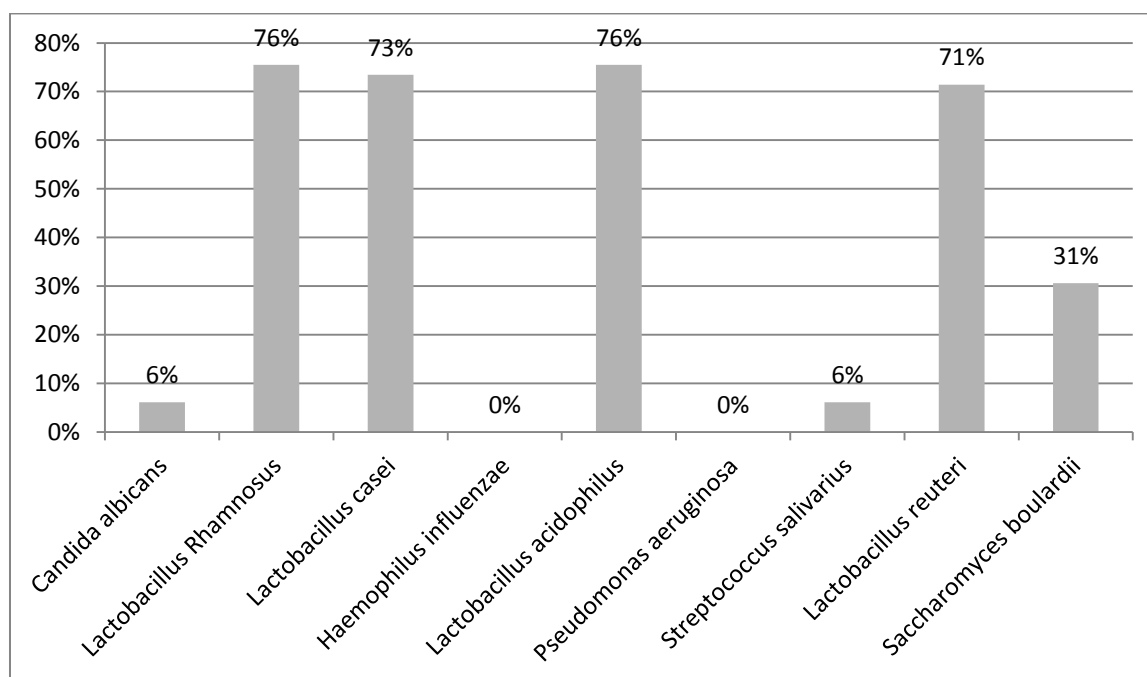


Figure 31 : **Analyses des réponses obtenues à la question n°6 : « Parmi ces micro-organismes, lesquels sont des probiotiques ? »**

Bien que le questionnaire ait contenu des propositions de souches erronées, il est intéressant de noter qu'un très faible pourcentage de Pharmaciens les ont cochées ; cela démontre que si les Pharmaciens ne savent pas exactement quelles souches sont des probiotiques, ils connaissent, en revanche, lesquelles n'en sont pas.

II.2.D Question n°3 : les probiotiques quand et pour qui?

A cette question, toutes les réponses proposées étaient correctes (Figure 32) puisque un probiotique peut être administré chez un sujet sain ayant des infections à répétitions (rhume, gastro-entérite, etc ...) mais également chez des sujets ayant un terrain inflammatoire chronique (maladie de Crohn, etc...).

Par ailleurs, les probiotiques peuvent être conseillés chez une personne en bonne santé partant dans un pays étranger en vue de prévenir notamment la diarrhée du voyageur.

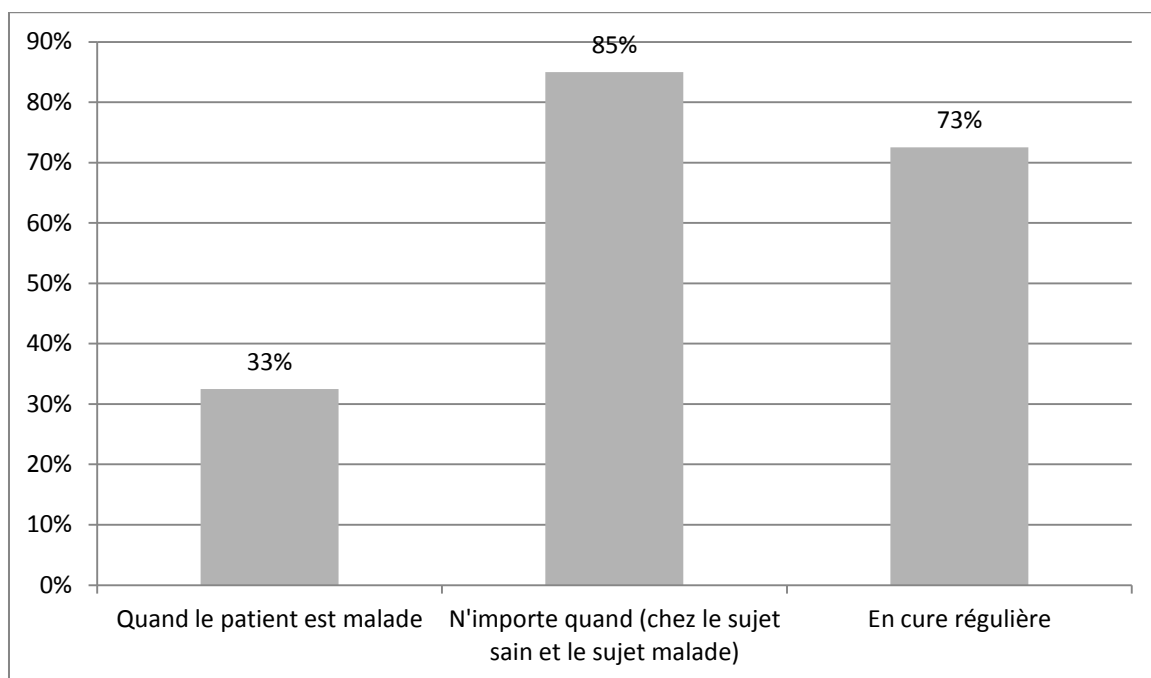


Figure 32 : **Analyse des réponses à la question n°3 : « Quand peut/doit – on prendre des probiotiques ? »**

Les Pharmaciens savaient qu'il était possible de donner des probiotiques aux personnes n'ayant pas de problèmes de santé.

A l'aide du questionnaire, nous pouvons observer de fortes hésitations quant à la prescription de probiotiques aux nourrissons, femmes enceintes/allaitantes et patients immunodéprimés (Figure 33).

Toutefois, 90% des Pharmaciens savaient qu'il était possible d'en délivrer aux nourrissons dans le cas de coliques ou encore chez les femmes enceintes ou allaitantes (respectivement 85% et 73%) dans le cas de troubles gastriques, infectieux, ou encore gynécologiques.

Pour terminer 63% des Pharmaciens ont répondu conseiller des probiotiques à des patients immunodéprimés ; ce pourcentage est surprenant compte tenu du fait, qu'à ce jour, peu de données issues d'études « cliniques » sont disponibles concernant les effets indésirables chez les sujets immunodéprimés mais également que le peu d'études disponible démontrent qu'il était préférable de les éviter dans ce contexte physiopathologique.

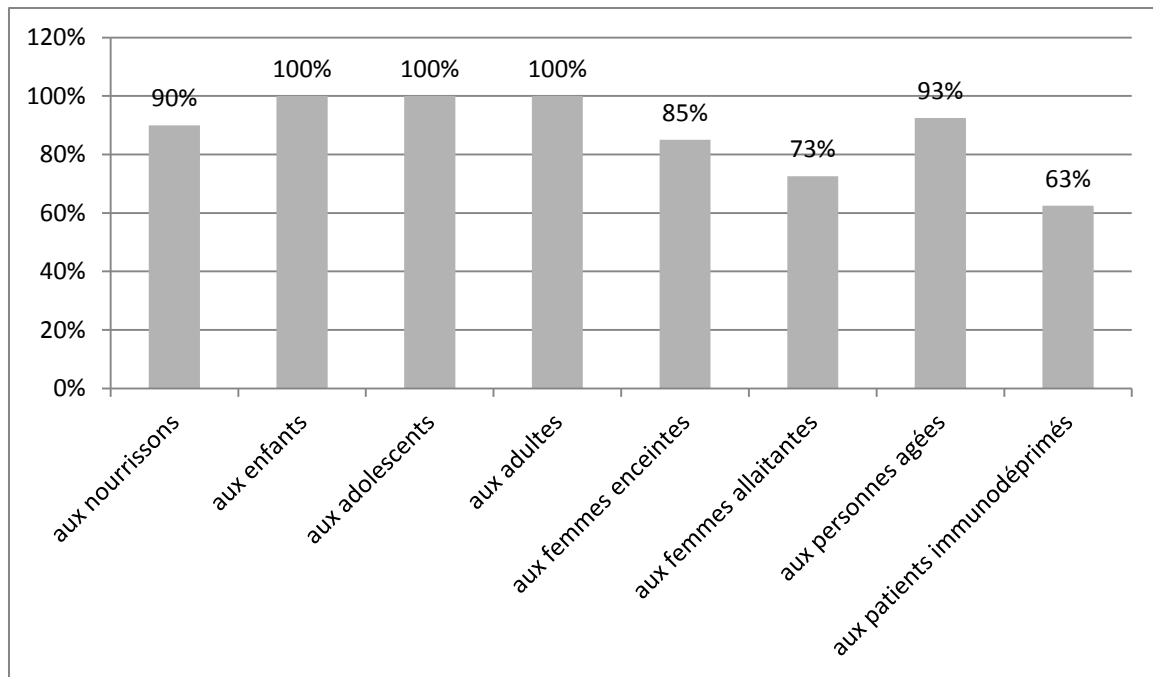


Figure 33 : **Analyse des réponses obtenues à la question n°5 : « A qui s'adressent les probiotiques ? »**

II.2.E Question n°7 : quelles souches pour quelles indications ?

Le probiotique le plus documenté et le plus connu, que ce soit dans la presse professionnelle ou tout public, est le *L. rhamnosus* pour la diarrhée, largement retrouvé dans les réponses des Pharmaciens (95% de réponses exactes pour cet item).

Un peu moins de 50 % des professionnels interrogés ont désiré répondre à cette question précisant avoir certaines lacunes mais, il est important de préciser que les réponses données par les Pharmaciens ayant répondu étaient correctes (Figure 35).

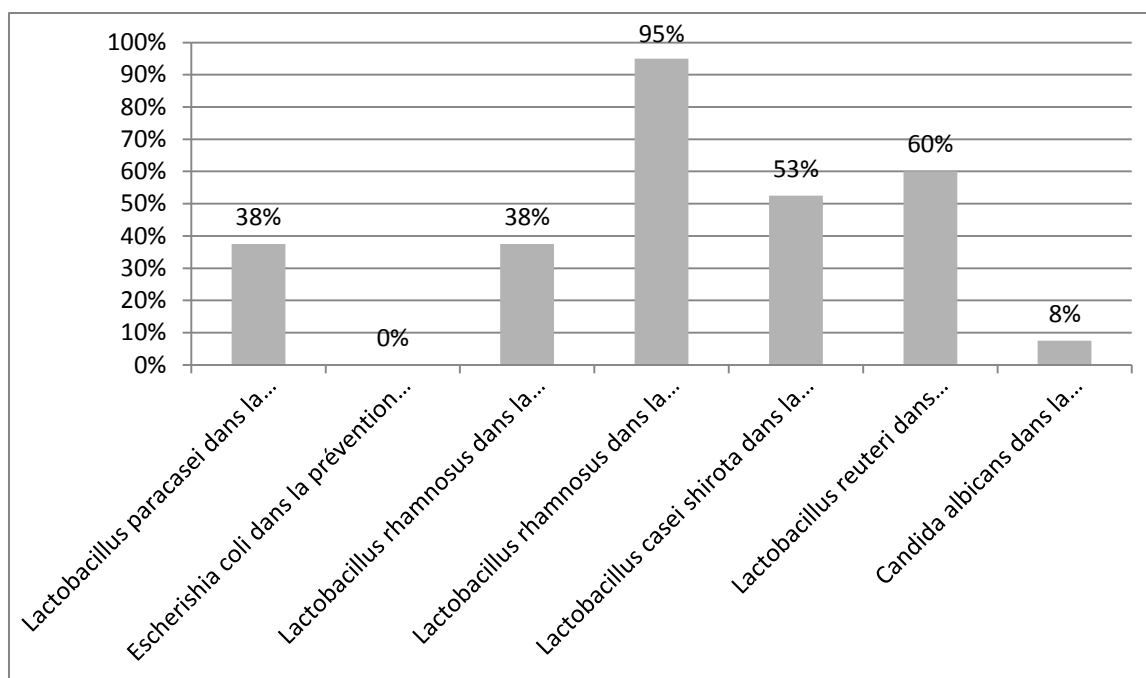


Figure 34 : **Analyse des réponses obtenues à la question n°7 : « Quelle(s) souche(s) est/sont utilisée(s) dans quelle(s) indication(s) ? »**

II.2.F Question n°8/9 : conseil de probiotiques au comptoir

Les réponses obtenues à la question n°8 (Figure 35) étaient à mettre en relation avec les résultats obtenus à la question n°1 qui était relative au déclenchement d'un déséquilibre de la flore intestinale.

Comme dit précédemment (cf. figure 29) pour 75 % des Pharmaciens un déséquilibre de la flore était la cause d'un état infectieux. C'est ainsi que 78% et 80% des Professionnels conseillent les probiotiques respectivement pour renforcer les défenses immunitaires ou lors d'une antibiothérapie.

En revanche, alors qu'un rhume est un état infectieux, seul 43% du panel a répondu conseiller les probiotiques dans cette indication.

Toujours selon la question n°1, 80% des pharmaciens est conscients qu'un déséquilibre de la flore est responsable d'allergie mais seulement 58% les conseillent dans cette indication.

Par ailleurs, on peut noter que seulement 35% conseillent les probiotiques dans la maladie de Crohn (maladie inflammatoire chronique) alors que 65% ont répondu que ces maladies pouvaient être dues à une dysbiose de la flore à la question n°1.

Cette question fait apparaître que les professionnels de santé connaissent les effets d'un déséquilibre de la flore intestinale mais qu'ils ne font pas automatiquement le lien, pour chaque pathologie due à un déséquilibre, avec la prescription de probiotiques.

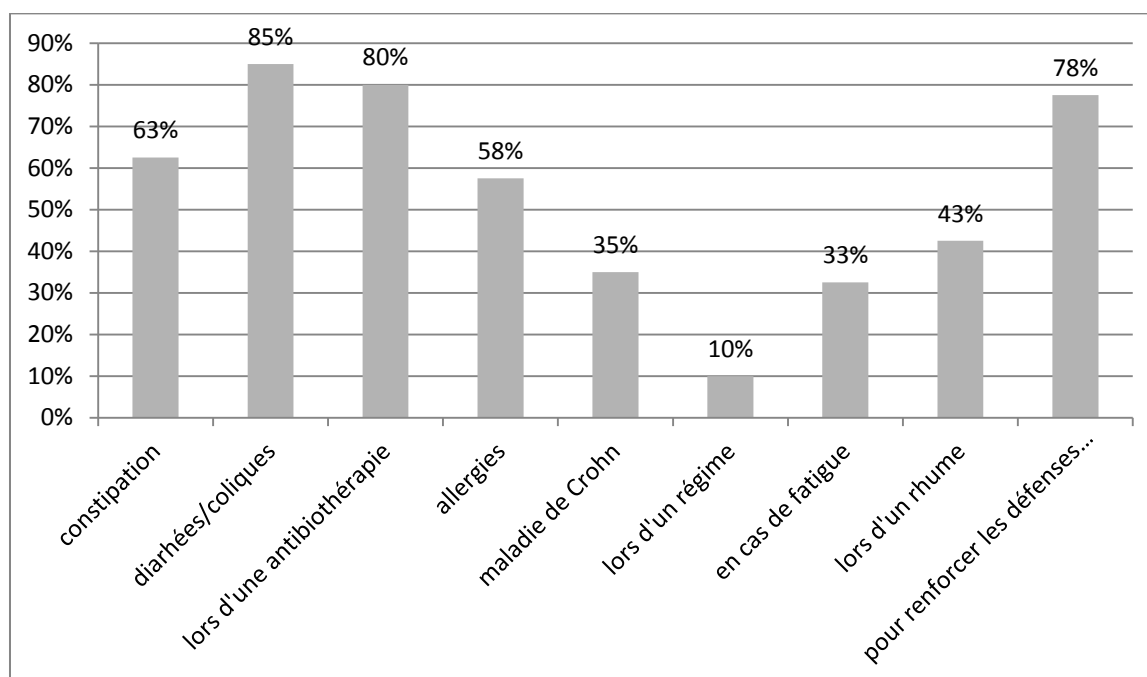


Figure 35 : **Analyse des réponses obtenues à la question n°8 : « Si vous conseillez les probiotiques, quelle(s) est/sont la (les) indication(s) habituelle(s) »**

Pour terminer, parmi les 40 Officinaux ayant répondu au questionnaire, nous pouvons remarquer que l'efficacité ou l'absence de dangerosité des probiotiques ne sont pas remis en cause.

Toutefois, des points négatifs sont présents, cinq Pharmaciens trouvent leur prix trop élevé et cinq autres ne pensent pas assez maîtriser cette thématique pour pouvoir les conseiller (Figure 36).

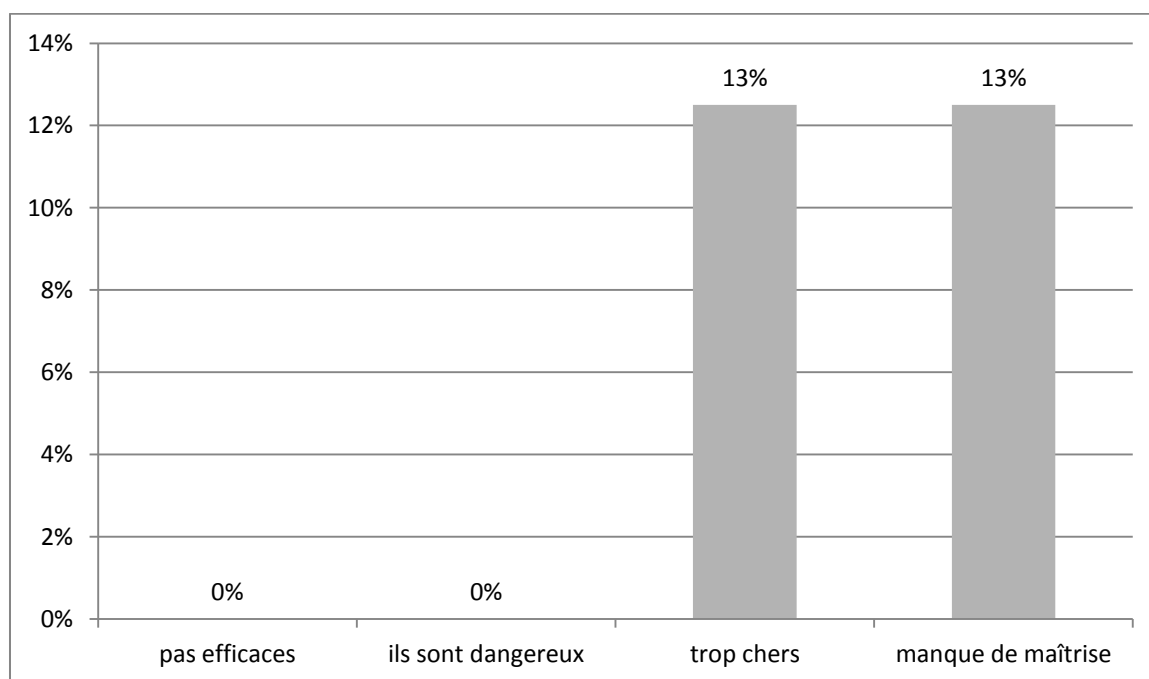


Figure 36 : **Analyse des réponses obtenues à la question n°9 : « Si vous ne conseillez pas de probiotiques, précisez votre (vos) raison(s) »**

Partie III -
Discussion,
perspectives et
conclusion

I **Discussion**

Depuis 5 ans que je travaille dans le milieu officinal, j'ai remarqué une demande croissante de spécialités à base de probiotiques par la patientèle et, donc, une augmentation des ventes. Corrélativement, les laboratoires se sont adaptés à cette «tendance» en proposant une nouvelle gamme de produits à base de probiotiques.

En outre, les recherches effectuées pour ma thèse m'ont permis d'enrichir mes connaissances dans ce domaine et de constater que le lien entre les bactéries probiotiques et le système immunitaire était incontestable.

En effet, il est bien identifié que ces micro-organismes modulent une grande partie des réactions de notre système immunitaire et qu'une dysbiose est souvent à l'origine de pathologies.

Ces écrits m'ont donc confortée dans l'idée que l'équilibre de la flore intestinale est très important, car différentes pathologies sont liées à son déséquilibre et que les probiotiques sont une nouvelle « pratique thérapeutique » pleine d'avenir.

Cependant, chaque souche ayant une dose efficace ainsi qu'une durée de survie dans le transit bien spécifique, il n'est pas possible d'établir des généralités quant aux doses efficaces ainsi qu'une forme galénique préférentielle. De plus, certaines souches vivantes, tuées par la chaleur ou par des produits bactériens se sont révélées efficaces ; il n'est donc également pas possible de définir un type « d'état standard » à utiliser pour obtenir un effet thérapeutique bénéfique.

Les études visant à apprécier les effets bénéfiques de souches probiotiques sont souvent effectuées dans de mauvaises conditions ; à titre d'exemple, ces études sont réalisées sur peu de patients, les cas et les témoins ne sont pas traités dans les mêmes conditions, etc...

L'EFSA, via son groupe d'étude NDA, permet de faire un tri parmi les nombreuses demandes d'obtention d'allégations pour les compléments alimentaires.

Pour que cette nouvelle thérapeutique soit reconnue par les scientifiques, il faudrait que les études soient réalisées dans de bonnes conditions avec toutes les

contraintes que cela implique : études multicentriques, études randomisées, nombre de patients plus significatif, cas témoins, etc ...

Les approches d'études protéogénomiques laissent entrevoir des promesses majeures quant à l'amélioration de la compréhension des interactions microbiote/aliments, microbiote/hôtes, microbiote/agents pathogènes. Ces approches ouvrent la voie à une nouvelle frontière de biologie humaine qui fournira, très probablement, de nouvelles stratégies en termes de santé humaine.

Mon expérience officinale me laisse penser que l'essor de ces compléments alimentaires est dû, d'une part à leurs bons résultats thérapeutiques, et d'autre part aux différents moyens de communications notamment la publicité sur tous supports (télévision, radio, prospectus) et le « bouche à oreille ».

Néanmoins, les probiotiques étant relativement récents, certaines spécificités restent floues pour les professionnels de santé notamment savoir quelles souches utiliser pour quelles pathologies ; en effet, cette thématique « thérapeutique » est peu (voire pas du tout) enseignée dans le cursus scolaire.

Tout ce travail m'a permis de mettre en évidence un contraste entre les larges gammes de probiotiques développées et le faible niveau d'informations dédiées à la patientèle comme aux Pharmaciens Officinaux.

I.1 Interprétation du premier outil destiné aux patients

Ce premier outil est un questionnaire réalisé auprès de patients. Il était destiné à évaluer la connaissance de ces derniers dans le domaine des probiotiques ; cet outil nous permettait également d'en évaluer l'efficacité dans la prévention des pathologies hivernales (rhumes, gastro-entérites, etc ...).

Les patients interrogés étaient de jeunes parents et les questions portaient principalement sur leurs enfants ; nous avons ciblé cette population-là, dans un premier temps pour délimiter le sujet puis dans un second temps pour l'intérêt de leur système immunitaire en formation. En effet les jeunes enfants sont plus vulnérables aux infections hivernales que les adultes.

I.1.A Les points positifs et négatifs

Cette enquête a attiré l'attention des jeunes parents sur les probiotiques, leur a rappelé que ces compléments alimentaires restaient un traitement et donc qu'ils devaient être utilisés à bon escient.

Elle m'a aussi donné l'occasion de répondre aux questions que les patients n'osaient pas poser ou à enlever des idées reçues.

Le fait de s'intéresser à des patients de différents horizons ou avec des problèmes différents permet aussi d'identifier ou de réfléchir à la prescription de nouveaux probiotiques ou à un élargissement de la gamme commandée si une pathologie non ciblée est souvent citée par les patients.

Le questionnaire étant complet et complexe, il a été, dans certains cas, difficile de capter l'attention des patients.

La pharmacie dans laquelle ce questionnaire a été réalisé travaillait principalement avec un laboratoire, les résultats obtenus portent donc sur une ou deux spécialités à base de probiotiques car les patients ne connaissaient que les compléments alimentaires vendus dans cette Officine.

I.1.B Les limites

La principale limite rencontrée a été les connaissances approximatives, par les parents, de cette thérapeutique émergente, les probiotiques. Effectivement, les patients confondent les probiotiques avec l'homéopathie, la phytothérapie ou encore l'aromathérapie. C'est pour cela que peu de personnes ont été interrogées ; nous avons donc dû réorienter le questionnaire.

Par ailleurs, seuls les enfants ont été inclus dans l'étude de ce questionnaire, de ce fait, le champ est limité et nous n'avons pu étudier correctement l'efficacité des probiotiques dans la prévention des pathologies hivernales.

En outre, cet outil comporte une grande majorité de questions fermées ce qui empêche le patient de s'exprimer.

I.1.C Interprétation

Du fait de la méconnaissance par les patients des probiotiques, de la longueur du questionnaire ainsi que du faible nombre de patients y ayant participé, il n'a pu être correctement interprété. Néanmoins, il m'a permis de constater que les patients demandaient conseil à leur Pharmaciens et avaient confiance en leurs prescriptions. Une grande majorité de ces personnes a découvert les probiotiques grâce à ces professionnels.

Avec le temps, l'intérêt des patients pour les probiotiques tend à se développer. L'expérience de terrain (questionnaire soumis aux parents) montre que les probiotiques semblent être particulièrement efficaces chez les enfants : moins de rhumes, moins de diarrhées chez les enfants sous antibiotiques et moins d'antibiotiques consommés durant l'hiver. Toutefois, ces premiers résultats doivent impérativement être confirmés par d'autres études.

Lors de la réalisation du questionnaire, les études complémentaires concernant la conservation des spécialités probiotiques n'avaient pas été réalisées, de ce fait, aujourd'hui cette question n'a plus d'intérêt car les recommandations ont changé et la conservation se fait à température ambiante ; elle n'a pas d'incidence sur la viabilité des probiotiques.

Cette première expérience nous a donc convaincu, mes directeurs de Thèse (le Docteur P. Gandia et le Docteur P. Pomies) et moi-même, à réorienter cet outil de travail.

I.2 Interprétation du second outil destiné aux Pharmaciens Officinaux

Comme dit précédemment, nous avons redirigé cet outil dans le but de faire le point sur l'état des connaissances des Pharmaciens Officinaux dans ce domaine.

Ce second instrument, également un questionnaire, permettra ensuite de créer une plaquette de formation afin de mieux former les praticiens pour leur permettre de délivrer de meilleurs conseils au comptoir pour ainsi répondre plus précisément à la demande des patients dans le domaine des probiotiques.

J'ai moi-même, avec l'aide de confrères, distribué le questionnaire aux Pharmaciens titulaires et assistants, ainsi j'ai pu me rendre compte que les professionnels appréciaient ma démarche, la thématique abordée (les probiotiques) pour laquelle ils ne sont pas toujours bien formés, et étaient en quête de formation.

I.2.A Les points positifs et négatifs

Pour réaliser cet outil, nous avons tenu compte des points négatifs du premier questionnaire notamment le trop grand nombre de questions; ainsi le second instrument n'est constitué que de 9 questions, il est donc rapide à compléter.

Avec l'aide de différents confrères, le questionnaire a pu être distribué dans différentes Pharmacies Officinales de France (département de Haute-Garonne, département du Gers, département de l'Aveyron, département du Val d'Oise) ; les résultats ne sont donc pas spécifiques d'une région donnée.

On pourrait toutefois reprocher à cet outil, son caractère trop « scolaire », mais cette caractéristique est volontaire car, nous voulions « évaluer » un niveau de connaissance, et, pour arriver à cette fin, cette forme nous paraissait nécessaire.

I.2.B Les limites

Certains Pharmaciens Officinaux sollicités (5 ou 6) ont refusé de répondre au questionnaire pour différentes raisons telles qu'un manque de temps, un désintéressement pour ce sujet, etc ... ; cela nous a donc contraints à diminuer le nombre de professionnels interrogés.

De plus, ce questionnaire était destiné aux seuls Pharmaciens Officinaux et non aux Préparateurs constituant leurs équipes car nous avons estimé que c'était le personnel le plus formé pour répondre aux questions.

Nous pouvons, par ailleurs, faire la même remarque que pour l'outil précédent, les questions sont fermées ce qui limite l'expression des professionnels y répondant.

I.2.C Interprétation

Le résultat obtenu de part ce questionnaire (soit 65% de réponses exactes (Figure 28)), est relativement positif. Leurs connaissances acquises sur ce sujet proviennent de lectures et formations suivies en dehors de la faculté de Pharmacie.

Ainsi, cette analyse nous permet de souligner que les professionnels de santé sont bien informés via la presse professionnelle ou via les « formations » proposées par les laboratoires pharmaceutiques (Nutergia, Pileje, etc ...) avec tout le biais que cela implique.

Cependant, l'absence de formation théorique mais également le manque de spécialités disponibles en vente dans l'officine, conduit à des contradictions dans la pratique professionnelle. En effet, la question n°1 fait ressortir un paradoxe, 75% des Pharmaciens Officinaux s'accorderaient à dire que les probiotiques peuvent être donnés lors d'un état infectieux ou encore lors d'une maladie inflammatoire chronique, alors que seulement 33% donneraient des probiotiques chez des patients atteint de rhumes.

La question ayant obtenu le moins de bonnes réponses concerne l'indication des souches probiotiques (question n°7) ; en effet certaines souches sont spécifiques à certaines pathologies ce qui n'était pas toujours identifié par les Pharmaciens Officinaux.

Un point négatif, sur lequel je m'accorde avec quelques Pharmaciens, porte sur le prix de ces probiotiques, qui est relativement onéreux. Cet inconvénient conduit à en limiter l'accessibilité à une certaine catégorie de patientèle.

En conclusion, cette problématique conduit à un conseil moins présent de la part des professionnels ; c'est pour cela, qu'après analyse des questionnaires, on peut constater qu'un outil de formation serait non seulement utile pour le conseil au comptoir mais également très apprécié par les Pharmaciens afin de développer leurs connaissances sur ce sujet.

II **Perspectives**

Afin de remédier à cette carence, j'ai souhaité proposer des outils simples d'utilisation destinés aux équipes officinales (Pharmaciens et Préparateurs) pour les former mais également pour présenter et conseiller cette nouvelle génération de compléments alimentaires ou de médicaments à base de probiotiques aux patients.

Ainsi, j'ai préparé une présentation synthétique pouvant servir de support de formation à destination du personnel officinal ; cette synthèse sera un rappel des caractéristiques des probiotiques, de leurs utilisations et de leurs prescriptions.

En complément de ce support, pour m'adapter au monde professionnel, j'ai volontairement proposé un poster concis et fonctionnel afin que les Pharmaciens Officinaux puissent l'utiliser pour trouver rapidement l'information et ainsi conseiller la patientèle.

Le projet en termes d'outils a consisté à créer :

- ✓ une formation d'environ 20 minutes pour découvrir les probiotiques et leurs conseils associés (Annexe 1),
- ✓ une maquette d'un poster format A3 visant à aider les Pharmaciens Officinaux ainsi que leur équipe au conseil au comptoir (Annexe 2).

Par la suite, j'ai testé ces outils sur un petit nombre de Pharmaciens (5), *via* un questionnaire (Figure 37) présenté ci-après car il m'était difficile de pouvoir l'évaluer à plus grande échelle.

Nous avons volontairement utilisé le même questionnaire (Figure 27) en supprimant les questions 8 et 9 (cf. Figure 37) qui étaient subjectives ; cela permettra de confronter les résultats obtenus. Le barème reste donc inchangé.

Questionnaire destiné aux Pharmaciens Officinaux dans le cadre d'une Thèse d'Exercice intitulée « Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologies et conseils en officine »

(Plusieurs réponses sont possible, cochez uniquement les mentions correctes)

- 1- Un déséquilibre de la flore intestinale peut conduire à :
 - ☐ Un état infectieux
 - ☐ Des allergies
 - ☐ Une appendicite
 - ☐ Une maladie Inflammatoire chronique
 - ☐ Une infection à Herpès simplex virus 1 ou 2
 - ☐ Une surcharge pondérale
- 2- Un probiotique est ?
 - ☐ Une bactérie
 - ☐ Une levure
 - ☐ Un microorganisme vivant
 - ☐ Un microorganisme mort
 - ☐ Un microorganisme pathogène
 - ☐ Un microorganisme non pathogène
- 3- Quand peut/doit-on prendre un probiotique ?
 - ☐ Quand le patient est malade
 - ☐ N'importe quand (chez le sujet sain et le sujet malade)
 - ☐ En cure régulière
- 4- Un probiotique a-t-il des effets indésirables ?
 - ☐ Oui
 - ☐ Non
- 5- A qui s'adressent les probiotiques ?
 - ☐ Aux nourrissons
 - ☐ Aux enfants
 - ☐ Aux adolescents
 - ☐ Aux adultes
 - ☐ Aux femmes enceintes
 - ☐ Aux personnes âgées
 - ☐ Aux patients immunodéprimés
 - ☐ Aux femmes allaitantes
- 6- Parmi ces microorganismes, lesquels sont des probiotiques ?
 - ☐ *Candida Albicans*
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus*
 - ☐ *Lactobacillus Casei*
 - ☐ *Haemophilus Influenzae*
 - ☐ *Lactobacillus Acidophilus*
 - ☐ *Pseudomonas Aeruginosa*
 - ☐ *Streptococcus Salivarius*
 - ☐ *Lactobacillus Reuteri*
 - ☐ *Saccharomyces Boulardii*
- 7- Quelle(s) souche(s) est/sont utilisée(s) dans quelle(s) indication(s) ?
 - ☐ *Lactobacillus Paracasei* dans la dermatite atopique
 - ☐ *Escherishia Coli* dans la prévention des allergies
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus* dans la prévention des infections respiratoires
 - ☐ *Lactobacillus Rhamnosus* dans la diminution du risque et de la virulence des diarrhées
 - ☐ *Lactobacillus Casei Shirota* dans la diminution du risque et de la virulence des diarrhées
 - ☐ *Lactobacillus Reuteri* dans l'augmentation des défenses immunitaires
 - ☐ *Candida Albicans* dans la prévention des diarrhées

Données démographiques :

Date d'obtention du Diplôme de Pharmacien :

Sexe :

Figure 37 : Questionnaire permettant d'évaluer les outils de formation

A chaque item, 100% de réponses exactes sont obtenues. Nous pouvons donc en déduire, à petite échelle, que les outils de formations sont utiles.

III Conclusion

En conclusion, nous pouvons légitimement penser que ces outils de formations sont nécessaires et utiles dans le conseil des probiotiques au comptoir.

Il serait donc intéressant que ces outils puissent déboucher sur des travaux utilisables au niveau départemental, régional ou encore national. Pour cela il faudrait, non seulement, tester ces outils sur un plus grand nombre de Pharmaciens Officinaux mais également qu'ils soient validés par les instances de l'Ordre des Pharmaciens ainsi que par les ARS.

De plus, le développement des connaissances et du conseil permettrait un développement accru de la commercialisation ainsi que de l'utilisation.

ANNEXES

Annexe 1. **Présentation PowerPoint destinée à former les équipes officinales sur le sujet des probiotiques**

FLORE INTESTINALE, PROBIOTIQUE ET CONSEIL OFFICINAL

La flore intestinale

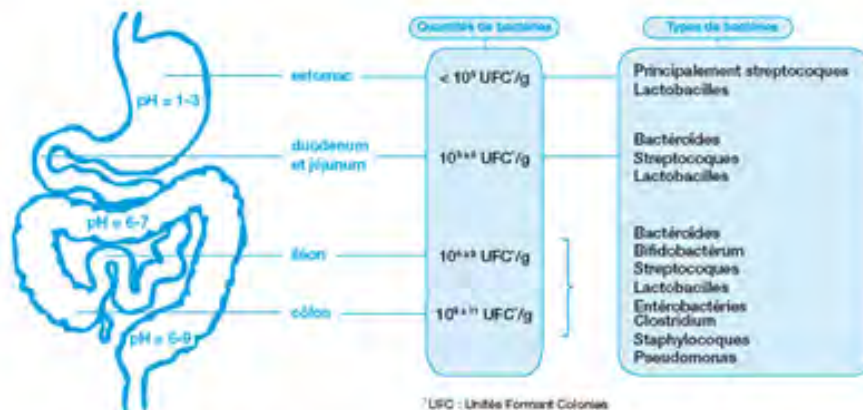
- Généralités
- Evolution du microbiote intestinal
- Différents rôles de la flore intestinale
- Eubiose et dysbiose

La flore intestinale

- Composée de 10^{14} bactéries dont 500-1000 espèces différentes
- Colonise tous les épithéliums: bronches, peau, gastro-intestinal, génito-urinaire
- Différents types de flores:
 - Autochtone:
 - Permanente
 - Fluctue peu au cours du temps
 - Divisée en 2 groupes: dominante et sous dominante
 - Allochtone:
 - Flore de transit
 - Implantation transitoire
 - Reflète les infections, les changements environnementaux, les modifications alimentaires
- Analyse: via les critères morphologiques et biochimiques

Evolution du microbiote intestinal (1)

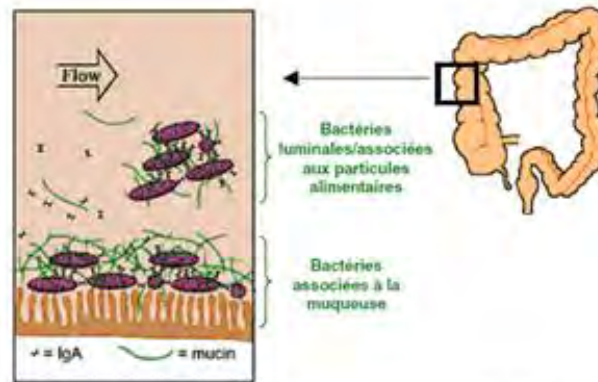
- Variabilité longitudinale



Répartition de la flore intestinale bactérienne le long de l'intestin

Evolution du microbiote intestinal (2)

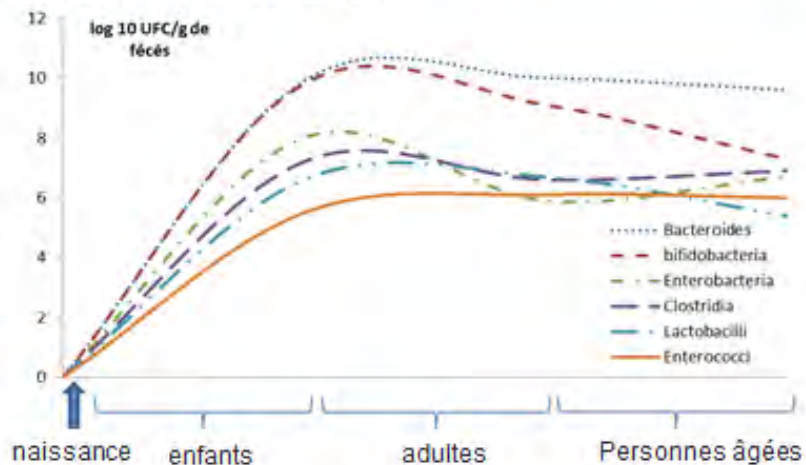
- Variabilité transversale



Variation transversale du microbiote intestinal

Evolution du microbiote intestinal (3)

- Variabilité dans le temps



Évolution du microbiote intestinal au cours du temps

Différents rôles de la flore intestinale

- Rôles métaboliques:
 - Métabolisme des glucides
 - Métabolisme des protéines
 - Stéroïdes
 - Synthèse de vitamines (++ vitamines K et B)
- Rôles de défense:
 - Au niveau de la muqueuse intestinale:
 - Jonctions serrées
 - Protection des IEC
 - Induction production et exportation des IgA
 - Au niveau du système immunitaire (au niveau intestinal: le GALT)

Le système immunitaire: le GALT

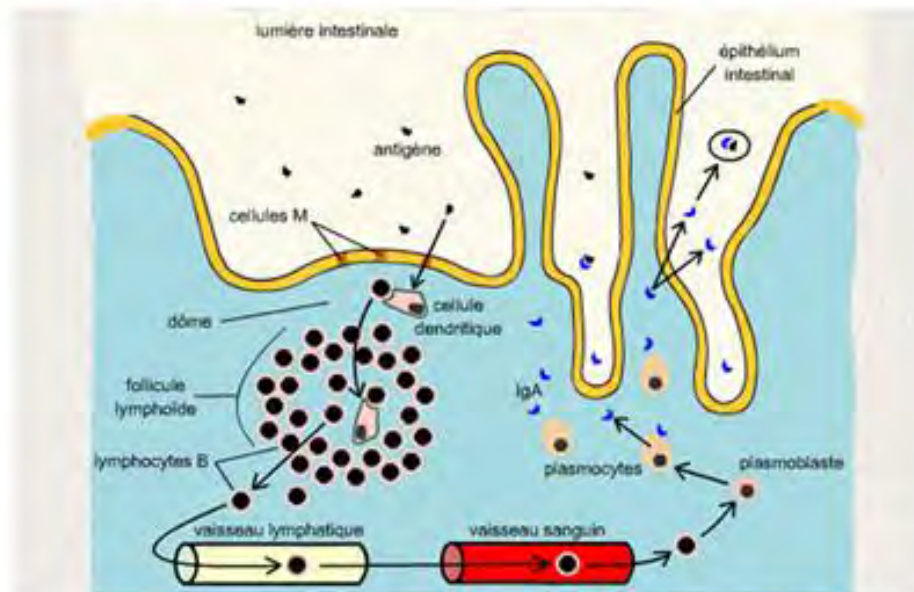
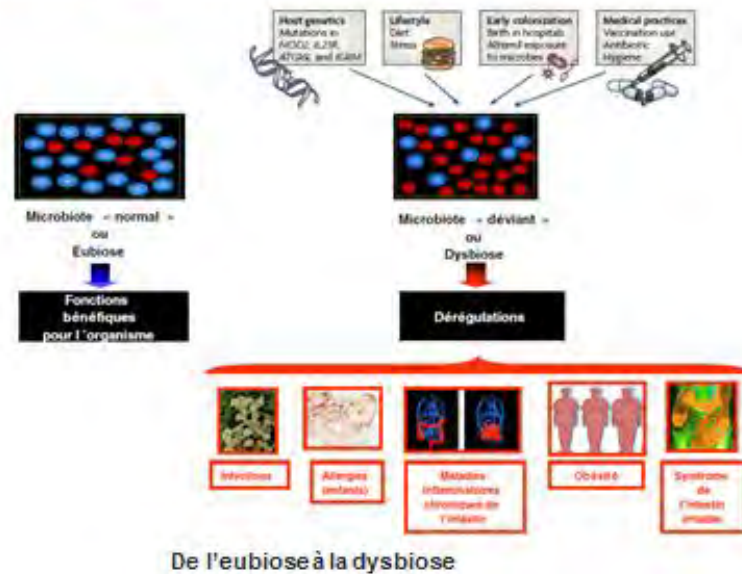


Schéma synthétique du GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue)

Eubiose et Dysbiose



Les probiotiques

- Définitions
- Nomenclature
- Survie, quantité adéquate, innocuité
- Législation

Les probiotiques

- **Micro-organisme vivant** (bactéries ou levures) qui lorsqu'ils sont consommés en **quantité adéquate** produisent un **bénéfice** pour la santé de l'hôte au-delà des effets nutritionnels traditionnels.
- Prébiotiques: Substance fermentescible possédant un effet bénéfique sur la flore intestinale en stimulant de manière sélective la croissance favorable ou l'activité de certaines bactéries autochtones.
Exemple: fibres, inules, sucres de petites tailles, etc ...
- Symbiotisme probiotique/prébiotiques
 - Prébiotiques: favorisent le développement des probiotiques et potentialisent ainsi leurs effets bénéfiques sur la santé.

Nomenclature des bactéries

Domaine	Ex.: <i>Bacteria</i>
Règne	<i>Prokaryotae</i>
Phylum	
Classe	<i>Schizomycetes</i>
Ordre	<i>Micrococcales</i>
Famille	<i>Micrococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>S. aureus</i>

Exemple de nomenclature des bactéries

- Classification importante: effet « souche-dépendant »
- Noms commerciaux: pas de réglementation

Survie, quantité adéquate, innocuité

- Survie en transit:
 - Résister au passage dans le TD + capacité de proliférer dans TD
 - Dépend de: souche / dose / hôte / aliment vecteur
 - Survie pendant la période de consommation puis éliminé en quelques jours
- Quantité adéquate pour une effet bénéfique:
 - 10^6 UFC/mL dans l'intestin grêle
 - 10^9 UFC/mL dans le côlon
-  Peut varier selon la souche et le vecteur
- Innocuité: peu d'effets indésirables mais peu d'études
 - Peut être impliqué dans 4 types d'effets indésirables (infection, activité métabolique délétère, immuno-stimulation excessive, transfert de gènes)
 - Prudence chez les immuno-déprimés

Législation

- Allégation
 - Santé
 - Nutritionnelle
- Dossier scientifique:
 - EFSA donne avis sur une liste positive d'allégations santé
 - Commission Européenne établie liste allégation santé
-  Pour déposer un dossier: effet nutritionnel ou physiologique bénéfique et scientifiquement prouvé (études randomisées, double aveugle, nombre suffisant d'individus, placebo adapté etc...)
- Etiquetage

Conseils au comptoir

- Troubles gastro-intestinaux
- Affections allergiques
- Affections ORL

Conseils au comptoir: troubles gastro-intestinaux (1)

- Causes:
 - Troubles de la motricité
 - Hypersensibilité viscérale
 - **Inflammation**
 - **Hyperperméabilité intestinale**

- Diagnostic des TFI:

- Douleurs abdominales ?
- Ballonnements ?
- Troubles du transit ?

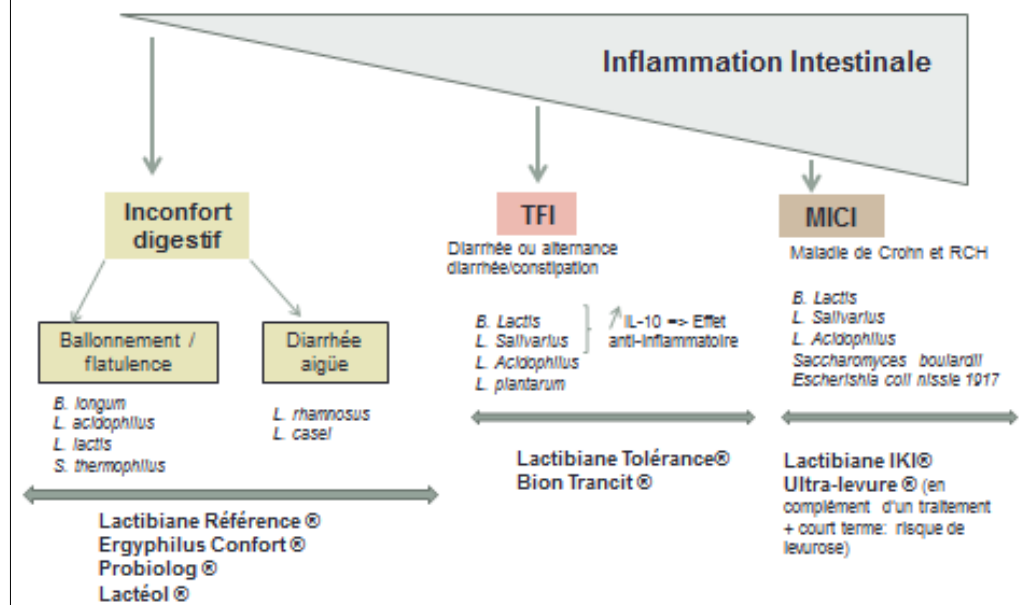
Plus d'une fois par semaine
pendant au moins 3 mois



OUI aux 3 questions:
TFI

Sinon: signes
**d'inconfort
digestif**

Conseils au comptoir: troubles gastro-intestinaux (2)



Conseils au comptoir: troubles gastro-intestinaux (3)

• Coliques du nourrisson

- *L. reuteri*
- *B. lactis*
- *L. rhamnosus*

→ Biogaia®
Lactibiane enfant®
Ergyphilus enfant®

Conseils au comptoir: Affections allergiques

- Excès de Th2 => favoriser Th1 *via* les probiotiques

- *Bifidobacterium lactis*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus salivarius*
- *Lactobacillus paracasei*
- *Lactobacillus acidophilus*



Lactibiane ALR®
Ergyphilus PLUS®

Conseils au comptoir: Affections ORL

- *L. rhamnosus*
- *S. thermophilus*
- *L. casei*
- *L. pentosus*
- *L. delbruechii*
- *S. salivarius*



**Activ 4- défenses
immunitaires®**
Lactibiane Référence®
Ergyphilus PLUS®

Merci

Probiotiques et Conseils

Un probiotique est un micro-organisme vivant (bactérie ou levure) qui lorsqu'il est consommé en quantité adéquate produit un bénéfice pour la santé de l'hôte au-delà des effets métaboliques traditionnels. Il doit être capable de résister au passage dans le tube digestif mais aussi avoir la capacité de persister dans l'intestin pour exercer un effet bénéfique.

Quand l'utiliser ? 10⁹ UFC/ml dans l'intestin grêle et 10¹⁰ UFC/ml dans le côlon

Ne pas utiliser chez les immuno-déprimés

Rôles du microbiote sur:

- 1- le système immunitaire - le GALT
- 2- le métabolisme intestinal
- 3- la flore intestinale

Actes des probiotiques

- **Améliorent la perméabilité** de la barrière intestinale
- **Produisent des métabolites** (acides gras à chaîne courte, vitamines, etc.)
- **Modulent le système immunitaire** (production de cytokines, etc.)
- **Modulent la flore intestinale** (production de lactobactéries, etc.)

Les allergies

- L. rhamnosus
- B. lactis
- L. helveticus
- L. paracasei
- L. acidophilus

Lactisane ALP®
Ergyphlo Plus®

Les infections ORL

- L. rhamnosus
- S. thermophilus
- L. casei
- L. paracasei
- L. delbruyckii
- S. salivarius

Actis & allèles
Lactisane Ralidreux®
Ergyphlo Plus®

Troubles digestifs

Coliques abdominales ?
Battements ?
Troubles du transit ?

→ **DOIT sur 3 questions**

RON à au moins une question

Inflammation Intestinale

incertain digestif

Salmonella / Shigella
A. dysenteriae
S. flexneri
S. dysenteriae
S. flexneri

Quelques autres
L. helveticus
S. salivarius

Lactisane Référence®
Ergyphlo Plus®
Probiolog®
Lactitol®

TFI
Troubles fonctionnels du transit

Lactisane Tolérance®
Bifidobacterium lactis

MICI
Maladies de l'intestin

Lactisane Référence®
Bifidobacterium lactis

Coliques du nourrisson

L. reuteri
B. lactis
L. rhamnosus

Bifidus®
Lactisane bébé®
Ergyphlo bébé®

BIBLIOGRAPHIE

1. Sekirov I., Russell L., Antunes C., Finlay B. *Gut microbiota in Health and Disease*. The American Physiological Society. 2010; 90: 859-904
2. Colarelli, M.. *Les probiotiques, du conseil officinal à la prise en charge micro nutritionnelle*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie, Faculté de pharmacie de Nancy. 2010
3. Rambaud J., Buts J-P., Corthier G., Flourié B.. *Flore microbienne intestinale*. PARIS, John Libbey Eurotext. 2004
4. Rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Alimentaires. *Effets des probiotiques et pré-biotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte*. février 2005. Disponible sur : www.bdsp.ehesp.fr . Consulté le 2/11/2012
5. *Présentation de la PCR*. Visible sur le site <http://www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/principe/anim/presentation.htm> . Consulté le 17.09.14
6. VOGÉ G. *Principe de la RT-PCR*. Disponible sur : [http://www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/ressources/aspects techniques/rtpcr/rtpcr02.htm](http://www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/ressources/aspects_techniques/rtpcr/rtpcr02.htm) . Consulté le 29/11/14
7. Pileje. *Les probiotiques soulagent les douleurs abdominales des colopathes*. Résumé de l'étude clinique Lactibiane Référence 2,5g. Novembre 2007
8. *Cours de bactériologie générale*. Université Paris Descartes. Disponible sur : <http://www.microbes-edu.org/etudiant/intro.html> Consulté le 3/12/14
9. F. Campeotto et al.. *Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né*, Gastroenterol Clin Biol. 2007 ; 31 : 533-542

10. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. *Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases*. Proc Natl Acad Sci USA. 2007 ; 104: 13780–13785
11. Service médico-scientifique de Pileje. *Le microbiote intestinal dans tous ces états*. Pileje. 2011. Disponible sur : <http://www.probiotiques-lactibiane.fr> . Consulté le 03/12/14
12. Contrôle des probiotiques par le SCL – *Colloque des compléments alimentaires 14/10/11*. Disponible sur : <http://www.economie.gouv.fr/dgccrf/securite/produits-alimentaires> . Consulté le 03/12/14
13. K. Tiihonen, A. C. Ouwehand, N. Rautonen. *Human intestinal microbiota and healthy ageing*. Ageing research reviews. 2010; 107-116
14. R. Grosdidier. *Les infos de l'Association Française de Médecine Orthomoléculaire*. janv. 2010 ;n°31
15. F. Campeotto. *Quelle flore pour quel bénéfice ?*. Unité de gastroentérologie pédiatrique, hôpital Saint-Vincent-de-Paul, Paris. nov. 2007
16. J.-P. Magny. *Un nouvel éclairage physiopathologique de la modulation de la réponse immune par les lactobacilles*. Archives de pédiatrie. 2011 ; 18 : 238-243
17. P. Pomies. *Coliques du nourrisson et conseils à l'officine*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie Faculté de pharmacie de Toulouse. 2009
18. Gerard P., Bernalier-Donadille A.. *Fonctions majeures du microbiote intestinal*. Cah. Nutr. Diét..2007 ; 42 : Hors-série 2

19. Société Nationale Française de Gastro-entérologie. *Chapitre 7. Foie. Objectifs illustrés. Version 2006 en ligne*. Disponible sur : <http://www.snfge.asso.fr> . Consultée le 2/11/2012

20. Balard P. *La nutrition cellulaire active®*. Laboratoire Nutergia. Septembre 2014

21. Festy D. *Nous avons tous besoin de probiotiques et de prébiotiques*- Editions leduc. s- 2009

22. Ivanov I.I., Littman D.R.. *Modulation of immune homeostasis by commensal bacteria*. Current opinion in microbiology. 2011;14:106-114

23. M. Gilbert. *Les molécules d'adhérence*. Disponible sur <http://www.facbio.com/> . Consulté le 29.10.14

24. Simon M. *Les cellules immunitaires et les organes lymphoïdes*. Disponible sur : <http://www.cours-pharmacie.com/immunologie/les-cellules-immunitaires-et-les-organes-lymphoides.html> . Consulté le 29/11/14

25. J-P. Langhendries, P. Maton, A. François, A. Marguglio, W. Marion, S. Smeets, P. Philippet. *Établissement du microbiote intestinal en bas âge et qualité de l'immunité ultérieure*. Archives de pédiatrie. 2010 ;17 :S110-S118

26. M. Hattori, and T. D. Taylor. *The Human Intestinal Microbiome: A New Frontier of Human Biology*. DNA research. 2009; 16: 1–12

27. Doré, J, Corthier, G. *The human intestinal microbial*. Gastroenterol Clin Biol. 2010, vol. 34: 7-16

28. Simonet P. *Approches meta-génomique en microbiologie*. Visible sur le site <http://www7.inra.fr/internet/Projets/agroBI/PHYLO/Simonet.pdf>. Consulté le 15/10/14

29. Guidelines P. *Recommandations pratique : probiotiques et prébiotiques* – WGO- mai 2008
30. Clerc A., Pinna O.. *Prébiotiques, probiotiques, symbiotiques : que se cache-t-il derrière ces mots ?* Haute école de santé Genève. Janv. 2007
31. *Rapport de L'Organisation Mondiale de Gastroentérologie – WGO. Probiotiques et Prébiotiques.* Mai 2008
32. Yanfend Tuo et al. Study of probiotic potential of four wild lactobacillus rhamnosus strains. *Anaerobe* 21. 2013, p22-27
33. Tomosada et al. Nasally administrated lactobacillus rhamnosus strains differentially modulate respiratory antiviral immune responses and induce protection against respiratory syncytial virus infection. *BMC immunology*, 2013, p14-40
34. Wen et al. Hight dose and low dose lactobacillus acidophilus exerted differencial immune modulating effects on T cell immune responses induced by an oral human rotavirus vaccine in gnotobiotic pigs. *Vaccine* n°20, 2012, p1198-1207
35. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update)*. *EFSA Journal*. 2013;11(11):3449
36. Liong MT. *Safety of probiotics: translocation and infection*. *Nutr Rev* 2008;66:192—202
37. Connolly E, Abrahamsson T, Bjorksten B. *Safety of D(-)-lactic acid producing bacteria in the human infant*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;41:489—92.

38. M-J Butel. *Les probiotiques et leur place en médecine humaine*. Journal des Anti-infectieux. 2014, 16, 33-43
39. Kazimierczak KA, Flint HJ, Scott KP. *Comparative analysis of sequences flanking tet(W) resistance genes in multiple species of gut bacteria*. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:2632—9
40. EFSA. *Les allégations nutritionnelles et de santé*. Disponible sur <http://www.efsa.europa.eu/fr> . Consulté le 18/12/13
41. EFSA. *Définition de profils nutritionnels pour les denrées alimentaires faisant l'objet d'allégations nutritionnelles et de santé, conformément à l'article 4 du règlement (CE) n°1924/2006*. Disponible sur <http://www.efsa.europa.eu/fr> . Consulté le 31/01/14
42. *Allégations nutritionnelles et de santé*. Disponible sur http://europa.eu/legislation_summaries/consumers/product_labelling_and_packaging/l21306_fr.htm Consulté le 03/12/14
43. EFSA, *EU register on nutrition and health claims*, Disponible sur <http://ec.europa.eu/nuhclaims/> Consultée le 03/12/14
44. A. K. Abbas, A. H. Lichtman. *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*. Traduction de la 3ème édition anglaise. Éditions Elsevier. 2009
45. C. Journo , N. Davoust-Nataf. *Immunité et vaccination*. IFE. Disponible sur <http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunité-et-vaccination> Consulté le 18/03/2014
46. Faculté de médecine Pierre et Marie curie. « *Appareil digestif* ». Disponible sur <http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP2/POLY.Chp.1.2.1.2.html> Consulté le 07/11/2013

47. M. Heyman, E. Heuvelin. *Micro-organismes probiotiques et regulation immunologique: le paradoxe*. Nutrition clinique et métabolique, 2006. 20, p85-94
48. Castellazi et al. *Prebiotic and Food Allergy. Italian journal of pediatrics*. 2013, 39:47
49. Wu et al. *Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG mono-associated suppresses human rotavirus-induced autophagy in the gnotobiotic piglet intestine*. Gut pathogens. 2013. 5:22
50. Hanna Szajewska, Maria Kotowska, Jacek Z. Mrukowicz, Malgorzata Armańska, et al.. *Efficacy of Lactobacillus GG in prevention of nosocomial diarrhea in infants*. The journal of pediatrics. Mars 2001. Vol. 138, issue 3, p 361-365
51. Eduardo Salazar-lind et al. . *Lactobacillus casei strain GG in the treatment of infants with acute watery diarrhea: a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial*. BMC Pediatrics. 2004
52. Stephen J Allen et al. *Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhea and Clostridium difficile diarrhea in older patients (PLACIDE): a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial*. The Lancet. 2013; 382: 1249-1257
53. Claes et al.. *Lipoteichoique acid is an important microbe-associated molecular pattern of lactobacillus rhamnosus GG*. Microbial cell factories. 2012, 11:161
54. Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, et al. *Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis*. Aliment Pharmacol Ther 2004;20:1133–41.
55. Cook SI, Sellin JH. – *Review article: short chain fatty acids in health and disease*. Aliment Pharmacol Ther 1998; 12:499-507

56. Kruis W, Schutz E, Fric P, Fixa B, Judmaier G, Stolte M. *Double-blind comparison of an oral escherichia coli preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis*. Aliment Pharmacol Ther. 1997;11:853–8.
57. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT. *Non-pathogenic Escherichia coli vs mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial*. Lancet 1999;354:635–9
58. Campieri M, Rizzello F, Venturi A, Poggioli G, Ugolini F, Helwig U, et al. – *Combination of antibiotic and probiotic treatment is efficacious in prophylaxis of post-operative recurrence of Crohn's disease: a randomized controlled study vs mesalamine*. Gastroenterology 2000; 118: G4179.
59. Guslandi M., Mezzi G., Sorghi M., Testoni PA. – *Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease*. Dig Dis Sci 2000; 45: 1462-4.
60. B. Vuaille. *Une hypothèse dans la maladie de Chron iléale – Un défaut en alpha-défensines*. Proc. Natl. Acad. Sci. Edition avancée en ligne. Nov 2011
61. P. Ducrotte. *Flore et syndrome de l'intestin irritable- gastroentérologie*. Clinique et Biologique – sept 2010, vol 34 issue 4 sup. 1 p56-60
62. Peera Hemarajata et James Versalovis. *Effets of probiotics on gut microbiota : mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation*. Therapeutic Advances in Gastroenterology. 2013, 6[1] 39-51
63. Isolauri E. et al. . *Probiotics and the management of atopic eczema*. Clin. Exp. Allergy., 2000.
64. Majamaa H. et al. - *Probiotics: a novel approach in the management of food allergy*. J Allergy Clin Immunol, 1997.

65. Peng GC. et al - The efficacy and safety of heat-killed *Lactobacillus paracasei* for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house-dust mite. *Pediatr Allergy Immunol.* 2005.
66. Ishida Y. et al - Clinical effects of *Lactobacillus acidophilus* strain L-92 on perennial allergic rhinitis: a double-blind, placebo-controlled study. *J Dairy Sci.* 2005.
67. Weeler JG. et al . Immune and Clinical Impact of *Lactobacillus acidophilus* on Asthma. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 1997.
68. Kirjavainen PV. . Probiotic bacteria in the management of atopic disease: underscoring the importance of viability. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2003.
69. Turchet P, Laurenzano M, Auboiron S, Antoine JM. *Effect of fermented milk containing the probiotic Lactobacillus casei DN-114001 on winter infections in free-living elderly subjects: a randomized, controlled pilot study.* *J Nutr Health Aging* 2003;7:75–7
70. Kotani et al.. *Oral intake of lactobacillus pentosus strain b240 accelerates salivary immunoglobulin A secretion in the elderly: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial.* *Immunity and ageing.* 2010, 7:11
71. Luoto R. et al. *Prebiotic and probiotic supplementation prevents rhinovirus infections in preterm infants: a randomized, placebo-controlled trial.* *J Allergy Clin Immunol.* 2014
72. Liu S. et al. *Lactobacillus rhamnosus GG supplementation for preventing respiratory infections in children : a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials.* *Indian Pediatrics.* 2013, Vol50, 377-381

RECHERCHES ET LECTURES COMPLÉMENTAIRES

P. Brandtzaeg. *Current Understanding of Gastrointestinal Immunoregulation and Its Relation to Food Allergy*. New York Academy of sciences. 2002; 964:13-45

Thea Magrome, Emilio Jirillo. *The interaction between gut microbiota and age-related changes in immune function and inflammation*. Immunity and Ageing. 2013, 10:31

Maragkoudakis et al. *Lactic acid bacteria efficiently protect human and animal intestinal epithelial and immune cells from enteric virus infection*. Int J Food microbial. 2010

Rossana D'Arienzo, Francesco Maurano, Paola Lavermicocca, Ezio Ricca, Mauro Rossi. *Modulation of the immune response by probiotic strains in a mouse model of gluten sensitivity*. Intitue of food Sciences. 2009, 48 (3): 254-9

Festy D, Dufour A. *Nous avons tous besoin de probiotiques et de prébiotiques*. Editions Leduc S., Collection Guide Santé. 2009

Ducrotte P. *Probiotics and inflammation of the digestive tract*. Hôpital. Universitaire de Rouen. 2009

Bernalier-Donadille A. *Fonctions métaboliques de la flore intestinale*. Unité de microbiologie - INRA - CR de Clermont-Ferrand/Theix

M.J. Hopkins, R. Sharp, G.T. Macfarlane. *Variation in human intestinal microbiota with age*. Digest Liver IJIS. 2002:34 (1.2):512-8

Del Chierico F, et al. *Early-life gut microbiota under physiological and pathological conditions: The central role of combined meta-omics-based approaches*. J Prot . 2012

I. Hojsak, S. Abdovic, H. Szajewska, M. Milosevic, Z. Krznaric and S. Kolacek. *Lactobacillus GG in the Prevention of Nosocomial Gastrointestinal and Respiratory Tract Infections*. Pediatrics. May 2010; 125(5)

M. J. Ege. *Intestinal microbial diversity in infancy and allergy risk at school age*, J Allergy Clin Immunol. september 2011; 128:653-4.

David A. Relman, Margaret A. Hamburg, Eileen R. Choffnes, and Alison Mack. Rapporteurs; Forum on Microbial Threats, *Microbial Evolution and Co-Adaptation: A Tribute to the Life and Scientific Legacies of Joshua Lederberg*, National Academy of Sciences. 2014

Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. *Lactobacillus sepsis associated with probiotic therapy*. Pediatrics 2005;115:178—81.

Favet J. *Séminaire de bactériologie 2014*. Visible sur le site <http://www.unige.ch/uni3/Ateliers/SeminaireBacteriologie/Bacterio3.pdf> Consulté le 21.10.14

J.P Borges. *Caractérisation structurale et immunologique d'allergènes alimentaires: les protéines de transfert de lipides de fruits*. Thèse de l'Université de Toulouse III - Paul Sabatier. Soutenue le 21/03/2008

M Abbal, L Alric, A Cantagrel, B Delisle. *Reaction inflammatoire : aspects biologiques et cliniques. Conduite à tenir*. Disponible sur : <http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module8/item112/index1.htm> Consulté le 26/03/2014

Boyle RJ1, Mah LJ, Chen A, Kivivuori S, Robins-Browne RM, Tang ML.. *Effect of Lactobacillus GG treatment during pregnancy on the development of fetal antigen-specific immune responses*. Dec. 2008, 38(12):1882-90

Kunz AN, Noel JM, Fairchok MP. Two cases of Lactobacillus bacteremia during probiotic treatment of short gut syndrome. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004;38:457—8.

INTERET DES PROBIOTIQUES DANS LA PREVENTION DE PATHOLOGIES ET CONSEILS EN OFFICINE

Le Mercredi 21 Janvier 2015

RESUME :

La flore intestinale est constituée de nombreuses bactéries. Elle évolue tout au long de la vie, transversalement et longitudinalement pour éduquer et contrôler les cellules immunitaires du GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue). Dans le cas de dysbioses, les probiotiques peuvent agir à différents niveaux pour rétablir cet équilibre: inhibition de l'adhésion des pathogènes, restauration de la barrière intestinale, et contrôle des cellules immunitaires du GALT. De multiples études ont traité de l'intérêt de certaines souches probiotiques dans le traitement de pathologies gastro-intestinales, d'infections ORL et d'affections allergiques. Le but de ce travail a été tout d'abord d'évaluer les connaissances ainsi que l'efficacité des probiotiques chez la patientèle puis de faire un bilan des acquis des Pharmaciens Officinaux dans ce domaine. A l'issue de ce travail, nous avons réalisé un outil de formation sur les probiotiques (poster) destiné aux équipes officinales.

TITLE : Looking at probiotics in the prevention of disease and advice pharmacy

SUMMARY :

The intestinal flora consists of many bacteria. It evolves throughout life, transversely and longitudinally to educate and control the immune cells of the GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue). In the case of dysbioses, probiotics may act at different levels to restore this balance: inhibition of adhesion of pathogens, restoring the intestinal barrier and control of immune cells of the GALT. Multiple studies have addressed the interest of some probiotic strains in the treatment of gastrointestinal diseases, ENT infections and allergic disorders. The aim of this work was first to assess the knowledge and the effectiveness of probiotics in patients and to make an assessment of the knowledge of officinal Pharmacists in this area. Following this work, we conducted a training tool on probiotics (poster) for the pharmacy teams.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : PHARMACIE

MOTS CLES : flore intestinale, probiotiques, prébiotiques, GALT, affections gastro-intestinales, infections ORL, affections allergiques

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35, Chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex

DIRECTEURS DE THESE : Dr. GANDIA Peggy et Dr. POMIES Pierre