

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis  
Faculté des Sciences de la  
Nature Et de la Vie  
Mostaganem



جامعة عبد الحميد بن باديس  
كلية العلوم الطبيعية والحياة  
مستغانم

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études N°...../ SNV / 2021

Présenté par :

**ZEMOURI NADIA**

Pour l'obtention du diplôme de

Master en sciences Biologiques

**Spécialité : Microbiologie Fondamentale**

Thème

**Les probiotiques et les maladies  
Inflammatoires Intestinales**

Déposé le:27/09/2021

Devant le jury :

Présidente: Mme. ZIAR Hasnia

MCA

U. Mostaganem

Promotrice : Mme. KOUADRI BOUDJELTHIA Nacima

MAA

U. Mostaganem

Examinatrice : Mme. YAHLA Imène

MCA

U. Mostaganem

L'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

Année universitaire : 2020- 2021

## **Remerciements :**

Avant tout je remercie « **Allah** » tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail et de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

J'exprime mes profonds remerciements à ma Promotrice de mémoire :

**M<sup>me</sup>. Kouadri Boudjelthia Nacima** pour la qualité de son encadrement apportée, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter mes réflexions tout au long de ce travail.

je veux vraiment vous remercier car j'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme directrice de mémoire.

J'adresse également mes remerciements aux membres du jury:

**Mme. Ziar Hasnia, Mme. Yahla Imène;**

D'avoir accepté d'examiner et évaluer ce modeste travail

## Dédicace

Je dédie ce travail :

*A Mes parents :*

*Mon cher papa et ma tendre maman*

*Qui m'ont nourri d'amour, enveloppé de confort et m'ont appris tout ce que je sais,*

*Qui m'ont guidé vers le tunnel éclairé du savoir !*

*A mes frères :*

*Hamza, Radouane et Mohamed*

*A mes sœurs :*

*Faiza, Nacira, Djamilia et Zohra*

*Pour leur présence et leur soutien moral et financier.*

*A Mes oncles et tantes :*

*Miloud, Ali, Abdelkader, Mohamed, Hadj, Laid et Fatma*

*A mes amis :*

*Aicha, Nawal, Chehra Djamilia et Kheira*

*A mon cher fiancé :*

*Ahmed*

*A tous les professeurs de mon cursus universitaire*

## Résumé

L'objectif de ce travail est de démontrer l'intérêt d'étude de l'utilisation des probiotiques à titre préventif ou curatif dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MIC) telles que la maladie de Crohn, ou la rectocolite hémorragique, ceci en analysant trois articles scientifiques dont les thématiques de recherche traitent le sujet par des essais in vitro, in vivo et cliniques. Le premier article étudie de Shri Pathmakanthan et ses collaborateurs. (2004), démontre l'effet bénéfique immunomodulateur de *Lactobacillus plantarum* 299 dans des cellules extraites du côlon humain enflammé en déterminant le modèle de sécrétion de cytokines (interleukine [IL]-1 $\beta$ , facteur de nécrose tumorale [TNF]- $\alpha$ , interféron [IFN]- $\gamma$  et IL-10) et leurs sources cellulaires dans des cellules mononucléées isolées de la muqueuse colique de rectocolite hémorragique (CU) normale et ulcéreuse en réponse à des bactéries probiotiques et pathogènes. Le deuxième article de Schlutz et ses collaborateurs. (2002) sélectionné, détermine l'utilisation de *Lactobacillus plantarum* 299V dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine-10, selon quatre protocoles différents variant les moments d'administration orale de la bactérie probiotique par rapport à la colonisation par des bactéries SPF dans l'IL-10<sup>-/-</sup> souris et évalué l'effet de cet organisme probiotique sur l'activation immunitaire des muqueuses. Le troisième et dernier article étudie d'Ajit Sood et ses co-auteurs. (2009); dont l'étude correspond à un essai multicentrique, randomisé, en double aveugle et contrôlé par placebo d'un probiotique de haute puissance, VSL#3, pour le traitement de la CU d'intensité légère à modérément active chez des patients atteints. Les résultats des différents auteurs démontrent que *Lactobacillus plantarum* a une activité immunomodulatrice bénéfique en augmentant la synthèse et la sécrétion d'IL-10 dans les macrophages et les cellules dérivées du côlon enflammé. Cela peut fournir un mécanisme par lequel les bactéries probiotiques améliorent l'inflammation inappropriée et induisent une tolérance. Aussi, *L. plantarum* peut atténuer la colite à médiation immunitaire et suggérer un rôle thérapeutique potentiel dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et que le complexe probiotique VSL#3 est sûr et efficace pour obtenir des réponses cliniques et rémissions chez les patients atteints de CU légère à modérément active.

**Mots clés :** Probiotiques ; Maladies inflammatoires intestinales ; Inflammation ; Immunité muqueuse ; Colite expérimentale.

## **Abstract:**

These study aims to determinethe benefit use of probiotics as a preventive or curative measure in chronic inflammatory bowel diseases (IBD) such as Crohn's disease, or ulcerative colitis. Three articles scientists whose research themes treat the subject through in vitro, in vivo and clinical trials. The first article of Shri Pathmakanthan and his collaborators. (2004); demonstrates the beneficial immunomodulatory effect of *Lactobacillus plantarum* 299 in cells extracted from inflamed human colon by determining the pattern of cytokine secretion (interleukin [IL] -1b, tumor necrosis factor [TNF] -a, interferon [IFN] -g and IL-10) and their cellular sources in mononuclear cells isolated from colonic mucosa of normal and ulcerative colitis (UC) in response to probiotic and pathogenic bacteria. The second selected article of Schlutz and his collaborators. (2002), determines the *Lactobacillus plantarum* 299Vuse in the treatment and prevention of spontaneous colitis in interleukin-10 deficient mice, according to four different protocols varying the times of oral administration of the probiotic bacteria compared to colonization by SPF bacteria in IL-10 - / - mice and evaluated the effect of this probiotic organism on immune activation of mucous membranes. The last article of Ajit Sood his co-authors. (2009); is about a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of a high potency probiotic, VSL # 3, for the treatment of mild to moderately active UC in affected patients. The authors results approved that *Lactobacillus plantarum* has beneficial immunomodulatory activity by increasing the synthesis and secretion of IL-10 in macrophages and cells derived from the inflamed colon. This may provide a mechanism by which probiotic bacteria enhance inappropriate inflammation and induce tolerance. Also, *L. plantarum* may attenuate immune-mediated colitis and suggest a therapeutic role in chronic inflammatory bowel disease and that the VSL # 3 probiotic complex is safe and effective in achieving clinical responses and remissions in patients with Mild to moderately active UC.

**Keywords:** Probiotics; Inflammatory bowel disease; Inflammation; Mucosal immunity; Experimental colitis.

## الملخص:

الهدف من هذا العمل هو إثبات فائدة استخدام البروبيوتيك كإجراء وقائي أو علاجي ضد أمراض الأمعاء الالتهابية المزمنة، مثل مرض الكرون أو التهاب القولون التقرحي، وهذا من خلال تحليل ثلاث مقالات علمية تتناول مواضيعها البحثية من خلال: التجارب المخبرية، الحيوية والسريرية.

المقال الأول Shri Pathmakanthan ومساعديه. (2004)، يوضح التأثير المناعي المفيد لـ *Lactobacillus plantarum 299* في الخلايا المستخرجة من القولون البشري الملتهب عن طريق تحديد نمط إفراز السيبتوكين (انترلوكين I) L-1 ، عامل نخر الورم (INF-a)، مضاد الفيروسات (IFN)-g و IL-10 ومصادرها الخلوية في الخلايا أحادية النواة المعزولة من الغشاء المخاطي للقولون من التهاب القولون التقرحي (CU) سواء الطبيعي والتقرحي استجابة للبكتيريا البروبيوتيك والممرضة .

وفي المقال الثاني لـ Schlutz، ومساعديه. (2002) المختارة، التي تحدد استخدام *Lactobacillus plantarum 299* في العلاج والوقاية من التهاب القولون العفوي في الفئران التي تعاني من نقص الانترلوكين-10 ، وفقا لأربعة بروتوكولات مختلفة تختلف أوقات تناول البكتيريا بروبيوتيك عن طريق الفم مقارنة باستعمار بكتيريا SPF في IL-10 الفئران، وقامت الفئران بتقييم تأثير هذا الكائن الحي البروبيوتيك على التنشيط المناعي للأغشية المخاطية.

أما المقال الثالث والأخير لـ Ajit Sood ومساعديه المؤلفون. (2009)، تتوافق الدراسة مع تجربة متعددة المراكز، عشوائية، مزدوجة التعمية ومحكومة بالغفل لبروبيوتيك عالي الفعالية، VSL #3 لمعالجة (CU) التهاب القولون التقرحي الخفيف إلى المتوسط النشط في المرضى المصابين.

تظهر نتائج المؤلفين المختلفين أن *Lactobacillus plantarum* لها نشاط مفيد في تعديل المناعة، زيادة تخليق إفراز-IL 10 في الضامة والخلايا المشتقة من القولون الملتهب. قد يوفر هذا آلية تعمل من خلالها بكتيريا البروبيوتيك على تعزيز الالتهاب غير المناسب وتحفيز التحمل. وأيضا قد تخفف *L. Plantarum* من التهاب القولون المناعي ويقترح دورا علاجيا محتملا في الأمراض الالتهابية المزمنة وأن المركب البروبيوتيك VSL#3 آمن وفعال في إثارة الاستجابات السريرية والهفوات في الأجزاء ذات التهاب القولون المعتدل إلى المعتدل النشط.

**الكلمات المفتاحية:** بروبيوتيك، مرض التهاب الأمعاء، الالتهاب، مناعة الغشاء المخاطي، التهاب القولون التجريبي.

## Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction .....	01
I. Les Probiotiques :.....	03
I.1. Historique et définition:.....	03
I.2. Critères de sélection des souches probiotiques :.....	04
I.2.1. Critères de sécurité :.....	04
I.2.1.1. Origine :.....	04
I.2.1.2. Identification phénotypique et génotypique :.....	04
I.2.1.3. Innocuité :.....	04
I.2.1.4. Résistance aux antibiotiques :.....	05
I.2.2. Critères fonctionnelles :.....	05
I.2.2.1. Survie au cours du transit digestif :.....	05
I.2.2.2. Adhésion aux cellules intestinales :.....	06
I.2.2.3. Colonisation :.....	06
I.2.2.4. Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé :.....	06
I.2.3. Critères technologiques : .....	07
I.3. Intérêt des probiotiques:.....	07
II. Inflammation et maladies Inflammatoires de l'intestin:.....	08
II. 1. Généralités sur l'inflammation :.....	08

II.2. Les pathologies inflammatoires chroniques intestinales (MICI):.....	10
II.2.1. La maladie de Crohn:.....	11
II.2.2. La Rectocolite Hémorragique (RCH):.....	12
II.3. Utilisation des Probiotiques pour le traitement des MICI : .....	03
Partie 02: Analyse d'article :.....	15
I. Matériels:.....	15
II. Méthodes:.....	16
II.1. L'étude de Shri pathmakanthan et <i>al.</i> (2004) :.....	16
II.2. L'étude de Schultz M. et <i>al.</i> (2002):.....	17
II.3. L'étude de Ajit sood et <i>al.</i> (2009): .....	18
III. Résultats et discussion:.....	20
A/ Les Résultats de Shri pathmakanthan et <i>al.</i> (2004) ::.....	20
B/ Les résultats obtenus par Schultz M. et <i>al.</i> (2002):.....	23
C/ Les résultats des travaux de Ajit sood et <i>al.</i> (2009)::.....	28
Conclusion :.....	36
Référence bibliographiques .....	37

## La liste des abréviations

A.A : Acide Aminé. CU :

colite Ulcéreuse. E.Coli :

Escherichia, Coli.

FAO: Food and Aquiculture organization of the United Nation.

g/l : Gramme par litre.

g/ml : Gramme par millilitre.

GRAS: Generally Recongnise As Safe.

IFNY : Interféron.

IL : interleukine.

LB : Lymphocyte B

LT : Lymphocyte T

MC : les maladies de Crohn

MI : Microbiote Intestinal.

MICI : Maladies Inflammatoires Chronique de l'Intestin.

OMS : organisation Mondial pour la Santé.

PNN : polynucléaire neutrophiles.

QPS: Safety qualified presumption of safety.

RCH : Rectocolite Ulcéra- Hémorragique.

WHO: Word Heath Organization.

### Liste des tableaux :

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Références</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b>	Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques	(Salmines et <i>al.</i> , 2004, Patterson, 2008)	<b>07</b>
<b>Tableau02</b>	Paramètres inflammatoires intestinaux après colonisation d'interleukine -10 sans germe -/- souris avec <i>lactobacillus plantarum</i> 299v.	(Schultz M. <i>et al.</i> , 2002).	<b>27</b>
<b>Tableau03</b>	caractéristiques démographiques et de base	(Ajit sood et <i>al.</i> , 2009).	<b>29</b>
<b>Tableau04</b>	Effet du VSL # 3 sur les patients atteints de recto sigmoïdite et de colite/ pancolite gauche.	(Ajit sood et <i>al.</i> , 2009).	<b>32</b>

## Liste des Figures :

Figures	Titre	Références	Page
<b>Figure 01 :</b>	Mesure de la production de cytokines par des cellules mononuclées extraites de muqueuse colique normale et enflammée après Incubation de 48 h avec du sonicat bactérien pur. l'axe montre les concertations de cytokines pertinents : (a) facteur de nécrose tumorale (TNF) une, (b) interleukine (IL)-1b, (c) interférons (IFN) –g et (d) IL-10 en pg, /ml, et le x-l'axe indique les différent sonicats bactériens utilisés. Les données sont moyennes # erreur standard, n= 7 BV, <i>Bacteroides vulgates</i> , Ce, Escherichia Coli, EPEC, entropathogène.	<b>Article :</b> <i>lactobacillus plantarum</i> 299 : Bénéfique in vitro immunomodulation dans des cellules extraites du côlon humain enflammé( <b>ShriPathmakanthan et al., 2004</b> ).	<b>21</b>
<b>Figure02</b>	Coloration intracellulaire des cytokines des lymphocytes T et des macrophages extraits du colon normal et enflammé après incubation avec des sonicats bactériens pur. les O l axe indique le nombre d'interféron (IFN) –g ou interleukine (IL)-10 positives pour 1000000 cellules, et le X l'axe montre les bactéries en comparaison avec l'acétate de myristate de phorbol (PMA) et le contrôle moyen. Les donnes sont illustrées dans des daigrammes à moustaches et à moustaches avec des barres horizontales indiquant les valeurs médianes et des cases illustrant interquartile.	<b>Article :</b> <i>lactobacillus plantarum</i> 299 : Bénéfique in vitro immunomodulation dans des cellules extraites du côlon humain enflammé ( <b>Shripathmakanthan et al., 2004</b> ).	<b>22</b>
<b>Figure 03</b>	Sécrétion de cytokines des l'interleukine (IL)-10 sans agent pathogène spécifique (SPF)-/- Souris recevant lactobacillus plantarum dans les protocoles de prévention et de traitement.L.plantarum (1x10) <sup>9</sup> unités formatrices de colonies (UFCJ)/ ml dans l'eau de boisson) a été administré quotidiennement à un SPF IL -10 âgé de 10 à 12 semaines -/- souris pendant 4 semaines (traitement) ou quotidiennement pendant 4	<b>Article :</b> <i>lactobacillus plantarum</i> 299v dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine-10 par Schultz.( <b>Schultz M. et al., 2002</b> ).	<b>25</b>

	<p>semaine en commençant au moment de la colonisation de l'IL-10 sans germe-/- souris avec des bactéries.(SPF) Les souris n'ont reçu que de l'eau.</p> <p>UNE : production spontanée d'Il-12 (p40), mesurée par dosage immuno-enzymatique dans des fragments de muqueuse colique cultivés non stimulés de souris traitées et témoins. Les valeurs représentent #SE dIL - 12 pg/ml de culture contenant 100 mg de tissu colique. *p&lt; 0.05 par rapport aux souris témoins non traitées</p> <p>B : Interféron (IFN).</p>		
<b>Figure 04</b>	<p>Ig G2 a (UNE) et IgA (B) production sue le protocole de traitement étudié sur la figure 03, mesurée dans des fragments de muqueuse colique non stimulés cultivée par dosage immuno-enzymatique. Les valeurs représentent la moyenne # ET d'Ig par ml de culture contenant 100 mg de tissu colique. *p&lt; 0.0001 versus contrôle, animaux non traités.</p>	<p><b>Article</b> : <i>lactobacillus plantarum</i> 299v dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine-10 par Schultz. (Schultz M. et al., 2002).</p>	<b>26</b>
<b>Figure 05</b>	<p>scores histologiques en aveugle après colonisation de l'interleukine gnotobiotique (IL) -10 souris avec lactobacillus plantarum 299 v pendant 2 semaines avant le transfert dans un environnement spécifique exempt d'agent pathogène (SPF) avec l'administration quotidienne de L. plantarum 299 v (1x 10<sup>9</sup> unités sans colonie (CFU)dans l'eau potable ) pendant 4semaines par rapport à l'IL -10 sans germe-/- souris colonisées par des bactéries SPF et recevant pas L.plantarum (contrôle).</p>	<p><b>Article</b> : <i>lactobacillus plantarum</i> 299v dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine-10 par Schultz. (Schultz M. et al., 2002).</p>	<b>26</b>
<b>Figure 06</b>	<p>diagrammes à barres montrant le (A) Nombre de patients présentant une diminution du score UCDAI de plus de 50% par rapport à l'inclusion à la semaine 6 (B) nombre de patients avec une diminution de</p>	<p><b>Article</b> :the Probiotic Preparation, VSL#3 Induces</p>	<b>30</b>

	l'UCDAI total d'au moins 3 points à la semaine 12 (C) nombre de patients ayant atteint une rémission (UCDAI<3) à la semaine 12, et (D) nombre de patients ayant atteint la cicatrisation de la muqueuse (évaluation de la muqueuse de 0 à la semaine12).	Remission In Patients With Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis.( <b>Ajitsood et al., 2009</b> ).	
<b>Figure07</b>	diagrammes de ligne montrant la diminution de (A) score de fréquence des selles(B) score de saignement rectal (C) score d'apparence de la muqueuse, (D) score d'évaluation globale du médecin et (E) score d'activité de la maladie CU au départ, à la semaine 6 et à la semaine 12 dans les groupes VSL # 3 et placebo.	<b>Article:</b> the Probiotic Preparation, VSL#3 Induces Remission In Patients With Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis.( <b>Ajitsood et al., 2009</b> ).	<b>31</b>

# **INTRODUCTION**

### Introduction :

D'après la FAO et l'OMS les probiotiques sont des microorganismes vivants, qui lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte au-delà des effets nutritionnels traditionnels (Festy, 2009 ; Laffargue ,2015). Ils peuvent être présents ou introduits dans certains aliments (compléments alimentaires) ou encore dans certains médicaments (ex : #VSL3; 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 (WGO,2008; Laffargue, 2015). Une souche bactérienne est considéré comme un probiotique, en répondant à différents critères conçus par les experts de l'organisation des nations unies pour l'agriculture et l'alimentation (FAO) et l'organisation Mondial pour la santé (OMS); à savoir, les critères sécuritaires pour prouver leur innocuité; les critères technologiques pour assurer leur production et utilisation industriel, et les critères fonctionnels qui déterminent leurs propriétés physiologiques et potentialités probiotiques qui permettent le traitement ou la prévention de différentes pathologies chez l'homme. (WGO, 2008; Laffargue, 2015).

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) telles que la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique et, dans une certaine mesure, la pouchite, sont des pathologies qui touchent de plus en plus de personnes ces dernières années et les effets des probiotiques dans les MICI et la colite infectieuse restent peu concluants en raison de résultats incohérents, du nombre relativement faible de patients traités et de la difficulté de comparer les résultats avec différentes préparations de probiotiques. (Schultz, Rolfe et al., (2000)

Actuellement, il existe tout un arsenal thérapeutique destiné aux MICI comprenant des anti-inflammatoires, d'immunomodulateurs et des anticorps anti-TNF, E raison du rôle établi du microbiote intestinal et d'agents pathogènes entériques dans les MICI la manipulation de la microflore, principalement par une supplémentation en probiotique et l'anti biothérapie ont fait l'objet de plusieurs études intensives tant dans la RCH que Dans la MC (Chermesh, Shamir, 2009).

Les mécanismes thérapeutiques des Probiotiques sont encore largement méconnus. La plupart des espèces de lactobacilles sont capables d'adhérer aux cellules épithéliales du côlon, interférant ainsi avec l'adhérence d'autres bactéries potentiellement pathogènes (Chauvière et al., 1992) et éventuellement en compétition pour les nutriments pendant qu'elles colonisent temporairement l'intestin (Schultz et al., 2002).

Il a été nécessaire de mettre au point différents modèles d'études in vitro et in vivo pour comprendre les mécanismes mis en jeu dans le développement des MICI en reproduisant au plus près les phénomènes physiologiques ayant lieu lors d'une colite humaine. Parmi les modèles d'étude in vitro, la multiplication des modèles cellulaires utilisant les lignées cellulaires épithéliales HT-29 et Caco-2 ou encore des cellules mononucléaires de sang périphérique « Peripheral Blood Monocyte Cell » (PBMC) sont couramment utilisées afin de cribler des souches bactériennes selon un profil anti-inflammatoire ou encore d'étudier leurs mécanismes d'actions (**Imaoka et al., 2008**).

En ce qui concerne les modèles d'étude in vivo, on peut citer les colites induites chez le modèle murin avec des agents chimiques tels que l'éthanol, l'acide acétique, les polysaccharides sulfatés « dextran sodium sulfate » (DSS) (**Yamada et al., 1992; Kitajima et al., 2001; Lee et al., 2008**) ; les colites induites par l'activation du système immunitaire induisant ainsi la prolifération des lymphocytes T (LT) « 2,4,6-tri nitrobenzènesulfoniqueacide » (TNBS) (**Foligne et al., 2007a**) , et l'utilisation des modèles murins génétiquement modifiés, développant spontanément des colites tels que les souris knock-out IL-10 (KO IL-10), animaux dont le gène codant pour l'IL-10 est invalidé (**Sheil et al., 2006; Carroll et al., 2007**).

L'objectif de notre étude est de démontrer l'intérêt d'utilisation des souches probiotiques lactiques particulièrement dans la prévention et /ou le traitement de ces maladies inflammatoires de l'intestin (MII). A cet égard, le manuscrit est structuré en deux grandes parties, la partie n°01; consacrée à des rappels bibliographiques sur les probiotiques et les maladies inflammatoires chroniques (MICI), et la partie n°02 qui correspond à la partie d'analyse d'article où sont sélectionnés trois articles scientifiques appartenant à différents auteurs qui nous ont permis de démontrer le rôle de certains probiotiques dans le traitement et la prévention des colites inflammatoires intestinales In vitro et In vivo. Les travaux réalisés par ces auteurs, à savoir, les souches probiotiques utilisées et les méthodes d'étude réalisées ainsi que les résultats obtenus sont résumés et discutés dans cette partie n°02.

## I. Les Probiotiques :

### I.1. Historique et définition:

Le terme «probiotique» en Grec signifie «pour la vie» choisi par opposition au terme antibiotique. Dans les années 1950-1960, de nombreux produits «probiotiques» ont été développés, mais l'absence de données rigoureuses sur l'effet clinique a conduit à leur disparition progressive, à l'exception de quelques-uns dont les effets ont été confirmés. Jusqu'en 2002, de nombreuses définitions du terme «probiotique» vont se succéder, soulignant les effets bénéfiques sur le microbiote intestinal si les quantités ingérées sont optimales. Contrairement aux hypothèses initialement proposées, l'effet bénéfique associé à leur consommation ne nécessite pas nécessairement une modification de la flore intestinale, notamment des effets immuns modulateurs (*Rambaud et al., 2004*).

En 2002, la «Food and Agriculture organization of the United nations » et la «World Health organization» (FAO/WHO) proposent définition officielle du terme «probiotique» bénéfique sur la santé de l'hôte. (*FAO/WHO, 2002*). Le terme «probiotique» devrait être réservé aux microbes vivants pour lesquels un bénéfice pour la santé a été démontré dans des études contrôlées chez les humains. La fermentation concerne globalement la préservation d'un vaste ensemble de produits agricoles (céréales, racines, tubercules, fruits, légumes, lait, viande, poisson, etc....);(*Alfaleh et Ambrees, 2014*).

Afin de garantir l'innocuité des microorganismes avant leur mise sur le marché, l'EFSA a proposé en 2007 le système d'évaluation QPS (qualifiedpresumption of safety) dont l'attribution à une espèce dominée repose sur un arbre décisionnel comprenant quatre critères : taxonomie, connaissances disponibles, pathogénicité éventuelle et utilisation finale du microorganisme considéré (figure1). Pour les microorganismes non QPS, il sera recommandé une évaluation complétée au cas par cas et ce au niveau de la souche (*Leuschner et al., 2010*).

Enfin, l'approche QPS prévoit de réactualiser la liste des espèces reconnues en fonction de découvertes scientifiques (changement de taxonomie, transfert de gènes de résistance...). Ce concept, récent en Europe, a été inspiré mais ne copie pas le système américain GRAS (Generally Recognise As Safe) mis en place en 1958 au Etats-Unis, pour ceux qui considèrent à tous les statuts QPS et GRAS comme équivalents (*Sanz- Penella et al., 2009*). L'EFSA considère le concept QPS comme un outil interne (au niveau européen) d'évaluation des risques des agents biologiques (*EFSA, 2009;Leuschner et al., 2010*).

## **I.2. Critères de sélection des souches probiotiques :**

Une souche bactérienne est considéré comme un probiotique, en répondant à différents critères conçus par les experts de l'organisation des nations unies pour l'agriculture et l'alimentation (FAO) et l'organisation Mondial pour la santé (OMS), pour attendre l'intestin et pouvoir assurer sa ponction et son innocuité pour l'hôte, ses critère sont classés dans trois grand groups.

### **I.2.1. Critères de sécurité :**

#### **I.2.1.1. Origine :**

L'origine des souches à potentiel probiotique a fait l'objet de nombreuses discussions parmi les scientifiques jusqu'à l'heure actuel, les bactéries en tant qu'être vivants s'adaptent à des milieux spécifiques ou les conditions optimales de leurs survies sont disponibles (**Da Silva, 2013**).

Les souches bactériennes d'origine humaine poussent à 37C° sont résistants, aux acides et aux sels biliaires, et en général peuvent s'établir au moins transitoirement dans l'intestin humain, il a également été démontré que la muqueuse intestinal et sa microflore partagent des épitopes antigénique communs, sans doute responsables de le tolérance immunologique de l'hôte vis-à-vis de ses bactéries résidents toutes ces raisons partent en faveur d'une origine humain pour une souche probiotique (**Secretin, 2013**).

#### **I.2.1.2. Identification phénotypique et génotypique :**

La consultation des experts du FAO et de L'OMS de 2002 recommande que les probiotique s souvent identifiés par combinaison des méthodes phénotypiques et génotypiques. Les analyses d'identification phénotypique doivent comporter l'étude de la fermentation de différents sucres par le biais de galleries adaptées. Pour l'identification génotypique l'étude des séquences d'ARN 16S ou toute autre méthode moléculaire reproductible validée au niveau international sont utilisées (**Geverset al., 2001**). La souche doit être déposée dans une collection de culture internationalement reconnue, cette étape est essentiel dans l'établissement des nouvelles souches probiotiques (**Rofes, 2014**).

#### **I.2.1.3. Innocuité :**

Un microorganisme probiotique doit présenter une totale innocuité pour le consommateur, c'est-à-dire être non toxique et ne présente aucun facteur de pathogénicité. Il est important d'évaluer

précisément pour chaque souche à potentiel probiotique sa sécurité, en étudiant tout effet indésirable possible (résistance aux antibiotiques, activités métaboliques nocives, production de toxines, potentiel infectieux, activité hémolytique)(Ezzariga, 2015).

### **I.2.1.4. Résistance aux antibiotiques :**

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches probiotiques utilisées en thérapeutique est important à étudier, Afin de pouvoir utiliser une souche probiotique il est important de s'assurer qu'elle ne soit pas résistante aux antibiotiques et qu'elle ne pourra pas induire de résistance(Ezzariga, 2015).

Il est admis que certains microorganismes possèdent des gènes de résistance aux antibiotiques codés notamment par des plasmides ou des transposons, qui peuvent être transférés à d'autres microorganismes intestinaux endogènes et /ou d'origine alimentaire. Ainsi, les souches qui contiennent des gènes transmissibles codant une résistance aux antibiotiques ne doit pas être utilisées comme probiotique, le profil de résistance des souches probiotiques doit être bien définie (Ezzariga, 2015).

### **I.2.2. Critères fonctionnels :**

Les exigences fonctionnelles des probiotiques sont établies à l'aide des tests in vitro qui se réfèrent à des propriétés bactériennes et à des effets probiotiques. Les principales exigences conçus par les experts de **FAO. (2001)**, Sont:

#### **I.2.2.1. Survie au cours du transit digestif :**

Pour assurer leur l'efficacité jusqu'au site d'action, à savoir au niveau intestinal, les probiotiques ingérés doivent être vivants dans le tube digestif et donc survivre durant le transit et résister aux enzymes digestives libérées dans le milieu intestinal. Des tests in vivo sont établis qui consiste à mesurer la survie des probiotiques ingérés au niveau des selles émises pour observer leurs résistances. Les résultats de ces tests doivent être pris en compte pour définir le dosage minimal efficace de chaque souche probiotique (**Piquepaille, 2013**).

La capacité de survie varie considérablement d'une souche à l'autre selon leur résistance intrinsèque (**Gournier, 1994**). Au niveau de l'estomac, la survie des probiotiques dépend de leur capacité à tolérer le PH faible du suc gastrique certaines souches tolèrent un PH très acide et peuvent rester totalement cultivables après 1 h 30 à PH = 2 alors que l'autres non, de ce fait toutes les souches probiotiques doivent avoir une tolérance élevée à l'acidité gastrique (**Hamon, 2011**).

Au niveau de l'intestin grêle, le pourcentage de survie des probiotiques est influencé par la sécrétion de la bile. Les Microorganismes qui survivent aux conditions acides de l'estomac doivent faire face à l'action détergente des sels biliaires libérées dans le duodénum et aussi avoir la capacité de se développer et proliférer en présence de ces acides biliaires (**Roy, 2006**).

### **I.2.2.2. Adhésion aux cellules intestinales :**

L'adhésion serait importante pour l'immunomodulation car les probiotiques adhérant sont en contact direct avec les cellules immunes épithéliales de l'intestin. L'adhésion des probiotiques permettra de prévenir l'implantation des pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales par des mécanismes de compétition (**Izquierdo, 2009**).

La capacité d'adhésion aux cellules intestinales est l'un des critères de sélection les plus importants des probiotiques parce qu'elle est considérée comme une condition préalable à la colonisation et donc à la croissance et à l'efficacité aussi. Il est admis que l'effet probiotique sera maximal quand le microorganisme vivant séjournera longtemps dans le tube digestif, l'adhésion permet d'augmenter le temps de rétention des probiotiques dans l'intestin pour mieux résister aux mouvements péristaltiques intestinaux (**Tortora et al., 2007**).

### **I.2.2.3. Colonisation :**

La possibilité d'une colonisation durable de l'écosystème intestinal par un microorganisme probiotique et son maintien à un niveau stable sans avoir à ré-inoculer de nouvelles souches est conceptuellement impossible du fait d'un grand déséquilibre de force en faveur des microorganismes du microbiote autochtone quantitativement plus abondants (**Drouault-Holowaz et al., 2006**).

Les probiotiques colonisent temporairement le tractus digestif et font partie de la flore allochtone. Leur persistance est plus ou moins longue, de deux à vingt jours en moyenne selon les souches sélectionnées. Les souches ayant une durée de persistance élevée sont à privilégier, et une consommation régulière de probiotique est indispensable pour obtenir un effet bénéfique persistant (**Roy, 2006**).

### **I.2.2.4. Aptitude à produire des effets bénéfiques sur la santé :**

La plupart des souches probiotiques sont sélectionnées en laboratoire selon leurs aptitudes fonctionnelles, c'est-à-dire leur activité enzymatique, leur aptitude à moduler le système immunitaire ou leur activité antimicrobienne (acides organiques, acide gras, peroxyde d'hydrogène, diacétyles potentiel anti-inflammatoire des microorganismes); les substances à

effet bactéricide produites par les bactéries probiotiques sont variées et comprennent le peroxyde d'hydrogène, l'acide lactique, les acides organiques et les bactériocine est pleins d'autres sont observer et étudier in vitro (**Dunn et al., 2001**).

Différents degrés de preuves sont à l'appui de la vérification de ces effets bénéfiques. Des études in vitro efficaces doivent être conduites pour déterminer les effets bénéfiques potentiels des probiotiques sur la santé dont les résultats convaincants, mènent alors à d'autres études cliniques randomisés chez l'homme (**Ezzariga, 2015**).

### **I.2.3. Critères technologiques :**

Plusieurs aspects technologiques qui s'ajoutent aux critères sécuritaires et fonctionnels, qui doivent être pris en compte dans la sélection des souches probiotique. Il s'agit de préserver les caractéristiques physiologique des souches pour ne pas être altérées durant les procédés de production du probiotique. Les couches probiotiques doivent alors être ; génétiquement stable; Viable au cours de la fabrication et au cours du stockage; Apte à la propagation à grande échelle (**Guarner et al., 2008; Abrams et al., 2005**).

### **I.3. Intérêt des probiotiques:**

Les probiotique ont montré des effets bénéfiques divers pour la santé humaine et animal, le tableau N : 01 ci-dessous résume les principaux effets des probiotiques sur la santé ;

**Tableau:01 Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (salmines et al., 2004, Patterson, 2008)**

<b>Effets intestinaux</b>	<b>Effets sur système immunitaire</b>	<b>Autres effets</b>
Contrôle des troubles suivants : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mauvaise digestion du lactose</li> <li>• Diarrhée due aux rotavirus et diarrhée</li> </ul> Associée aux antibiotiques <ul style="list-style-type: none"> <li>• Syndrome du côlon véritable</li> <li>• constipation</li> <li>• infection par Helicabacterpyloi</li> <li>• proliférationbactérienne dans l'intestin grêle</li> <li>• Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin</li> <li>• prévention de l'entérocolite nécrosante du nouveau-né</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modulation immunitaire.</li> <li>• Répression des réactions allergiques par réductions de l'inflammation</li> <li>• Réduction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (salmonella shigella).</li> </ul>	Réduction du risque de : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Certains cancers (colorectal, vessie col utérin, sein).</li> <li>• Coronaropathie.</li> <li>• Maladie des voies urinaires.</li> <li>• Infection des voies respiratoires supérieures et infections connexes.</li> <li>• Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle.</li> </ul>

Les probiotiques ont aussi démontré des intérêts technologiques en agroalimentaire. En effet, plusieurs souches probiotiques sont utilisées pour la fabrication de produits fermentés grâce aux mécanismes de la fermentation lactique ; comme les yaourts, et autres laits fermentés, les fromages ...etc. Ces différents produits commercialisés en tant que probiotiques humains ou animaux sont constitués soit d'un seul microorganisme (produit dits monocouches) ou d'une association de plusieurs espèces (produits dit pluri souches) (**Patterson, 2008**).

Actuellement, les produits probiotiques sont commercialisés sous trois formes (**Patterson, 2008**) : Un concentré de culture ajouté à des aliments et boissons à base de produits laitiers, de fruit et céréales ; Un ingrédient ajouté à un aliment à base de lait ou de soja et auquel on permet d'atteindre une concentration éluee par fermentation ; Des cellules séchées ; concentrées, en poudre, en capsule ou en comprimés. Utilisés pour l'enrichissement de certains yaourts et laits (**klaenhammer et al., 2007**), cette utilisation est due aux effets nutritionnels et thérapeutiques de ces bactéries car elles enrichissent le milieu ou elles se trouvent en vitamines B et k, acide amines, et bactériocines responsables de l'inhibition des bactéries pathogènes (**soomro et al.,2002**). Les bactéries les plus fréquemment utilisées comme probiotiques sont *lactobacillus sp* et des Bifidobactéries(**khan et Ansari, 2007**).

## II. Inflammation et maladies Inflammatoires de l'intestin :

### II. 1. Généralités sur l'inflammation :

L'inflammation est un mécanisme immunologique de défense de l'organisme en réponse à des dommages mécaniques, brulures, infections microbiennes, produits chimiques toxiques, allergènes et tout autre stimulus nocif, c'est un processus biologique fortement réglé par le système immunitaire qui permet la neutralisation des stimuli nuisibles et le lancement du processus curatif (**Masresha et al., 2012**).

C'est une réaction de défense de l'organisme à diverses agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse (**Ndiaye et al., 2006**). Les principales causes de l'inflammation sont : L'infection par des agents pathogènes : toxines bactériennes, virus, parasites et champignons. (**Revillard, 2001, Rousselet et al., 2005**). Les agents physiques : chaleur, froid, traumatisme et l'irradiation par les rayons UV, X ou Y. (**Revillard, 2001, Rousselet et al., 2005**); les agents chimiques et métaboliques : minérales organiques ou biologiques(**Revillard, 2001**).

Différents symptômes sont révélateurs de l'inflammation parmi eux; les symptômes locaux (rougeur, chaleur, douleur) et les symptômes généraux (fièvre, asthénie... etc)(**Muster, 2005**).

L'inflammation fait partie des critères de l'évolutivité de certaines maladies, parmi elles la Rhumatologie qui est une pathologie qui peut donner une inflammation de la membrane synoviale (arthrite), des muscles (myosites) des artères et des vaisseaux (vascularités). (Saraux, 2005). La dermatite de contact qui est une affection inflammatoire cutanée due à une hypersensibilité qui dépend des cellules TH1 (Chpel et al., 2004). L'insuffisance (partielle) surrénalienne qui résulte après un traitement stéroïde de brève durée, elle peut provoquer une crise d'Addison fatale (anorexie, nausée, douleurs abdominales, état fébrile, hypoglycémie, hypotension et état de choc) (Henzen, 2003). Il existe d'autres pathologies inflammatoires telles que : l'inflammation pulmonaire chronique (Fayon et al, 2007) et l'inflammation chronique de l'intestin (MICI), (Bannwarth et al 2016).

Elle fait intervenir plusieurs types de cellules et médiateurs d'inflammation pour le développement d'une immunité contre les différentes pathologies inflammatoires; et parmi les cellules intervenant on peut citer; les polynucléaires neutrophiles (PNN) qui représentent 60 à 75% des globules blancs totaux (Demareta et al., 2014). Elles sont un des pivotes de l'immunité innée et constituent un puissant système de défense de l'homme contre les agents pathogènes (Gaugeront et Pocardalo, 2012). Les phagocytes mononucléaires ce sont le groupe le plus important des cellules phagocytaires, leur fonction est de capter les particules, y compris les agents infectieux, de les ingérer et de les détruire (Roit et al., 2000). Les lymphocytes; des cellules qui arrivent dans un foyer inflammatoire ou infectieux, ils peuvent libérer des médiateurs qui contrôlent l'apport ultérieur et l'activation des autres cellules, ils lancent ainsi le processus de l'immunité adaptative (Roit et al., 2002); les mastocytes des cellules résidentes des tissus, notamment d'interface (Blank et Vitte, 2014) qui jouent un rôle important dans l'homéostasie et la régulation immunitaire (Frenzel et Hermine, 2013); les basophiles, libèrent un grand nombre de médiateurs pro-inflammatoires influençant profondément l'orchestration de l'inflammation (Rostan et al., 2014). Les cellules endothéliales qui sont des cellules aplaties constituées à des organites particuliers qui expriment CD31 (Revillard, 2001). Les fibroblastes des cellules cibles à des cytokines secrétés par Th2 (l'IL-4 et l'IL-13) qui induisent leur prolifération et stimulent leur différentiation myofibroblastique et enfin les plaquettes qui sont des cellules auxiliaires importants dans le déclenchement et le développement de l'inflammation (Revillard, 2001), par la libération des médiateurs de l'inflammation comme la sérotonine lorsqu'elles sont activées au cours de coagulation ou contact de complexe antigène-anticorps (Roit et al., 2002).

L'inflammation peut être aigüe représentée par une réaction inflammatoire immédiate à un agent agresseur, une réponse typique du système immunitaire inné (**Espinosa et Chillet, 2006**), de courte durée (quelques jours ou semaines) caractérisée par l'adhérence des plaquettes, de neutrophiles puis les monocytes (**Revillard, 2001**), ou il peut s'agir d'une inflammation chronique qui est une inflammation aigüe persistante, conduit à la formation de lésions focalisées (**cavaillon, 1993**), formées par les cellules endothéliales, les fibroblastes et les macrophages (**Révillard, 2001**) ou la production accrue des médiateurs qui maintient le processus inflammatoire (**Genelet, 1997**).

### **II.2. Les pathologies inflammatoires chroniques intestinales (MICI):**

En temps normal, la réponse inflammatoire est bénéfique pour l'organisme, car elle défend l'individu de l'agression extérieure, mais dans certains cas pathologiques, cette réponse immunitaire est mal régulée et conduit à une altération chronique du tube digestif. L'appellation MICI regroupe la RCH et la MC. La prévalence de ces pathologies s'est vue augmentée d'un facteur 10 dans les pays industrialisés durant ces 50 dernières années en raison d'une modification du mode de vie et de l'environnement (**Koutroubakis et al., 1996**).

Les MICI se caractérisent par une réponse inflammatoire digestive inadaptée qui se manifeste par l'apparition de poussées inflammatoires entrecoupées de phases de rémission. Le déclenchement, la durée et sévérité des crises peuvent être variables suivant les individus et au cours de leur maladie. Les symptômes associés aux crises les plus courants sont douleurs abdominales, diarrhées, perte de poids et fièvre. Certains patients développent également des manifestations inflammatoires extra-digestives telles que des atteintes articulaires, dermatologiques et oculaires (**larsen et al., 2010**).

Du point de vue physiopathologique, la MC et RCH n'impliquent pas les mêmes atteintes digestives. Dans la MC l'inflammation peut toucher l'ensemble du tube digestif (de la bouche à l'anus) avec des manifestations généralisées ou ciblées en provoquant des lésions dites transmucosales atteignant les différentes couches de la paroi digestive et pouvant être responsables de perforations, fistules, abcès. La RCH provoque des lésions superficielles restreintes au côlon et au rectum, ces lésions plus superficielles que dans la MC atteignent la muqueuse et la sous-muqueuse et sont à l'origine des hémorragies caractéristiques de la RCH. Les populations de cellules immunitaires activées et le profil cytokinique qui leur sont associés, sont également différents : Th1/Th17 (thelper) pour la MC et Th2 dans le cas de la RCH (**Sanchez-Munoz et al., 2008**).

### **II.2.1. La maladie de Crohn:**

C'est une maladie inflammatoire pouvant atteindre n'importe quel segment du tube digestif depuis la bouche jusqu'à l'anus. C'est une maladie chronique comportant des phases d'activité ou « poussées » d'intensité variable alternant avec des phases de rémission plus ou moins complète et prolongée. Elle a été décrite pour la première fois en 1932 par un médecin américain : Burril Crohn. La maladie peut intéresser simultanément ou successivement un ou plusieurs segments du tube digestif. Cependant elle siège le plus souvent dans le gros intestin ou côlon (il s'agit alors d'une colite), ou sur la partie terminale de l'intestin grêle ou iléon (iléite), ou sur les segments (iléocolite). (Anonyme.2012). Les causes de cette maladie sont encore inconnues, toutefois les recherches permettent de mieux concevoir les mécanismes en cause dans cette affection. La maladie de Crohn n'est pas une maladie « héréditaire » au sens propre du terme, mais il existe un facteur génétique de prédisposition à la maladie, le gène NOD2 ou CARD15 sur le chromosome 16 du génome humain. Il existe d'autre part des anomalies du système immunitaire intestinal liées à un déséquilibre de la flore intestinale (dysbiose). Le rôle d'un facteur alimentaire n'a jamais été confirmé, il n'est donc pas nécessaire dans la majorité des cas, de suivre un régime restrictif. De même, le rôle d'un agent infectieux viral ou bactérien, spécifique de la maladie de Crohn a été souvent évoqué mais n'a jamais été prouvé, on sait par contre qu'il ne s'agit pas d'une maladie contagieuse. Il ne s'agit pas non plus d'une maladie « psychosomatique » même si des facteurs psychologiques peuvent moduler l'évolution d'une MICI, comme celle de beaucoup d'autres affections chroniques. Parmi les facteurs environnementaux le rôle nocif du tabac est clairement établi pour la maladie de Crohn (Anonyme, 2012). Le traitement médical a pour objectif de contrôler les symptômes pour mettre fin à la poussée et de maintenir la rémission pour obtenir la cicatrisation de la muqueuse intestinale et de toutes formes d'inflammations. Les principaux médicaments utilisés sont les corticoïdes et les immunosuppresseurs, en effet, les salicylés tels que le 5-ASA (Pentasa, Rowasa, fivasa) sont considérés aujourd'hui comme des médicaments beaucoup moins efficaces dans les maladies de Crohn que dans la RCH. Ils sont encore prescrits dans les formes légères et pour la prévention du cancer du côlon. Les corticoïdes classiques (cortancyl, solupred) peuvent parfois être remplacés par un corticoïde d'action locale (le Budésouïde) libéré aux niveaux de la partie terminale du grêle (iléon) et du côlon droit (Entocort ou Mikicort). Ces corticoïdes entraînent moins d'effets indésirables que les corticoïdes classiques et peuvent être utilisés dans les poussées légères à modérées de la maladie surtout dans l'intestin grêle au début du côlon. Le traitement par les corticoïdes classiques doit être réservé aux

formes plus sévères et ou plus étendues, et des traitements anti-infectieux (Flagyl, ciprofloxacine) sont également utilisés en particulier lorsqu'il existe une infection (abcès) dans l'abdomen au niveau de l'anus. Les traitements dits « biologiques » sont utilisés en cas d'échec ou d'intolérance des immunosuppresseurs de première ligne et/ou en cas de corticodépendance. Il cherche, pour les principaux d'entre eux, à bloquer une molécule le TNF alpha, premier facteur produit par l'organisme au cours d'une inflammation. Les anti-TNF sont des anticorps dirigés contre le TNF alpha (Anonyme, 2012).

### **II.2.2. La Rectocolite Hémorragique (RCH):**

La rectocolite hémorragique (RCH) est une maladie inflammatoire du rectum et du gros intestin (côlon), Elle se manifeste souvent par des douleurs abdominales intenses ; de la fièvre et une perte de poids. La RCH évolue de manière imprévisible, généralement par poussées entrecoupées de périodes sans symptômes, sa cause est inconnue. Cependant, la RCH pourrait être liée à une réaction excessive du système de défense du corps (le système immunitaire). Les défenses immunitaires, qui normalement ne s'attaquent qu'aux éléments « étrangers » (bactéries, virus, pourraient se dérégler et se retourner contre les cellules mêmes du corps et les attaquer (on parle de la maladie auto-immune). Le système immunitaire produit, dans ce cas, des molécules de défense (anticorps) nocives, appelées auto-anticorps, qui entraînent la destruction de tissus ou d'organes. On ne sait pas encore pour quelle raison les défenses immunitaires se dérèglent, mais plusieurs facteurs environnementaux, hormonaux ou génétiques sont probablement en cause. Aussi, contrairement, à certaines idées reçues, la RCH n'est pas directement due au stress ou à certains aliments, même si le stress peut déclencher ou aggraver une poussée de la maladie (Anonyme, 2010).

La RCH est une maladie irréversible, et s'il n'existe pas encore de traitement pour éliminer la cause de la rectocolite hémorragique, il existe bien quelques médicaments qui peuvent traiter et atténuer la symptomatologie de la maladie de façon efficace on distingue la médication pour le traitement des poussées et les traitements d'entretien. Les 05 types de médicaments les plus prescrits sont : les 5-aminosalicylates; les corticostéroïdes; les immunosuppresseurs; les anti-intégrité; les antagonistes ou inhibiteurs du facteur de nécrose tumorale alpha (aussi abrégés anti-TNFX) et d'autres médications possibles sont prescrites par les médecins pour le traitement de rectocolite comme les antibiotiques; les anti-diarrhéiques et des préparations vitaminées, ainsi que des antidouleurs (Hindryckx, 2009).

### II.3. Utilisation des Probiotiques pour le traitement des MICI :

Les probiotiques qui, ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, tiennent une place prépondérante dans les études scientifiques récentes portant sur le traitement des pathologies gastro-intestinales et ont un grand intérêt dans le cadre des MICI car ils vont pouvoir prendre le relai des bactéries du microbiote intestinal qui n'est plus en mesure d'exercer toutes ses fonctions (digestives, immunitaires) car en état de symbiose (**Desreumaux et Colombel, 2001**).

En effet, la flore intestinale normale est une collection complexe et en équilibre de microorganismes qui cohabitent entre eux, il s'agit d'une grande diversité d'espèces microbiennes assurant différentes fonctions pour l'organisation. Cette microflore du tractus gastro-intestinal a été estimée de  $10^{13}$  jusqu'à  $10^{14}$  cellules microbiennes représentant 400 à 600 espèces et sous espèces, elle représente environ 10 fois le nombre total de cellule du corps humain. La prévalence des bactéries dans l'écosystème gastro-intestinal dépend des conditions des compartiments de cet écosystème. Deux différentes catégories de bactéries ont été identifiées : les bactéries autochtones dite indigènes se trouvant dans des niches particulières, et des bactéries allochtones ou transitoires comme les probiotiques rencontrées dans autres habitats du tractus, la majorité des bactéries pathogènes sont allochtones et vivent normalement en harmonie avec l'hôte, excepté lorsque l'équilibre du système est rompu. (**Backhed et al., 2004**).

Le fœtus humain et vierge de tout micro-organisme l'exposition du nouveau né aux muqueuses vaginales, aux cheveux, à la peau, à la nourriture et aux autres objets non stériles conduit rapidement à l'élaboration d'une microflore intestinale rapidement à l'élaboration d'une microflore intestinale normale. La composition de cette flore varie en fonction de l'âge gestationnel, de la naissance, du mode d'accouchement, de l'environnement du bébé ainsi que de l'antibiothérapie administrée à la mère en per partum et/ou à l'enfant après la naissance (**Collignon et Butel, 2004**). Un enfant à l'âge de deux ans, on le considère qu'il a une flore identique à celle d'un adulte (**festy, 2014**).

Les premières bactéries à s'implanter sont anaérobies qui se nomment les bifidobactéries, elle représente plus de 90% des bactéries intestinales totales chez les bébés nourris au sein. Le lait humain agit comme un milieu sélectif pour les bactéries non pathogène, car il apparaît que chez les bébés nourris au biberon, la proportion de bifidobactéries intestinales est très inférieure. Le changement d'alimentation, notamment boire du lait de cache ou/ et manger de la nourriture solide, entraîne la perte de la prédominance bifidobactérienne. Cependant *les Entérocoques, les*

*Entérobactériacea*, les bactéricides, les lactobacilles et les clostridies augmentent en nombre (Prescott et al., 2013).

Une fois la flore établie, elle reste stable chez un même individu dans être influencée par des facteurs alimentaires, immunologique, environnementaux, médicamenteux et physiologique (Ebel et al. 2014). En effet, chez les personnes âgées, il est démontré une diminution de la diversité des bifidobactéries et une augmentation des germes fongiques et des entérobactéries comparées aux jeunes adultes (Hopkins et al., 2001). Le microbiote intestinal appartient donc à cinq embranchements microbiens, dont les trois premiers représentent la plus grande part des bactéries fécales : Firmicutes, bactéries gram positif, qui forment l'embranchement dominant de la flore intestinale adulte (Tableau), Bactériidies, Actinobacteria, Proteobacteria et fusobactéria (Ebel et al. 2014).

Ainsi, des études (menées chez l'animal ou sur cultures cellulaires), dans lesquelles on avait induit une inflammation intestinale, ont montré que certaines souches probiotiques (lactobacilles et/ou bifidobactéries) avaient des effets anti-inflammatoires et une action analgésique à la fois in vitro et in vivo (Desreumaux et Colombel, 2001). L'utilisation de probiotiques a souvent été suggérée dans le traitement de troubles intestinaux, dont l'entérocolite nécrosante; cependant, il s'agit d'identifier les bactéries probiotiques ayant le plus d'efficacité. En effet Al-Sadi et al. (2021) utilisent un criblage à haut débit pour évaluer plus de 20 bactéries probiotiques, in vitro et in vivo chez des souris modèles de MICI, afin d'évaluer leur capacité à restaurer la barrière intestinale. L'espèce bactérienne probiotique *L. acidophiles*, et en particulier la souche LA1, permet d'obtenir une consolidation rapide et significative de la barrière intestinale. La souche interagit avec les cellules intestinales en activant des voies impliquées dans les jonctions serrées épithéliales intestinales. La souche se fixe à la surface de la membrane épithéliale intestinale et interagit notamment avec une protéine qui favorise la réponse immunitaire de l'intestin (Al-sadi et al., 2021).

**Partie 02 : Analyse d'article**

Il s'agit dans cette partie ; de faire l'analyse des trois articles sélectionnés pour la thématique de notre étude, dans le but de démontrer l'efficacité d'utilisation de certains probiotiques et comprendre leurs mécanismes mis en jeu pour la prévention ou le traitement /atténuation de la symptomatologie des différentes maladies inflammatoires qui peuvent toucher l'intestin de l'homme. A cet effet ; les articles choisis sont les suivants :

1. **Shri pathmakanthan et al. (2004):** *Lactobacillus plantarum* 299: Beneficial in vitro immunomodulation in cells extracted from inflamed human colon
2. **Schultz M. et al. (2002):** *Lactobacillus plantarum* 299V in the Treatment and Prevention of Spontaneous Colitis in Interleukin-10-Deficient Mice
3. **AjitSood et al.(2009):** The Probiotics Preparation, *VSL#3* Induces Remission in Patients with Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis.

**I.Matériels :**

Les Probiotiques étudiés sont représentés dans le tableau suivant :

<b>Souches probiotiques</b>	<b>Origines</b>	<b>Références</b>
<b>Mélange probiotiques VSL#3</b> est une préparation probiotique à haute concentration de 8 souches bactériennes vivantes, lyophilisées, dont 4 souches de <i>Lactobacilles</i> ( <i>Lparacasei</i> , <i>L plantarum</i> , <i>L acidophilus</i> et <i>L delbrueckii</i> sous - espèces <i>bulgaricus</i> ), 3 souches de <i>bifidobactéries</i> ( <i>B longum</i> , <i>B breve</i> et <i>B infantis</i> ) et <i>Streptococcus thermophilus</i>	Probiotique commercial	<b>Ajitsood et al. (2009)</b> <b>Chapman ; Ploskeret Figgitt. (2006)</b>
<b><i>L. plantarum</i> 299</b>	(DSM 9843, don du professeur Stig Bengmark, Lund, Suède)	<b>Shri pathmakanthan et al. (2004):</b>
<b><i>Lactobacillus plantarum</i> 299v</b>	(ConAgra, Inc., Omaha, NE, USA) (52) a été obtenu à partir d'un lyophilisat en Stock sur milieux de Man-Rogosa-Sharpe (MRS, Difco, Detroit, MI, USA) à 37°C	<b>Schultz M. et al. (2002)</b>

### II. Méthodes :

Les travaux réalisés dans chaque article sélectionné sont résumés ci-dessous :

#### II.1. L'étude de Shripathmakanthan et al. (2004) : "Lactobacillus plantarum 299: Beneficial in vitro immunomodulation in cells extracted from inflamed human colon" :

Les auteurs ont déterminé par leur recherche l'effet bénéfique de *Lactobacillus plantarum* 299 et son immunomodulation *in vitro* dans des cellules extraites du côlon humain enflammé. A cet effet ; le modèle de sécrétion de cytokines (interleukine [IL] -1 , facteur de nécrose tumorale [TNF]- , interféron [IFN]- et IL-10) et leurs sources cellulaires dans des cellules mononuclées isolées de la muqueuse colique de la rectocolite hémorragique (CU) normale et ulcéreuse en réponse à des bactéries probiotiques et pathogènes, est utilisé (Shripathmakanthan et al., 2004).

Des cellules mononuclées ont été extraites de la muqueuse colique normale obtenus (> 5 cm de la tumeur) à partir de côlons résectionnés pour un carcinome (n = 7) dont les patients étaient constitués de cinq femmes et de deux hommes (âge moyen : 65 ans, fourchette 59 -72) qui étaient sous traitement aténolol (n = 2), l'aspirine (n = 3), salbutamol (n = 2) et la mébéverine (n = 2) avant la chirurgie. Tous les patients étaient au courant des recherches en cours approuvées sur le plan éthique et ont donné leur consentement éclairé ; et active de la CU obtenue à partir d'un côlon fraîchement résectionné affecté par une CU active (n = 7) dont les patients étaient constitués de quatre hommes et trois femmes (âge moyen : 54 ans, 68) qui prenaient des aminosalicylates (n = 5), corticoïdes intraveineux (n = 7), azathioprine (n = 3) et la cyclosporine (n = 2) avant la chirurgie. L'indication de la chirurgie dans tous les cas était une maladie chronique réfractaire au traitement médical. Tous les spécimens étaient enflammés macroscopiquement et histologiquement (Shripathmakanthan et al., 2004).

Les cellules mononuclées sont ensuite incubées avec des sonicats purs de bactéries probiotiques, commensales et pathogènes. En effet avant l'isolement cellulaire, des sonicats bactériens purs de *S. dublin* (ATCC 39184), *Escherichia coli* (ATCC 11303), *Bacteroides vulgatus* (ATCC 4456), *L. plantarum* 299 (DSM 9843, don du professeur Stig Bengmark, Lund, Suède) et entéro-pathogène *E. coli* (cadeau du professeur Tom Baldwin, Département of Infection and Immunité, Nottingham, Royaume-Uni) ont été préparés. Les bactéries ont été cultivées sur les milieux de croissance appropriés dans les conditions aérobies ou anaérobies appropriées. Les colonies individuelles ont ensuite été transférées à l'aide d'une boucle stérile dans une solution saline stérile tamponnée au phosphate (PBS) et remises en suspension dans une solution

universelle standard. L'association de bactéries pures en PBS a ensuite été soniquée (Soniprep 150 ; laboratoires MSE) à 14000mm pendant 5 min avec l'universel entouré de glace pour minimiser la dégradation de l'antigène induite par la chaleur. La solution a ensuite été filtrée (0,2 mm) pour s'assurer que seul l'antigène soluble serait utilisé et pour exclure les débris cellulaires et toute bactérie vivante. La sécrétion de cytokines a été mesurée dans le surnageant de culture et la coloration intracellulaire des cytokines mesurées à l'aide de cytométrie (Shri pathmakanthan et al., 2004).

### II.2. L'étude de Schultz M. et al.(2002): "*Lactobacillus plantarum* 299V in the Treatment and Prevention of Spontaneous Colitis in Interleukin-10-Deficient Mice»:

Ces auteurs ont permis par leurs travaux de démontrer l'utilisation in vivo du probiotique *Lactobacillus plantarum* 299V dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine-10. En effet, ils ont utilisé des souris déficientes en Interleukine (IL)-10 qui développent une colite dans des conditions spécifiques en absence d'agents pathogènes (SPF) et restent indemnes de maladie si elles sont maintenues stériles (sans germe [GF]) (Schultz et al., 2002).

L'élevage des Souris non consanguines IL-10  $-/-$  (C57BL6  $\times$  129/Ola) sans germe obtenus à l'Université du Wisconsin par césarienne et un élevage GF (souris IL-10  $-/-$   $\times$  IL-10  $-/-$ ) a été réalisé dans une installation Gnotobiotique du Centre de Biologie GI et Maladie à la North Carolina State Université, Collège de médecine vétérinaire, Raleigh, Caroline du Nord. Les souris étaient génotype par amplification du gène IL-10 par PCR en utilisant amorces spécifiques de l'IL-10 murine (NucleicAcideCore Facilité, LinebergerComprehensive Cancer Center, Université ville de Caroline du Nord, Chapel Hill, NC, USA) ; ensuite, Les colonies de GF ont été logées dans des isolateurs à film flexible Trexler avec aliments autoclavés et eau à volonté. Ensuite, *Lactobacillus plantarum* 299v est cultivé sur MRS+sang à 37°C pendant la nuit sous conditions aérobies strictes et La suspension bactérienne a été lavé une fois dans une solution saline tamponnée au phosphate stérile (PBS, pH 7,5). Les souris ont reçu  $1 \times 10^9$  unités formant colonie (CFU)/ml dans de l'eau de boisson stérile. Les souris ont bu une moyenne de 5 ml d'eau/j, ce qui conduit à une consommation journalière d'environ  $5 \times 10^9$  UFC *L. plantarum*. Après une expansion de *L. plantarum* viable dans les 24 premiers heures dans l'eau potable, les comptes ont atteint un plateau de  $1 \times 10^{10}$  UFC/ml et est resté stable pendant au moins 72 heures. Par conséquent, les bouteilles d'eau dans les études réalisées dans le l'environnement SPF ont été changés tous les 2-3 jours pour garder la posologie stable (Schultz et al., 2002).

Par ailleurs, quatre protocoles Thérapeutiques différents sont utilisés par **Shultz et al., (2002)**; qui variaient les moments d'administration orale des *Lactobacillus plantarum 299v* (*L. plantarum*) par rapport à la colonisation par des bactéries SPF pour déterminer si *L. plantarum* pourrait prévenir et traiter la colite induite par les bactéries SPF dans l'IL-10<sup>-/-</sup> souris et évalué l'effet de cet organisme probiotique sur l'activation immunitaire des muqueuses. L'évaluation de la colite comprenait des scores histologiques en aveugle, des mesures des isotypes d'immunoglobulines coliques sécrétées, de l'IL-12 (sous-unité p40) et de la production d'interféron (IFN) par les cellules ganglionnaires mésentériques stimulées par anti-CD(**Schultz et al., (2002)**).

### **II.3. L'étude de Ajit sood et al.(2009):** The Prebiotic Preparation, *VSL#3* Induces Remission in Patients with Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis":

Ajit sood et ces collaborateurs. (2009), démontrent ici, une rémission chez des patients, atteints de Colite ulcéreuse légère à modérément active, par l'utilisation d'une préparation probiotique, *VSL#3*(**Ajit sood et al., 2009**).

L'étude a été menée dans 3 établissements de soins tertiaires centres en Inde du Nord entre juin 2005 et août 2007 ; sur des Patients adultes (18 ans) qui avaient des symptômes légers à modérés de colite ulcéreuse active (indice d'activité de la colite ulcéreuse [UCDAI] avec score (3-9) ; et un score sigmoïdoscopique minimum de 2) s'étendant à plus de 15 cm de la marge anale avec au moins une attaque de maladie active et aucun des participants n'avait d'infection entérique. Les patients étaient exclus s'ils avaient une maladie limitée au rectum, signes de maladie grave (UCDAI,10), infection entérique simultanée, utilisation de stéroïdes oraux au cours des 4 dernières semaines, utilisation d'antibiotiques au cours des 2 dernières semaines, modification de la dose de mésalazine au cours des 4 dernières semaines et utilisation de salazopéridine ou stéroïdes dans les 7 jours précédant l'entrée dans l'étude et les patients nécessitant une hospitalisation et un besoin imminent de chirurgie, les femmes allaitantes et enceintes, et celles qui ont reçu tous les médicaments expérimentaux dans les 3 mois ont été exclus. Patients présentant des troubles hépatiques, rénaux, endocriniens, respiratoires, les maladies neurologiques ou cardiovasculaires ont également été exclues (**Ajit sood et al., 2009**).

L'activité de la CU chez les patients a été évaluée à l'aide de l'UCDAI. Les L'UCDAI a été calculé par l'investigateur en ajoutant l'indice scores visuels des 4 paramètres : fréquence intestinale, saignement rectal, score endoscopique et évaluation de la gravité par le médecin. Le score de ces paramètres a été calculé individuellement en faisant la moyenne des scores des

3 derniers jours ; le score de saignement rectal et de fréquence des selles a été évalué en interrogeant le patient sur ses symptômes au cours de ces 3 derniers jours. Les patients éligibles ont été assignés au hasard, par bloc stratégique de randomisation, dans un rapport 1 :1, pour recevoir soit VSL#3 soit placebo deux fois par jour pendant 12 semaines. Quatre sachets de VSL#3 [Chaque sachet VSL#3 contenait 900 milliards de bactéries lyophilisées viables, dont 4 souches de *Lactobacillus* (*Lparacasei*, *L plantarum*, *L acidophilus*, et *L delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus*), 3 souches de *bifidobactéries* (*Blongum*, *B breve* et *B infantis*) et 1 souche de *Streptococcus thermophilus*], ont été administrés quotidiennement, équivalant à une dose de 3600 milliards de bactéries lyophilisées viables. Le placebo a été fourni en sachets identiques contenant de la poudre de maïs et le contenu des sachets a été administré aux patients par voie orale matin et soir en mélangeant le contenu du sachet dans un verre d'eau froide ou yaourt (**Ajit Sood et al., 2009**).

L'activité de la maladie individuelle a été évaluée à la visite de référence et après 6, 9 et 12 semaines. A chaque visite, un examen physique détaillé et une anamnèse ont été effectués. Tous les patients ont subi un examen de sigmoïdoscopique au départ, puis aux semaines 6 et 12. Tous les événements indésirables ont été documentés, et classés. Les dossiers d'activité quotidienne de la maladie ont été rédigés, par les patients qui ont reçu des fiches journalières pour évaluer et enregistrer leurs symptômes (fréquence des selles, saignements et douleur anale ou abdominaux (**Ajit sood et al., 2009**)).

La conformité des participants à la prise des médicaments à l'étude (VSL#3 et placebo) ont été évalués par des enquêteurs, qui ont compté les sachets utilisés et les sachets non utilisés que les patients étaient tenus d'apporter avec eux après les visites de dépistage (semaines 6, 9 et 12). Si l'état des patients se détériorait cliniquement, ils ont été retirés de l'étude et mis sous traitement médical standard. Dans ces cas, l'évaluation de l'activité de la maladie (y compris la sigmoïdoscopie), les événements indésirables et l'observance (sachet comptage) ont été effectuées. Les fiches quotidiennes ont été examinées et les symptômes ont été évalués sur une échelle de 0 à 3 (**Ajit sood et al., 2009**). Le critère d'évaluation principal était une diminution de 50 % de l'Indice d'activité de la colite ulcéreuse (UCDAI) à 6 semaines. Les critères d'évaluation secondaires comprenaient une rémission à 12 semaines et une réduction du total des paramètres UCDAI individuels par rapport à la ligne de base à 12 semaines et une analyse à l'intention des traitements a été réalisée (**Ajit sood et al., 2009**).

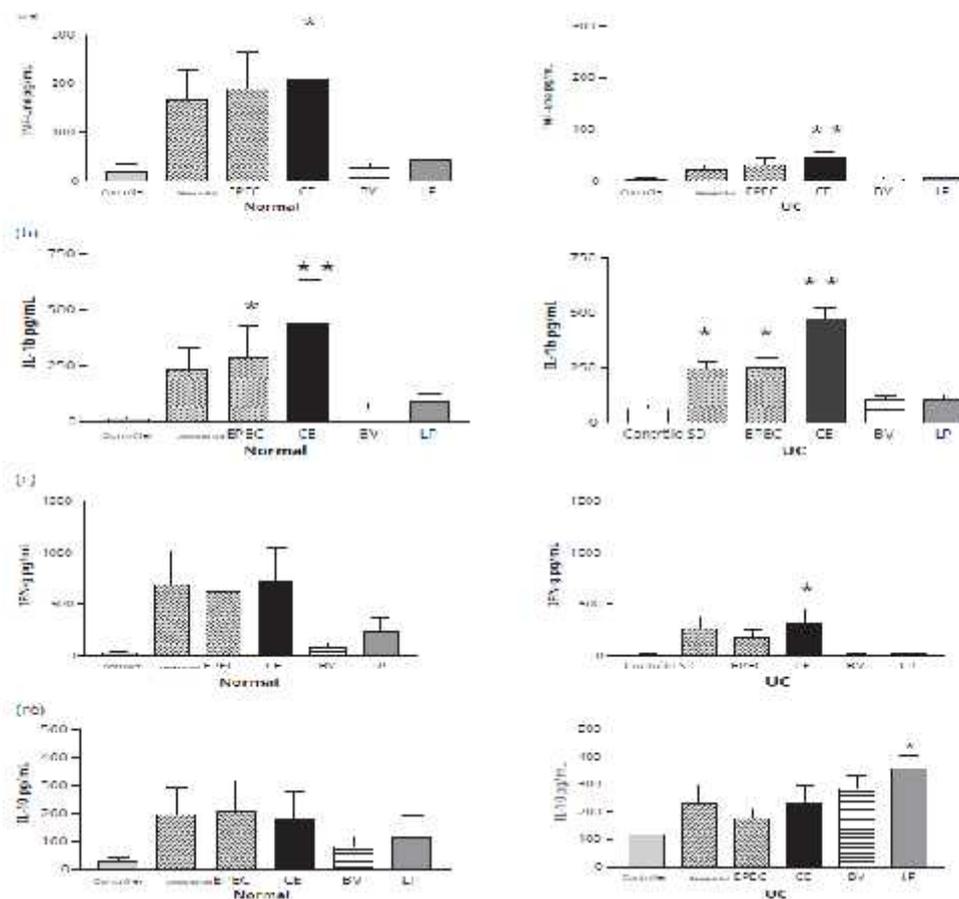
### III. Résultats et discussion :

Les différents résultats obtenus par les différents auteurs dans chaque article sélectionné, sont résumés et discutés ci-dessous ;

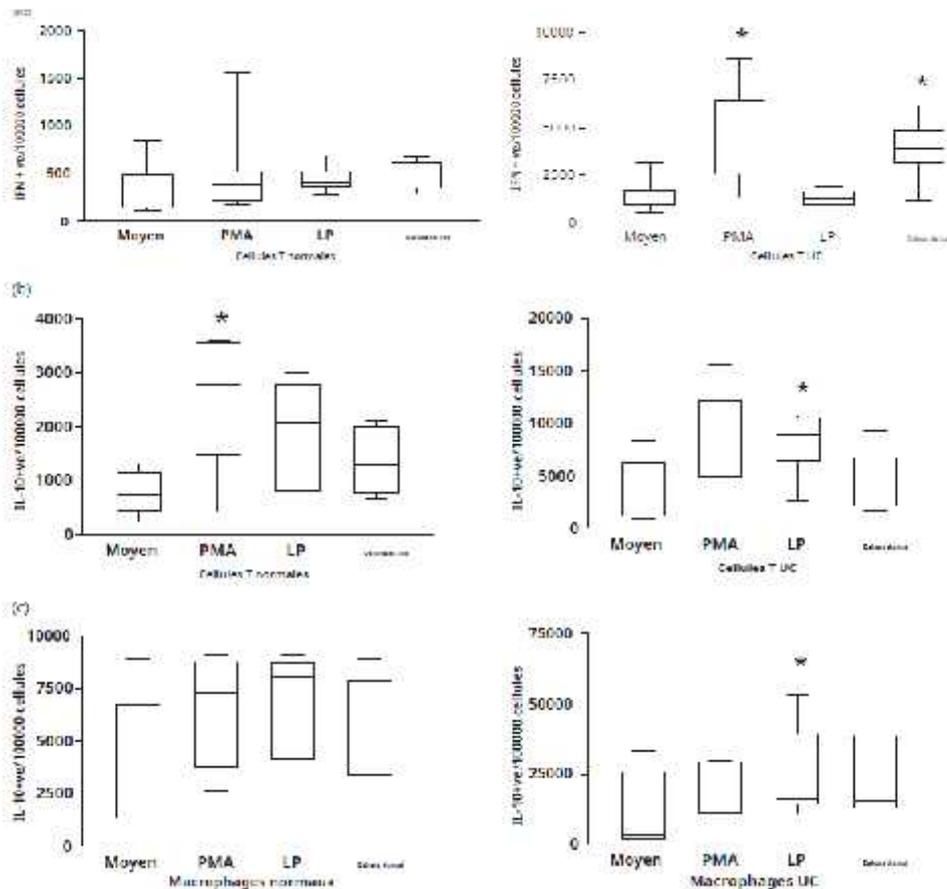
**A/ Les Résultats de Shri pathmakanthan et al. (2004)**, représentés dans la figure (**Fig.1**), montrent que dans les cellules mononuclées isolées de la muqueuse normale, il y a des augmentations significatives de l'IL-1 moyenne avec les entéro-pathogènes *Escherichia coli* ( $286,3 \pm 138,7$  pg/mL  $P < 0,05$ ) et *E. coli* ( $440,5 \pm 194,0$  pg/mL  $P < 0,01$ ) par rapport aux cellules témoins non stimulées ( $16,7 \pm 4,8$  pg/ml). En revanche, les cellules mononuclées isolées de la muqueuse active de la CU ont produit des augmentations significatives de l'IL-1 moyenne. b en réponse à une stimulation avec Salmonelle dublin ( $230,5 \pm 38,8$  pg/mL  $P < 0,05$ ), entéropathogène *E. coli* ( $231,7 \pm 45,3$  pg/mL  $P < 0,05$ ) et *E. coli* ( $465,4 \pm 60,2$  pg/mL  $P < 0,001$ ) par rapport aux cellules témoins non stimulées ( $60,7 \pm 17,1$  pg/ml). *Escherichia coli* également produit des augmentations moyennes significatives de TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$  par rapport aux cellules témoins non stimulées. Pas d'augmentation significative de l'IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  ou IFN- $\gamma$  ont été observés avec *Lactobacillus plantarum* dans des cellules dérivées de muqueuses normales ou enflammées. Étonnamment, l'incubation de *L. plantarum* avec des cellules mononuclées isolées de la muqueuse active de la CU a entraîné des augmentations significatives de l'IL-10 moyenne ( $327 \pm 53,5$  pg/mL,  $P < 0,05$ ) par rapport aux cellules témoins non stimulées ( $29,7 \pm 13,2$  pg/ml) (**Shri Pathmakanthan et al., 2004**).

Les résultats de la coloration intracellulaire des cytokines représentées par la figure (**Fig.2**), confirment la production de lymphocytes T et de macrophages IL-10 après stimulation par *L.plantarum*. En effet, aucune différence statistiquement significative n'a été détectée dans les lymphocytes T dérivés du côlon normal. Les lymphocytes T dérivés du côlon enflammé présentaient des augmentations statistiquement significatives de l'IFN- $\gamma$  intracellulaire coloration avec l'acétate de myristate de phorbol (PMA) (médiane 4040 IQR : 2614-6425,  $P <$

0,05) et *S. Dublin* ( médiane 3840 IQR : 3131–4825,  $P < 0,05$  ); et dans les lymphocytes-T dérivés du côlon normal, le PMA a produit une augmentation statistiquement significative de la coloration intracellulaire de l'IL-10 par rapport au témoin moyen (médiane 2793 IQR : 1479–3563,  $P < 0,05$ ), et les lymphocytes T du côlon enflammé, *L. plantarum* produit une augmentation statistiquement significative de la coloration IL-10 (médiane 8933 IQR : 6463–10547,  $P < 0,05$ ). Dans les macrophages dérivés du côlon normal, aucune augmentation statistiquement significative n'a été observée. Dans les macrophages du côlon enflammé, *L. plantarum* produit une augmentation statistiquement significative de la coloration IL-10 (médiane 15873 IQR:14210-39618,  $P < 0,05$ ) (Shri pathmakanthan et al., 2004).



**Figure 01** : mesure de la production de cytokines par des cellules mononuclées extraites de muqueuse colique normale et enflammée après Incubation de 48 h avec du sonicat bactérien pur. Les l'axe montre les concertations de cytokines pertinentes : (a) facteur de nécrose tumorale (TNF) une, (b) interleukine (IL)-1b, (c) interférisons (IFN) –g et (d) IL-10 en pg, /ml, et le x-l'axe indique les différents sonicats bactériens utilisés. Les données sont moyennes # erreur standard, n= 7 BV, *Bacteroides vulgates*, Ce, *Escherichia Coli*, EPEC, entropathogène. Article : *lactobacillus plantarum* 299 : Bénéfique in vitro immunmodulation dans des cellules extraites du côlon humain enflammé (Shri pathmakanthan et al., 2004).



**Figure02** : coloration intracellulaire des cytokines des lymphocytes T et des macrophages extraits du colon normal et enflammé après incubation avec des sonicats bactériens pur. les O l axe indique le nombre d'interféron ( IFN) –g ou interleukine (IL)-10 positives pour 100000 cellules, et le X l'axe montre les bactéries en comparaison avec l'acétate de myristate de phorbol (PMA) et le contrôle moyen. Les données sont illustrées dans des diagrammes à moustaches et à moustaches avec des barres horizontales indiquant les valeurs médianes et des cases illustrant interquartile. **Article** : *lactobacillus plantarum* 299 : Bénéfique in vitro immunomodulation dans des cellules extraites du côlon humain enflammé (**Shri pathmakanthan et al., 2004**).

Ces expériences ont été menées pour étudier les propriétés immunomodulatrices bénéfiques potentielles de *L. plantarum* dans le côlon enflammé. Les auteurs, **Shri pathmakanthan et al. (2004)** ont utilisé une procédure d'isolement cellulaire qui a permis la collecte de cellules muqueuses, y compris celles sous la membrane basale qui s'engageraient dans une interaction bactérienne in vivo et ex vivo. En effet, des chercheurs antérieurs du laboratoire des auteurs ont confirmé que cette collection de cellules était représentative des cellules totales de la lamina propria (**McAlindon et al., 1998**). Aussi des travaux antérieurs ont montré de faibles niveaux de ces cytokines chez des sujets atteints de CU; **MacDonald et al. (1990)** ont décrit la présence de TNF- $\alpha$  sécrétant des cellules dans seulement 50 % des tissus des enfants atteints de CU, tandis que **Gotteland et al. (1999)**, en utilisant des méthodes similaires en incubant des cellules

mononuclées du côlon avec le mitogène du pokeweed, ont observé des niveaux systématiquement plus bas de TNF- $\alpha$  dans le côlon UC. La sécrétion d'IFN- $\gamma$  chez les patients atteints de CU trouvée dans la présente étude a confirmé les résultats produits par **Gotteland et al.(1999) et Liebermann.(1988); (Shri pathmakanthan et al., 2004).**

Aussi, il est important de noter que les cellules mononuclées dérivées d'un côlon enflammé ont affiché des augmentations significatives de la production d'IL-10 après incubation avec *L. plantarum*. Cette augmentation n'était présente avec aucun autre sonicate bactérien et a démontré la capacité de ce probiotique à induire la sécrétion d'une cytokine de régulation négative dans un environnement d'inflammation excessive. Les présents résultats démontrent que les cellules mononuclées de la muqueuse colique humaine reconnaissent et répondent selon des schémas différents aux sonicats bactériens commensaux et pathogènes. Effectivement, L'interleukine-10 est une cytokine bénéfique dans un environnement d'inflammation inappropriée exerçant des effets immunosuppresseurs sur les cellules Th1 (**Farrell,2002**). Cette cytokine contre-inflammatoire est un puissant médiateur pour réduire l'activation des monocytes/macrophages et pour l'induction de la différenciation lymphocytaire (**DeWaal et al., 1991;Shri pathmakanthan et al., 2004**).

La coloration intracellulaire a confirmé la synthèse des cytokines par les cellules clés du système immunitaire et identifié leur source cellulaire. Avec IFN- $\gamma$  production, des augmentations statistiquement significatives ont été détectées dans les cellules T des cellules mononuclées UC lamina propria après incubation avec *S. Dublin*sonicats, confirmant une réponse Th1 attendue d'une bactérie pathogène contenant des lipopolysaccharides, ces constatations, se rapprochent des travaux d'**Ulisse et al.(2001)** qui ont démontré des réductions des cytokines pro-inflammatoires, de l'oxyde nitrique synthase et des métalloprotéinases matricielles et une augmentation des niveaux d'IL-10 dans les tissus obtenus à partir de poches enflammées après un traitement avec des probiotiques oraux (**Ulisse et al.,2001**). Donc la capacité de *L. plantarum* à induire des cellules de lamina propria mononuclées humaines pour produire des cytokines telles que l'IL-10 peut fournir à ce probiotique commensal un mécanisme pour réduire l'inflammation excessive au niveau de la muqueuse (**Shri pathmakanthan et al., 2004**).

### **B/ Les résultats obtenus par Schultz et al., (2002)**

Le Traitement SPF IL-10 $^{-/-}$  souris avec *L. plantarum* atténué l'inflammation colique précédemment établie, se manifestant par une diminution de l'IL-12, de l'IFN- $\gamma$  et de la muqueuse immunoglobuline G2a niveaux. Coloniser les animaux GF avec *L. plantarum* et la flore SPF

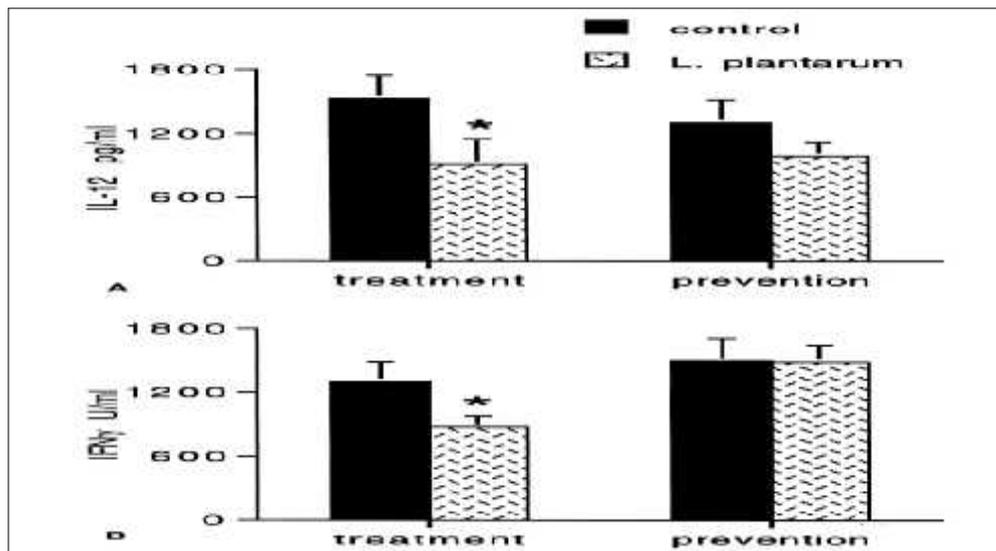
n'avaient simultanément aucun effet protecteur. A défauts, les Gnotobiotique IL-10<sup>-/-</sup> souris monoassociées à *L. plantarum* présentait une légère activation du système immunitaire mais pas de colite. Prétraitement des souris GF par colonisation avec *L. plantarum*, puis l'exposition à la flore SPF et la poursuite du traitement probiotique ont significativement diminué les scores de colite histologique (Schultz *et al.*, (2002).

Le score histologique variait entre les différentes sections du gros intestin ; cependant, les scores histologiques totaux du côlon, du rectum et du caecum dans l'IL-10<sup>-/-</sup> souris traitée avec *L. plantarum* légèrement amélioré, par rapport aux souris non traitées (*L. plantarum* souris traitées versus non traitées : score histologique colique total  $3,3 \pm 0,5$  versus  $4,8 \pm 0,8$  ;  $p < 0,07$ , score rectal  $2,1 \pm 0,4$  versus  $2,5 \pm 0,2$  ;  $p < 0,2$ , score caecal  $1,0 \pm 0,2$  versus  $1,6 \pm 0,3$  ;  $p < 0,08$ ). Cependant, la production spontanée d'IL-12 colique (un indicateur de l'activation des macrophages intestinaux) ainsi que la production d'IFN par les cellules MLN stimulées par anti-CD3 (un indicateur de la présence de T fonctionnel H1 lymphocytes) était significativement plus faible chez les souris traitées avec *L. plantaire* (Fig. 3).

De plus, la sécrétion d'IgG2a était significativement plus faible dans les surnageants de culture de fragments coliques de souris SPF traitées avec *L. plantarum* par rapport aux témoins non traités (Fig. 4A). Des quantités significativement plus faibles d'IgG1 coliques ont également été détectées dans *L. plantarum* souris SPF traitées (*L. plantarum* souris traitées versus non traitées :  $1,5 \pm 0,3$  versus  $2,9 \pm 0,6$  g/ml ;  $p < 0,02$ ). Les taux d'IgA étaient variables et non différents entre les groupes (Fig. 4B) (Schultz *et al.*, 2002).

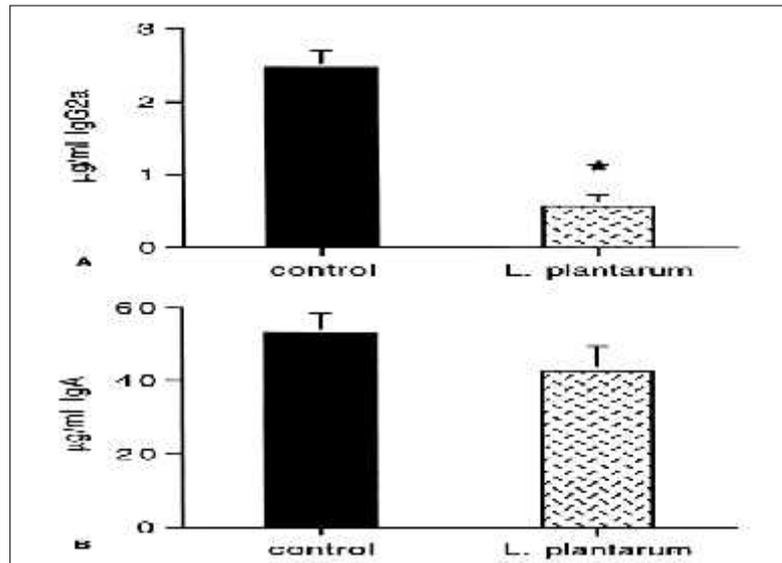
Et lors de l'activation du système immunitaire et le potentiel pro-inflammatoire de *L. plantarum*, les souris (GF IL-10<sup>-/-</sup>) ont été colonisées sélectivement par *L. plantarum*. *L. plantarum* n'a induit aucune preuve clinique ou histologique de colite et n'a conduit qu'à une activation minimale du système immunitaire et tous les paramètres mesurés des dix IL<sup>-/-</sup> souris gnotobiotique colonisées par *L. plantarum* pendant 1 ou 4 semaines avaient des valeurs de cytokine, d'immunoglobuline et d'histologie significativement inférieures à celles des souris colonisées par des bactéries SPF pendant 4 semaines ( $p < 0,02$  à  $p < 0,0002$ ) (tableau 1) (Schultz *et al.*, (2002).

En effet, L'administration de *L. plantarum* 299v conduit à moins de diarrhée dans tous les groupes; cependant, il n'y a eu aucun changement significatif dans le poids corporel ou le pH des selles, ces résultats se rapprochent des observations faites par **Kuhn et al.(1993)** et **Sellon et al.(1998)**, ou la colite qui s'est développée spontanément dans le SPF de souris (IL-10<sup>-/-</sup>), n'étaient pas associées à une inflammation dans d'autres parties du tractus gastro-intestinal telles que l'estomac, le duodénum, l'intestin grêle et le foie, mais elles sont plus importantes dans le rectum lorsqu'elles sont colonisées à la naissance et dans le caecum lorsque les souris GF ont été colonisées à l'âge adulte (**Kuhn et al.,1993**; **Sellon et al.,1998**; **Schultz et al., (2002)**).

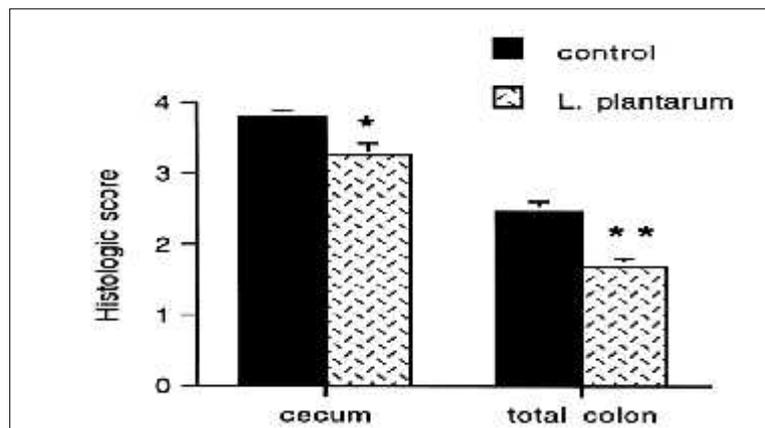


**Figure 03** :Sécrétion de cytokines des l'interleukine (IL)-10 sans agent pathogène spécifique (SPF)-/- Souris recevant lactobacillus plantarum dans les protocoles de prévention et de traitement.L.plantarum (1x10<sup>9</sup> unités formatrices de colonies (UFCJ)/ ml dans l'eau de boisson) a été administré quotidiennement à un SPF IL -10 âgé de 10 à 12 semaines -/- souris pendant 4 semaines (traitement) ou quotidiennement pendant 4 semaine en commençant au moment de la colisation de l'IL -10 sans germe-/- souris avec des bactéries.(SPF) Les souris n'ont reçu que de l'eau. UNE : production spontanée d'IL-12 (p40), mesurée par dosage immuno-enzymatique dans des fragments de muqueuse colique cultivés non stimulés de souris traitées et témoins. Les valeurs représentent #SE dIL -12 pg/ml de culture contenant 100 mg de tissu colique. \*p< 0.05 par rapport aux souris témoins non traitées B : Interféron

(IFN). **Article** : *lactobacillus plantarum* 299v dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine-10 par Schultz. (**Schultz et al.,( 2002)**).



**Figure 04 :** Ig G2 a (UNE) et IgA (B) production sue le protocole de traitement étudié sur la figure 03, mesurée dans des fragments de muqueuse colique non stimulés cultivée par dosage immuno -enzymatique. Les valeurs représentent la moyenne # ET d'Ig par ml de culture contenant 100 mg de tissu colique. \*p< 0.0001 versus contrôle, animaux non traités. **Article :** *lactobacillus plantarum* 299v dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine - 10 par Schultz. (Schultz *et al.*, (2002).



**Figure 05 :** scores histologiques en aveugle après colonisation de l'interleukine gnotobiotique (IL) -10 souris avec *lactobacillus plantarum* 299 v pendant 2 semaines avant le transfert dans un environnement spécifique exempt d'agent pathogène (SPF) avec l'administration quotidienne de *L. plantarum* 299 v ( $1 \times 10^9$  unités sans colonie (CFU) dans l'eau potable) pendant 4 semaines par rapport à l'IL -10 sans germe/-/ souris colonisées par des bactéries SPF et recevant pas *L. plantarum* (contrôle). **Article :** *lactobacillus plantarum* 299v dans le traitement et la prévention de la colite spontanée chez les souris déficientes en interleukine -10 par Schultz. (Schultz *et al.*, (2002).

**Tableau 02 : Paramètres inflammatoires intestinaux après colonisation d'interleukine -10 sansgerme -/- souris avec *lactobacillus plantarums* 299v. (Schultz *et al.*, (2002).**

	GF IL-10 :	<i>L. plantarum</i> semaine	<i>L. plantarum</i> 4 semaines	SPF IL-10 4 semaines
Nombre de souris	5	3	3	4
Score histologique total du côlon IL-12 (µg/ml/0,1 g de tissu colique)	0	0	0	4,8 ± 0,8
IgG <sub>A</sub> (g/ml/0,1 g de tissu colique)	79 ± 3	351 ± 125	198 ± 34	1523 ± 238
IgA <sub>1</sub> (g/ml/0,1 g de tissu colique)	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01	2,0 ± 0,4
IgA <sub>2</sub> (g/ml/0,1 g de tissu colique)	1,2 ± 0,2	0,5 ± 0,09	2,9 ± 0,7	58,2 ± 3,4

... Les valeurs représentent le moyen ± SE  
 \*p < 0,05 vs GF IL-10  
 †p < 0,05 vs *L. plantarum* 4 semaines  
 GF, sans germe; SPF, sans agent pathogène spécifique; IL, interleukine.

L'efficacité clinique des agents expérimentaux dans les MII humaines est mieux corrélée avec l'activité thérapeutique dans les modèles animaux qu'avec la capacité de prévenir l'apparition d'une inflammation expérimentale. Une explication possible du manque de prévention est que dans le protocole où *L. plantarum* et les bactéries SPF sont utilisées pour coloniser simultanément les souris GF, le système immunitaire muqueux a été soudainement confronté à jusqu'à 400 espèces bactériennes différentes. Les effets positifs des lactobacilles ont peut-être été dépassés par les effets inflammatoires plus agressifs d'autres constituants luminaux. Cette hypothèse est étayée par observation selon laquelle la colonisation initiale d'IL10 stérile-/- des souris avec des lactobacilles, suivies 2 semaines plus tard d'une exposition à la flore SPF ont eu un effet plus prononcé dans l'atténuation de la colite en développement (Schultz *et al.*, (2002).

Ces résultats se rapprochent de plusieurs autres études. En effet, une prévention réussie de la colite chez les jeunes souris (SPF IL-10-/-) par des espèces indigènes de *Lactobacillus* a déjà été démontré par Madsen *et al.* (1999). Cependant, il existe plusieurs différences qui rendent la présente étude unique en ce qui concerne une utilisation clinique proposée des lactobacilles dans le traitement des MII. (Schultz *et al.*, (2002).

Aussi pour tester la capacité d'un agent probiotique à prévenir et à traiter la colite expérimentale, une souche de *Lactobacillus* bien définie à une concentration définie est utilisée pour une administration orale quotidienne dans l'eau potable dans cette étude contrairement au protocole

d'un lavement rectal et d'un écouvillonnage anal quotidien avec des endogènes murins *L. reuteri* réalisé par **Johansson et al., (1993)** (**Schultz et al., (2002)**).

Le ou les mécanismes possibles par lesquels les bactéries probiotiques modulent le processus inflammatoire ne sont toujours pas clairs. Une possibilité évidente est un effet local causé par des interactions entre des espèces de lactobacilles et d'autres constituants de la flore liminale ou des cellules épithéliales intestinales. Certaines espèces bactériennes non pathogènes peuvent exercer un effet régulateur des réponses immunitaires épithéliales par inhibition de l'ubiquitination I B (**Neish et al.,2002**) mais ce mécanisme n'a pas été prouvé pour les microorganismes probiotiques. **Mack et al., (1999)**, fourni des preuves in vitro que les probiotiques inhibent les entéropathogènes *E. coli* adhérence aux cellules épithéliales en induisant l'expression du gène de la mucine intestinale (**Mack et al.,1999;Schultz M. et al., 2002**).

Le but de **Schultz et al., (2002)** était de déterminer si l'administration orale de *L. plantarum* 299v pourrait traiter l'hyperplasie muqueuse causée par l'infiltration de cellules et stimulation du système immunitaire muqueux avec des niveaux élevés d'IL-12 dans le côlon et une augmentation de la sécrétion d'IFN par les cellules MLN stimulées par anti-CD3; et ces résultats démontrent que *L. plantarum* peut atténuer la colite à médiation immunitaire et suggérer un rôle thérapeutique potentiel pour cet agent dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (**Schultz et al.,( 2002)**).

### **C/ Les résultats des travaux de Ajit Sood et al., (2009):**

Concernant la sélection des participants qui était basée sur l'état de santé de chaque personne et selon les critères choisis pour l'étude ; sur 187 participants, 40 n'ont pas pu être inclus car 18 ne répondaient pas aux critères de l'étude et 10 ont refusé de participer. Alors, 147 patients ont été randomisés, 77 ont reçu VSL # 3 et 70 ont reçu un placebo (figure supplémentaire 06) dont 55 patients du groupe VSL # 3 et 29 du groupe placebo ont pu terminer l'ensemble de l'étude. En effet, les 22 patients qui se sont retirés du groupe VSL # 3, 17 ont présenté une aggravation des symptômes et 05 ont été perdus de vue lors de l'évaluation de suivi. Aussi dans le groupe placebo, 13 patients ont été perdus lors de l'évaluation de suivi et 28 patients ont arrêté traitement (aggravation de la maladie chez 18 patients, non-observance chez 03 patients et autres raisons chez 7 patients). (**Ajit sood et al., 2009**).

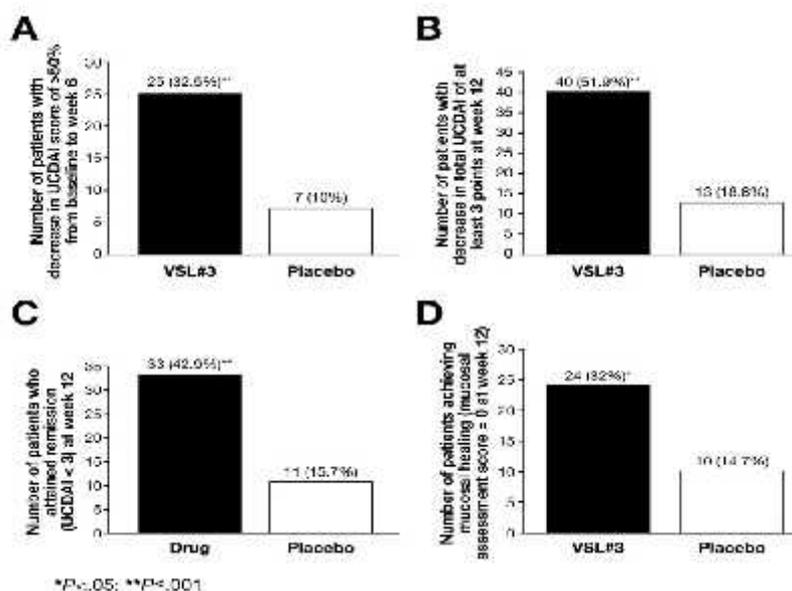
La comparaison des caractéristiques démographiques et cliniques tels que l'âge, le sexe, le nombre de poussées antérieures, l'étendue de stéroïdes ou d'immunosuppresseurs a permis de différencier les différents groupes une étude pour le bon suivi du protocole. En effet, l'UCDAI médiane de base dans les groupes VSL # 3 et placebo était de 6 (intervalle, 4-8) et 6 (intervalle 3-9) respectivement. 74 (96%) et 62 (88.5) patient recevaient des composés de mésalamine seuls ou en association avec de l'azathioprine dans les groupes VSL #3 et placebo, respectivement. Bien que 69 (89.6%) patients ne recevaient que du composé de mésalamine (dose médiane, 2400 mg) dans le VSL # 3 27 (67.1%) dans le groupe placebo étaient sur le composé mésalaminie (dose médiane, 2400 mg) seul. Les patients (15[21.4%] VS 5 [6.4%]) recevaient une combinaison de mésalamine et d'azathioprine dans le placebo en tant que groupe combiné. Paré avec le groupe VSL # 3 (p=01) vingt-deux patients du groupe VSL # 3 et 24 patients du groupe placebo avaient été exposés plus tôt aux contrecoude (PNS) (Ajit Sood et al., 2009).

**Tableau03: Caractéristiques démographiques et de base (Ajit sood et al., 2009).**

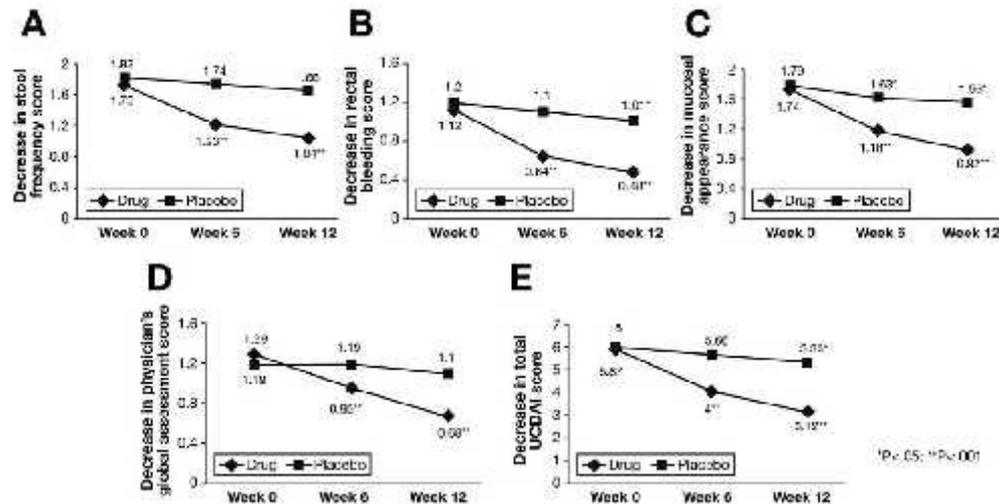
Characteristics	VSL#3 (n = 77)	Placebo (n = 70)	P value
Sex, male:female	43:3 (56%:4%)	45:25 (64%:36%)	.297
Age, y, mean ± SD	39.8 ± 13	38.3 ± 12.5	.472
Weight, kg, mean ± SD	60.3 ± 10.7	58.9 ± 12.4	.481
Height, cm, mean ± SD	164.4 ± 7.9	165.2 ± 8.4	.551
Number of previous relapses, mean ± SD	2.24 ± 1.05	2.3 ± 1	.119
Disease extent, no. of patients (%)			
Proctosigmoiditis	38 (49.3)	28 (40)	.138
Left-sided colitis	21 (27.2)	28 (37.1)	
Panocolitis	18 (23.3)	16 (22.8)	
Extraintestinal manifestations, no. of patients (%)			
Joints	12 (15.9)	16 (22.9)	.351
Skin	2 (2.6)	2 (2.9)	
Eyes	2 (2.6)	0 (0)	
Hepatic	0 (0)	0 (0)	
Joints and skin	1 (1.3)	0 (0)	
Joints, skin, and eyes	2 (2.6)	0 (0)	
None	57 (75)	52 (74.2)	
Concomitant medications, no. of patients (%)			
Mesalamine (whether alone or in combination with immunosuppressants)	74 (96)	62 (88.5)	.3
Mesalamine compounds alone	69 (89.6)	47 (67.1)	.002
Mesalamine + immunosuppressants	5 (6.4)	15 (21.4)	.01
Immunosuppressants alone	1 (1.3)	1 (1.43)	.7
No medications	2 (2.6)	7 (10)	.06

## Partie 02: Analyse d'article

Concernant l'essai clinique, le nombre de patients avec une diminution du score UCDAI de 50% ou plus entre le début de l'étude et la 6<sup>ème</sup> semaine ; un nombre significativement plus élevé de patients sous VSL #3 a présenté une amélioration du score UCDAI d'au moins 50% à la semaine 6 par rapport à ceux qui ont reçu le placebo (**figure 06A**). En effet, à la semaine 6, le pourcentage de patients avec une amélioration du score UCDAI supérieure à 50 % était significativement plus élevé dans le groupe recevant VSL#3 (25 ; 32,5 %) que le groupe recevant le placebo (7 ; 10 %) (P .001). Ensuite, À la semaine 12, 33 patients ayant reçu VSL#3 (42,9%) ont obtenu une rémission, contre 11 patients ayant reçu un placebo (15,7%) (P 0,001). De plus, un nombre significativement plus élevé de patients ayant reçu VSL#3 (40 ; 51,9%) ont obtenu une diminution de leur UCDAI supérieure à 3 points, par rapport à ceux ayant reçu un placebo (13 ; 18,6%) (P 0,001). De même Le groupe VSL#3 présentait des diminutions significativement plus importantes des scores UCDAI et des symptômes individuels aux semaines 6 et 12, par rapport au groupe placebo  $P < 0.001$  (**figure 06**) (Ajit sood *et al.*, 2009).



**Figure06** : diagrammes à barres montrant le (A) Nombre de patients présentant une diminution du score UCDAI de plus de 50% par rapport à l'inclusion à la semaine 6 (B) nombre de patients avec une diminution de l'UCDAI total d'au moins 3 points à la semaine 12 (C) nombre de patients ayant atteint une rémission (UCDAI<3) à la semaine 12, et (D) nombre de patients ayant atteint la cicatrisation de la muqueuse (évaluation de la muqueuse de 0 à la semaine12).**Article:**The Probiotic Preparation, VSL#3 Induces Remission in Patients with Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis.(Ajitsood *et al.*, 2009).



**Figure07** : diagrammes de ligne montrant la diminution de (A) score de fréquence des selles(B) score de saignement rectal (C)score d'apparence de la muqueuse, (D) score d'évaluation globale du médecin et (E) score d'activité de la maladie CU au départ, à la semaine 6 et à la semaine 12 dans les groupes VSL # 3 et placebo. **Article:**The Probiotic Preparation, VSL#3 Induces Remission in Patients with Mild-to-Moderately Active Ulcerative Colitis.(Ajit sood et al., 2009).

Le taux de cicatrisation de la muqueuse (score d'aspect de la muqueuse 0) à la semaine 12 était significativement plus élevé chez le patient du groupe VSL # 3 par rapport au groupe placebo (24 [32%] VS 10 [14.7],  $P < 0.28$  (figure 06D). Aussi, un nombre significativement plus élevé (88.6%) de patients dans le groupe placebo démontre des échecs de traitement définis comme l'échec à réduire l'UCDAI total d'au moins 50% d'au moins 3 points par rapport au départ à  $P = 0.001$ (Ajit sood et al., 2009).

Par ailleurs, les mesures des résultats primaires et secondaires de l'effet de VSL #3 sur les patients atteints de RIS et de colitis/ pan colites, ont montré qu'il n'y avait pas de différences dans le taux de réponse/ rémission pour ces 02 groupes (tableau 3).Enfin ; aucun événement indésirable majeur n'a été signalé dans l'un ou l'autre des 02 groupes quatorze (18.2%) patients sous VSL # 3 ont signalé des ballonnements abdominaux et un gêne au cours des premiers jours et 7 de ces patients ont également ressenti un goût désagréable dans la bouche pendant l'administration du médicament du médicament à l'étude(Ajit sood et al.,2009).

**Tableau04 : Effet du VSL # 3 sur les patients atteints de rectosigmoidite et de colite/ pancolite gauche.(Ajit sood et al., 2009).**

End points	Proctosigmoiditis,		Left sided colitis		P value
	n	38 (49.3%)	n	39 (50.5%)	
No. of patients with decrease in UCDAI score of $\geq 50\%$ from baseline to week 6	12	(31.6%)	13	(13.3%)	.08
No. of patients with decrease in UCDAI score of $\geq 3$ points from baseline to week 12	22	(57.9%)	18	(46.2%)	.13
No. of patients who attained remission (UCDAI 0–2) at week 12	17	(44.7%)	16	(41%)	.7
Mucosal healing at week 12	13	(34.2%)	11	(28.2%)	.5

Selon **Ajitsood et al. (2009)**, l'utilisation de la thérapie VSL #3 conventionnelle a entraîné une réponse clinique immédiate et efficace, car il a été démontré qu'elle réduisait la fréquence des selles et les saignements. Cela indique l'efficacité des probiotiques et ces résultats se rapproche des résultats de **Rembachen et al. (1999)**, qui ont mené des expériences utilisant *E. Coli Nissal 1917* et de la mésalamine sur les participants et ont pu avoir une réduction significative des fréquences de selles ainsi qu'une diminution significative du sang dans les selles et le taux de rémission a atteint 68% à la semaine 4 en utilisant VSL # 3; mais malgré ces résultats très significatives, l'utilisation de ce probiotique restait insuffisante pour les patients atteints de UC active (**Rembachen et al., 1999**); par contre l'étude de **Ajit sood et al.,(2009)**, montre que le Cocktail probiotique VSL#3 avec de la mésalazine améliore mieux les symptômes des patients après des semaines d'atteintes, car VSL # 3 agit en synergie avec le médicament peut-être pour inhiber les médiateurs inflammatoires tels que : leukotriens, prostaglandins et plateletantivating qui cause UC. Cette action fait que le probiotique modifie les mécanismes du système immunitaire muqueux (**Ajit sood et al., 2009**).

En effet, Les probiotiques améliorent l'inflammation via un certain nombre de mécanismes, notamment l'altération du système immunitaire muqueux, exclusion compétitive des agents pathogènes pro-inflammatoires et production de facteurs antimicrobiens tels que les bactériocines et autres métabolites (**Sartor et al., 2001**) (**Schlee et al., 2008**).

Un type (par exemple, VSL#3) pourrait être plus efficace qu'un autre parce que les propriétés spécifiques à la souche pourraient influencer l'efficacité dans différents cas et situations (**Fedorak et al., 2008**) (**Chapman et al., 2006**),

De plus, il a été démontré in vitro que VSL # 3 régule à la hausse et augmente la sécrétion de mucus après ingestion, qu'il survit dans un environnement acide, à la barrière des sels biliaires, qu'il colonise l'intestin et qu'il module l'expression du gène MUC. Aussi l'utilisation de VSL # 3 augmente la cytokine anti-inflammatoire et inhibe la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. (Facteur  $\alpha$ , interféron  $\gamma$  et IL-1  $\beta$ ).

<sup>11,30</sup>(Lammer et al., 2003)

Il a également été montré que L'ADN génomique d'une souche traitée par VSL#3 augmentait la sécrétion d'IL -1, ce qui réduisait et inhibait la colite (**Madsen et al., 2001**) et que l'IL -10 réduisant la nécrose tumorale(**Ajit sood et al.,2009**).

Bien que le mécanisme d'action précis de VSL#3 ne soit pas connues, des études in vivo et in vitro ont montré que VSL#3 module la réponse immunitaire de l'hôte, améliore la fonction de barrière épithéliale, et augmente la production de mucus (**Ajit sood et al.,2009**).

En effet ; après ingestion, les souches VSL#3 sont capables de survivre à l'acidité gastrique et à la barrière des sels biliaires et de coloniser l'intestin (**Sartor et al., 2001**), (**Schlee et al.,2008**).

Il a été démontré que VSL#3 modifie l'expression des gènes MUC et la sécrétion de mucus en améliorant l'expression des gènes et des protéines MUC2, MUC3 et MUC5 dans les cellules épithéliales intestinales en culture (**Ajit sood et al., 2009**).

# **CONCLUSION**

### Conclusion :

Les probiotiques permettent d'apporter, un soutien immunitaire, une barrière de défense contre des agents pathogènes, et une aide pour la flore intestinale locale en vue de se repeupler, en vue des études croissantes intéressantes sur les probiotiques dans le maintien de l'équilibre de la flore intestinale (**Atia, 2016**).

En effet, la microflore intestinale constitue une cible thérapeutique séduisante dans les MICI notamment dans la perspective d'un traitement préventif. La modulation de la microflore par l'utilisation des probiotiques est sans doute une approche plus physiologique et plus écologi que que l'utilisation d'antibiotique. Il apparaît donc nécessaire de continuer d'explorer ce champ d'investigation en poursuivant un double but : mieux comprendre les mécanismes qui impliquent la microflore dans la pathogénicité des MICI et mieux définir la ou les bactéries candidates à une thérapie ciblée (**Philippe Seksiki, 2007**).

Les probiotiques pourraient être efficaces dans le traitement des symptômes de la maladie de Crohn et pour le traitement de colite ulcéreuse. En effet **Shri Pathmakanthan et ces collaborateurs (2004)** , ont démontré que *Lactobacillus plantarum 299* présente une activité immunomodulatrice bénéfique en augmentant la synthèse et la sécrétion d'IL-10 dans les macrophages et les cellules T dérivées du côlon enflammé. Cela peut fournir un mécanisme par lequel les bactéries probiotiques améliorent l'inflammation inappropriée et induisent une tolérance. De plus **Shultz et al. (2002)**, démontrent que *L. plantarum 299V* peut atténuer la colite à médiation immunitaire et suggérer une utilisation thérapeutique potentiel dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Aux finales, dans l'étude de **Ajit Sood et al. (2009)**, la VSL#3 a entraîné une diminution de 50 % de l'UCDAI à la semaine 6 et une rémission clinique à la semaine 12 chez un nombre significativement plus élevé de patients atteints de RCH active légère à modérée que le placebo. En effet, concernant la RCH, plusieurs études ont constaté que *Bifidobacterium spp.* Et *L. acidophilus*, VSL#3 ou encore LGG étaient bénéfiques, de manière égale, à la mésalazine pour le traitement des formes légères à modérées, en diminuant les rechutes ou en augmentant l'intervalle sans rechute (**Ajit Sood et al., 2009**). Dès lors il est possible de recommander l'utilisation des probiotiques dans les formes légères à modérées de RCH, par contre il n'existe actuellement aucune preuve qui appuie l'utilisation des probiotiques pour le traitement de la maladie de Crohn active ou pour son maintien en rémission (**Ajit Sood et al., 2009**).

**REFERENCES**  
**BIBIOGRAPHIQUES**

### Références Bibliographiques

#### -A-

- (Anonyme, 2010). [www.orphanet.fr](http://www.orphanet.fr) / [www.orpha.net/patho/Pub/fr/rectocolohem-ERfrPuB34V01.pdf/Août2010](http://www.orpha.net/patho/Pub/fr/rectocolohem-ERfrPuB34V01.pdf/Août2010)
- (Anonyme.2012). [www.miciconnect.com](http://www.miciconnect.com) / <http://www.afa.asso.fr/categorie/mediatheque/fichethematiques.html> .
- **Alfaleh K, Anabrees J. (2014).** Probiotic for prevention necrotizing enterocolitis in preterm infant. Cochrane Database Syst CD 005496. Doi : 10. 1002/14651858 Pub4. Pub Med PMID : 24723255.
- **Alfaleh K, Anabrees J. (2014).** Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. Cochrane Database Syst.
- **Atia A. (2016).** Développement d'une matrice prébiotique pour l'encapsulation des probiotiques bactériocinogène. Destinée à l'alimentation animale de la physiochimie à la biopharmacie. thèse de doctorat. Université de Lavale. Québec, Canada.

#### -B-

- **Bannwath DJ, Masresha B, Makonnen E et al., (2016).** In-vivo anti-inflammatory activities of *ocimum suave* in mice. Journal of Ethnopharmacology.

#### -C-

- **Carroll JF, Eukla, cgiapa AL, P helps DR et al., (2007).** Impact of race lethnicity on the relationship between visceral fat and inflammatory biomarkers. 17 : 1420-1427.
- **Cavaillon, white M. (1993).** Mediators of inflammations and the inflammatory process. 103, 3,2.
- **Champen TM, Plosker GL et al., (2006).** VSL #3 probiotic mixture. A review of its in chronic. 66 : 1371- 1387.
- **Chapman TM, Plosker GL, Figgilt DP. (2006)** VSL # 3 Probiotic mixture : a review of its use in chronic inflammatory bowel disease. Drug. 66 : 1371-1387.
- **Chauvière G, Coconnier M-H, Kernéis S et al., (1992).** Adhesion of *Lactobacillus acidophilus* strain LB to human enterocyte like caco-2 cells. J Gen Microbiol. 138 : 1689-96.
- **Chermesh I et shamir R. (2009).** Rôle du microbiote dans les maladies inflammations de l'intestin «Annales Nestlé». Ed 67 (1) : 27-38.
- **Chiquette J. (2009).** Evaluation of the protective of probiotics Fed to dairy cows during a subcutaneous acidosis challenge. Anim. Fed SCI Technol. 153 : 278-291.

-D-

- **Da Silva S. (2013).** Conséquences d'un stress chronique sur la barrière de mucus intestinal chez le rat : effet du probiotique *Lactobacillus forsiminis*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. Institut National des sciences Appliquées de Toulouse (INSA de Toulouse).
- **Dewall R, Abrams J, Bennett B, figdor C. (1991)** .l'interpeukine 10 inhibe la synthèse des cyttokines par les momocytes humains. Un rôle autorégulateur de l'IL-10 Produite par les monocytes. 174 : 1209-20.

-E-

- **EFSA (2009),** Panel on BiologicalMazards (BIOMAZ) scientific opinion on the maintenance of the liste of QPS biological agents intertionallyadded to Food and Feed. 11(11) : 344.
- **Espinosa F, Chillet et al., (2006).** carragenine- inducededemaind-Paw of rat as an assay for anti-inflanmatorydrug. Jurnal of pharmacology and experimentalIherapeutics. 141 : 369-373.
- **Ezzariga N. (2015).** Probiotique : Applications thérapeutiques et effets secondaire. Thèse de doctorat. Université de Mohamed V de Rabat. Maroc.

-F-

- **FAO/WHO. (2002).**Workig group report on drafting cruidelines for the Evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada. April 30 and May 1.
- **FAO/WMO (2002).** (Food and Agriculture organization of the United Nations/ World Meath organization). Guidelins for the Evaluation of Probiotic in Food. London ortario. Canada.
- **Farrell RJ, poivre MA. (2002).** Rectocolite hémorragique. Lancette 359 : 331 -40.
- **Fedorak RN, Dieleman LA. (2008).** Probiotic in the treatment of humaninflammatoryboweldiseasees. 42 : 597- S103.
- **Festy D. (2009).** Nous avons tous besoin de probiotiques et de prébiotiques. Editions leduc. S.
- **Foling B, Zoumpopoulou G, Dewulf J, Ben Younes A, Chareye F et al., (2007).** Akey rôle of dendriticcells in probioticfunctionafty. PLOS one .2 :e 313.
- **Frenzel GF, Hermine JC et al., (2013).**Inflammatorybeweldisease. Clinical aspects and established and evolvingtherapies. Lancet. 369 : 1641-57.

-G-

- **Genelet, Tanno G.W (1997).** Analysis of the intestinal microflora a renaissance. *Antonie van Leeuwenhoek* 76 : 265-78.
- **Gotteland M, Lopez M, Munoz C et al., (1999).** Local et système libération témique de Cytokines Pro-inflammatoires dans la rectocolite hémorragique. *Creuser. Dis.* 44 : 830-5.
- **Guarner F, Khan, A.G, Garisch J, Gangl A, Eliakim R, Gang A, le Mair T. (2008).** World Gastroenterology organisation practice Guideline. World Gastroenterology organisation.
- **Guarner F, Schaafsma G J. (1998).** Probiotics, *International Journal of Food Microbiology.* 39 (3) : 237-238.

### -H-

- **Henzen, Marzia Sichi, Rita pagioti. (2003).** Anti –inflammatory effect of multi-strain probiotic formulation. *Nutrition* .16 : 138-166.

### -I-

- **I maoka, salmines S et yokoyama K et al. (2008).** « probiotic ». *Best Practice research clinical Gastroenterology* 18(2) : 299-313.

### -J-

- **Johansson ML, Molin G, Jansson B et al., (1993).** Administration de différents lactobacilles souches dans la soupe d'avoine fermentée. Colonisation in vivo. *Appl Environ Microbiol.* 59 : 15-20.

### -K-

- **Khan, Amsari, Asehnoune K et al., (2007).** Réponse inflammatoire et polytraumatisme mise au point réammation. 15 : 568- 575.
- **Kitajima S, Takuma S, Morimoto M, (2001).** Tissue distribution of dextran sulfate sodium (DSS) in the acute ulcerative colitis (CU) sulfate sodium (DSS) in rats (II). *Vol 105. P : 145-152.*
- **Klaenhammer A.C, Madhukumar PM, Halami. (2007).** Anti inflammatory potential of probiotic lactobacillus SPP. On carrageenan induced paw edema in wister rats *international journal of probiotic lactobacillus SPP. On carrageenan induced paw edema in wister rats international of biological* .8 : 937- 941.
- **Kruis W et al., (2001)** Maintenance of remission in ulcerative colitis is equally effective with *Escherichia coli* Nissle 1917 and with standard mesalazine *Gastroenterology* 120 : A139.

- **Kuhn R, Lochier J, Renrick D et al., (1993).** Les souris déficientes en interleukine-10 développent une entérocologie chronique. 75 : 263-74.

### -L-

- **Laffargue Coralie. (2015).** Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologie et conseils en officine. Thèse D'exercice 2015/TOU3/2008 pour le diplôme d'Etat de docteur en Pharmacie présentée et soutenue par le 21 janvier 2015 P44-45.
- **Lammers KM, Brigidi P, Vitall B et al., (2003).** Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA : IL -1 and IL -10 response in human peripheral blood mononuclear cells .FEMS Immunol Med Microbiol. 38 :165-172.
- **Lee ; J.M et al., (2008),** Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 Signaling in intestinal epithelial cells. Nat cell Biol. 8 (12) : P 1327-36.

### -M-

- **MacDonald TT, Hutchings P, Coy MY, Murch S, Cooke A. (1990).** Production de facteur de nécrose tumorale alpha et d'interféron gamma mesurée au niveau d'une seule cellule dans l'intestin humain normal et enflammé. Clin. EXP ; 81 : 301-5.
- **MacDonald TT, Hutchings P, Coy My, Much S, Cooke A. (1990).** production de facteur de nécrose tumorale alpha et d'interféron gamma mesurée au niveau d'une Seule cellule dans l'intestin clin, Exp.81 : 301 -5.
- **MacDonld TT, Hutchigs P, CoyMy, Much S, Cooke A. (1990).** Production de facteur de nécrose tumorale alpha et d'interféron gamma mesurée au niveau d'une Seule cellule dans l'intestin clin, Exp.81 : 301-5.
- **Mack DR, Mchall S, Wel S et al., (1999).** Les probiotiques inhibent les entéropathogènes E. coli in vitro. Swiss J physiol. 270 : G 941-50.
- **Madsen K, Cornish A, Soper P et al., (2001).** Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. Gastroenterology. 121 : 580-591.
- **Madsen KL, Doyle JS, Jewell LD. (1999).** Espèce de lactobacilles prévient la colite chez les souris. 116 : 1107 -14.
- **Malchow, H .A et al., (1997).** Crohn's disease and Escherichia Coli. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease .Journal of clinical gastroenterology 25 : 653- 658.
- **Masresha M, Bannwarth P.S, Berenbaum et al., (2012).** Nouveaux anti-inflammatoires non stéroïdiens. Rev Med interne. 20 : 341-5.

- **Mcalindon M, Gray T, Galvin A, Sewell H, podolsky D, Mahida Y. (1998).** Migration cellulaire de la lanina propria différentielle via les pores de la membrane basale de la muqueuse intestinale inflammatoire. 115 : 841-8.
- **McAlindon M, Gray T, Galvin A, Sewell H, Podolsky D, Mahida Y. (1998).** Migration cellulaire de la lanuina propria différentielle via les pores de la membrane basale de la muqueuse intestinale inflammatoire. 115 : 841-8.
- **Muster, Jenoure P.J, Kim SY et al., (2005).** Evaluation d'un anti-inflammatoire non stéroïdien topique dans le traitement de des douleurs et l'inflammation presse Med.33 : 10-13.

-N-

- **Ndiaye M, Dièye A.M, Touré M.T, Faye B. (2006).** Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de feuilles d'Annonaretialata sur l'oedémeaigne de la patte d'eat induit par la carragénine. PP. 179-186.
- **Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H et al., (2002).** Régulation, Procaryotes de la réponse épithéliale par inhibition de l'ubiquitination B. Science. 289 : 1560-63.

-P-

- **Pathmakanthan S, Thornely J, Hawkey C. (2004).**Mucosally bactéries associées du côlon humain. Différences quantitatives et spécifiques à l'espèce entre les biopsies coliques normales et enflammé à l'espèce. EcoliMicrobie, A1 : 169-79.
- **Patterson. (2008).** Probiotique : bien faits au-delà des fonctions nutritionnelles de base AAFC. 1-4.
- **Pipuepuille C. (2013).** Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales thèse de doctorat en pharmacie Limoge.

-R-

- **Rambauch J, Buts J-P, Corthier G, Flourié B. (2004).** P Lore microbienne intestinal. PARIS. John libbey Euronext.
- **Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM et al., (1999).** Non-pathogénique E. Coli versus mesalazine for the trématent of ulcérative colitis. Lancet. 354 :635-639.
- **Revillard P.S, Devillier PH, Millart M. (2001).** Action anti-inflammatoire des glucocorticoïdes Revue française d'Allergologie 36 : 937- 941.
- **Rofes C. (2014).** Intérêts du microbiote intestinal et probiotiques. Thèse de doctorat. Université Toulouse III.
- **Rolle RD. (2000).** The rôle of probiotic cultures in the control of gastro intestinal health. J Nutr. 130 : 396-402 S.

- **Rousselet MC, Vignaud J.M, Hafman Pet al., (2005).** Inflammation et pathologie inflammatoire. Copyright. AFECAP.
- **Roy D. (2006).** Innocuité, Qualité et Efficacité des probiotiques. Biotechnologies des cultures lactiques d'intérêt laitier et probiotique. AISA : Association pour les Ingrédients santé en Alimentation.

-S-

- **Salmine S, Gorbach S, Lee Y.K et Benno. (2004).** Human studies on probiotic : Wheat is scientifically proven today, In : lactic acid bacteria : microbiological and functional aspects, Marcel Dekker, Inc, Newyork : 515-530.
- **Salminen S, Isolauri E, Solminen E. (2004).** Utilisation clinique des probiotiques pour stabiliser la barrière muqueuse intestinale. Anatomie van Leeuwenhoek. 70 : 347 – 58.
- **Saraux MS, Ford AL et al., (2005).** Risques rénaux des Anti-inflammatoires non stéroïdiens. Douleur et Analg 3 : 163-167.
- **Sartor RB. (2001).** Intestinal microflora in human and experimental inflammatory bowel disease. Current Gastroenterol. 17 : 324-330.
- **Sartor RB. (2004).** Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. Gastroenterology. 126 : 1620-1633.
- **Schlee M, Marder J, Koten B et al., (2008).** Probiotic lactobacilli and VSL # 3 induce enterocyte beta-defensin 2. CTTN Exp Immunol. 151 : 528-535.
- **Schultz M, Linde HJ, Stebbing JF et al., (2002).** Administration orale de *Lactobacillus GG* (LGG) induit une réponse immunitaire systémique anti-inflammatoire à médiation TH-2 contre les organismes intestinaux (Résumé). Gastrologie .118 :A781.
- **Schultz M, Sartor RB. (2000).** Probiotics and inflammatory bowel diseases. Am J Gastroenterol. 95 : S19-21.
- **Schultz, Rolfe RD. (2000).** Le rôle des cultures probiotiques dans le contrôle de la santé gastro-intestinale/ Nutr.130 : 396-402 S.
- **Secretin, M.C (2013)** Pro-probiotique : développement et mise au point dans les formules infantiles.
- **Secretin, M.C. (2013).** Pro-Probiotiques : développement et mise au point dans les formules infantiles.
- **Seksiki P, Rigottier G, Gramet G, Sutren M, et al, (2007).** Alterations of the dominant faecal bacterial groups, in patients with Crohn's disease of the colon. Gut. 52 : 237-42.

- **Sellon RK, Tonkonog, YSL, schultz M, et al., (1998).** Les bactéries entérique résistent sont nécessaire au développement de la colite spontanée du système immunitaires chez les souris. 66 : 5224- 31.
- **Sheil Dr, Allen DT, Perry, EB, Bruner JC, Gates Kw, Rehberger et al. (2006).** Effects of feeding propionibacteria to dairy cows on milk yield, milk components, and reproduction. J Dairy sci. 89 : 111-25 DOI : 89/1/111.
- **Silva S. (2013).** Conséquence la de mucus intestinal chez le rat.
- **Soomro P, Achinto S, Muniruddin. (2002).** The analgesic and anti-inflammatory activities of the extract of Albizia in animal model. Sci, 22 : 74-77.

-T-

- **Tortora G, Derrickson B. (2007).** Principes d'anatomie et de physiologie. Edition du Renouveau Pédagogique. Paris : de Boeck. 1246 P.

-U-

- **Ulisses, Gionchettip, D'AloS et al., (2002).** Expression de cytokines. Monocycle d'azote synthase inductible et matricielles dans la pochite. 96 : 2691-1.

-W-

- **WGO et Guidelines P. (2008).** Recommandations pratique : Probiotiques et prébiotiques WGO mai.
- **WGO et Guidelines P.(2008).** Recommandations pratique : probiotique et Prébiotique-WGO.

-Y-

- **Yamacha M, Rizzouni D, porteri, Semeraro F (1992).** Strength of Biological Materials. Baltimore : Williaïnss Wilkins.