

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Institut des
Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

LES SYMBIOTIQUES " REVUE BIBLIOGRAPHIQUE "

Présenté par

ADDA Djamel Abdelmoumene et ZERIF Bochra

Devant le jury :

Président :	OUCHENE, N	Professeur	ISV Blida
Examineur :	BOUGUessa, A	MAA	ISV Blida
Promotrice :	YOUSFI, S	MCB	ISV Blida
Co-promoteur :	HAMMAMI, N	MCA	ISV Blida

Année : 2020/2021

Remerciements

Louange à dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le temps et la patience pour pouvoir finaliser ce travail.

Nos sincères remerciements et gratitude s'adressent spécialement à Madame YOUSFI SAFIA, pour nous avoir proposé ce sujet, pour son encadrement, pour le temps qu'elle l'a consacré à la correction et à la relecture de ce document, pour son suivi et ses conseils précieux permettant d'aboutir à la production de ce mémoire.

Et tenons à remercier notre Co-promoteur madame HAMMAMI, N de nous avoir encadré avec sa cordialité franche et coutumière, on le remercie pour sa gentillesse.

Veillez accepter Mes dames, Nos plus vifs remerciements.

Nos remerciements seront également adressés aux membres de jury, le président Monsieur OUCHENE, N. et Examineur monsieur BOUGUESSA, A. pour nous avoir fait l'honneur de juger ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre profond respect.

En fin, nous voudrions remercier toutes les personnes ayant contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

Dédicaces

J'ai l'immense plaisir de dédier ce modeste travail de fin d'étude à ce qui j'aime le plus au monde, mes très cher parents, mon père et ma mère qui m'ont apporté leur soutien, leur encouragement avec beaucoup d'amour durant toutes les années d'étude.

Que dieu leurs prête santé.

A ma chère grande mère LAKEHAL RABH et A mon grand-père ZERIF ABDELKADER En témoignage de mes sentiments les meilleurs, qui m'a apporté son aide durant toutes les années d'étude.

Que dieu les protège pour moi

A ma grande mère AOUAMEURE LALOUCHA paix à son âme.

A mon grand-père LAKEHAL LAKHEDAR paix a son âme.

A mes chères sœurs SAMAH, HADIL.

A mes chers frères MONCIF, WASSIM.

Je vous aime beaucoup.

A toute ma famille mes oncles paternelles et maternelles, mes cousins, mes cousines.

A ma promotrice Dr YOUSFI SAFIA qui m'a guidé à fin de réaliser ce travail.

A ma Co-promoteur Dr HAMMAMI N

A mes chères amies

HADJIRA, HIBA, NARIMEN, KHITEM, LILYA, RAHIL, KHAWLA, ROMAÏSSA, MANEL, RAHMA, ABIR, CHAIMA, BESSMA, SABRINE, SARAH, RIYAD, CHAHINE, KHIRO, HOUSSEM.

A mes chers confrères

SERINE, HANAA, LYCIA, LINDA, MOUNIA, RACHIDA, SOUMIA, NASSIMA, LES 2 KATIA, LES 2 OUSSAMA, AYMEN, SAOUDI.

A mon binôme ADDA DJAMEL.

A toute la promotion 2020/2021.

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études

A mes chères sœurs amina et fatima et ma cousine samia pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

A mon cher frère amine

A mes grands parents que dieu prolonge leur vie

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

A mes chères amis(e) amira ,hanaa, youcef ,walid ,mourad, sabrine, ouzna, tounes, maha, ibtissem ,mohamed amine,abir, lycia,nassim , mounia,serin,ilyas et les autres

A mon binome ZERIF BOCHRA

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible

Merci d'être toujours là pour moi.

Résumé

Le microbiote intestinal est un environnement complexe qui semble jouer un rôle clé dans le bien-être d'organisme. Depuis une dizaine d'années de nouvelles bactéries sont sélectionnées et incorporées aux produits alimentaires pour leurs capacités à modifier les caractères nutritionnels du produit alimentaire mais également pour induire des effets bénéfiques sur la santé humaine.

Les probiotiques et leur exploitation représentent un défi d'envergure pour la recherche en biotechnologie alimentaire. De nombreuses motivations ont prouvé l'efficacité des probiotiques dans l'amélioration du bien-être, le maintien de l'équilibre intestinal et la prévention de certaines maladies.

L'objectif de ce travail est de faire une synthèse bibliographique sur le microbiote intestinal et l'effet des probiotiques utilisés seuls ou bien associés avec des prébiotiques (symbiotique) sur la santé.

Mots clés : Entérocoque, Microbiote intestinal, Prébiotique, Probiotique, Symbiotique.

ملخص

ميكروبيوتا الأمعاء هي بيئة معقدة يبدو أنها تلعب دورًا رئيسيًا في رفاهية الجسم. على مدى السنوات العشر الماضية أو نحو ذلك ، تم اختيار بكتيريا جديدة ودمجها في المنتجات الغذائية لقدرتها على تعديل الخصائص الغذائية للمنتج الغذائي ولكن أيضًا لإحداث تأثيرات مفيدة على صحة الإنسان. تمثل البروبيوتيك واستغلالها تحديًا كبيرًا للبحث في مجال التكنولوجيا الحيوية الغذائية. أثبتت العديد من الدوافع فعالية البروبيوتيك في تحسين الرفاهية والحفاظ على توازن الأمعاء والوقاية من بعض الأمراض. الهدف من هذا العمل هو تقديم ملخص ببيولوجيا عن الجراثيم المعوية وتأثير البروبيوتيك المستخدمة بمفردها أو بالاشتراك مع البريبايوتكس (التكافلية) على الصحة.

الكلمات المفتاحية: المكورات المعوية ، ميكروبيوتا الأمعاء ، بريبيوتيك ، بروبيوتيك ، تكافلي .

Abstract

The intestinal microbiota is a complex environment that seems to play a key role in the well-being of the organism. Over the last decade, new bacteria have been selected and incorporated into food products for their ability to modify the nutritional characteristics of the food product but also to induce beneficial effects on human health.

Probiotics and their exploitation represent a major challenge for food biotechnology research. Many motivations have proven the effectiveness of probiotics in improving well-being, maintaining intestinal balance and preventing certain diseases.

The objective of this work is to make a bibliographic synthesis on the intestinal microbiota and the effect of probiotics used alone or associated with prebiotics (symbiotic) on health.

Key words: Enterococcus, Intestinal microbiota, Prebiotic, Probiotic, Symbiotic.

	Titre des figures	Page
Figure 1 :	Représentation schématique de la barrière intestinale et des tissus lymphoïdes associés	3
Figure 2 :	Composition de la flore microbienne du tractus gastro-intestinal	5
Figure 3 :	Composition de la flore intestinale	7
Figure 4 :	Représentation schématique de "l'éducation" du système immunitaire nécessaire à son développement	13

Liste des tableaux

	Titre du tableau	Page
Tableau 1 :	Principales pathologies associées au microbiote intestinal	15/16
Tableau 2 :	Micro-organismes considérés comme probiotiques	18

Liste des abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
ARN	: Acide ribonucléique.
<i>B</i>	: <i>Bifidobacterium</i> .
<i>E</i>	: <i>Enterococcus</i> .
INRA	: Institut National de la Recherche Agronomique.
NaCl	: Chlorure de Sodium.
pH	: Potentiel Hydrogène.
UFC	: Unité Formant colonie.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Le microbiote intestinal

1. Généralités.....	2
2. Développement du microbiote intestinal.....	2
3. Répartition de la flore intestinale au niveau du tube digestif.....	5
4. Rôles physiologiques du microbiote intestinal.....	8
5. Pathologies associées au microbiote intestinal.....	12

Chapitre 2 : Les probiotiques et prébiotiques

1. Les probiotiques.....	17
1.1. Définition.....	17
1.2. Principaux microorganismes utilisés en tant que probiotiques.....	17
1.3. Utilisation des entérocoques comme probiotiques.....	20
1.4. Effets des probiotiques sur la santé.....	22
1.5. Mécanismes d'action des probiotiques.....	24
2. Les prébiotiques.....	26
2.1. Définition.....	26
2.2. Intérêt des prébiotiques.....	26
2.3. Mode d'action des prébiotiques.....	27
3. Les symbiotiques.....	28

Introduction

Introduction

Des études récentes ont montré que les probiotiques et les symbiotiques ont des effets bénéfiques sur la santé animale et par conséquent sur la santé humaine (VANDELPAS, et al., 2009). (HIGGINS, et al., 2010). Ils agissent sur la croissance et le développement des animaux d'élevages, ils exercent des effets bénéfiques sur la flore et la santé de l'intestin, ainsi l'amélioration des performances zootechniques et sanitaires, ceci est bien décrit chez le poulet de chair par (PELICANO, et al., 2003) (VITTORIO, et al., 2005); et (IDOUI, et al., 2009), qui ont illustré les effets positifs de l'apport de probiotiques sur le gain de poids, l'amélioration de l'indice de consommation et la meilleure survie des poulets. De même, l'un des avantages de ces microorganismes est l'effet hypocholestérolémiant démontré chez l'homme et l'animal (CHERYL, 2004).

C'est dans ce contexte que notre synthèse bibliographique est scindée en deux parties. La première, résume les généralités sur le microbiote intestinal, son développement et sa répartition au niveau du tube digestif, son rôle physiologique ainsi que les pathologies qui lui sont associées.

La deuxième partie se veut être sur les probiotiques et prébiotique et l'effet de leur association (le concept symbiotique).

L'effet d'un symbiotique sur la croissance bactérienne in vitro sera étudié dans le mémoire Master.

Chapitre 1:

Le microbiote intestinal

1. Généralités :

La flore, ou microbiote, est l'ensemble des micro-organismes non pathogènes dits commensaux, vivant dans un environnement spécifique appelé micro biome, chez un hôte qui peut être animal ou végétal ou une matière pouvant être elle-même d'origine animale ou végétale (BURCELIN, et al., 2016).

Notre organisme est composé de plusieurs microbiotes, notamment au niveau de la peau, de la bouche et du vagin, mais le microbiote intestinal est le plus important d'entre eux. Les principaux micro-organismes qui composent le microbiote intestinal sont des bactéries, mais on y trouve aussi des archées, des virus et des champignons.

Le microbiote se localise entre la lumière du tube digestif et le mucus présent à la surface de l'épithélium intestinal, il est présent tout au long du tube digestif mais sa concentration est maximale au niveau de l'intestin grêle et du côlon.

2. développement du microbiote intestinal :

2.1. L'épithélium intestinal :

L'épithélium retrouvé le long de l'intestin grêle et du côlon est un épithélium prismatique simple constitué de plusieurs types cellulaires (MUNIZ, et al., 2012). La structure particulière, sous forme d'invaginations et de cryptes, ainsi que la présence de microvillosités permet à ce tissu d'avoir une surface d'absorption très importante.

Les cellules majoritairement retrouvées sont les anthérocytes (ou cœlomocytes au niveau du côlon). Ce sont des cellules pourvues de microvillosités ayant différentes fonctions. Elles permettent l'absorption des nutriments, grâce notamment à la production d'enzymes spécifiques et jouent également un rôle de protection par un effet barrière.

Les autres cellules sont des cellules sécrétrices :

- les cellules caliciformes qui sécrètent le mucus,
- les cellules endocrines,
- dans l'iléon les cellules M sont retrouvées au niveau des plaques de Payer où elles reconnaissent et captent les antigènes et les micro-organismes présents dans la lumière intestinale,
- au fond des cryptes de l'intestin grêle on retrouve les cellules de Paneth participant au système immunitaire inné en sécrétant des peptides antimicrobiens.

Sous l'épithélium de revêtement se situe un tissu conjonctif de soutien appelé lamina propria ou chorion. Ce tissu comporte un réseau vasculaire et lymphatique très dense qui permet l'absorption des nutriments digérés. Il renferme également de nombreux éléments cellulaires participant au système immunitaire, qui servent de ligne de défense contre les microbes qui auraient franchi l'épithélium intestinal.

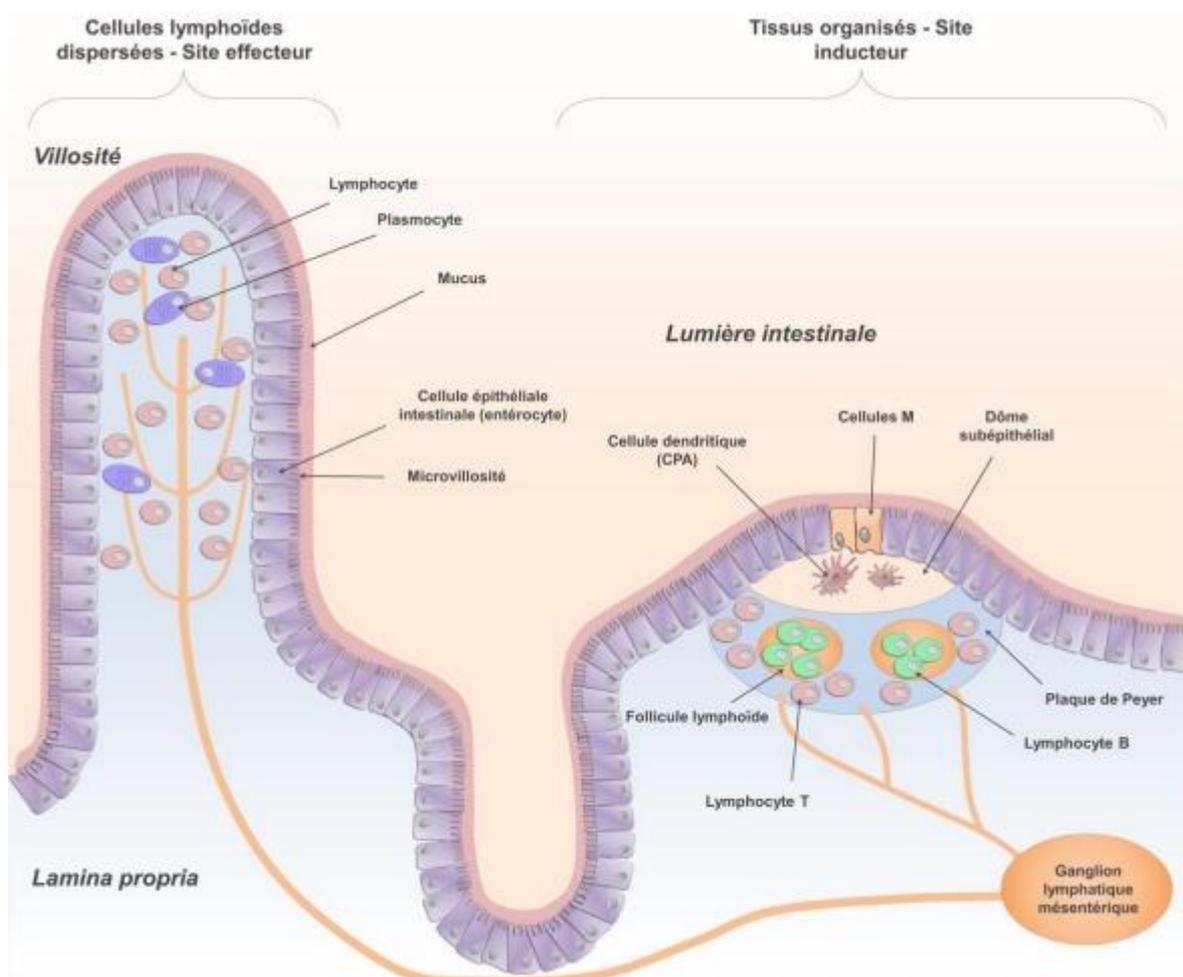


Figure 1: Représentation schématique de la barrière intestinale et des tissus lymphoïdes associés (adapté de (MOWAT, 2003) et de (WENG, et al., 2013))

2.2. Analyse du microbiote intestinal :

Pendant de nombreuses années, le microbiote intestinal n'a pu être étudié qu'en partie, car la majorité des espèces qui le composent (notamment anaérobies strictes) ne sont pas

cultivables in vitro ou nécessitent des milieux de cultures très spécifiques. Il a été estimé que seulement 30% des espèces de notre flore commensale sont cultivables in vitro.

Grâce à l'avènement de la biologie moléculaire et le développement du séquençage, la composition du microbiote intestinal a pu être étudiée plus en détail.

Le séquençage de l'ADN (CLAUDE, et al., 2011) consiste à déterminer l'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN donné. Depuis plus de 30 ans, le séquençage de l'ADN était réalisé par la méthode de synthèse enzymatique de Sanger. A partir des années 2000 sont apparus les premiers appareils à séquençage haut débit permettant d'effectuer le séquençage à une vitesse beaucoup plus rapide.

Dans un premier temps, les molécules d'ADN à analyser sont amplifiées. La seconde étape permet l'incorporation des bases complémentaires du brin à séquencer, puis on termine par la lecture de la séquence.

Pour déterminer la composition du microbiote intestinal (QIN, et al., 2010), le séquençage du gène codant l'ARN ribosomal 16S est majoritairement utilisé.

L'ARN ribosomal 16S est une molécule présente dans toutes les bactéries. Elle possède des régions conservées communes à l'ensemble du domaine Bacteria, des régions variables communes aux bactéries d'un groupe bactérien et des régions hypervariables spécifiques d'une espèce.

L'analyse méta génomique est l'analyse de l'ensemble des génomes bactériens présent dans un écosystème donné. Le but est de découvrir l'ensemble des organismes qui composent un mélange complexe.

L'étude Meta HIT, lancée en 2008 et coordonnée par l'INRA, a eu pour objectif d'identifier l'ensemble des génomes microbiens intestinaux (méta génome) par séquençage haut débit.

Cette étude a été fondée sur l'analyse d'échantillons de selles recueillies auprès de 124 personnes. Elle a ainsi identifié un total de 3,3 millions de gènes différents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, dont une large majorité est d'origine bactérienne. Au plan individuel, cette étude a montré que chaque individu portait en moyenne 540 000 gènes microbiens, soient plus d'une centaine d'espèces, réparties en sept phyla différents. Il y a donc 150 fois plus de gènes dans le génome du microbiote que dans le génome humain. Ce fut surtout la première étude à démontrer l'extrême richesse de la flore intestinale, en identifiant des centaines d'espèces bactériennes inconnues jusque-là.

3. Répartitions de la flore intestinale au niveau du tube digestif :

Chaque individu abrite dans son tube digestif 10^{14} micro-organismes qui composent son microbiote intestinal (CDU-HGE, 2014) , ce qui est 10 fois plus important que le nombre total de cellules eucaryotes dans le corps humain.

Des variations qualitatives et quantitatives de la flore intestinale sont observées tout au long du tube digestif (BARBUT, et al., 2010) de la bouche à l'anus. La flore buccale est très diversifiée et comprend des bactéries aérobies et anaérobies. La flore gastrique est en revanche limitée quantitativement et qualitativement. Les concentrations varient de manière croissante, en effet, au niveau de l'estomac il y a quelques centaines de bactéries par gramme de contenu alors qu'au niveau du côlon distal on retrouve 10^{11} bactéries par gramme de contenu.

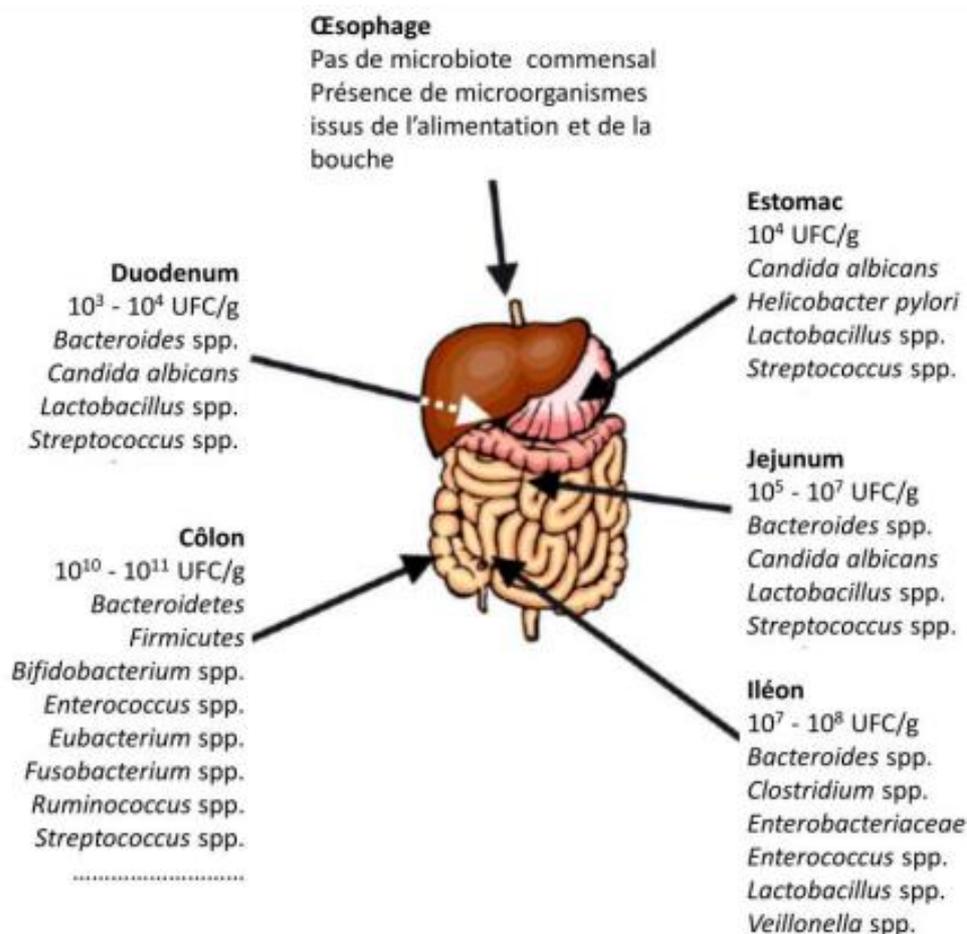


Figure 2 : Composition de la flore microbienne du tractus gastro-intestinal (adapté (ISOLAURI, et al., 2004))

Le microbiote intestinal est propre à chaque individu, d'un point de vue qualitatif et quantitatif. Les micro-organismes majoritairement retrouvés sont les bactéries. On estime que chez chaque individu on retrouve près de 400 espèces bactériennes différentes de type anaérobie strict ou anaérobie facultatives.

Certaines espèces dominantes, qui sont présentes chez la majorité des individus, restent stables et permettent d'effectuer les fonctions essentielles du microbiote, elles sont associées à des populations minoritaires qui sont propres à chacun d'entre nous.

Les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 phyla bactériens majeurs (BARBUT, et al., 2010) .

- le phylum des Firmicutes :

Les Firmicutes sont des bactéries à Gram positif. Elles représentent habituellement plus de la moitié des micro-organismes de la flore.

Ce phylum comporte 3 classes de bactéries :

- la classe I des Clostridia qui contient les genres Clostridium, Ruminococcus et Faecalibacterium,
- la classe II des Mollicutes contenant les bactéries du genre Mycoplasma.
- la classe III des Bacilli contenant les genres Listeria, Staphylococcus, Lactobacillus, Enterococcus et Streptococcus.

- le phylum des Bacteroidetes :

Ce phylum représente jusqu'à 30% de la population bactérienne.

On y retrouve notamment les bactéries du genre Bacteroides qui sont des bactéries sous forme de bacille gram négatif anaérobie et le genre Prevotella.

- le phylum des Actinobacteria :

Les Actinobacteria représentent en général moins de 10% de la population du microbiote.

Ce sont des bactéries gram positif, notamment des genres Actinomyces, Mycobacterium ou Bifidobacterium.

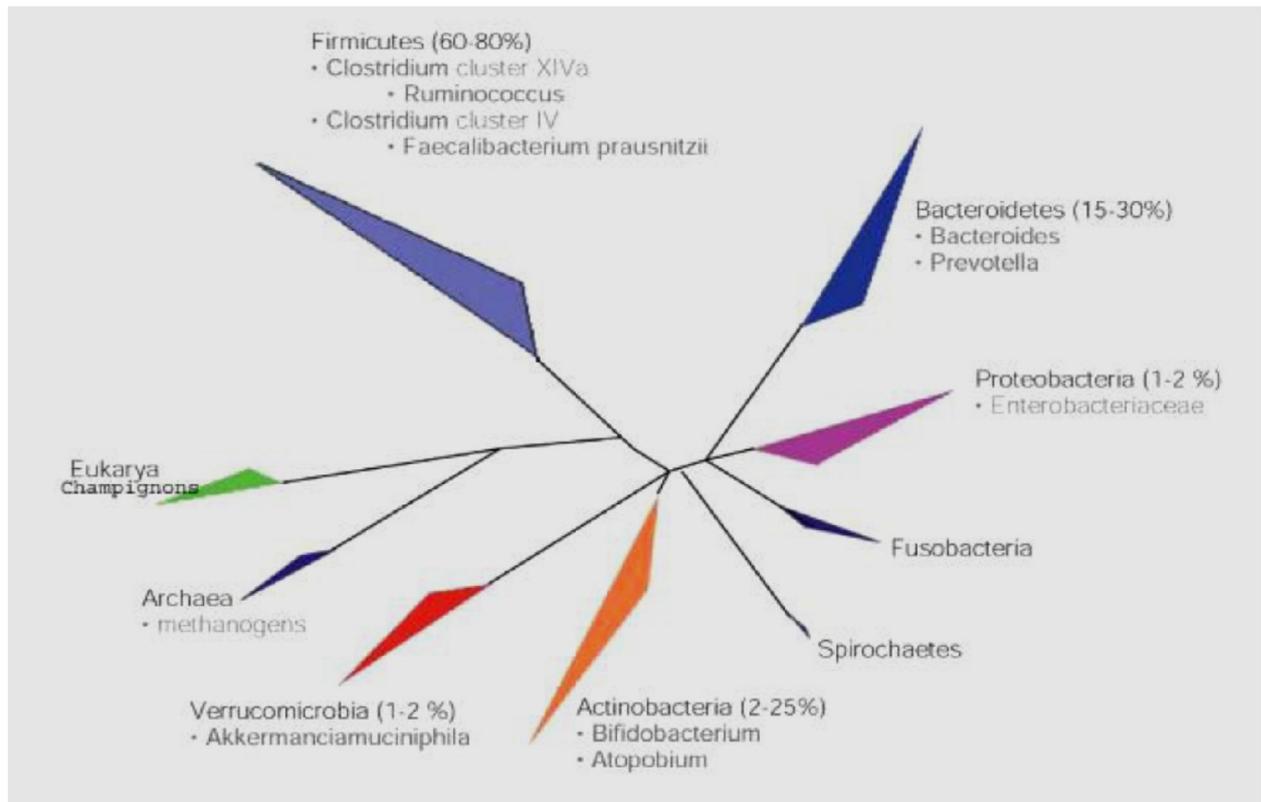


Figure 3 : Composition de la flore intestinale (CHENG, et al., 2013) .

- On trouve également des bactéries du phylum des Proteobacteria, contenant l'ordre des Entérobactériales qui sont des bactéries anaérobies facultatives que l'on retrouve en faible quantité.

De façon minoritaire, on retrouve des bactéries des phyla Fusobacteria, Verrucomicrobia et Spirochaetes.

- La composante fongique est constituée de champignons et de levures.

- Des archées sont également retrouvées : ce sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Elles ont longtemps été considérées comme des bactéries mais les analyses génétiques et les méthodes de classification phylogénétiques ont permis de justifier la création d'un groupe à part entière.

Dans le tractus digestif humain, ces archées sont en grande majorité méthanogènes.

- Les virus sont des agents infectieux qui nécessitent un hôte. Ils utilisent le métabolisme et les constituants de son hôte pour se répliquer.

On retrouve une importante quantité de virus bactériophages, archaéphages ou prophages, insérés dans certains génomes bactériens. Les phages, en infectant et en lysant certaines bactéries sont impliqués dans le maintien de la diversité des espèces microbiennes.

Il a été établi que l'ensemble des individus peuvent être répartis en 3 groupes ou entérotypes distincts selon la signature bactérienne caractérisée par un genre bactérien dominant parmi Prevotella, Bacteroides et Ruminococcus.

❖ **Mise en place :**

Le nouveau-né (CAMPEOTTO, et al., 2007) est stérile in utero et la colonisation bactérienne débute dès l'accouchement avec une flore simple à partir des flores de sa mère et de l'environnement proche.

Sa mise en place va commencer selon l'exposition aux micro-organismes d'origine maternelle, avec un contact beaucoup plus élevé lors d'un accouchement par voie basse que lors d'une césarienne, ainsi que d'origine environnementale selon le lieu de naissance et le contact avec l'équipe médicale.

Chez l'enfant à terme, les premières bactéries implantées sont des organismes aérobies-anaérobies facultatifs : les entérobactéries (principalement l'espèce E. coli), les entérocoques et les staphylocoques. Ces premières bactéries vont rapidement consommer l'oxygène contenu dans la lumière intestinale, permettant l'implantation des genres anaérobies stricts (Bifidobacterium, Clostridium, Bacteroides) ainsi que celle des Lactobacilles, microaérophiles.

Par la suite, le nouveau-né est continuellement exposé à de nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées des adultes.

Une flore complexe et stable, qui se rapproche de celle de l'adulte, propre à chaque individu, semble être obtenue entre les âges de 2 à 4 ans.

4. Rôles physiologique du microbiote intestinale :

Le microbiote participe à la synthèse vitaminique, les bactéries de la flore peuvent notamment produire de la biotine (vit B8), des folates (vit B9) et de la vitamine B12. Elles participent également à la production de vitamine K, vitamine essentielle de la coagulation. Le microbiote peut de plus intervenir dans le métabolisme des xénobiotiques.

Par certaines de ses fonctions, la flore intestinale joue notamment un rôle de support pour l'épithélium intestinal.

En effet, elle assiste l'épithélium intestinal dans ses fonctions de digestion et d'absorption des nutriments, en permettant la digestion des nutriments qui ne sont pas pris en charge par les enzymes humaines. Le microbiote va avoir un rôle de fermentation et la putréfaction des résidus alimentaires non digestibles, en produisant des acides gras à courtes chaînes (AGCC), sources d'énergie.

La flore participe également au rôle de barrière, pour maintenir un équilibre stable au sein de la muqueuse intestinale et constituer une ligne de défense face aux agressions de l'environnement.

Pour finir la flore a un rôle majeur dans le développement du système immunitaire intestinal, mais aussi général et dans sa maturation.

4.1. Fonction de barrière et de protection :

La surface de la muqueuse intestinale se compose d'entérocytes, cellules pourvues de villosités et liées les unes aux autres par des jonctions serrées (CDU-HGE, 2014).

Les jonctions serrées sont des jonctions étanches entre les cellules épithéliales qui déterminent une barrière physiologique entre les compartiments extérieur et intérieur de l'organisme. Elles bloquent la circulation de fluides entre les cellules et assurent ainsi l'étanchéité entre les deux compartiments tissulaires.

A la surface de cette muqueuse viennent se fixer les bactéries de la flore intestinale s'opposant à la colonisation de la muqueuse par les bactéries pathogènes par un phénomène de compétition sur les sites d'adhérence. Les bactéries commensales étant plus adaptées à l'écosystème intestinal que les pathogènes. Cela forme un film protecteur à la surface de l'épithélium intestinal.

Lorsqu'elles détectent des bactéries pathogènes, les bactéries de la flore intestinale peuvent stimuler la synthèse de peptides antimicrobiens par les cellules de l'épithélium intestinal, telles que des bactériocines. Ces peptides possèdent une activité de type antibiotique par effet bactéricide ou bactériostatique.

Le microbiote peut également stimuler la production par le système immunitaire d'IgA sécrétoires.

Lorsque cette barrière est altérée, dû à une flore trop pauvre par exemple, les antigènes présents dans la lumière intestinale se retrouvent directement en contact avec les villosités des entérocytes, qui peuvent se rétracter et entraîner une hyperperméabilité. La muqueuse

intestinale n'est plus suffisamment étanche et peut laisser passer des macronutriments qui peuvent s'avérer être des allergènes, des toxines, des virus ou des bactéries.

4.2. Fonction métabolique :

Les fibres alimentaires non digérées dans la partie supérieure du tube digestif, qui arrivent dans le côlon vont être prises en charge par les bactéries du microbiote. (CDU-HGE, 2014) En effet, celles-ci sont équipées d'enzymes absentes chez l'homme et capables de métaboliser ces fibres. Elles vont alors former des métabolites pouvant être utilisés par l'hôte ou même produire leur propre source d'énergie.

4.2.1. Le métabolisme des glucides :

Le processus de fermentation va conduire à la formation d'acides organiques et de gaz à partir des sucres complexes non digérés.

Les polysaccharides, que l'on trouve dans les fruits, les légumes, les céréales, sont constitués de longues chaînes de sucres complexes. Ils vont être pris en charge au niveau du côlon par différents groupes bactériens du microbiote qui s'associent pour former une chaîne de dégradation anaérobie des polymères glucidiques en métabolites fermentaires.

Dans un premier temps, les polymères sont dégradés en fragments plus petits par des hydrolases produites par des bactéries fibrolytiques (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*).

Ces fragments de sucres vont par l'intermédiaire des bactéries glycolytiques, être utilisés dans la voie de la glycolyse et ainsi former du pyruvate.

Le pyruvate va être métabolisé en acides gras à chaînes courtes (AGCC). La majorité des espèces du microbiote va produire de l'acétate (*Bacteroides*, *Clostridium*), mais on trouve également du propionate (*Bacteroides*) ou du butyrate (*Eubacterium*), selon les espèces rencontrées.

Ces AGCC, produits par les bactéries de la flore vont avoir de nombreux rôles dans l'homéostasie intestinale. Dans un premier temps ce sont des substrats énergétiques pour l'épithélium colique, ils ont un rôle immuno-modulateur, et semblent être impliqués dans le maintien d'un état anti-inflammatoire au niveau intestinal.

4.2.2. Le métabolisme des gaz :

Les processus fermentaires produisent de grandes quantités d'hydrogène dans le côlon. L'efficacité de la fermentation dépend de la capacité de l'écosystème à éliminer cet hydrogène. Pour cela différentes voies vont être utilisées.

Une partie de l'hydrogène est éliminée par voie pulmonaire et par les gaz rectaux, mais la majorité est métabolisée par les micro-organismes du microbiote dits hydrogénotrophes. Ils sont de 3 types qui utilisent chacun une voie métabolique différente : les archées méthanogènes (présentes chez 40% des adultes) produisent du méthane, les bactéries acétogènes produisent de l'acétate et les bactéries sulfatoréductrices produisent des sulfures qui sont potentiellement délétères pour le colonocyte.

4.2.3. Le métabolisme des protéines :

Le phénomène de putréfaction va également produire des AGCC, mais aussi des corps aromatiques, potentiellement toxiques pour l'hôte.

La biodégradation des protéines va faire intervenir plusieurs espèces bactériennes aux activités complémentaires.

Dans un premier temps, les bactéries dites protéolytiques (Bacteriodes, Clostridium, Streptococcus, Lactobacillus) vont hydrolyser les protéines en petits peptides grâce à leur activité protéasique.

Certaines espèces vont assimiler ces peptides et les transformer en acides aminés libres. La fermentation des acides aminés par des réactions d'oxydation et de réduction aboutit à la production d'AGCC : acétate, propionate et butyrate (comme la fermentation des glucides), mais aussi d'ammoniaque et d'autres composés potentiellement toxiques pour l'hôte qui vont être absorbés et détoxifiés dans la muqueuse colique puis excrétés dans les urines.

L'ammoniaque quant à elle est absorbée dans le côlon et rejoint le foie par la circulation portale où elle est convertie en urée, qui est éliminée par voie urinaire. Elle est également utilisée comme source d'azote par des bactéries pourvues d'activité aminotransférase qui l'utilisent pour la synthèse d'acides aminés.

4.2.4. Le métabolisme des lipides :

Dans la lumière colique, les lipides proviennent de trois origines : les lipides arrivants du tractus intestinal en amont, les lipides provenant de la desquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens.

Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés dans le côlon par les bactéries du microbiote par des phénomènes d'hydrolyse, d'oxydation, de réduction et d'hydroxylation.

Le cholestérol colique est transformé en coprostanol par le microbiote, il n'est pas absorbé et est donc éliminé dans les fèces.

Les acides biliaires sont un produit de transformation du cholestérol par le foie. Ils sont également conjugués, et vont être réabsorbés dans l'iléon terminal puis retournent au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile (cycle entérohépatique des acides biliaires). Seuls 5 % des acides biliaires sécrétés dans la bile parviennent au côlon et y sont métabolisés par les bactéries du microbiote en acides biliaires secondaires selon des réactions de déconjugaison, oxydation et épimérisation.

4.3. Fonction immunitaire

L'étude de souris axéniques (sans microbiote) (CDU-HGE, 2014) a démontré le rôle essentiel joué par la flore intestinale dans le développement et la maturation du système immunitaire.

En effet, ces animaux ont présenté de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal, mais aussi au niveau de la rate et des ganglions lymphatiques qui n'étaient pas structurés et présentaient des zones lymphocytaires atrophiées.

Au niveau intestinal, on a retrouvé une diminution du nombre des plaques de Payer, une altération de la maturation des follicules lymphoïdes isolés, une diminution des lymphocytes intra-épithéliaux, une diminution des sécrétions intestinale d'IgA, de la concentration d'Ig sériques et de la production de cytokines.

L'ensemble de ces anomalies peut être « réparé » en quelques semaines en inoculant un microbiote complexe à ces souris axéniques, ou en inoculant seulement des espèces spécifiques choisies.

Par exemple avec les bactéries filamenteuses segmentées, cela entraîne la différenciation des lymphocytes Th17 qui sont des cellules pro-inflammatoires.

L'homéostasie intestinale est sous la dépendance d'un équilibre entre les lymphocytes T effecteurs et les lymphocytes T régulateurs. Certaines bactéries vont stimuler l'une ou l'autre des populations lymphocytaires notamment par l'intermédiaire des AGCC qu'elles produisent.

5. Pathologies associées au microbiote intestinal :

L'évolution des conditions de vie dans les pays industrialisés pourrait être la principale origine de l'apparition de nouvelles pathologies immunitaires, comme les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) ou les allergies. La « théorie de l'hygiène » est un terme utilisé pour qualifier le fait que l'augmentation des conditions de vie de plus en plus

aseptiques limite la rencontre avec les microorganismes de l'environnement qui modulent notre système immunitaire, notamment au cours de l'enfance. Ce terme était à la base utilisé dans le cas de désordres allergiques, pour lesquels le système immunitaire répond de manière excessive lors de la rencontre avec un antigène inoffensif. Mais en fait, il pourrait également concerner les infections de l'enfance, des maladies auto-immunes et des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Aujourd'hui, Rook lui a donné une autre appellation, plus moderne, la « théorie des vieux amis » (ROOK, et al., (2014)) Nous avons vu précédemment le rôle fondamental du microbiote dans le développement des fonctions immunitaires. Si dans les premières semaines de sa vie un enfant ne rencontre pas les microorganismes appropriés à son développement, cela pourrait conduire à un mauvais développement de son immunité. De plus, l'exposition à une large diversité de microorganismes permet au système immunitaire de se construire une « mémoire » de différentes structures moléculaires microbiennes, ce qui va accélérer la reconnaissance lors de la rencontre avec un nouvel antigène potentiellement préjudiciable pour la santé (ROOK, et al., (2014)). Et enfin, les composants microbiens comme le LPS, le peptidoglycane ou les LTAs, lorsqu'ils entrent en contact avec la muqueuse du tractus intestinal, maintiennent un seuil d'activation de l'immunité innée (LEBLANC, 2006.). L'ensemble de ces interactions entre les microorganismes de l'environnement et le système immunitaire, permet « d'éduquer » ce dernier (Figure 5).

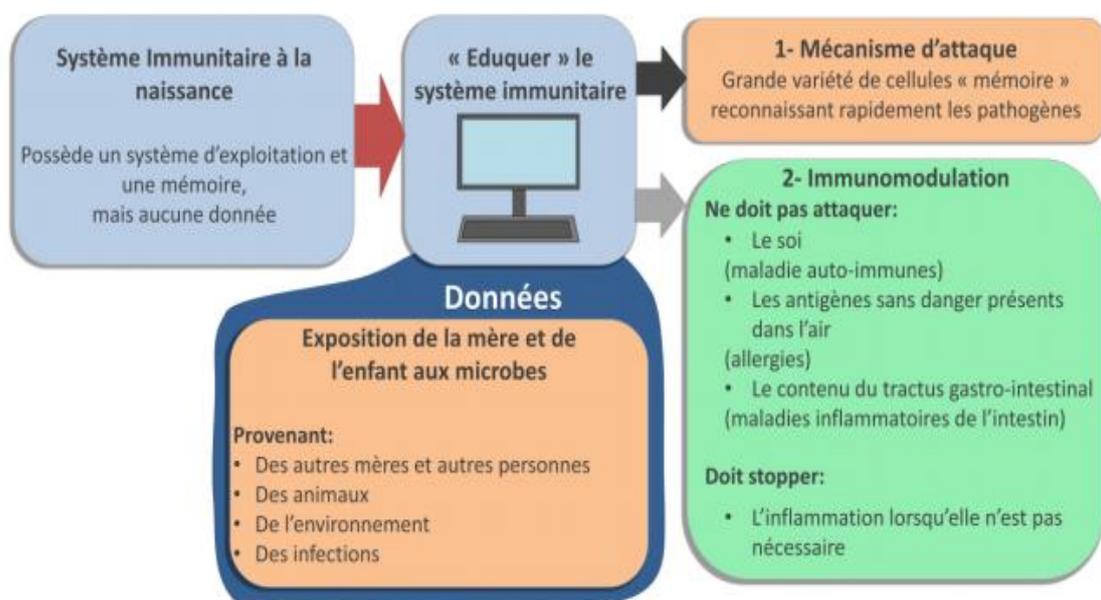


Figure 4 : Représentation schématique de "l'éducation" du système immunitaire nécessaire à son développement (modifié de (ROOK, et al., (2014)) .

L'organisme a besoin de développer un réseau de voies de régulation par l'intermédiaire des lymphocytes T régulateurs, qui peuvent arrêter ou limiter une réponse inappropriée contre le soi, contre des antigènes inoffensifs ou encore contre le contenu du tractus (incluant la flore commensale). Ce sont ces mécanismes de défense qui sont à l'origine de pathologies telles que les maladies auto-immunes, les allergies et les maladies inflammatoires de l'intestin, dont la prévalence est en augmentation dans les pays développés (ROOK, et al., (2014)). Il est possible que ces réactions de l'organisme face à la population microbienne façonnent sa composition, et puissent être à l'origine de dysbioses intestinales.

La dysbiose intestinale est un déséquilibre de la flore microbienne intestinale, pouvant conduire à un mauvais développement et fonctionnement de l'intestin. Il reste cependant difficile d'affirmer si la dysbiose est la cause ou la conséquence d'un mauvais fonctionnement intestinal. En effet, la population des bactéries commensales diffère entre les sujets en bonne santé et les patients atteints de pathologies intestinales, comme dans le cas des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Mais il ne serait pas anormal de penser que les conditions de vie dans les pays industrialisés soient à l'origine de déséquilibres de la flore intestinale, ce dernier pouvant ensuite conduire à l'apparition de pathologies plus graves comme la maladie de Crohn. Les changements environnementaux (pollution accrue, ...) associés aux modes de vie occidentaux, incluant les modifications de régime alimentaire, ou encore l'utilisation d'antibiotiques et d'autres médicaments, pourraient participer à l'établissement des dysbioses.

Aujourd'hui, la dysbiose intestinale est associée aux maladies inflammatoires et aux syndromes métaboliques notamment .

Tableau 1 : Principales pathologies associées au microbiote intestinal (adapté de (Dolié, 2018) .

Pathologies	Dysbiose	Répercussions	Probiotiques	Perspectives
Maladie De crohn	↓ Firmicutes dont la souche <i>F. prausnitzii</i> (une des souches les plus abondantes et productrice de butyrate et MAM) ↓ Bacteroidetes ↑ Proteobacteria dont	↓ production d'AGCC ↓ production de MAM (bloque activation NF-KB et production IL-8) → ↓ de	- probiotiques : pas d'amélioration des taux de rechute - TMF : 1ers résultats montrent amélioration clinique et rémission → essais	→ études à poursuivre : administration directe de <i>F. prausnitzii</i> ou de MAM ? → possible usage TMF dans les formes non répondantes

	Enterobacteries ↑ pathogènes : E. coli AIEC ; Mycobacterium avium	l'effet anti- inflammatoire intestinal	cliniques en cours	
Rectocolite hémorragique	↓ Firmicutes dont la souche F. prausnitzii et le genre Roseburia ↓Verrucomicrobia dont la souche A. muciniphila ↓ Bacteroidetes ↑Proteobacteria et Actinobacteria ↑ pathogènes : E. coli AIEC ; Mycobacterium avium	↓ production d'AGCC → butyrate ++	- probiotiques : → formes actives : ↓ score d'activité et favorise la rémission → phase de rémission : favorise le maintien de la rémission - TMF : résultats mitigés, études à poursuivre	→ probiotiques donnent des résultats positifs → études à poursuivre : administration de souches A. muciniphila ou F. prausnitzii ? → approfondir les études TMF sur plus grand nombre et différentes techniques d'administration
Infection A C. difficile	Formes récurrentes : ↓ nette de la diversité microbienne modifications de la proportion des phyla dominants	Perte de la résistance à la colonisation → C. difficile peut devenir un membre dominant au sein du microbiote	- probiotiques : → prévention primaire + + → associés aux traitements conventionnels : certains effets positifs mais études à poursuivre - TMF : taux de réussite supérieurs aux traitements conventionnels dans les infections à récurrences multiples	→ favoriser l'usage des probiotiques en prévention primaire → TMF intéressant dans formes à récurrences multiples → études à approfondir notamment sur le nombre de transplantations à effectuer

Pathologies	Dysbiose	Répercussions	Probiotiques	Perspectives
Obésité Et diabète de type 2	↓ Bacteroidetes ↓ bactéries productrices de butyrate ↑ Firmicutes	↓ production AGCC ↑ perméabilité intestinale → translocation fragments bactériens (LPS) et bactéries vers foie	- probiotiques chez la souris : ↓ perméabilité intestinale et améliore sensibilité à l'insuline - TMF : améliore sensibilité périphérique à	→ études de souches probiotiques productrices d'AGCC chez l'homme est nécessaire → approfondir les études TMF sur plus grand nombre

		et tissu adipeux → inflammation de bas grade → altération de la transmission du signal insulinique	l'insuline	
Lupus érythémateux disséminé	↓ Firmicutes ↑ Bacteroidetes	- ↑ différenciation des lymphocytes Th17 - réactivité croisée entre auto- antigène Ro60 humain et protéine apparentée de certaines bactéries du microbiote	Probiotiques inducteurs de Treg chez la souris : ↓ sur-activation lymphocytes CD4+	→ études de souches probiotiques inductrices de Treg chez l'homme → cibler des bactéries présentant la protéine apparentée à Ro60 pour éviter les réponses B et T auto- réactives
Polyarthrite rhumatoïde	Rapport Firmicutes / Bacteroidetes normal Patients diagnostic récent non traités : ↓ Bacteroidaceae ↑ Prevotellaceae dont la souche P. copri	- présence de P. copri entraîne activation de cellules T autoréactives - ↑ lymphocytes T CD4+ Th17 dans l'intestin	Probiotiques : → semblent améliorer score d'activité et ↓ marqueurs de l'inflammation	→ approfondir les études sur probiotiques et sur plus grands échantillons → cibler la souche P. copri pour diminuer sa prolifération
Troubles de la sphère autistique	↓ Bacteroides ↑ Firmicutes Proportions inhabituelles de plusieurs genres : Lactobacillus, Bifidobacterium Clostridia et Desulfovibro.	↓ production AGCC ↑ perméabilité intestinale	- probiotiques chez la souris : améliore les comportements communicatif, répétitif, anxiogène et sensorimoteur. - TMF : améliore les symptômes gastrointestinaux et comportementaux	→ études de souches probiotiques chez l'homme → approfondir les études comportementales après TMF

Chapitre 2 :

Les probiotiques et prébiotiques

1. Les probiotiques

1.1. Définition :

Un probiotique est un microorganisme vivant qui possède un effet bénéfique pour la santé. Les probiotiques sont principalement des bactéries et des levures présentes ou réintroduites dans la flore intestinale résidente. Cependant cette définition ignore l'action des bactéries mortes. Or celles-ci peuvent continuer à exercer un rôle bénéfique en raison de :

1. substances produites antérieurement par elles dans les aliments ingérés : enzymes demeurées actives, acide lactique, acide acétique, peroxyde d'hydrogène, bactériocines (protéines sécrétées par des bactéries et ayant un pouvoir antimicrobien plus ou moins spécifique), autres métabolites comme les peptides immun modulateurs.
2. Leur adhérence à la membrane des cellules intestinales.
3. La stimulation du système immunitaire par des bactéries mortes ou par des fragments de leur paroi.

Le concept probiotique est né de la théorie de la longévité de METCHNIKOFF en 1907. Il fut le premier à proposer l'utilisation des lactobacilles des yaourts pour la restauration du microbiote dans le tractus gastro-intestinal. Les probiotiques ont d'abord été développés dans les années 1960 pour les élevages d'animaux afin de prévenir les infections et stimuler le gain de poids.

1.2. Principaux microorganismes utilisés en tant que probiotique :

Les micro-organismes les plus utilisés sont les bactéries appartenant aux genres *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* mais également aux genres *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Bacillus* et *Escherichia*. Des levures comme *Saccharomyces boulardii* sont également des probiotiques (FULLER, 2004).

Un probiotique peut être fait hors d'une tension bactérienne seule ou peut être un consortium (ROLF, 2000).

En fonction de la viabilité et du type de micro-organismes utilisée, les formes d'apport s'effectuent dans l'aliment granulé (résistance à la température et à la pression) sous forme liquide, ou sous forme encapsulée (protection chimique et mécanique) (O'SULIVAN, et al., 2005).

Tableau 2 : Micro-organismes considérés comme probiotiques .

Lactobacillus	Bifidobactrium	Autres bactéries lactiques	Levures probiotiques	Autre bactéries
L. acidophilus	B. adolescentis	Entérocooccus Faecalis	Saccharomyces	Bacillus spp
L. amylovirus	B. animalis	Entérocooccus Faecium	cerevieae	Escherichia coli
L. brevis	B. bifidum	Lactococcus lactis		Propionibacterium
L.casei	B.breve	Leuconstoc		Freudenreichi
L.cellobius	B.infantis	mesenteroides		
L.crisp atus	B.lactis	Sporolactobacillus		
L.curvatus	B.longum	inulinus		
L.delbrueckii	B.thermophilum	Streptococcus		
L.farciminis		therphilis		
L.fermentum		Streptococcus		
L.gallinarum		Diacetylactis		
L.gasseri		Streptococcus		
L.johnsonii		intermedius		
L.plantarum		Pediococcus		
L.reutri		acidilatici		
L.rhamnosus				

1 .2 .1. Les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes, Gram positif, généralement immobiles, asporulées et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides (SANDRES, 1999). Ces bactéries sont caractérisées par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (SANCHEZ, 2007).

A ce groupe de bactéries lactiques, appartiennent plusieurs genres Aerococcus, Atopobium, Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus (Stiles et Holzappel, 1997). Des genres nouveaux, tel que : Alloiococcus, Dolosicoccus, Dolosigranulum, Eremococcus, Facklamia, Globicatella ont également été décrits (BUYDENS, et al., 1996).

Les bactéries lactiques produisent une variété de facteur antimicrobien comme les bactériocines, qui permettent d'inhiber la croissance de certains micro-organismes, telle que la nésine produite par les *Lactobacillus* et la pédiocine a produite par *Pediococcus acidilactici*. Elles ont un effet inhibiteur sur les bactéries gram positif, telles que : *Clostridium*, *Listéria monocytogens* (GOURNIER-CHATEAU, et al., 1994).

Les bactéries lactiques ne sont pas très lipolytiques lors du métabolisme lipidique. On distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielles les esters formés avec des acides gras à chaines courtes (C2 à C8). Des lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaines longues. Ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse des triglycérides (CLAUDE, et al., 2011).

1 .2.2. Les bifidobactéries :

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal.

Ces micro-organismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum *Actinobacteria* (anciennement *Actinomycètes*) des bactéries Gram positif, la présence d'une enzyme, la fructose-6- phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (AXELSSON, 2004).

1.2.3. Les levures :

Les levures sont des champignons chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante. Depuis de nombreuses années. Les levures sont également utilisées comme additifs alimentaires chez les animaux pour améliorer les performances zootechniques et comme régulateur de la flore intestinale chez l'homme. Ils induisent des effets positifs en termes de performances de production chez plusieurs espèces des ruminants et monogastriques, mais ne peuvent pas coloniser le tractus digestif.

Les levures utilisées comme probiotiques sont des souches de *saccharomyces cerevisiae*. Une souche bien déterminée de cette levure est dénommée *Saccharomyces boulardii* (ROLF, 2000).

1.3. Utilisation des entérocoques comme probiotiques :

Les entérocoques appartiennent au genre bactérien *Enterococcus*. Ce sont des bactéries Gram positif, de forme sphérique, se présentant seules, en paires ou en chaînettes. La classification des entérocoques a évolué au cours des années. Ces bactéries ont d'abord été considérées comme une division du genre *Streptococcus* qui satisfaisait aux exigences suivantes : capacité de croître à une température entre 10 °C et 45 °C, de survivre pendant 30 minutes à 60°C, et de croître à pH 9,6 et dans une solution contenant 6,5 % de NaCl. Les entérocoques ont aussi porté le nom de streptocoques fécaux, car ils ont été découverts dans des intestins d'animaux. L'élaboration de méthodes moléculaires a mené à la création d'un nouveau genre, *Enterococcus*, en 1984 (FISHER, et al., 2009). On estime actuellement que le genre *Enterococcus* compte plus de 30 espèces classées en cinq ou six grands groupes (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. italicus* et *E. cecorum*) . Par contre, le nombre exact d'espèces, leurs divisions et l'étendue des habitats qu'ils peuplent sont encore incertains.

Certaines espèces colonisent surtout les selles, alors que d'autres se trouvent plus couramment dans l'environnement. Les termes « entérocoque », « streptocoque fécal » et « entérocoque intestinal » figurent dans la littérature traitant de l'eau potable, mais, pour des raisons pratiques, ils peuvent être considérés comme essentiellement synonymes et interchangeables; (BYAPPANAHALI, et al., 2012). Les méthodes d'essais normalisées pour la détection des entérocoques ne sont pas spécifiques des espèces se trouvant dans les selles et elles détectent les espèces naturellement présentes dans l'environnement.

Les probiotiques sont définis comme des préparations de micro-organismes viables en quantités suffisantes qui peuvent moduler la flore de l'organisme hôte, exerçant ainsi des effets bénéfiques pour la santé (FAO/WHO, 2006)

La plupart des souches utilisées comme probiotiques sont des bactéries lactiques provenant du tractus gastro-intestinal humain. Les bactéries les plus fréquemment rencontrées sont les lactobacilles (*Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum* et *Lb. reuteri*) et les bifidobactéries (*B. lactis*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* et *B. animalis*). Toutefois, il existe maintenant des souches appartenant aux genres *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, et même à la levure *Saccharomyces*, qui montrent des effets bénéfiques pour la santé de leur hôte (CHAMPAGNE, et al., 2008).

L'emploi des entérocoques comme probiotiques est potentiellement possible puisqu'ils appartiennent aux bactéries lactiques et font partie intégrante de la flore commensale de

l'homme et des animaux. En Suisse, l'efficacité clinique d'*E.faecium* SF68 a été démontrée dans la prévention de diarrhées associées aux antibiotiques chez l'adulte et dans le traitement de diarrhées chez l'enfant (BELLOMO, et al., 1980). Cette souche a été également testée pour traiter des diarrhées aiguës, et lors d'essais cliniques en Belgique, un raccourcissement de ces diarrhées de 1 à 3 jours a été observé (BUYDENS, et al., 1996). D'autre part, une préparation probiotique, appelée Causido®, composée d'un mélange de *S. thermophilus* et d'*E.faecium*, montre un effet hypocholestérolémiant à court terme (BERTOLAMI, et al., 2008). Parmi les souches qui ont été proposées comme probiotiques se trouvent également *E. faecium* EF9296 possédant une activité antimicrobienne contre *Listeria* spp. (MARCINAKOVA, et al., 2004) et *E. mundtii* ST4V .

1.3.1. Risques liés à l'utilisation des entérocoques comme probiotiques :

Les problèmes entre les entérocoques et les animaux sont leur origine gastro-intestinale, leur entrée dans la chaîne alimentaire, leur résistance aux antibiotiques et leur possible rôle dans des maladies d'origine alimentaire. On peut citer également leur capacité à échanger du matériel génétique ou encore, pour quelques souches, à produire de grandes quantités d'amines biogéniques associées à la fermentation.

1.3.2. Facteurs contribuant à la pathogénèse des entérocoques :

Les entérocoques ne sont pas des bactéries très virulentes par rapport aux *Staphylococcus* ou aux *Pneumococcus*. Pour devenir pathogènes, les entérocoques ont besoin d'exprimer des caractéristiques de virulence associées à l'adhésion, la translocation et la disparition de la réponse immunitaire (JETT, et al., 1994; BENOMAR, 2004).

Les deux espèces les plus couramment rencontrées dans ces infections sont *E. faecium* et *E. faecalis*. Cette dernière est responsable de 80 à 90 % des infections à base d'*Enterococcus*, alors que *E. faecium* n'est associé qu'à 5 à 10 % des infections (KAYSER, 2003; SANCHEZ, 2007).

D'autres espèces comme *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. irae* et *E. mundtii* ont été identifiées occasionnellement comme organismes responsables d'infections chez l'homme (JETT, et al., 1994).

❖ **Résistance à des antibiotiques :** Cette propriété est due à la présence intrinsèque de gènes de résistance principalement acquis par l'intermédiaire d'éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons). La plasticité du génome des entérocoques leur permet de

s'adapter constamment à leur environnement et de résister à une large variété d'antibiotiques (INOUE, et al., 2006; SANCHEZ, 2007). appartenant à différentes classes comme les bêta-lactames, les aminoglycosides, les lincosamides ou les glycopeptides.

En 1986, certains *E. faecium* ont montré des résistances à des antibiotiques de type glycopeptides (la vancomycine et le teicoplanine) (LEBLANC, 2006). L'apparition de souches résistantes à la vancomycine est d'autant plus inquiétante que cet antibiotique est considéré comme étant le dernier recours dans le cadre du traitement d'infections par entérocoques. De plus, il est souvent utilisé comme une alternative à l'ampicilline, la pénicilline et aux aminoglycosides chez les personnes allergiques (FRANZ, et al., 2004). Par ailleurs, les entérocoques vancomycine-résistants sont habituellement multirésistants et posent dès lors un réel problème de santé publique (INOUE, et al., 2006).

❖ **Facteurs de virulence.** Les facteurs de virulence permettent la colonisation et l'invasion des tissus ainsi que la perméabilisation des cellules épithéliales contournant ainsi les défenses immunitaires de l'hôte (FRANZ, et al., 2004). Les facteurs de virulence les plus couramment étudiés chez les entérocoques sont la production de substances d'agrégation, la production de cytolysine (bactériocine) et les activités enzymatiques.

1.4. Effets des probiotiques sur la santé :

1.4.1. Le bilan lipidique de l'hôte :

Plusieurs études ont été menées afin de déterminer l'effet des probiotiques sur l'abaissement des taux des lipides sanguins, bien que leurs effets soient très dépendants à la souche de micro-organisme et la dose ainsi qu'à l'animal (JARRIGE, et al., 1995)

Chez l'animal, des études ont déterminé l'effet des probiotiques dans la réduction des niveaux de cholestérol et des triglycérides dans le sang.

Chez des souris hypercholestérolémique spécialement, l'administration de *Lactobacillus reuteri* (104 UFC/jour) pendant 7 jours diminue la concentration en cholestérol sanguin total de 38% (Espace_réservé1) (TARANTO, et al., 1998).

De plus, De Smet *et al.* (1998) ont entrepris une expérience chez les porcs hypercholestérolémiques et ont montré une réduction significative des taux de cholestérol dans le sérum après administration d'une préparation de *Lactobacillus reuteri*.

Sharifi *et al.* (2011) dans leur expérience de l'utilisation des probiotiques dans l'alimentation des oiseaux, le taux de cholestérol sanguin et des protéines totales de cailles japonaises n'ont pas montré d'importantes différences.

1.4.2. La muqueuse intestinale de l'hôte :

L'altération de la perméabilité intestinale (fonction-barrière) causée par une infection, toxines ou autre facteur favorise un transfert aberrant d'antigènes (y compris la microflore locale) à travers l'intestin en engendrant des réponses immunitaires inappropriées (réactions inflammatoires ou auto-immunes).

Plusieurs probiotiques ont chez l'animal un effet favorable, à l'instar de la flore commensale, sur la fonction barrière de l'intestin, augmentant la résistance transépithéliale et diminuant la perméabilité notamment aux macromolécules. Selon Lan *et al.* (2004), la consommation du *Lactobacillus agilis* JCM 1048 et *Lactobacillus Salivarius* subsp *salicinius* JMS 1230 s'accompagnait d'une élévation significative des comptes de lactobacilles dans le jéjunum et les caecums. (Dock, et al., , 2004) ont montré chez les rats que les deux souches probiotiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus helveticus*) influencent positivement la restauration d'atrophie intestinale résultant d'une mal nutrition. Même constat auprès des poules de 42 jours à qui l'on avait donné de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (PELICANO, et al., 2003).

1.4.3. Le système immunitaire de l'hôte et prévention des maladies :

La muqueuse du tractus intestinal représente la plus importante interface entre l'hôte et son environnement. Pour assurer la protection de l'hôte contre l'invasion d'organismes nocifs, les propriétés fonctions est assurée par des mécanismes non spécifiques incluant, entre autre, la microflore intestinale et la production de molécules, soit par des bactéries désirables ou par l'hôte, qui contrôlent la croissance des bactéries et leur adhérence à la muqueuse intestinale.

Ces mécanismes constituent une première ligne de défense, quant aux fonctions immunitaires intestinales, elles font intervenir différents types de cellules qui interagissent ensemble pour surveiller et contrôler les agents infectieux qui n'ont pas pu être arrêtés complètement par les mécanismes non spécifiques (SANDRES, 1999).

Les probiotiques peuvent aussi libérer des composés dans la lumière intestinale, qui sont susceptibles d'être absorbés par l'épithélium intestinal et d'agir sur les cellules immunitaires.

1.5. Mécanismes d'action des probiotiques :

De façon générale, l'efficacité des probiotiques est liée à leur durée de présence dans le tube digestif ce qui n'implique pas forcément qu'ils puissent le coloniser ou s'y développer. Chez l'animal monogastrique, ils agissent comme des régulateurs de la flore intestinale en exerçant soit :

- a) Un effet prophylactique (antagonisme contre certains pathogènes par production de substances antimicrobiennes, compétition avec les pathogènes pour certains nutriments ou pour les récepteurs de la muqueuse intestinale)
- b) Et/ou un effet nutritionnel (augmentation de la digestibilité, production de nutriments favorables)
- c) Et/ou effet de détoxification (moindre production d'ammoniac, d'amines ou de cytotoxines) (SIMON, 2005).

Certains effets d'activation du système immunitaire et la modification de la structure et les fonctions de l'épithélium intestinal ont également été démontrés.

Ces effets bénéfiques dus à l'administration de probiotiques pourraient s'expliquer par plusieurs mécanismes :

1.5.1. Inhibition des bactéries indésirables :

Le refoulement des bactéries indésirables ou pathogènes peut se faire de plusieurs façons :

- La production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire tels que l'acide lactique et l'acide acétique limitent, en abaissant le PH, le développement des *Escherichia coli* et des *Salmonella* (GOURNIER-CHATEAU, et al., 1994).
- Certaines souches utilisées comme probiotiques possèdent la capacité de déconjuguer les sels biliaires : les formes déconjugées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées (MARTEAU, 2001).
- Compétition entre les probiotiques et les bactéries indésirables, qu'elles soient nutritionnelles (FOOKS, et al., 1999) .ou pour la colonisation des sites d'adhésion aux cellules épithéliales intestinales (OUWEHAND, et al., 1999).La capacité d'adhésion à la couche intestinale est une condition pour la colonisation des entrailles. L'adhérence constitue le premier mécanisme de défense contre l'invasion des bactéries pathogènes (PALOMARES, et al., 2007; RAYES-GAVILAN, et al., 2011).

1.5.2. Neutralisation des produits toxiques :

Les probiotiques interviennent très certainement dans la neutralisation de produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intradigestif et une orientation de la microflore intestinale, pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indoles) et diminuer les biotransformations des sels biliaires et des acides gras en produits toxiques. Les bactéries probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser in situ certaines toxines bactériennes (O'SULIVAN, et al., 2005).

Les probiotiques auraient aussi la capacité de produire des métabolites susceptibles de neutraliser certaines toxines : *Saccharomyces boulardii* secrète une enzyme « Protéase » empêchant l'absorption des toxines ochratoxicosis, ce qui améliore les paramètres hématologiques (GHADBAN, 2002).

1.5.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire :

Les souches probiotiques produisent des enzymes digestives (GHADBAN, 2002; LEE, et al., 2006), ce qui favoriserait la digestion des glucides et des protéines.

Les probiotiques facilitent la digestion du lactose, les *Lactobacillus* excrètent la β -galactosidase, souvent déficiente dans le tractus digestif de l'hôte, ce qui accélère la transformation normale physiologique du lactose avant que la flore intestinale résidente ne puisse transformer ce lactose en lactate qui engendre, suite à sa résorption lente depuis l'intestin, une diarrhée osmotiques (KOEN, et al., 2000).

Les probiotiques pourraient améliorer l'utilisation de la ration alimentaire de manière indirecte, en agissant sur la microflore intestinale ou au niveau des cellules épithéliales du tractus digestif (CHAFAI, 2006).

La digestibilité de la ration alimentaire pourrait être également augmentée par la prédigestion des facteurs antinutritionnels tels que, l'acide phytique et les glucosinates en substrats assimilables par l'hôte (HERZING, et al., 2003).

Les probiotiques permettraient aussi d'améliorer l'assimilation des acides aminés essentiels par l'hôte, soit en les synthétisant, soit en inhibant l'action des désaminases bactériennes excrétées par la microflore du tube digestif (CHAFAI, 2006).

De nombreuses bactéries utilisées comme probiotiques synthétisent des vitamines pouvant être assimilées par l'hôte (Choct, 2001; GRAJEK, et al., 2005).

2. Les prébiotiques :

2.1. Définition :

Le terme de prébiotique a été récemment introduit par Gibson et Roberfroid en 1995 (GIBSON, et al., 1995). Il désigne un ingrédient alimentaire non digestible par l'hôte mais stimulant sélectivement la croissance et / ou l'activité de certaines bactéries du côlon comme par exemple les bifidobactéries.

Pour qu'un ingrédient alimentaire soit classé comme prébiotique, il doit :

1. Ni être hydrolysé, ni être absorbé dans la partie haute du tube digestif,
2. Être un substrat sélectif d'une ou plusieurs bactéries bénéfiques, commensales du côlon, dont la croissance est alors stimulée et / ou le métabolisme activé,
3. En conséquence, induire une composition plus saine de la flore colique.

Les prébiotiques peuvent être des sucres non digestibles, des peptides ou des protéines et même des lipides qui, en raison de leur structure ne sont pas absorbés dans l'intestin grêle.

Actuellement, le plus important des polysaccharides naturels, autre que l'amidon, est l'inuline, qui se trouve dans les racines de chicorée, les artichauts, les asperges, les topinambours, les oignons, l'ail, le poireau, la banane...C'est un fruto-saccharide naturel (DACOSTA, 2001).

2.2. Intérêts des prébiotiques :

Comme nous l'avons vu précédemment, un prébiotique est un ingrédient alimentaire non digestible qui stimule sélectivement la croissance et/ou l'activité de certaines bactéries du côlon. Les prébiotiques les plus utilisés actuellement sont les oligosaccharides et les gommés (DELZENNE, 2003).

L'intérêt principal des prébiotiques est donc de servir de substrat à certaines bactéries du côlon et ainsi favoriser leur croissance et/ou leur activité. Les prébiotiques peuvent aussi empêcher la dégradation de la génistéine (STEER, et al., 2003). La génistéine est l'isoflavone principale contenue dans le soja. Elle empêche in vitro la croissance des cellules cancéreuses. La génistéine est dégradée par la microflore de l'intestin humain, entraînant une perte de son action anti-cancéreuse. Des échantillons fécaux ont été prélevés chez des sujets volontaires sains et ont été fermentés in vitro en présence d'isoflavones de soja, additionnées ou non de

fructo-oligosaccharides (FOS), qui sont des prébiotiques. La dégradation de la génistéine a été respectivement de 22, 24 et 26 % au cours des trois essais, en présence de FOS. En revanche, en l'absence de FOS, la dégradation de la génistéine était de 67, 95 et 93 % au cours des trois essais. L'addition de FOS a donc préservé la génistéine in vitro. L'utilisation de FOS a en même temps permis l'augmentation significative de la quantité de bactéries lactiques, notamment des bifidobactéries et des lactobacilles.

Enfin, les prébiotiques présentent un intérêt pour la nutrition des nouveau-nés et des jeunes enfants, en l'absence ou après l'interruption de l'allaitement maternel. En effet, l'ajout de prébiotiques dans les laits maternisés permet de limiter les désordres gastro-intestinaux (GHISOLFI, 2003). Ils permettent aussi d'augmenter significativement la concentration de bifidobactéries dans les selles (et probablement aussi dans l'intestin) des enfants prématurés. En effet, chez ces enfants, l'administration prolongée de probiotiques induit une élévation des anticorps IgA et IgM spécifiquement dirigés contre les probiotiques. Cela explique que la présence de germes vivants dans les selles disparaît presque entièrement malgré l'administration continue de probiotiques. L'administration de prébiotiques induit après 28 jours une augmentation significative de la concentration de bifidobactéries dans les selles (MARINI, et al., 2003).

2.3. Mode d'action des prébiotiques :

Les prébiotiques agissent de manière indirecte : en eux-mêmes, ils n'ont aucun effet sur l'organisme. Par contre, ils sont très utiles pour les micro-organismes présents dans les intestins et en particulier les bactéries intestinales. Grâce à eux, les hôtes peuvent se développer, occuper l'espace, et synthétiser des composés qui seront utiles à l'organisme ou à d'autres bactéries. Ainsi, par leur simple présence ou par la sécrétion de ces métabolites, les prébiotiques œuvrent en faveur de la santé. Car attention, pour être un prébiotique, il faut montrer patte blanche et être utile à des micro-organismes eux-mêmes bénéfiques pour la santé ! Pas question de revendiquer le statut de prébiotique pour un composé qui favoriserait le développement d'un pathogène.

3. Les symbiotiques :

Un probiotique peut être associé à un substrat, qui lui est spécifique, appartenant à la classe des prébiotiques. Le mélange ainsi constitué est alors appelé symbiotique : un fructo-oligosaccharide peut être associé de cette manière à une souche de bifidobactéries ou bien du lactitol à un lactobacille (GIBSON, et al., 1995). Ce type de préparation devrait permettre une survie plus longue des bactéries dans le supplément alimentaire, avec en conséquence une date limite d'utilisation plus tardive, un nombre accru de bactéries atteignant le côlon sous forme viable, une stimulation dans le côlon de la croissance et de l'implantation des bactéries exogènes et une activation de leur métabolisme (BERGMARK, 1998).

Nous savons maintenant que prébiotiques et probiotiques ont des actions complémentaires et leur association assure les meilleurs résultats possibles. Le développement de symbiotiques (combinaison d'un prébiotique et d'un probiotique) semble donc très prometteur. Dans un modèle murin, (RASTALL, et al., 2002) ont investigué la capacité d'une préparation symbiotique, associant *Bifidobacterium breve* et des galacto-oligosaccharides, à récupérer une colonisation intestinale quasi-normale après une salmonellose. Les souris ont été traitées par streptomycine, ce qui a rendu indétectable les taux de bifidobactéries, lactobacilles et entérobactéries dans les selles. Les souris ont été nourries avec une préparation à base de *B. breve* et de galacto-oligosaccharides. La recolonisation du tractus gastro-intestinal lors de l'utilisation du symbiotique a plus importante que lorsque le probiotique était utilisé seul.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- AXELSSON, I. 2004.** *Lactic acid bacteria classification and physiology in lactic acid bacteria microbiological.* s.l. : marcel dekker, 2004. p. 1_66.
- BARBUT, f et JOLY, f. 2010.** « *Le microbiote intestinal : équilibre et dysbiose* ». *Hépatogastro & Oncologie Digestive.* 2010. p. 17 (6): 511 20.
- BELLOMO, g, et al. 1980.** . *A controlled double-blind study of SF68 strain as a new biological preparation for the treatment of diarrhea in pediatrics.* *Curr. Ther. Res.,.* 1980. pp. 927-936. Vol. 28.
- BENOMAR. 2004.** . *Functional and safety aspects of Enterococci isolated from different Spanish foods.* *Syst. Appl. Microbiol.* 2004. pp. 118-130. Vol. 27.
- BERGMARK. 1998.** *of probiotic flora. Gut, Ecological control of the gastrointestinal tract : the role.* 1998. pp. 2-7. Vol. 42 .
- BERTOLAMI, c et E, Farnworth. 2008.** *The properties of Enterococcus faecium and the fermented milk product-Gaio®.* In: *Farnworth E., ed. Handbook of fermented functional foods. 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press Taylor & Francis Group.* 2008. pp. 59-75.
- BURCELIN, r, NICOLAS, s et BLASCO-BAQUE, v. 2016.** « *Microbiotes et maladies métaboliques. De nouveaux concepts pour de nouvelles stratégies thérapeutiques . médecine/sciences :* . 2016. p. 952 60. Vol. 32 (11).
- BUYDENS, p et Debeuckelaere, S. 1996.** *Efficacy of SF 68 in the treatment of acute diarrhea. A placebo-controlled trial.* *Scand. J. Gastroenterol..* 1996. pp. 887-891. Vol. 31.
- BYAPPANAHALI, mn , Roll BM et RS., Fujioka. 2012.** *Evidence for occurrence, persistence, and growth of Escherichia coli and enterococci in Hawaii's soil environments.* . s.l. : Microbes Environ., 2012. pp. 164–170. Vol. 27: .
- CAMPEOTTO, et al. 2007.** *Gastroentérologie Clinique et Biologique Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né.* 2007. Vol. 31 (5): 533 42.
- CDU-HGE. 2014.** *Microbiote et immunité intestinale.* s.l. : Elsevier-Masson - Octobre, 2014.
- CHAFAI, S. 2006.** *Effet de l'addition des probiotiques dans les régimes alimentaires sur les performances zootechniques du poulet de chair. Mémoire de magister. Université Lakhdar de Batna.* BATNA : s.n., 2006.
- CHAMPAGNE, c et H., Møllgaard. 2008.** *Production of probiotic cultures and their addition in fermented foods.* In: *Farnworth E., ed. Handbook of fermented functional foods. 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press Taylor & Francis Group,* 71-88. 2008.
- CHENG, j, et al. 2013.** *Contribution of the Intestinal Microbiota to Human Health: From Birth to 100 Years of Age* ». 2013. Vol. 358: 323 46.
- CHERYL, h. 2004.** *Probiotics foods for good health.* s.l. : Beatrice trum hunter basic health publication. INC, 2004. p. 110.
- Choct, m. 2001.** *Alternatives to in-feed antibiotics in monogastric animal industry.* *ASA Technical bulletin.* 2001. Vol. 30.
- CLAUDE, j-r, et al. 2011.** *CONCEPT PAPER : le séquençage à haut débit méthodes et enjeux en médecine, pharmacologie et toxicologie.* [En ligne] 2011.
http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0edd877424b6f7301df42c2aff2a9a5a.pdf.
- DACOSTA. 2001.** *Lavoisier. Probiotiques et prébiotiques en alimentation humaine.* PARIS : s.n., 2001.
- DELZENNE, n, m. 2003.** *Oligosaccharides : state of the art.* *Proc. Nutr. Soc.,* 2003. pp. 177-82. Vol. 62 .
- Dock, D. B., Aguilar-Nascimento, J.E. et Q., Latorraca M. , 2004.** *the recovery of gut atrophy in experimental malnutrition.* *Biocell.,* , 2004. pp. 143-150. Vol. 28(2):.

- Dolié, e. 2018.** *Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures ind* Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université Toulouse III Paul Sabatier. 2018.
- FAO/WHO. 2006.** *Probioticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación.* Roma: Estudio : s.n., 2006. p. 85.
- FISHER, k et Phillips, c. 2009.** *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus.* *Microbiology.* 2009. pp. 1749-1757. Vol. 155.
- FOOKS, I, j, r, Fuller. et R, Gibson. G. 1999.** *Prebiotics. p 60101human gut microbiology, international dairy journal.* 1999. pp. 53-61. Vol. 97.
- FRANZ, c et W, Holzapfel. 2004.** *The genus Enterococcus: biotechnological and safety issues.* In: Salminen S., Von Wright A. & Ouwehand A., eds. *Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects.* 3rd Ed. New York, USA: Marcel Dekker, Inc., 199248. 2004.
- FULLER, r. 2004.** *Probiotics: their development and use.* http://www.oldherborn-university.de/literature/books/OHUni_book_8_article_1.pdf. 2004.
- GHADBAN, g,s. 2002.** *Probiotics in broiler production.* *Rev. Geflu gelk.* 2002. pp. 49-58. Vol. 66(2).
- GHISOLFI, J. 2003.** *Dietary fibre and prebiotics in infant formulas.* *Proc. Nutr.* 2003.
- GIBSON et ROBERFROID M.B. 1995.** *colonic microbiota : introducing the concept of prebiotics.* *J. Nutr., Dietary modulation of the human.* 1995. pp. 1401-12. Vol. 125.
- GOURNIER-CHATEAU, n, Larpent, J. P. et Castellanos, M.I.. 1994.** *les probiotiques en alimentation animales et humaine.* s.l. : TEC ET DOC Lavoisier. Paris. , 1994. p. 120. Vol. 51.
- GRAJEK, w, Olejnik, A. et Sip, A. 2005.** *Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods.* *ACTA Biochimica. Polonica.* 2005. pp. 665-671. Vol. 52N 3.
- HERZING, i, et al. 2003.** *Testing of growth promoting and protective activity of the probiotic lactiferm in weaned piglets.* *Acta. Vet. Brno.* 2003. pp. 331-338. Vol. 72.
- HIGGINS, s, j, p, et al. 2010.** *Effet of Lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on Salmonella Enteritidis in neonatal broilers, Poultry. Science.* 2010. Vol. 89.
- IDOUI, t, et al. 2009.** *Activité probiotique de Lactobacillus plantarum : Étude réalisée chez poulet de chair ISA 15.* Huitièmes Journées de la recherche Avicole, St Malo, 25 et 26 mars 2009. 2009.
- INOUE, t, H., Tomita et Y., Ike. 2006.** *Bac 32, a novel bacteriocin widely disseminated among clinical isolates of Enterococcus faecium.* *Antimicrob. Agents Chemother.,* 50(4), 1202-1212. 2006.
- ISOLAURI, SALMINEN, , s et OUWEHAND, a ,c. 2004.** *Clinical Gastroenterology "Probiotics."* *Best Practice & Research.* 2004. pp. : 299-313. Vol. 18(2).
- JARRIGE, r, et al. 1995.** *Nutrition des ruminants domestiques.* s.l. : INRA., 1995. p. 337.
- JETT, b, M, Huycke et Gilmore, M. 1994.** *Virulence of enterococci.* *Clin. Microbiol. Rev.* 1994. pp. 462-478. Vol. 7(4).
- KAYSER, f. 2003.** *Safety aspects of enterococci from the medical point of view.* *Int. J. Food Microbiol.* 2003. pp. 255-262. Vol. 88.
- KOEN, K et P, Chris. 2000.** *L'impact de la nutrition sur la santé Développement récents-2.* [éd.] Garant. 2000. p. 33.
- LE LAY, c. 2015.** *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis UL719 et la nisine : une nouvelle approche dans le traitement des infections à Clostridium difficile.* [Disponible sur : <https://corpus.ulaval.ca/jspui/handle/20.500.11794/26552>]. 2015.
- LEBLANC, d. 2006..** *Enterococcus. Prokaryotes,..* 2006. pp. pp. 175-204. Vol. Vol. 4.
- . 2006. *Enterococcus. Prokaryotes,..* 2006. pp. 175-204. Vol. 4.
- LEE, k, w, K., Lee S. et D, Lee B. 2006.** *Aspergillus oryzae as Probiotic in Poultry.* *Poult. Sci.* 2006. pp. 01-03. Vol. 5(1).
- MARCINAKOVA, m, M, Simonová et Lauková, a. 2004.** *Probiotic properties of Enterococcus faecium EF9296 strain isolated from silage.* *Acta Vet. Brno.* 2004. pp. 513-519. Vol. 73.

- MARINI, NEGRETTI F. et BOEHM G. 2003.** *flora. Acta. Paediatr.administration in preterm infants : colonization and influence on faecalPro- and prebiotics.* 2003. pp. 80-1. Vol. 91.
- MARTEAU, p. 2001.** *Safety aspects of probiotic products. Scand. J. Nutr.* 2001. p. 812. Vol. 45.
- MOWAT, a ,m. 2003.** "Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens." 2003. pp. 331-341. Vol. 3(4).
- MUNIZ, et al. 2012.** *Intestinal Antimicrobial Peptides during Homeostasis, Infection, and Disease.* 2012. p. 310.
- O'SULIVAN, g , c , p, et al. 2005.** *Probiotics: An Emerging Therapy. Curr. Pharm.Design.* 2005. pp. 3-10. Vol. 11.
- OUWEHAND, a., et al. 1999.** *Probiotics: mechanisms and established effects, International dairy journal.* 1999. pp. 43-52. Vol. 9.
- PALOMARES, i, c, R., Pérez-Morales et E, Acedo-Félix. 2007.** *Evaluation of probiotic probiotics in Lactobacillus isolated from small intestine of piglets Rev. Latinoam. Microbiol.* 2007. pp. 46-54. Vol. 49(3-4).
- PELICANO, e,r,l, et al. 2003.** *Effect of different probiotics on broiler Carcass and meat quality. Rev. Bras. Cienc.* 2003. pp. 207-214. Vol. 5(03).
- QIN, et al. 2010.** « *A Human Gut Microbial Gene Catalogue Established by Metagenomic Sequencing* ». 2010. p. 59 65. Vol. 464(728).
- RASTALL, a et V, MAITIN. 2002.** *generation. Current Opinion in biotechnologyPrebiotics and synbiotics : towards the next.* 2002. pp. 490-6. Vol. 13 .
- RAYES-GAVILAN, Suarez. A, M., Fernandez-Garcia. et A., Margolles. 2011.** 2011.
- ROLF, r d. 2000.** *The Role of Probiotic Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. J. Nutr.* 2000. pp. 396-402. Vol. 130.
- ROOK, g, a, L., RAISON C. et A., LOWRY C. (2014).** *Microbial 'old friends', immunoregulation.* (2014). pp. 1-12. Vol. 177(1): .
- SANCHEZ, j. 2007.** *Antimicrobial and safety aspects and biotechnological potential of bacteriocinogenic enterococci isolated from mallard ducks (Anas platyrhynchos). Int. J. Food Microbiol..* 2007. pp. 295-305. Vol. 117.
- SANDRES, m,e. 1999.** *Probiotics. Food. Technol.* 1999. Vol. 53.
- SIMON, o. 2005.** *Micro-Organisms as Feed Additives - Probiotics. Advances in Pork Production.* 2005. p. 161. Vol. 16.
- STEER, t, e, et al. 2003.** *and the effect of prebiotics.Metabolism of the soybean isoflavone glycoside genistin in vitro by human gut bacteria.* 2003. pp. 635-42. Vol. 90 .
- TARANTO, m,p, et al. 1998.** . *Evidence of hypocholesterolemic effect of Lactobacillus reuteri in hypercholesterol mice. J. Dairy. Sci..* 1998. pp. 2336-2340. Vol. 81.
- VANDELPAS, s, et al. 2009.** *Efficiency of a Lactobacillus plantarum-xylanase combination on growt performances,microflora populations, and nutriment digestibilités of broilers infected with Salmonella typhimurium,poultry science.* 2009. p. 6431654. Vol. 88.
- VITTORIO, s ,a, et al. 2005.** *Effets de l'addition de Pediococcus acidilactici dans la ration de poulets de chair sur les performances zootechniques et la microflore intestinale". In: Proceedings des Proceedings des 6ème Journées de la recherche Avicole, St Malo(FRA).* 2005. pp. 208-211.
- WENG, m et WALKER, w , a. 2013.** *phenotypeThe role of gut microbiota in programming the immune. ." Journal of developmental origins of health and disease) : s.n., 2013. pp. 203-214. Vol. 4(03).*

