

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. Mira-Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Polycopié de cours

Les Probiotiques en Alimentations Humaine et Animale

Partie 1 : Probiotiques en Alimentation humaine

Destiné aux étudiants Master : Microbiologie Appliquée

Liste des figures

| N° | Titre | Page |
|-----------|--|-------------|
| 01 | Micrographies électroniques à balayage montrant des cellules de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> FTDC 1311 cultivées dans un milieu sans cholestérol (A) ou supplémenté avec 100 mM de cholestérol (B)..... | 25 |
| 02 | Microphotographies électroniques montrant des cellules de <i>Lc. lactis</i> KF cultivées en l'absence (a) et en présence (b) de cholestérol (20000 xs)... | 26 |
| 03 | Représentation des différents genres microbiens autorisés en tant qu'additifs en alimentation porcine et avicole en Europe..... | 33 |

Sommaire

| | |
|--|-----------|
| I. Les probiotiques en alimentation humaine..... | 05 |
| 1. Introduction et historique..... | 05 |
| 2. Définition..... | 05 |
| 3. Principaux probiotiques..... | 06 |
| 4. Caractéristiques des probiotiques..... | 06 |
| 5. Rôle des probiotiques..... | 07 |
| 5. 1. Situations d’administration des probiotiques..... | 08 |
| 5. 2. Effets observés..... | 08 |
| 5. 2. 1. Cas de l’intolérance au lactose..... | 09 |
| 5. 2.2. Cas des diarrhées aiguës..... | 10 |
| 5. 2. 3. Cas d’autres désordres intestinaux..... | 10 |
| 6. Mécanismes d’action des probiotiques..... | 11 |
| 6. 1. Compétition pour les nutriments limités..... | 11 |
| 6. 2. Stimulation de l’immunité..... | 11 |
| 6. 3. Inhibition de l’adhésion aux cellules de la muqueuse intestinale..... | 12 |
| 6. 4. Inhibition de l’invasion épithéliale de la muqueuse intestinale..... | 14 |
| 6. 5. Surexpression de mucines..... | 14 |
| 6. 6. Synthèse de substances antimicrobiennes..... | 14 |
| 6. 6. 1. Acides organiques..... | 14 |
| 6. 6. 2. Peroxyde d’hydrogène (H ₂ O ₂)..... | 15 |
| 6. 6. 3. Dioxyde de carbone (CO ₂)..... | 16 |
| 6. 6. 4. Acides gras..... | 16 |
| 6. 6. 5. Reutéline..... | 17 |
| 6. 6. 6. Bactériocines..... | 17 |
| 6.7. Action antitoxines..... | 18 |
| 7. Applications des probiotiques..... | 19 |
| 7. 1. Alimentation fonctionnelle basée sur les probiotiques et les prébiotiques..... | 19 |
| 7. 1. 1. Les prébiotiques..... | 20 |
| 7. 1. 2.. Les probiotiques..... | 21 |
| 7. 2. Produits, dosage, sécurité et régulation..... | 21 |
| 7. 3. Prévention et traitement de l’hypocholestérolémie..... | 24 |
| 7.3.1. Mécanismes proposés de réduction du cholestérol par les bactéries lactiques <i>in vitro</i> | 24 |
| 7. 3. 1. 1. Assimilation du cholestérol..... | 24 |
| 7. 3. 1. 2. Fixation et incorporation du cholestérol dans la membrane plasmique.... | 24 |
| 7. 3. 1. 3. Réduction de l’absorption du cholestérol..... | 27 |
| 7. 3. 1. 4. Déconjugaison des sels biliaires et co-précipitation..... | 28 |
| 7. 3. 2. Processus de réduction du cholestérol par les bactéries lactiques <i>in vivo</i> | 29 |
| 7. 3. 2. 1. Inhibition de la synthèse du cholestérol..... | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 7. 3. 2. 2. Fonction de la BSH : déconjugaison des sels biliaires..... | 30 |
| 7. 3. 2. 3. Conversion du cholestérol en acides biliaires..... | 30 |
| 7. 3. 2. 4. Production d'acides gras à courte chaîne..... | 31 |
| 7. 3. 2. 5. Conversion du cholestérol en coprostanol..... | 31 |
| II. Les probiotiques en alimentation animale..... | 32 |
| 1. Introduction..... | 32 |
| 2. Principaux genres employés chez l'animal..... | 32 |
| 3. Indications des probiotiques..... | 33 |
| 3.1. Indications médicamenteuses..... | 33 |
| 3. 2.Indications comme facteurs de croissance..... | 34 |
| 4. Rôle des probiotiques chez l'animal..... | 34 |
| 5. Mécanismes d'action des probiotiques..... | 35 |
| 5.1. Inhibition des bactéries indésirables..... | 35 |
| 5.2. Neutralisation des produits toxiques..... | 35 |
| 5.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire..... | 36 |
| III. Conclusion..... | 36 |

I. Les probiotiques en alimentation humaine

1. Introduction et historique

Bien que le premier lait fermenté aux probiotiques ait été mis sur le marché il y a près de 50 ans, le domaine des aliments probiotiques ne s'est développé que dans les années 70. A titre d'exemple, en 1997, plus de 70 produits laitiers industriels (dont plus de la moitié au Japon) tels que des laits fermentés, du fromage blanc, du babeurre et des desserts surgelés contenaient des bactéries probiotiques. Dans les pays de l'Europe continentale, les probiotiques sont considérés en tant que médicaments alors que dans d'autres pays, ils sont commercialisés en tant que suppléments alimentaires.

Le concept de probiotiques dérive d'une théorie proposée pour la première fois par le scientifique russe (prix Nobel), Elie Metchnikoff en 1908, qui pensa que la longévité remarquable des paysans bulgares résultait de leur consommation de laits fermentés. Il suggéra que les bactéries ingérées pouvaient avoir une influence positive sur la flore intestinale. Le terme probiotique a été proposé par Lilly et Stillwell en 1965.

2. Définition

La définition d'un probiotique a été modifiée au fil du temps en fonction des connaissances sur son mécanisme d'action. Le terme probiotique a été utilisé, bien avant par divers chercheurs, mais c'est pour la première fois que le terme «microorganisme» a été inclus dans la définition de probiotique par Lilly et Stillwell en 1965 pour le décrire comme des substances secrétées par un protozoaire et qui stimulent la croissance d'un autre protozoaire. Parker (1974) fut le premier à l'employer dans le sens actuel, selon lui, un probiotique est « un organisme ou une substance qui contribue à l'équilibre microbien intestinal ». Révisée par Fuller en 1989, la définition de Parker est devenue « un supplément alimentaire microbien vivant qui affecte de façon bénéfique l'animal hôte en

améliorant son équilibre microbien intestinal ». Cette définition a été élargie par Havenaar en 1992 à « une culture simple ou mixte de microorganismes viables qui, ingérés en un certain nombre exercent des effets bénéfiques sur la santé au-delà de ceux dus à la nutrition de base ». Enfin en 2001, Schrezenmeir révisé à nouveau la définition d'un probiotique et devient alors « une préparation ou un produit contenant des microorganismes viables en nombre suffisant, qui altère la microflore (par implantation ou colonisation) dans un compartiment de l'hôte et de ce fait exerce des effets bénéfiques sur la santé ». Enfin, le comité mixte de la FAO/OMS, en 2001, a établi une définition officielle du terme « probiotique » dans les aliments: « Microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont consommés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte ».

De nouvelles recherches ont élargi la définition des probiotiques du fait qu'il a été montré que des micro-organismes génétiquement générés et des microorganismes non vivants peuvent posséder un potentiel bénéfique pour la santé humaine et animale.

3. Principaux probiotiques

Les probiotiques les plus fréquemment étudiés sont des espèces de *Bifidobacterium* (*Bf. infantis*, *Bf. bifidum*, *Bf. lactis*...) et *Lactobacillus* (*Lb. rhamnosus* GG, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii* et *Lb. reuteri*). *Lb. rhamnosus* (dont la souche GG) est l'espèce de *Lactobacillus* la plus fréquemment étudiée chez l'Homme.

4. Caractéristiques des probiotiques

En plus d'assurer l'absence de toxicité ou de pathogénicité de la souche, et afin de satisfaire à la définition des probiotiques, les microorganismes doivent survivre, persister temporairement dans le tractus digestif et montrer une activité qui doit se traduire par des effets positifs pour l'hôte.

Les microorganismes potentiellement probiotiques doivent donc être sélectionnés selon différents critères qui sont décrits dans le tableau I.

Tableau I. Principaux critères utilisés pour la sélection des microorganismes probiotiques chez l'animal.

| | |
|--------------------------------|--|
| Critères de sécurité | <ul style="list-style-type: none">• Historique de non pathogénicité• Aucune possibilité de transmission de gènes de résistance aux antibiotiques• Pas de déshydroxylation des sels biliaries |
| Critères fonctionnels | <ul style="list-style-type: none">• Tolérance à l'acidité gastrique• Tolérance à la bile• Antagonisme vis-à-vis des agents pathogènes et production de substances antimicrobiennes (bactériocines)• Adhésion à diverses lignées de cellules intestinales et/ou au mucus• Stimulation du système immunitaire• Etre capable d'exercer un effet bénéfique sur la santé de l'animal• Rester vivants en nombre important• Etre stable et rester vivant durant la période de stockage |
| Critères technologiques | <ul style="list-style-type: none">• Stabilité au cours des procédés de production et dans le produit fini• Conservation des propriétés probiotiques après production. |

5. Rôle des probiotiques

L'utilisation des probiotiques pour la prévention et le traitement des désordres intestinaux a été suggérée depuis plusieurs années. Toutefois, les probiotiques les mieux étudiés sont les bactéries lactiques, particulièrement des espèces des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, ces bactéries ont été démontrées capables d'inhiber la croissance *in vitro* de nombreuses bactéries pathogènes entériques, incluant *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* et *Clostridium difficile* et ont été utilisées aussi bien chez l'Homme que chez l'animal pour traiter une variété de désordres gastro-intestinaux tels que les diarrhées associées aux

antibiotiques (incluant la maladie intestinale associée à *Clostridium difficile*), les diarrhées infectieuses, bactériennes et virales (incluant les diarrhées causées par *Rotavirus*, *Shigella*, *Salmonella* et le virus d'immunodéficience humaine : VIH....), les gastro-entérites dues à *Helicobacter pylori*, la maladie inflammatoire et le syndrome irritant du colon ou encore l'intolérance au lactose.

Ces bactéries modifient la microflore intestinale en augmentant le nombre de lactobacilles et de Bifidobactéries dans le colon et peuvent interférer positivement avec les processus enzymatiques catalysés par les bactéries entériques.

On considère les probiotiques comme un moyen de véhiculer les principes actifs qu'ils contiennent (enzymes, composants de paroi, peptides immunomodulateurs, substances antibactériennes ...) jusqu'à leurs cibles d'action dans le tractus digestif.

5. 1. Situations d'administration des probiotiques

L'administration orale de probiotiques est préconisée dans certaines situations à savoir la délivrance par césarienne ou prématurée et les moments de stress et de traitement aux antibiotiques où l'administration d'organismes désirables pourrait rétablir ou promouvoir le rétablissement de la microflore indigène et prévenir la colonisation par les organismes opportunistes ou pathogènes. Elle est aussi recommandée chez les personnes âgées qui semblent avoir une réduction des taux de Bifidobactéries intestinales. Cette modification pourrait être consécutive à l'incidence accrue de maladies dégénératives et infectieuses chez ces personnes.

5. 2. Effets observés

On a rapporté que l'administration de formules lactées contenant des Bifidobactéries vivantes durant les deux premiers mois de la vie, à des nourrissons, leur permettait d'atteindre une prévalence de colonisation similaire à celle des nourrissons

allaités au sein. Un essai contrôlé a montré que l'administration à des nourrissons hospitalisés de souches de *Bifidobacterium* sp. et de *Streptococcus thermophilus* a diminué significativement le risque de diarrhée et d'infections au *Rotavirus*. L'effet protecteur d'une souche humaine de *Bifidobacterium bifidum* à l'égard du *Rotavirus* du groupe A a été démontré. De même, plusieurs essais ont montré l'efficacité des souches probiotiques dans la prévention des perturbations digestives liées à l'antibiothérapie, cas de *Bifidobacterium longum* prévenant les désordres digestifs liés au traitement par l'Erythromycine. On a également montré que l'augmentation de l'activité β -galactosidase par les Bifidobactéries et les lactobacilles réduit significativement l'activité uréolytique délétère de la flore entérique.

5. 2. 1. Cas de l'intolérance au lactose

De nombreuses personnes sont sujettes, avec l'âge, à un déclin dans l'activité lactasique (β -galactosadique) au niveau de la muqueuse intestinale. Ce déclin induit une malabsorption du lactose, résultant en des ballonnements, crampes abdominales et une diarrhée liquidienne modérée à sévère. On a démontré que les bactéries du yaourt (*Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) étaient capables de synthétiser une lactase qui aide à la bonne digestion du lactose dans la lumière intestinale. On a constaté que la consommation de yaourt contenant *Lactobacillus acidophilus* améliorait significativement le métabolisme du lactose chez des personnes intolérantes à ce dernier. Ces études indiquent que la délivrance d'une lactase au niveau de l'intestin via la consommation de probiotiques producteurs de lactase est une approche pratique pour le traitement de l'intolérance au lactose.

5. 2.2. Cas des diarrhées aiguës

Diarrhées associées aux antibiotiques. Suite au traitement aux antibiotiques (ATB), la perturbation de la flore intestinale peut résulter en une croissance et synthèse de toxines par *Clostridium difficile* au niveau de l'intestin. Plusieurs études ont montré que le traitement avec *Lactobacillus* GG prévient l'apparition de diarrhées après antibiothérapie. On a montré (Bendali *et al.*, 2011a) qu'une souche de *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* était capable de restaurer les muqueuses intestinale et colique suite à des lésions causées par une infection à *Staphylococcus aureus* faisant suite à une antibiothérapie.

5. 2. 3. Cas d'autres désordres intestinaux

Le syndrome du colon irrité (IBS : Irritable Bowel Syndrome) est un désordre fonctionnel commun de l'intestin bas, affectant aussi bien l'adulte que les enfants, associé avec une distension abdominale, diarrhée, constipation, ballonnements et urgence à la défécation. D'étiologie inconnue, cependant l'écosystème microbien intestinal est modifié par comparaison aux individus normaux. Certaines études chez des patients adultes ont montré que la consommation de probiotiques réduit ces symptômes. Des nouveau-nés, à poids faible, recevant *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidus* et *Streptococcus thermophilus* avaient une réduction significative de l'incidence et de la sévérité de l'entérocolite nécrosante (NEC) comparés aux bébés ne recevant pas de traitement probiotique. Des résultats similaires ont été obtenus avec *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium infantis*. *Lactobacillus plantarum* a été montrée capable d'inhiber la migration transepithéliale de neutrophiles induits par des souches d'*E. coli* entéro-pathogènes; de même, *Lactobacillus plantarum* MF1298 et *Lactobacillus*

salivarius DC5 étaient capables d'augmenter la résistance transepithéliale de monocouches de cellules Caco-2 polarisées.

6. Mécanismes d'action des probiotiques

Plusieurs mécanismes ont été proposés par lesquels les probiotiques pourraient protéger l'hôte des désordres intestinaux. La somme de tous les processus par lesquels les bactéries inhibent la colonisation par d'autres souches est appelée « **résistance à la colonisation** » : Compétition pour les nutriments limités, stimulation de l'immunité, inhibition de l'adhésion aux cellules de la muqueuse intestinale, inhibition de l'invasion épithéliale de la muqueuse intestinale, production de substances antimicrobiennes (acides organiques, peroxyde d'hydrogène, bactériocines...), action antitoxines par modification des toxines produites par les agents pathogènes ou de leurs récepteurs présents au niveau de la paroi intestinale.

6. 1. Compétition pour les nutriments limités

Les probiotiques préviennent la colonisation par les microorganismes pathogènes par compétition pour les nutriments et autres facteurs de croissance. On a proposé que la chélation du fer comme étant un des principaux mécanismes d'action des probiotiques à l'égard de la flore pathogène.

6. 2. Stimulation de l'immunité

Les probiotiques promeuvent également les défenses de l'hôte. Ils stimulent les macrophages et les cellules naturelles tueuses NK « natural killer cells », la prolifération des lymphocytes, et l'augmentation de la production d'immunoglobulines A (IgA) circulants. Ils jouent un rôle dans la modulation de l'immunité en ciblant les phénomènes de signalisation cellulaire en bloquant ainsi la production de facteurs de virulence et la septicémie. Un nombre croissant d'essais cliniques ont documenté les effets d'ingestion

de certains probiotiques sur l'immunité intestinale. Par exemple, chez aussi l'animal que l'Homme, l'ingestion de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Lactobacillus acidophilus* active la production des macrophages et la phagocytose. Chez l'Homme, la consommation de *Lactobacillus acidophilus* La1 et de Bifidobactéries augmentait le taux des IgA totaux et spécifiques circulants actifs à l'égard de *Salmonella* après vaccination orale à *S. Typhi* à des taux cliniquement significatifs. Ces mêmes probiotiques, aussi bien que *Bifidobacterium lactis* HN019, ont été démontrés capables d'activer l'activité phagocytaire à l'égard d'*E. coli* aussi bien que celle des cellules naturelles NK (natural killer cells). Dans une étude sur la lignée cellulaire de macrophage, J774.1, des souches de lactobacilles induisaient une production de cytokines pro- et anti-inflammatoires dans les macrophages. Une administration orale de souches de *Lactobacillus reuteri* et de *Lactobacillus brevis* à des souris induisait une réponse pro-inflammatoire sous forme de TNF- α , IL-2 et/ou IL-1 β dans le colon.

6. 3. Inhibition de l'adhésion aux cellules de la muqueuse intestinale

Les probiotiques préviennent également la colonisation par les microorganismes pathogènes par compétition pour les sites et les récepteurs d'adhésion. En effet, l'adhésion à la muqueuse intestinale a été montrée pour plusieurs souches de *Lactobacillus* telles que les souches 299 et 299V de *Lactobacillus plantarum* et celles de *Bifidobacterium infantis*. Les probiotiques adhérents peuvent persister au niveau de la muqueuse colique bien après la non détection de la souche dans les selles. Ces bactéries agissent par déplacement compétitif des agents pathogènes intestinaux et l'engagement de récepteurs membranaires qui activent la signalisation cellulaire aboutissant à la synthèse de cytokines dont l'interféron. Des souches de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus crispatus* et autres, forment

une couche protéique de surface, appelée la couche S, qui couvre la surface cellulaire pouvant contenir des substances qui aident à l'adhésion à la surface intestinale, ou qui confèrent une hydrophobicité à la surface cellulaire. De plus, on a rapporté que *Lactobacillus crispatus* exprimait un composant de la couche S inhibant l'adhésion d'*Escherichia coli* à la membrane basale de la matrice cellulaire. Une étude a montré la capacité antiadhésive de métabolites protéiques produits par *Bifidobacterium longum* SBT2928 sur l'adhésion d'*Escherichia coli* entérotoxigène K88 au gangliotetraosylceramide. De même, l'adhésion de cette souche, au mucus intestinal porcin a été inhibée lorsque cette souche fut cultivée en culture mixte avec *Enterococcus faecium* 18C23. D'autres études ont montré que des souches de *Lactobacillus reuteri* adhérents à l'asialo-GM1 inhibaient l'adhésion de *Helicobacter pylori* à ce dernier et *Lactobacillus johnsonii* La1 entre en compétition avec divers agents entéropathogènes pour des récepteurs glucidiques au niveau de l'intestin par expression de deux glucides liant les oligomannosides et l'asialo-GM1. La compétition pour des sites d'adhésion au niveau de la surface de la muqueuse intestinale pourrait également être le mécanisme par lequel *Lactobacillus casei* Shirota et *Lactobacillus rhamnosus* GG sont capables de déplacer les cellules adhérentes d'*E. coli* entéropathogènes et de *Salmonella* Typhimurium de la surface des cellules Caco-2 et du mucus intestinal humain. Trois souches de *Lactobacillus* inhibaient l'adhésion et déplaçaient *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* et *Clostridium difficile*. *Lactobacillus acidophilus* R0052 et *Lactobacillus rhamnosus* R0011 réduisaient l'adhésion d'*E. coli* entérohémorragique (EHEC O157:H7) et d'*E. coli* entéropathogène (EPEC O127:H6) et modifient les réarrangements du cytosquelette. Récemment on rapporté qu'une souche de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, isolée de selles d'un nourrisson, inhibait

l'adhésion de *Salmonella* Typhimurium, d'EPEC et de *Listeria monocytogenes* aux cellules Caco-2 (Bendali *et al.*, 2011b ; 2014).

6. 4. Inhibition de l'invasion épithéliale de la muqueuse intestinale

Il a été montré que des souches probiotiques vivantes de *Lactobacillus acidophilus* ATCC4356 et de *Streptococcus thermophilus* ATCC19258 protégeaient les lignées cellulaires épithéliales humaines (HT-29 et Caco-2) de l'adhésion, invasion et autres effets délétères d'*E. coli* entéroinvasive. De même Bendali *et al.* (2014) ont montré l'effet anti-invasion d'une souche de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* à l'égard de *L. monocytogenes*.

6. 5. Surexpression de mucines

Un autre mécanisme d'inhibition d'agents pathogènes dans l'intestin est la surproduction de mucines intestinales, intervenant dans la protection de la muqueuse intestinale en agissant comme une barrière physicochimique. De petits fragments de mucines intestinales ont été rapportés inhibiteurs de la réplication virale. Les produits des gènes *muc2* et *muc3* (MUC2 et MUC3) dominant au niveau des mucines intestinales tandis que seul MUC2 est présent dans les mucines coliques. Il a été rapporté que *Lactobacillus plantarum* 299v augmentait l'expression des MUC2 et MUC3 au niveau des cellules intestinales HT29, et ceci induisait l'inhibition de l'adhésion d'*E. coli* entéro-pathogènes. Des résultats similaires ont été obtenus avec d'autres souches de *Lactobacillus* qui adhèrent sur différentes lignées cellulaires, Hep-2 et Caco.

6. 6. Synthèse de substances antimicrobiennes

6. 6. 1. Acides organiques

Les bactéries utilisées tant que probiotiques sont sélectionnées quant à leurs propriétés inhibitrices attribuées à la production d'acides organiques, notamment lactique

et acétique. L'effet inhibiteur de ces acides est étroitement lié à la diminution du pH du milieu intestinal et aussi à la fraction acide non dissociée. La diminution du pH cause une acidification du cytoplasme cellulaire es microorganismes cibles qui se traduit par une inhibition de la croissance microbienne. La fraction acide non dissociée, lipophile peut diffuser passivement à travers la membrane et dissiper le gradient électrochimique de proton ou altérer la perméabilité de la membrane ce qui engendrerait une perturbation des systèmes de transport de substrats.

6. 6. 2. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Dés 1952, Wheater et ses collaborateurs ont montré l'effet inhibiteur du peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques. De nombreuses souches de *Lactobacillus* peuvent produire du H₂O₂ à des concentrations suffisantes pour provoquer leur auto inhibition ou inhiber d'autres contaminants de leur environnement.

Le peroxyde d'hydrogène est produit par les bactéries lactiques en présence d'oxygène en tant que résultat de l'action d'oxydases à flavoprotéines ou d'une peroxydase à NADH. L'effet antimicrobien du H₂O₂ pourrait résulter de l'oxydation de groupes sulfhydryles causant la dénaturation de nombreuses enzymes et de la peroxydation des lipides membranaires et par conséquent de l'augmentation de la perméabilité membranaire. L'H₂O₂ pourrait également être un précurseur pour la production de radicaux libres bactéricides tels que l'ion superoxyde (O₂⁻) et hydroxyle (.OH) qui peuvent endommager l'ADN. Les souches de *Lactobacillus paracasei* F2 et F28 sont capables de produire des taux élevés d'H₂O₂, empêchant ainsi la croissance de *S. aureus*.

6. 6. 3. Dioxyde de carbone (CO₂)

Le CO₂ est principalement produit par les bactéries lactiques hétérofermentaires. Le mécanisme exact de son effet antimicrobien est encore inconnu. Cependant, le CO₂ pourrait jouer un rôle en créant un environnement anaérobie qui inhibe les réactions enzymatiques de décarboxylation et l'accumulation de CO₂ dans la bicouche lipidique membranaire pourrait causer un dysfonctionnement dans la perméabilité.

6. 6. 4. Acides gras

Sous certaines conditions, certains lactobacilles et lactocoques possédant des activités lipolytiques pourraient produire des quantités significatives d'acides gras libres dans le lait fermenté. L'activité antimicrobienne des acides gras a été reconnue depuis plusieurs années. Les acides gras insaturés sont actifs à l'égard des bactéries à Gram positif et l'activité antifongique des acides gras est dépendante de la longueur de la chaîne carbonée, concentration et pH du milieu. On pense que l'action antimicrobienne des acides gras est due aux molécules non dissociées et non à l'anion, étant donné que le pH a des effets profonds sur leur activité avec un effet bactéricide rapide à bas pH. La sensibilité aux acides gras varie considérablement parmi les espèces. L'acide arachidonique aurait un effet bactéricide contre les bactéries à Gram positif dont *L. monocytogenes*. On a longtemps pensé que les membranes cellulaires sont les cibles primaires des acides gras antimicrobiens. On a démontré qu'ils étaient capables d'affecter la perméabilité cellulaire et le transport des nutriments et que des concentrations micromolaires de ces acides affectent l'activité des enzymes membranaires. Les acides gras polyinsaturés sont également capables d'inhiber les organismes par auto-oxydation et formation de peroxydes et de radicaux. On a rapporté que les effets bactéricides des

acides gras polyinsaturés sont attribués à un processus de peroxydation impliquant l' H_2O_2 et l'ion fer.

6. 6. 5. Reutéline

La reutéline est produite par *Lb. reuteri*, une espèce hétérofermentaire habitant le tractus gastro-intestinal humain et animal. Elle est formée durant la croissance anaérobie de *Lb. reuteri* sous l'action d'une glycérol déshydratase qui catalyse la conversion du glycérol en reutéline. La reutéline a été chimiquement identifiée être du 3-hydroxypropanal (β -hydroxypropionaldehyde), un composé très soluble, à pH neutre, qui est en équilibre avec ses formes monomérique hydratée et dimérique cyclique. La reutéline montre un large spectre d'activité antimicrobienne contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, levures, moisissures et protozoaires. Les organismes les plus sensibles à la reutéline incluent des espèces des genres *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Candida* et *Trypanosoma*.

6. 6. 6. Bactériocines

Il a été démontré que les bactéries lactiques sont capables de synthétiser des bactériocines avec un antagonisme envers les espèces proches et dans certains cas, les autres bactéries associées aux altérations alimentaires et aux gastro-entérites.

Plusieurs bactéries lactiques sont connues pour être capables de produire deux ou plusieurs bactériocines. Des analyses de structure ont confirmé que certaines de ces bactériocines sont des peptides entièrement différents. La plupart des bactériocines les mieux caractérisées extraites de bactéries lactiques, à l'exception de la nisine sont des bactériocines de Classe II. Certaines de ces bactériocines ont des spectres d'activité inhibitrice très large, ce qui a suscité un grand intérêt pour leur utilisation dans des applications pharmaceutiques.

La production de bactériocines par les différents genres de bactéries lactiques a été largement rapportée, incluant les lactocoques, les lactobacilles, les pedicoques et les leuconostocs. Par ailleurs, les bactériocines produites par les entérocoques ont gagné en intérêt du fait que les souches bactériocinogènes peuvent être isolées d'aliments fermentés. Sept bactériocines d'*Ec. faecalis* sont biochimiquement et génétiquement séparées en quatre types et les gènes requis pour la production de ces sept bactériocines sont codés par des plasmides.

Certains travaux ont abouti à l'extraction et à la caractérisation des substances antibactériennes permettant de les confirmer comme étant des bactériocines. « Bacteriocin-like substance » est un terme utilisé pour désigner des substances inhibitrices, qui ne sont pas complètement définies ou qui ne suivent pas les critères typiques définissant les bactériocines. Elles ont tendance à avoir un spectre d'activité plus large que les bactériocines jusque là connues. Nombre de ces substances est produit par les lactobacilles, inhibant une large gamme de bactéries à Gram positif et à Gram négatif ainsi que les champignons.

6.7. Action antitoxines

Parmi les bactéries entériques toxigènes, les staphylocoques se dressent en première position. Ces derniers induisent de nombreuses maladies gastro-intestinales, allant d'une simple intoxication alimentaire à une entérocologie hémorragique ; de nombreuses souches produisent une grande variété de toxines, dont la toxine du choc toxique « TSST-1 » (toxic shock toxin), entérotoxines et les protéines assimilées aux entérotoxines qui agissent en tant que des superantigènes, avec des effets aussi bien locaux que systémiques. De nombreuses entérotoxines ont été détectées chez des souches associées aux entérocologies. Récemment, dans une étude *in vivo*, sur des lapins

holoxéniques, on a démontré qu'une souche de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, isolée de selles d'un nourrisson, exerçait des effets bénéfiques sur la muqueuse intestinale et colique, après actions de *Staphylococcus aureus*, isolée de patients atteints d'une diarrhée post-antibiothérapie. Cet effet est probablement dû à une action sur les toxines staphylococciques (modification structurale ou déplacement de leurs sites d'adhésion) (Bendali *et al.*, 2011a).

7. Applications des probiotiques

Parmi les divers ingrédients susceptibles d'être utilisés dans les produits laitiers fonctionnels, les probiotiques et les prébiotiques sont dotés de propriétés intéressantes. Certains d'entre eux sont d'ailleurs d'ores et déjà reconnus et utilisés comme composants alimentaires. Les prébiotiques sont définis comme «des composants alimentaires non digestibles exerçant une influence bénéfique sur leur hôte en stimulant la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries dans le côlon, améliorant ainsi l'état de santé de leur hôte». On est constamment à la recherche de nouveaux probiotiques et prébiotiques spécifiques susceptibles d'améliorer l'alimentation courante et les chercheurs s'efforcent de déterminer des composants plus ciblés et plus spécifiques pour l'alimentation de l'avenir.

7. 1. Alimentation fonctionnelle basée sur les probiotiques et les prébiotiques

L'utilisation des probiotiques ou des prébiotiques constitue deux approches différentes visant à améliorer la gestion de la microflore. Les probiotiques sont considérés comme des compléments alimentaires bactériens vivants qui affectent de manière bénéfique l'hôte en améliorant l'équilibre de sa flore microbienne intestinale. Dans ce cas, le régime alimentaire repose sur des produits laitiers fermentés contenant des cultures vivantes d'organismes considérés comme bénéfiques. Il s'agit le plus souvent

de bactéries lactiques, mais *Bacillus* spp. et des levures telles que *Saccharomyces* spp. ainsi que d'autres bactéries ont également été utilisées. Il est important aussi d'évaluer les effets de la viabilité de ces organismes, même si elle n'est pas toujours une condition préalable pour un effet positif sur la santé.

L'utilisation des prébiotiques constitue l'alternative. Ces oligosaccharides sont considérés comme des prébiotiques efficaces en raison de leur non-digestibilité et de leur fermentation souvent spécifique. Les prébiotiques et les probiotiques ont été utilisés les uns et les autres pour influencer sur la composition de la microflore intestinale.

Toutefois, les méthodes basées presque exclusivement sur une approche phénotypique empêchaient jusqu'ici l'identification des facteurs contrôlant et influençant la composition de la microflore intestinale humaine et le déroulement efficace d'un traitement ciblé sur celle-ci. Même si l'on enregistre quelque succès lorsqu'elles sont appliquées correctement, elles sont difficiles, compliquées et prennent du temps. De plus, elles manquent du pouvoir de résolution nécessaire à l'analyse de la complexité de la flore microbienne au niveau des espèces et des sous-espèces. Par conséquent, on applique maintenant de nouvelles méthodes pour comprendre les effets des prébiotiques et des probiotiques sur la microflore intestinale et son développement durant la phase d'allaitement.

7. 1. 1. Les prébiotiques

Pour être considéré comme prébiotique, un composant alimentaire devrait:

- Ne pas être hydrolysé, ni absorbé dans le tractus gastro-intestinal supérieur.
- Stimuler de manière sélective la croissance de bactéries potentiellement bénéfiques dans le côlon.

- Eventuellement inhiber la croissance et atténuer la virulence des agents pathogènes, et induire des effets systémiques potentiellement bénéfiques pour la santé.

7. 1. 2. Les probiotiques

Il n'existe aucune règle de classification permettant d'isoler et de définir les bactéries probiotiques et leurs souches spécifiques, les critères habituels étant les suivants:

- Être d'origine humaine si elles sont destinées à l'alimentation humaine (critère actuellement controversé).
- Supporter les acides et la bile.
- Adhérer aux surfaces muqueuses dans divers modèles systémiques.
- Ne présenter aucun danger pour l'alimentation et la nutrition de toutes les catégories de la population.
- Exercer des effets sur la santé cliniquement documentés.
- Convenir pour la fermentation et à la production alimentaire.

Lorsqu'ils sont utilisés dans les aliments ou les composants alimentaires, les effets prévus sur la santé d'un prébiotique ou d'un probiotique doivent être cliniquement bien documentés. Ces preuves requièrent une expérimentation rigoureuse sur l'être humain, avec validation des effets par des centres indépendants usant de protocoles de recherche clinique reconnus.

7. 2. Produits, dosage, sécurité et régulation

Les probiotiques sont presque entièrement des bactéries lactiques (BL). Ces dernières n'ont pas été associées avec des infections et durant plus de 100 ans ont été considérées des membres non pathogènes des flores intestinale et urogénitale. Les

bactéries lactiques sont utilisées dans la préparation de différents produits probiotiques, principalement des produits laitiers, yaourt, fromage, lait acidulé et kéfir. Des produits non laitiers comme les olives en saumure, cornichons salés, choux fermenté (choucroute), des boissons probiotiques, et le Togwa Tanzanien (un gruel céréalien fermenté par les BL et largement consommés en Tanzanie) peuvent aussi contenir des probiotiques. Au Japon, les principaux produits probiotiques sont des boissons douces qui contiennent des bactéries probiotiques et des ingrédients probiotiques tels que l'oligofructose ou l'inuline.

Les produits probiotiques émergents aux USA sont des suppléments primaires préparés tels que des capsules, comprimés, poudres ou liquides. Quoique des probiotiques lyophilisés ou congelés ont été utilisés dans la recherche et peuvent avoir une longue durée de vie, ils sont moins adhérents aux membranes cellulaires et pourraient nécessiter une grande concentration pour être efficaces. Actuellement les probiotiques microbiens disponibles contiennent tous un certain taux de bactéries vivantes. Pour cette raison, un supplément probiotique doit indiquer la date d'expiration. « The Japanese Association of Fermented Milks and Fermented Milk Drinks » requiert qu'un produit laitier probiotique contient au moins 1×10^7 de BL ou de levures vivantes/ mL.

Dans un but thérapeutique, une concentration minimale de 1×10^5 UFC/g ou mL a été proposée. La dose minimale journalière et la durée requise pour produire l'effet bénéfique sont affectées par plusieurs facteurs dont l'espèce/souche du microorganisme, forme de la préparation, l'effet attendu, et l'état sanitaire de l'utilisateur. En plus, les probiotiques diffèrent dans leurs propriétés telle que la résistance à l'acidité, l'adhérence au TI, colonisation, production de bactériocines, et leurs fonctions.

Une prise journalière aussi faible que 300 million (3×10^8) cellules vivantes de *Bf. brevis* ssp. *coagulans* durant 4 semaines augmente la production de l'interféron α chez les

personnes saines. Une issue positive du syndrome du colon irrité a été obtenue avec une prise élevée de 20×10^9 ou 20 billion UFC de *Lb. plantarum* 299v durant 4 semaines. Pour être efficaces pour traiter un état donné, une prise journalière minimale de 1 billion (1×10^9 /jour) de microorganismes vivants serait nécessaire. La DL50 (dose qui tue 50% des animaux testés) de *Bf. longum* BB536 chez des souris a été estimée être 5×10^{13} /kg lors d'une seule prise orale, et 5×10^{11} /kg par injection intra-péritonéale. La DL50 de *Lb. rhamnosus* a été de 1.7 à 3.6×10^9 /souris par injection intra-péritonéale.

Quoique ces doses sont très élevées, le fait qu'elles ont une DL50, indique qu'il existe un seuil limite pour assurer la sécurité de l'ingestion des probiotiques. Historiquement, les bactéries probiotiques ont été utilisées dans la bio-conservation. Lors d'un usage correct, elles ont été démontrées inoffensives (GRAS), tel que stipulé par "the Delaney Clause of the Food and Cosmetic Act" du congrès américain en 1958. Aucune allégation de prévention ou de traitement de maladies n'est approuvée par le gouvernement dans les pays industrialisés, y compris les USA. Au Japan, un "FOSHU food" peut uniquement avoir une allegation de maintien de la santé "health maintenance" mais pas de traitement de maladies "disease treatment". Deux cas récents en Europe pourraient servir d'exemples pour la distinction entre le maintien de la santé et la prévention ou le traitement des maladies. Un produit laitier fermenté produit Nestle sous "LCI brand" a été largement vendu en Europe. Il contient *Lb. acidophilus* La1 qui a été antérieurement démontrée capable de stimuler le système immunitaire de l'Homme. Plutôt que d'être relié à une allégation de prévention des maladies, son étiquetage mentionne que le produit aide le corps à s'auto-défendre "helps the body protect itself." Un cas opposé est celui du yaourt Gaio "the Gaio yogurt" produit par "the Danish dairy company MD Foods". Le produit porte la mention « réduit le cholestérol », une

allégation de prévention d'une maladie "a disease-prevention claim" et doit être retiré du marché.

7. 3. Prévention et traitement de l'hypo-cholestérolémie

L'effet hypocholestérolémiant des bactéries lactiques a été noté chez des souris, des rats, des cochons et chez l'Homme.

Cependant, les mécanismes exacts mis en jeu pour abaisser le cholestérol sérique par ces bactéries ne sont pas tout à fait clairs, pour cela plusieurs hypothèses ont été proposées et qui restent à ce jour non élucidées.

7. 3. 1. Mécanismes proposés de réduction du cholestérol par les bactéries lactiques *in vitro*

Plusieurs hypothèses ont été avancées à propos du mécanisme de réduction du cholestérol par les bactéries lactiques.

7. 3. 1. 1. Assimilation du cholestérol

On a rapporté qu'*in vitro* le processus d'abaissement du cholestérol se faisait par son assimilation par les cellules bactériennes, ils ont notamment observé que la réduction du taux de cholestérol par une souche de *Lb. acidophilus* est notée lorsque les cellules sont en croissance en présence de bile sous des conditions d'anaérobiose, la concentration du cholestérol éliminée était fonction de la concentration en bile.

7. 3. 1. 2. Fixation et incorporation du cholestérol dans la membrane plasmique

Le processus d'élimination du cholestérol serait attribué à son incorporation dans la membrane cellulaire à pH 6; conduisant à l'apparition de cellules plus vigoureuses, cette observation fut également rapportée en étudiant une souche de *Lb. bulgaricus* FTDC 1311 (Figure 1).

Basé sur une autre approche et l'utilisation de *Lactococcus lactis* dans des études *in vitro*, il a été constaté qu'il y avait une différence dans la distribution des acides gras chez les cellules cultivées avec ou sans cholestérol. Les cellules cultivées en présence de cholestérol contenaient significativement des quantités élevées d'acides gras insaturés (C_{18:01}, C_{18:02}) et de faibles quantités d'acides gras saturés (C_{16:0}, C_{18:00}) par rapport à celles cultivées en son absence.

Il a également été suggéré que l'augmentation du taux de ces acides gras par incorporation du cholestérol pouvait se produire en réponse homéostatique pour maintenir l'intégrité de la membrane et sa fluidité.

De même, on a signalé que les lactobacilles possèderaient une réponse physiologique primaire vis-à-vis des sels biliaires, ce qui conduit à l'incorporation des acides gras insaturés dans la membrane cellulaire pour renforcer sa stabilité.



Figure 1. Micrographies électroniques à balayage montrant des cellules de *Lactobacillus bulgaricus* FTDC 1311 cultivées dans un milieu sans cholestérol (A) ou supplémenté avec 100 mM de cholestérol (B).

La liaison du cholestérol sur la surface de *Lc. lactis* KF147 a été étudiée de plus près, les micrographies électroniques ont révélé des zones lumineuses autour des cellules

cultivées en présence de cholestérol indiquant une sécrétion d'exopolysaccharides (Figure 2) pouvant avoir un rôle dans la liaison du cholestérol.

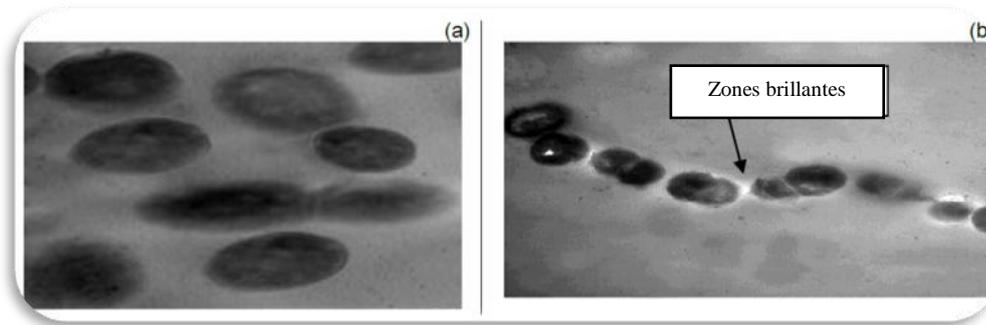


Figure 2. Microphotographies électroniques montrant des cellules de *Lc. lactis* KF cultivées en l'absence (a) et en présence (b) de cholestérol (20000 xs)

D'autre part, on a suggéré que le cholestérol se lie aux cellules bactériennes, résultat des propriétés chimiques et structurales de leurs peptidoglycanes, qui contiennent diverses compositions d'acides aminés qui facilitent la fixation du cholestérol aux surfaces cellulaires.

La plupart des souches étudiées ont montré une élimination du cholestérol en présence de bile. Ceci serait dû au fait que les sels biliaires sont des agents tensioactifs biologiques qui pourraient réduire la tension superficielle et interfaciale, ce qui conduit à une augmentation de la fixation cellulaire du cholestérol.

On a examiné le mécanisme de réduction du cholestérol en identifiant un nouveau facteur impliqué dans l'effet hypocholestérolémiant des probiotiques, à savoir la protéine de contrôle du catabolisme A (CcpA), un régulateur transcriptionnel du catabolisme de glucides rapidement métabolisables (glucose) chez les bactéries à Gram positif. Les auteurs ont émis l'hypothèse que les protéines associées à la membrane, régulées par le gène *ccpA*, jouent un rôle important dans la réduction du cholestérol par les probiotiques.

En effet, leur étude *in vivo* menée sur des rats nourris avec la souche sauvage *Lb. acidophilus* A4 a montré une réduction de plus de 25% du cholestérol sérique total, mais les rats nourris avec le mutant (*ccpA* -) ont montré seulement une réduction d'environ 10% du cholestérol. Par conséquent, on est arrivé à la conclusion que le gène *ccpA* et les protéines membranaires régulées par ce dernier pourraient affecter la réduction du cholestérol chez *Lb. acidophilus* A4 par modulation de la membrane cellulaire.

L'effet hypocholestérolémiant des bactéries probiotiques a été tout d'abord observé chez les bactéries vivantes, puis des études ont montré l'aptitude des cellules mortes dans la réduction du cholestérol et divers auteurs ont conclu que le mécanisme mis en jeu par les cellules mortes, était uniquement dû à l'attachement au niveau de la surface cellulaire.

7. 3. 1. 3. Réduction de l'absorption du cholestérol

La réduction de l'absorption du cholestérol par inhibition de l'expression du gène codant le facteur « Niemann-Pick C1-like 1 » (NPC1L1) au niveau de la muqueuse intestinale est l'un des moyens par lesquels certains aliments fonctionnels et pharmaceutiques diminuent le niveau de cholestérol dans le plasma sanguin. En effet, l'absorption du cholestérol fait appel en premier lieu à la protéine NPC1L1, qui est localisée sur la membrane des entérocytes du jéjunum. Cette protéine est essentielle pour l'absorption et le transport du cholestérol de la lumière intestinale à l'intérieur des entérocytes.

On a rapporté que des facteurs solubles, produits par *Lb. acidophilus* 4356, ont une capacité d'inhiber l'absorption du cholestérol dans les cellules Caco-2 par la régulation négative du gène codant la protéine NPC1L1, l'expression de ce gène a été identifiée

comme un élément clé de l'absorption du cholestérol et par ailleurs une cible prometteuse pour réduire son absorption intestinale. Ces auteurs ont observé que la stimulation des cellules Caco-2 avec *Lb. acidophilus* 4356 induit une augmentation significative de l'expression des récepteurs LXR (liver X receptors ou les récepteurs des oxystérols) ce qui diminue l'expression de NPC1L1 et aboutit à une réduction de l'absorption du cholestérol. Ceci suggère que *Lb. acidophilus* 4356 influence l'expression de NPC1L1 par une voie de transduction du signal médiée par LXR.

Une augmentation du taux de cholestérol lié à la surface des bactéries pourrait inhiber la formation de micelles de cholestérol intestinal. Les micelles sont essentielles pour l'absorption optimale des produits gras de digestion (Johnson et Byrne, 2003). Par conséquent, l'inhibition de la formation de micelles de cholestérol peut réduire l'absorption du cholestérol dans l'intestin.

7. 3. 1. 4. Déconjugaison des sels biliaires et co-précipitation

On a imputé l'élimination du cholestérol à la rupture de ses micelles provoquée par la déconjugaison des sels biliaires et co-précipitation du cholestérol avec les sels biliaires déconjugés (libres) à pH inférieur à 6 suite à la production d'acides lors de la croissance particulièrement chez les lactobacilles et les bifidobactéries.

En effet, deux souches *Lb. plantarum* 91 et *Lb. plantarum* 21 ont démontré une capacité significative de déconjugaison des sels biliaires, d'assimilation du cholestérol et de la co-précipitation *in vitro*. La co-précipitation a été expliquée par la réduction de la solubilité des sels biliaires suite à la production d'acides qui à leur tour abaissent la solubilité du cholestérol.

7. 3. 2. Processus de réduction du cholestérol par les bactéries lactiques *in vivo*

7. 3. 2. 1. Inhibition de la synthèse du cholestérol

On a émis l'hypothèse que l'effet hypocholestérolémiant était en rapport avec l'aptitude à inhiber l'hydroxyméthyl-glutaryl-coenzyme-A réductase, la suppression de cette enzyme a été corrélée avec l'inhibition de la synthèse du cholestérol (la synthèse du cholestérol est détaillée en annexe 1).

La 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) réductase catalyse l'étape engagée dans la biosynthèse du cholestérol, c'est la cible des composés (communément appelés statines) qui sont très efficaces pour abaisser les taux de cholestérol sérique. Les statines occupent une partie du site de liaison de l'HMG-CoA, en bloquant ainsi l'accès de ce substrat au site actif. La poche de liaison du nicotinamide de NADP (H) (le second substrat de l'enzyme) est inoccupée par les molécules d'inhibiteur.

Trente-deux hommes et femmes hypercholestérolémiques avec des taux initiaux de cholestérol de $5,70 \pm 0,32$ mM, ont fait l'objet d'une étude randomisée en double aveugle contrôlée par un placebo pendant 12 semaines. Les résultats ont montré que la supplémentation par le synbiotique *Lb. acidophilus* CHO- 220/inuline a considérablement réduit le cholestérol total ainsi que les lipoprotéines de faible densité (LDL) de 7,84 et 9,27 %, respectivement, par rapport au groupe placebo; aussi des concentrations plus faibles en triglycérides ont été observées.

De même, le taux des esters de cholestérol dans les lipoprotéines de haute densité (HDL) du groupe synbiotique était également plus élevé par rapport au groupe placebo, ce qui indique un plus grand transport du cholestérol sous forme d'esters de cholestérol vers le foie pour son hydrolyse. Parallèlement, une réduction de la concentration des esters de cholestérol dans les particules LDL a été observée conduisant à la formation de

particules plus petites et plus denses qui sont plus facilement éliminées dans le sang. Au final, les auteurs ont conclu à une altération des transporteurs de lipides à l'origine de l'abaissement du cholestérol.

7. 3. 2. 2. Fonction de la BSH : déconjugaison des sels biliaires

La déconjugaison des sels biliaires est catalysée par une enzyme nommée BSH (Bile Salt Hydrolase) (EC 3.5.1.24), qui hydrolyse le lien d'amide et libère la partie de glycine/taurine du noyau stéroïde (acide colique libre). Lors de l'hydrolyse, les propriétés physicochimiques des sels biliaires changent rigoureusement, les acides biliaires déconjugés sont moins solubles à faible pH et moins absorbés dans l'intestin et donc ils seront destinés à être excrétés dans les fèces.

L'excrétion par l'intermédiaire des fèces est l'itinéraire primaire de l'élimination du cholestérol chez l'Homme et l'animal.

L'activité de la BSH microbienne a pour effet d'augmenter *de novo* la synthèse des sels biliaires dans le foie en réponse homéostatique pour remplacer ceux perdus par l'excrétion, conduisant à une réduction du cholestérol sérique, le cholestérol étant le précurseur des sels biliaires.

L'activité de la BSH peut également limiter indirectement l'absorption du cholestérol, étant donné que les acides biliaires sont moins efficaces dans la solubilisation des lipides. On a rapporté que les bactéries qui sont capables de produire une BSH peuvent être capables d'utiliser l'acide aminé, la taurine, en tant qu'accepteur d'électrons ce qui peut améliorer leur croissance.

7. 3. 2. 3. Conversion du cholestérol en acides biliaires

La transformation du cholestérol en acides biliaires est la principale voie par laquelle le cholestérol est métabolisé. À ce jour, seules deux études ont montré la

capacité des souches probiotiques à réguler à la hausse le taux de la CYP7A1, une enzyme qui catalyse la conversion du cholestérol en acides biliaires. Une augmentation du taux de la CYP7A1 entraîne la réduction du taux de cholestérol hépatique et augmente le taux de cholestérol fécal et l'excrétion des acides biliaires chez les hamsters et les souris, respectivement.

7. 3. 2. 4. Production d'acides gras à courte chaîne

On a observé qu'un mélange d'acides gras à courte chaîne (SCFA pour « short chain fatty acids ») diététiques et des acides gras produits par fermentation à partir de la betterave sucrière réduisait considérablement le taux de cholestérol chez des rats. On a également suggéré que l'abaissement du taux de cholestérol chez des rats nourris par des probiotiques était probablement dû à des SCFA spécifiques tels que l'acide propionique et l'acide butyrique.

Il a été constaté que, l'effet hypercholestérolémiant des bactéries probiotiques est attribué à leur capacité à fermenter les glucides non digestibles alimentaires pour produire des acides gras à chaîne courte dans l'intestin, ce qui peut alors provoquer une diminution dans les niveaux de lipides dans le sang en inhibant la synthèse du cholestérol hépatique et /ou redistribuant le cholestérol à partir du plasma vers le foie.

7. 3. 2. 5. Conversion du cholestérol en coprostanol

On a montré que des souches de lactobacilles étaient aptes à produire une cholestérol-réductase qui catalyse la conversion du cholestérol en coprostanol. Les probiotiques pourraient convertir le cholestérol en coprostanol et comme ce dernier est moins absorbé dans l'intestin de l'Homme par rapport au cholestérol, cela conduit à une augmentation de son excrétion dans les matières fécales suivi d'une réduction du taux de cholestérol dans le sang.

II. Les probiotiques en alimentation animale

1. Introduction

Les probiotiques représentent une approche naturelle d'enrichissement de la flore intestinale et d'exclusion compétitive pour lutter contre les bactéries pathogènes. En renforçant l'écosystème microbien des volailles, les probiotiques contribuent à la défense immunitaire et protègent les poulets contre les conséquences du stress. Des améliorations de la viabilité (santé) croissance (gain de poids, indice de consommation) et de production ont ainsi été observées suite à la consommation des probiotiques chez la volaille, la vache, le porc, les poissons et les abeilles. Plusieurs groupes microbiens ont été utilisés en élevage comme probiotiques. Parmi eux, de nouvelles souches de bactéries lactiques sont vivement recherchées; elles font partie de la flore intestinale animale qui joue un rôle important dans l'équilibre de ces flores et influencent positivement la santé de l'hôte.

2. Principaux genres employés chez l'animal

Les principaux genres autorisés en alimentation animale sont présentés dans la figure 3 et les principaux probiotiques étudiés pour des applications en alimentation animale sont donnés dans le tableau I.

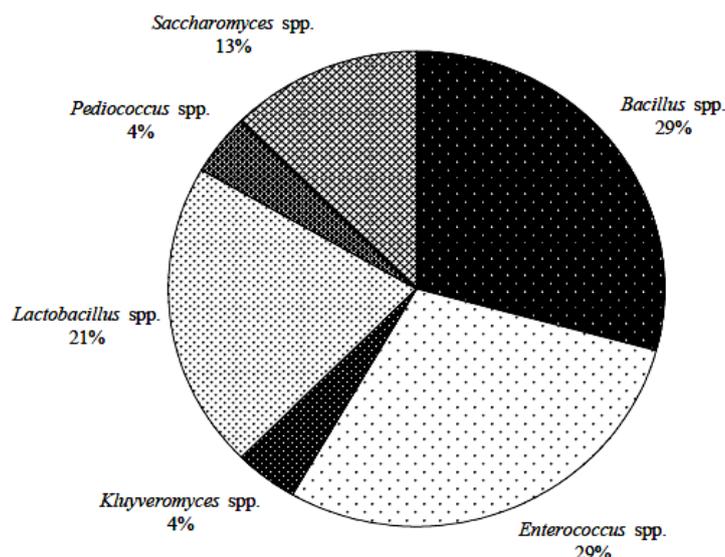


Figure 03. Représentation des différents genres microbiens autorisés en tant qu'additifs en alimentation porcine et avicole en Europe.

3. Indications des probiotiques

Les probiotiques sont administrés, par voie orale, à des doses différentes suivant l'effet recherché (médicament ou facteur de croissance), mais surtout pendant un laps de temps variable : 3 à 7 jours comme médicament, 30 à 90 jours comme facteur de croissance.

3.1. Indication médicamenteuse

Cette indication signifie un effet de barrière préventif (avant l'introduction d'un microorganisme pathogène) ou curatif (en présence d'un microorganisme pathogène) du probiotique introduit. L'effet du probiotique sur l'agent pathogène, dans cette indication, peut être drastique (élimination du microorganisme pathogène sans multiplication) ou permissif (maintien à bas niveau de l'agent pathogène).

3.2. Indication comme facteurs de croissance

Une dose minimale (estimée de 10^6 à 10^7 /g d'aliment) doit être utilisée dans ce but. Cette dose doit être quotidienne et persister pendant un à deux mois, avec la persistance aussi de l'agent probiotique dans la lumière intestinale.

4. Rôle des probiotiques chez l'animal

Les probiotiques peuvent être utilisés pour plusieurs effets :

- Augmentation de la production des œufs chez la volaille (poule pondeuse, canard, caille...), diminution de la mortalité, amélioration du taux de conversion. De façon générale, les souches probiotiques possèdent une efficacité reconnue sur le taux de ponte ;
- Augmentation du gain de poids (poulet de chair, lapin, veau, agneau, porcelet...) ;
- Effet prophylactique (antagonisme contre certains agents pathogènes) ;
- Effet nutritionnel (augmentation de la digestibilité, production de nutriments favorables) ;
- Effet de détoxification (moindre production d'ammoniac, d'amines, ou de cytotoxines) ;
- Activation du système immunitaire et modification de la structure et des fonctions de l'épithélium intestinal ;
- Amélioration de la qualité de la viande grâce à la réduction du cholestérol.
- Augmentation de la quantité du lait et amélioration de sa qualité ;
- Augmentation de la quantité de miel.
- Amélioration du taux d'éclosion des œufs de poissons et de la viabilité des larves.

5. Mécanismes d'action des probiotiques

D'une 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 et s'y développer. Chez l'animal monogastrique, ils agissent comme des régulateurs de la flore intestinale.

5.1. Inhibition des bactéries indésirables

La répression du développement de microorganismes indésirables ou pathogènes peut se faire à travers plusieurs mécanismes dont :

- La production d'acides organiques à partir des glucides de la ration alimentaire : acides lactique, acétique, propionique et butyrique limite, en abaissant le pH, le développement d'*E. coli* et de *Salmonella*.
- La production de peptides antimicrobiens de type bactériocine ou reutéline qui sont capables d'inhiber les microorganismes fréquemment responsables d'infections en élevage.
- Déconjugaison des sels biliaires : les formes déconjuguées ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries que les formes conjuguées.
- Compétition pour les nutriments entre les probiotiques et les bactéries indésirables.
- Compétition pour la colonisation : l'adhésion des bactéries probiotiques aux cellules intestinales permettrait une colonisation rapide et dirigée du tube digestif et empêcherait l'installation des microorganismes pathogènes.

5.2. Neutralisation des produits toxiques

Les probiotiques interviennent dans la neutralisation de produits toxiques. Ils provoqueraient une atténuation du catabolisme intra- digestif et une orientation de la

microflore intestinale pour réduire l'absorption des substances toxiques (ammoniac, amines et indole) 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.

5.3. Amélioration de la digestibilité de la ration alimentaire

Les souches probiotiques produisent des enzymes digestives, ce qui favorise la digestion des glucides et des protéines.

III. Conclusion

Aussi bien chez l'Homme que l'animal, la microflore intestinale joue un rôle primordial dans la santé de l'hôte. Tout déséquilibre est susceptible d'engendrer des inconforts digestifs voir des maladies métaboliques et infectieuses. Rétablir l'équilibre de la flore intestinale est le seul moyen de prévenir et guérir les désordres intestinaux. Le recours aux probiotiques reste la seule stratégie qui a fait preuve de son efficacité. Toutefois le choix de la souche probiotique, du dosage et de la durée de son administration restent les facteurs clés difficilement maitrisables pour une utilisation bien ciblée. A l'heure actuelle, plusieurs souches probiotiques et produits alimentaires sont disponibles sur le marché des probiotiques et offrent des avantages nutritionnel et sanitaire pour le consommateur. La recherche est toujours en évolution et les facettes de ces microorganismes sont encore en exploration.