

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saida



كلية العلوم الطبيعية و الحياة

N° d'Ordre

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Microbiologie appliquée

Spécialité : Microbiologie appliquée

Thème

Production de cosmétiques à base de probiotiques aidant à la réduction de l'acné et au maintien de l'équilibre de la flore cutanée

Présenté par :

- Mr : SOUAR Walid
- Mr : MOUSSAOUI Azzedine

Soutenu le : 30/06/2024

Devant le jury composé de :

Président	Mme. BENABDESSLEM Yasmina	MCA Université UMTS
Examineur	Mr. AMMAM Abdelkader	Pr. Université UMTS
Examineur	Mr. BENZAI Yassine	Pr. Université UMTS
Rapporteur	Mme. AMARA Sabrina	MCB Université UMTS
Co-Rapporteur	Mr. HALLA Nouredinne	MCA Université UMTS
Invitée	TAZI Lamia Abir	Doctorante Université UMTS

Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

Nos chers parents : Qui n'ont jamais cessé de nous encourager et nous conseiller. Ils nous ont beaucoup aidé tout en long de notre chemin, grâce à leur amour, leur dévouement, leur compréhension et leur patience sans jamais nous quitter des yeux ni baisser les bras et leurs soutien moral et matériel, on ne saurait jamais traduire ce qu'on ressent vraiment envers eux.

Nos petites familles et nos grands-pères et grands-mères.

A la mémoire de mon père : J'aurais souhaité ta présence en ce moment pour partager ma joie. Tu m'as toujours fait preuve d'amour et d'affection, tu es toujours présent dans mon esprit et dans mon cœur. Aussi dans ce moment de joie, tu as toutes mes pensées "RABI YERHMEK".

Nos frères et sœurs : Pour leur indulgence en notre faveur qu'ils touchent ici l'affection la plus intime qu'on ressent à leur égard.

Nos amis : pour leur compagnie et bons moments passés ensemble et surtout notre cher ami Mustapha.

Remerciements

La présentation de ce modeste travail nous offre l'occasion d'exprimer nos profondes gratitudee à Mme. AMARA et Mr. HALLA, qui ont bien voulu diriger ce travail pendant toute la durée de l'expérimentation et la mise en forme du document final, leurs nombreux conseils n'ont jamais fait défaut.

Nous remercions également d'abord pour toutes les facilités accordées et d'avoir bien voulu accepter de présider le jury Mme BENABDESSLEM . Que Mr. AMMAM , trouvent ici l'expression de notre respectueuse gratitude. Nous ne saurions assez les remercier du grand honneur qu'ils nous font en jugeant ce travail.

Nos remerciements vont de même à Mr. BENZAI pour avoir accepté d'évaluer le coté économique du projet et pour son accompagnement au niveau de l'incubateur.

Nous ne pourrons terminer sans évoquer la présence et le soutien permanent de Melle. TAZI Lamia c'est grâce à son grand cœur, sa compréhension, sa disponibilité, ses conseils en laboratoire, sa correction du document que ce travail a été réalisé.

Nous adressons également nos remerciements à Mr. DAOUDI qui a accepté l'invitation d'être un partenaire socioéconomique pour ce projet.

Finalement, nous adressons nos profonds remerciements à tous les membres de nos familles respectives qui ont toujours été présents à nos côtés.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Liste des microorganismes considérés comme des probiotiques.	9
Tableau 2 : Composition du microbiome cutanée.....	20
Tableau 3 : Résumé des études disponibles sur la flore intestinale chez les patients atteints d'acné.	25
Tableau 4 : Résultats de la coloration de GRAM des souches lactiques	51
Tableau 5 : Résultats de la coloration de GRAM des souches acnéiques.....	54
Tableau 1 : Les diamètres des zones d'inhibition.....	56

Liste des figures

Figure 1 : Physiologie cutanée.....	21
Figure 2 : Distribution topographique des bactéries <i>Staphylococcus</i> et <i>Cutibacterium</i>	27
Figure 3 : Interactions entre la peau et les bactéries en cas de dysbiose (par exemple, acné) et de peau saine : accent mis sur <i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>Cutibacterium acnes</i>	29
Figure 4 : Examen direct (coloration de Gram) de <i>Cutibacterium acnes</i> des phylotypes IA1 (a), II (b) et III (c).	30
Figure 5 : Cultures de <i>Cutibacterium acnes</i> : (a) phylotype IA1 présentant une hémolyse à partir d'un échantillon d'acné ; (b) phylotype II non hémolytique à partir d'un échantillon d'acné ; (c) phylotype III non hémolytique à partir d'un échantillon d'hypomélanose maculaire progressive.	31
Figure 6 : Arbre phylogénétique suite à l'analyse de 16 séquences nucléotidiques de 1173 pb du gène codant pour l'ARNr 16S chez différents types de <i>Propionibacteriaceae</i> en utilisant la méthode à deux paramètres de Kimura et le logiciel MEGA6.	32
Figure 7 : Adolescent de 14 ans présentant des lésions d'acné inflammatoires et non inflammatoires modérées (A). Après consultation et traitement initial de trois mois par minocycline orale (100 mg/j) et gel antimicrobien topique, son état s'est considérablement amélioré (B).	33
Figure 8 : Peau saine et peau avec lésion d'acné en formation. a) Peau saine. Dans une peau saine, <i>S. epidermidis</i> contrôle la prolifération de <i>C. acnes</i> . b) Formation d'un microcomédon après une surcolonisation de la peau par <i>C. acnes</i> entraînant une dysbiose. La surcolonisation de <i>C. acnes</i> pendant la puberté entraîne une dysbiose et de l'acné. AMP, peptides antimicrobiens ; TLR, Toll-like receptors ; PAR, protease-activated receptors.	35
Figure 9 : Interactions bactériennes sur la peau. AMP, peptides antimicrobiens.....	37
Figure 10 : Les principaux processus par lesquels les probiotiques favorisent la santé de la peau.....	41
Figure 11 : Le rôle des probiotiques dans le traitement de l'acné. Les principales causes de l'acné sont l'augmentation de la sécrétion d'androgènes, qui contribue à l'augmentation du taux de production des cellules sébacées, la multiplication rapide <i>Propionibacterium acnes</i> et les réactions inflammatoires..	42

Figure 12 : Les échantillons prélevés (B : Lait du brebis, CH : lait de chèvre)	44
Figure 13 : Prélèvements d'acné	47
Figure 14 : Résultats de l'isolement de bactéries lactiques.	49
Figure 15 : Résultats de purification de bactéries lactiques.	50
Figure 16 : Résultats du test de catalase	51
Figure 17 : Résultats du test d'oxydase	52
Figure 18 : Résultats de l'activité hémolytique.	53
Figure 19 : Résultats de l'isolement et purification des souches acnéiques.....	54
Figure 20 : Résultats de l'activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques.....	55
Figure 21 : Résultat de la crème obtenus	56
Figure 22 : Résultats du test de la crème <i>in vitro</i>	57

Résumé

L'acné est une maladie inflammatoire chronique de la peau qui a de graves conséquences sur la qualité de vie des patients. La résistance croissante aux antibiotiques a réduit leur efficacité dans le traitement de l'acné. En tant que compléments alimentaires microbiens viables, les probiotiques offrent des avantages pour la santé en combattant les agents pathogènes et en maintenant l'homéostasie du microbiome de l'intestin et de la peau. En Algérie, il n'existe aucune étude sur l'utilisation des probiotiques en cosmétologie et en dermatologie pour la réduction de l'acné et le maintien de l'équilibre de la flore cutanée. C'est dans ce contexte que cette présente étude a pour but d'isoler des souches à potentiel probiotique et d'évaluer leur activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques, afin de fournir une base théorique pour l'application des probiotiques dans la production de produits cosmétiques. À la lumière des résultats obtenus, nous avons isolé plusieurs souches microbiennes provenant des foyers inflammatoires de l'acné et du lait. Après une série de tests et de sélections, nous avons retenu 4 souches acnéiques et 4 souches lactiques à potentielle probiotiques. Les tests d'activité antimicrobienne ont révélé que les souches probiotiques sélectionnées sont capables d'exercer une activité antimicrobienne significative contre les souches acnéiques. Compte tenu de l'agressivité de certains traitements standard de l'acné, les probiotiques devraient continuer à être étudiés en tant que thérapie alternative ou adjuvante.

Mots clés : Acné, Probiotiques, Peau, Dermatologie, Cosmétologie, Flore cutanée.

Abstract

Acne is a chronic inflammatory skin disease which has serious consequences for patients' quality of life. Increasing resistance to antibiotics has reduced their effectiveness in treating acne. As viable microbial food supplements, probiotics offer health benefits by combating pathogens and maintaining the homeostasis of the gut and skin microbiome. In Algeria, there are no studies on the use of probiotics in cosmetology and dermatology to reduce acne and maintain the balance of skin flora. It is in this context that the present study aims to isolate strains with probiotic potential and to evaluate their inhibitory activity against acne strains, in order to provide a theoretical basis for the application of probiotics in the production of cosmetic products. In the light of the results obtained, we isolated several microbial strains from the inflammatory foci of acne and milk. After a series of tests and selections, we chose 4 acne strains and 4 lactic strains with a probiotic potential. Antimicrobial activity tests revealed that the probiotic strains selected are able to exert significant antimicrobial activity against acne strains. Given the aggressiveness of some standard acne treatments, probiotics should continue to be studied as an alternative or adjuvant therapy.

Translated with DeepL.com (free version)

Keywords: Acne vulgaris, Probiotics, Skin, Dermatology, Cosmetology, Skin flora

ملخص

حب الشباب مرض جلدي التهابي مزمن له عواقب وخيمة على نوعية حياة المرضى. أدت زيادة مقاومة المضادات الحيوية إلى تقليل فعاليتها في علاج حب الشباب. كمكملات غذائية ميكروبية قابلة للحياة، تقدم البروبيوتيك فوائد صحية من خلال محاربة مسببات الأمراض والحفاظ على توازن ميكروبيوم الأمعاء والجلد. في الجزائر، لا توجد دراسات حول استخدام البروبيوتيك في التجميل والأمراض الجلدية لتقليل حب الشباب والحفاظ على توازن نباتات الجلد. في هذا السياق، تهدف هذه الدراسة إلى عزل السلالات ذات إمكانات البروبيوتيك وتقييم نشاطها المثبط ضد سلالات حب الشباب، لتوفير أساس نظري لتطبيق البروبيوتيك في إنتاج مستحضرات التجميل. في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها، قمنا بعزل العديد من السلالات الميكروبية من بؤر التهاب حب الشباب والحليب. بعد سلسلة من الاختبارات والاختيارات، اخترنا 4 سلالات حب الشباب و 4 سلالات لاكتيك مع بروبيوتيك محتمل. كشفت اختبارات النشاط المضاد للميكروبات أن سلالات البروبيوتيك المختارة قادرة على نشاط كبير مضاد للميكروبات ضد سلالات الأكتيك. نظرًا لعدوانية بعض علاجات حب الشباب القياسية، يجب الاستمرار في دراسة البروبيوتيك كعلاج بديل أو مساعد.

الكلمات المفتاحية: حب الشباب، البروبيوتيك، الجلد، الأمراض الجلدية، التجميل، نباتات الجلد

Table des matières

I.1. Introduction :	2
II.1. Les bactéries lactiques :	5
II.2. Historique et définition des probiotiques :	6
II.3. Caractéristiques des probiotiques :	7
II.4. Classification des probiotiques :	9
II.5. Les probiotiques et leur place en médecine humaine :	10
II.6. Mécanismes d'action des probiotiques :	11
II.7. Réévaluation de la sécurité des probiotiques chez l'homme :	12
II.8. Bénéfices des probiotiques pour la santé humaine :	13
II.9. Sources, formulations, administration avancée et bienfaits des probiotiques pour la santé :	13
III.1. Nouvelles avancées scientifiques pour la cosméceutique :	15
III.2. Aspects réglementaires (étiquetage, commercialisation) :	16
III.3. Le rôle des probiotiques dans le photovieillissement de la peau et les mécanismes associés :	17
III.4. Progrès dans l'utilisation cosmétique des probiotiques : Aspects sanitaires, réglementaires et marketing :	19
IV.1. Microbiome cutané :	20
IV.1.1. Le microbiome cutané :	20
IV.1.2. Composition du microbiome cutané :	20
IV.1.3. Le microbiome cutané dans la maladie :	21
IV.2. Acné Vulgaris :	22
IV.2.1. L'acné Vulgaire :	22
IV.2.2. Les causes et facteurs déclencheurs de l'acné:	23
IV.2.3. Épidémiologie :	23
IV.2.4. Pathogenèse :	23
IV.3. Bactéries associées à l'acné :	24
IV.3.1. Influence du microbiote intestinal sur les lésions d'acné :	24
IV.3.2. Le microbiome cutanée dans l'acné :	25
IV.4. Bactéries associées à l'acné :	26
IV.4.1. Interactions entre la peau, <i>Cutibacterium acnes</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i> : Un passage possible du commensalisme à la pathogénicité opportuniste :	26

IV.4.1.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>Cutibacterium acnes</i> : Passage à une pathogénicité opportuniste et corrélation avec une dysbiose cutanée commune : ..	28
IV.4.2. <i>Cutibacterium acnes</i> (<i>Propionibacterium acnes</i>) :	29
IV.4.2.1. Historique :	29
IV.4.2.2. <i>Cutibacterium acnes</i> :	31
IV.4.2.3. Reclassification de <i>Propionibacterium acnes</i> en <i>Cutibacterium acnes</i> : .	32
IV.4.2.4. Le rôle de <i>C.acnes</i> dans l'acné vulgaire :	33
IV.4.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i> :	35
IV.4.3.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> :	35
IV.4.3.2. Le rôle de <i>S.epidermidis</i> dans l'acné vulgaire :	36
V.1. Formulations topiques de probiotiques pour les peaux acnéiques :	38
V.2. Probiotiques à usage externe en dermatologie et cosmétologie :	39
V.3. L'utilisation des probiotiques dans les produits cosmétiques anti-acné :	41
VI.1. Isolement et purification des souches :	44
VI.1.1. Échantillonnage :	44
VI.1.2. Isolement des bactéries lactiques :	44
VI.1.3. Repiquage et purification :	45
VI.1.4. Identification et coloration de GRAM :	45
VI.1.4.1. Réalisation d'un frottis :	45
VI.1.4.2. Coloration :	45
VI.1.5. L'activité hémolytique :	45
VI.1.6. Critères physiologiques et biochimiques :	46
VI.1.6.1. Test de la catalase :	46
VI.1.6.2. Test d'oxydase :	46
VI.1.6.2.1. Technique :	46
VI.1.7. Conservation des souches :	46
VI.2. Isolement des souches acnéiques :	46
VI.2.1. Etude de l'activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques :	47
VI.2.1.1. Méthode de Fleming et <i>al.</i> (1975) :	47
VI.3. Préparation et test du crème cosmétique :	48
VI.3.1. Préparation :	48
VI.3.2. Test <i>in vitro</i> :	48
VII.1. Isolement et purification des souches lactiques :	49
VII.1.1. Identification et coloration de GRAM :	50

VII.1.2. Critères physiologiques et biochimiques des souches lactiques :.....	51
VII.1.2.1. Test de catalase :	51
VII.1.2.2. Test d'oxydase :	52
VII.1.3. L'activité hémolytique :.....	53
VII.2. Isolement et purification des souches acnéiques :	54
VII.2.1. Résultats de l'activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques :.....	55
VII.2.1.1. Méthode de de Fleming et <i>al.</i> (1975) :.....	55
VII.3. Préparation de la crème cosmétique :	56
VII.3.1. Test de l'efficacité de la crème <i>in vitro</i> :	57
Références bibliographiques :	62

PARTIE I. INTRODUCTION

I.1. Introduction :

Les probiotiques sont définis comme des "micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte" (**Hill et al., 2014**). Ils ne présentent pas d'effets cancérogènes, mais plutôt un effet protecteur et leur utilisation est sûre. (**Hill et al., 2014 ; Fanfare et al., 2021**)

L'acné vulgaire est une maladie caractérisée par des éruptions cutanées telles que des points blancs, des points noirs, des pustules, des papules et des kystes. L'acné vulgaire touche 95 % des garçons et 83 % des filles à l'âge de 16 ans. L'acné est également présente dans la population adulte, et pas seulement chez les adolescents. (**Chilicka et al., 2020**)

Les probiotiques peuvent être utilisés dans diverses catégories de produits telles que les médicaments, les cosmétiques, les compléments alimentaires, les aliments et les additifs alimentaires. Leur utilisation dans les préparations orales est bien réglementée, tandis que leur utilisation dans les cosmétiques doit encore l'être. Il n'existe pas de réglementation légale pour les probiotiques topiques. (**França , 2022 ; Lee et al., 2019**) Les probiotiques ont commencé à être utilisés comme ingrédients dans les produits d'hygiène intime, les shampooings, les crèmes et les dentifrices.. Les avantages de leur utilisation sont les suivants : élimination ou réduction du nombre de pathogènes défavorables, réduction de la production de métabolites toxiques, augmentation de la production d'anticorps, rétablissement de l'homéostasie du système immunitaire et régulation de la synthèse des cytokines. (**Reisch, 2017 ; Nowicka & Grywalska, 2019**)

En ce qui concerne l'utilisation des probiotiques en cosmétologie et en dermatologie, il s'agit principalement de produits destinés au lavage et au soin des peaux atteintes de dermatite atopique, des peaux acnéiques, des peaux atteintes d'eczéma, de psoriasis, et après des traitements invasifs dans le domaine de la cosmétologie ou de la médecine, Une étude de Di Marzio et al. a montré que l'application externe de *Streptococcus thermophilus* sur la peau pendant une période de 7 jours augmentait la production de céramides (**Di Marzio et al., 1999**). D'autres chercheurs ont trouvé que ces études étaient utiles dans le traitement de l'acné, car les céramides comme la phytosphingosine ont une

activité antimicrobienne et anti-inflammatoire contre *Cutibacterium acnes* (**Bowe & Logan, 2011**). Kang et *al.* ont testé l'action d'une lotion à base d'*E. faecalis* dans les cas d'acné légère à modérée. L'étude a révélé une diminution des papules et des pustules chez les patients et a montré que cette lotion pouvait constituer une alternative aux antibiotiques classiques. Les probiotiques appliqués localement peuvent agir comme un bouclier protecteur, empêchant la colonisation par d'autres agents pathogènes (**Kang et al., 2009 ; Brook , 1999**).

En Algérie, il n'existe aucune étude sur l'utilisation des probiotiques en cosmétologie et en dermatologie pour la réduction de l'acné et au maintien de l'équilibre de la flore cutanée.

L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence le potentiel des probiotiques à la réduction de l'acné et la production d'une crème cosmétique anti-acné.

PARTIE II. LES PROBIOTIQUES

II.1. Les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont les micro-organismes les plus fréquemment utilisés comme probiotiques. Elles peuvent être isolées chez l'homme, l'animal, la plante et dans l'environnement. Les étapes suivantes consistent à identifier les isolats et à les caractériser sur la base des principaux critères de sélection de tout micro-organisme probiotique potentiel, notamment la résistance à l'acidité gastrique et aux sels biliaires, l'adhérence au mucus et/ou aux cellules épithéliales intestinales et aux lignées cellulaires, ainsi que l'activité antimicrobienne et antagoniste contre les microbes potentiellement pathogènes. (Shokryazdan et al., 2017)

D'autres propriétés peuvent être prises en compte pour la sélection de souches probiotiques ayant des effets spécifiques, telles que la capacité de réduction du cholestérol, l'activité antioxydante ou l'effet cytotoxique contre les cellules cancéreuses. Toutefois, un probiotique potentiel ne doit pas nécessairement remplir tous ces critères de sélection. La dernière étape consiste à vérifier l'innocuité des probiotiques pour l'homme en clarifiant la taxonomie, en effectuant des tests *in vitro* et *in vivo*, en réalisant des essais sur l'homme et en procédant au séquençage du génome. (Shokryazdan et al., 2017)

Une bactérie lactique (BL) typique cultivée dans des conditions standard est aérotolérante, tolérante aux acides, organotrophe et est un bâtonnet ou un coccus strictement fermentaire, produisant de l'acide lactique comme principal produit final. Elle est dépourvue de cytochromes et incapable de synthétiser des porphyrines. Ses caractéristiques peuvent varier dans certaines conditions. La catalase et les cytochromes peuvent être formés en présence d'hèmes et l'acide lactique peut être métabolisé davantage, ce qui entraîne des concentrations plus faibles d'acide lactique. La division cellulaire se fait dans un seul plan, à l'exception des pédiocoques. Les cellules sont généralement non mobiles. Elles ont besoin de facteurs de croissance complexes tels que des vitamines et des acides aminés. Il n'est pas possible de donner une définition univoque des BL. Les bactéries lactiques sont caractérisées par la production d'acide lactique comme produit final catabolique majeur à partir du glucose. Certains bacilles et les bifidobactéries, peuvent produire de l'acide lactique comme principal produit final, mais ces bactéries n'ont que rarement ou jamais été isolées dans le moût et le vin. L'ADN des BL a une teneur en G+C inférieure à 55 %. Les BL sont regroupées dans la branche *Clostridium* des bactéries gram-positives possédant une parenté avec les bacilles, tandis que *Bifidobacterium* appartient aux Actinomycètes. Ils sont

regroupés en un ordre et six familles. Sur les 33 genres décrits, seules 26 espèces appartenant à six genres ont été isolées dans le moût et le vin. **(König et Fröhlich, 2017)**

Les lactobacilles sont reconnus comme des probiotiques en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Les mécanismes d'adaptation des lactobacilles facilitent les interactions avec l'hôte et contribuent directement aux effets nutritionnels, physiologiques, microbiologiques et immunologiques bénéfiques chez l'hôte. En outre, l'application des lactobacilles probiotiques améliorera notre compréhension des utilisations pratiques basées sur les rôles de ces organismes dans l'immunorégulation, les activités antipathogènes et l'amélioration de la barrière épithéliale. **(Zhang et al., 2018)**

II.2. Historique et définition des probiotiques :

La première définition des probiotiques a été rendue en 1908 par Metchnikoff, qui a proposé que la consommation de produits laitiers fermentés prolonge la vie (effet longévité). **(Santacroce et al.,2019)**

En 1956, Lilly et Stillwell ont déterminé qu'un micro- organisme secrète certains stimulateurs de croissance pour un autre micro-organisme, cet effet positif peut entraîner l'application du terme probiotique pour ces types de micro-organismes. Le terme probiotique a été utilisé pour la première fois par Parker ; « des substances et des organismes qui causent l'équilibre microbien dans le tractus gastro-intestinal ». Fuller a amélioré la définition de Parker et a défini le probiotique comme un microorganisme vivant qui exerce un effet positif sur la santé des animaux à sang chaud en rétablissant la microflore intestinale naturelle. **(Santacroce et al.,2019)**

Le terme probiotique dérivé du grec « pro bios », qui signifie « en faveur de la vie». **(Santacroce et al.,2019)**

En 2001, un groupe d'experts s'est réuni à la demande de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, avec le soutien de l'Organisation mondiale de la santé, afin de clarifier la définition des probiotiques. La publication qui en a résulté a défini les probiotiques comme des "micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés enquantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte" (FAO/OMS, 2002). **(Santacroce et al.,2019)**

Le domaine des probiotiques représente le potentiel d'application de la microbiologie à l'homme et à l'animal. Malgré des mécanismes bien caractérisés permettant aux thérapies

microbiennes d'affecter un certain nombre de systèmes organiques chez l'hôte, la confusion persiste quant aux conditions précises nécessaires pour qu'un microbe unique ou un consortium microbien puisse revendiquer un effet probiotique ou être qualifié de probiotique. **(Santacroce et al.,2019)**

Les probiotiques peuvent être décrits comme des organismes vivants de taille microscopique qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, améliorent la santé d'un individu. Les probiotiques, tels que les lactobacilles ingérés dans les yaourts, sont utilisés depuis le début du XXe siècle pour traiter diverses affections, généralement des infections des muqueuses du corps, telles que le tractus gastro-intestinal ou le vagin. En fait, les probiotiques sont utilisés depuis que les gens consomment des aliments fermentés. La plupart des probiotiques sont des bactéries, mais certaines levures sont également utilisées comme probiotiques, par exemple *Saccharomyces boulardii* (également appelée *S. cerevisiae* ou levure de bière). **(Dlamini et Chelule, 2016)**

II.3. Caractéristiques des probiotiques :

Bien que les probiotiques présentent de nombreuses caractéristiques, il est utile de rappeler la définition consensuelle des probiotiques de L'association scientifique internationale des probiotiques et des prébiotiques (ISAPP) : un probiotique doit être vivant lorsqu'il est administré, avoir un effet bénéfique sur la santé et être délivré à une dose efficace. Selon le groupe de consensus de l'ISAPP, la définition implique qu'un probiotique doit être sûr pour l'utilisation prévue et doit être une entité définie (et non un mélange indéfini) pour permettre une identification appropriée au niveau de la souche. Il n'est pas nécessaire que les probiotiques présentent des propriétés lors des évaluations précliniques telles que la colonisation, la capacité à survivre au transit intestinal, l'adhérence, les propriétés anti-pathogènes et la capacité à équilibrer le microbiote de l'hôte. En outre, la source de la souche probiotique - humaine ou autre - n'est pas stipulée dans la définition. Ces attributs peuvent être utiles pour les probiotiques destinés à des applications particulières, mais il n'est peut-être pas nécessaire, par exemple, qu'un probiotique utilisé pour la santé bucco-dentaire soit capable de survivre au transit intestinal. En outre, bien que de nombreux chercheurs en probiotiques aient utilisé, historiquement et ces dernières années, une batterie de tests pour décrire les probiotiques putatifs, ces tests n'ont jamais été validés et les résultats de ces tests n'ont jamais été liés à l'efficacité des probiotiques. Il n'est donc pas

scientifiquement justifié de faire de ces tests une "exigence" pour obtenir le statut de probiotique. **(Sanders et al., 2018)**

Les probiotiques peuvent avoir des effets bénéfiques considérables. Cela est possible en raison de la variété des activités probiotiques qui peuvent évoquer un bénéfice physiologique. Mais comme nous l'avons déjà mentionné, les probiotiques ne sont pas une substance unique et, en tant qu'entités biologiques, ils ont le potentiel d'agir de diverses manières. Les mécanismes d'action que les chercheurs ont découverts dans différentes souches probiotiques comprennent la modulation du système immunitaire, les interactions avec le microbiote intestinal, la production d'acides organiques, l'exclusion compétitive, l'amélioration de la fonction de barrière, la fabrication de petites molécules ayant des effets systémiques et la production d'enzymes. Cependant, les connaissances actuelles sur les mécanismes qui sous-tendent les bénéfices pour la santé présentent encore de nombreuses lacunes. Tous les mécanismes n'ont pas été démontrés chez l'homme et, plus important encore, dans de nombreux cas, il n'existe pas de preuve concluante qu'un mécanisme donné est lié à un résultat sanitaire spécifique chez l'homme. En outre, en tant qu'entités biologiques, les probiotiques sont susceptibles d'exprimer plus d'un mécanisme pouvant contribuer à un résultat clinique donné, ce qui complique les efforts de recherche visant à identifier les mécanismes de la fonction probiotique chez l'homme. **(Sanders et al., 2018)**

La modification de la composition du microbiote intestinal est l'un des effets supposés des probiotiques qui a été difficile à établir chez les humains en bonne santé. Bien qu'il soit communément admis que les probiotiques "favorisent une composition saine du microbiote", il existe peu de preuves que les probiotiques ont un impact substantiel sur la structure globale des communautés microbiennes intestinales de sujets sains au-delà de l'augmentation transitoire de la souche spécifique consommée et les microbes probiotiques persistent rarement plus de deux semaines après la consommation. Une revue systématique des études portant sur l'impact des probiotiques sur le microbiote fécal n'a révélé aucun effet sur une série de mesures de la composition du microbiote (alpha-diversité, richesse ou homogénéité). Malgré la nature transitoire des probiotiques et l'absence de changements spectaculaires dans le microbiote au cours de la consommation de probiotiques, les avantages pour la santé sont étayés par des preuves cliniques (voir la section "Avantages des probiotiques pour la santé : preuves d'effets spécifiques"). Ces observations suggèrent que les effets bénéfiques des probiotiques surviennent sans qu'il soit nécessaire de coloniser le tractus gastro-intestinal ou de modifier ultérieurement la composition du microbiote fécal. **(Sanders et al., 2018)**

II.4. Classification des probiotiques :

A quelques exceptions près (levures), la majorité des microorganismes considérés comme généralement reconnu comme sans danger (GRAS) sont des bactéries et les espèces les plus abordées dans la littérature en tant que probiotiques appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* suivie des genres *Enterococcus* et *Streptococcus*. Aux bactéries de ces genres s'ajoutent certaines bactéries du genre *Bacillus* ainsi que certaines levures. Cependant, seulement une partie de ces microorganismes peuvent être considérés comme probiotiques (Tableau 1). (Yao, 2023)

Tableau 2 : Liste des microorganismes considérés comme des probiotiques. (Yao, 2023)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bactéries lactiques	Non productrices d'acide lactique
<i>L.acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>
<i>L.amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> nissle
<i>L.casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>subsp. Bulgaricus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. gasseri</i>			
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

II.5. Les probiotiques et leur place en médecine humaine :

L'utilisation des probiotiques a montré globalement son innocuité, même si quelques risques infectieux chez des personnes sensibles ont parfois été observés. Le champ d'utilisation des probiotiques est de plus en plus vaste. Les pathologies les couramment ciblées sont les diarrhées, maladies inflammatoires chroniques intestinales et allergies. D'autres pathologies commencent à s'intéresser à l'approche probiotique comme l'obésité, les maladies métaboliques, ainsi que les maladies psychiatriques. D'autres utilisations moins courantes sont évoquées. Les effets observés sont variables selon les souches utilisées et les populations ciblées rendant dans de nombreuses indications leur recommandation par les comités d'experts difficile aujourd'hui. Cependant, les effets bénéfiques observés dans certaines études sont encourageants, justifiant la poursuite des études expérimentales afin d'améliorer la sélection de souches efficaces et d'essais cliniques contrôlés comportant un nombre suffisant de patients. **(Butel, 2014)**

Les probiotiques ont un impact bénéfique sur le système immunitaire en stimulant la réponse immunitaire non spécifique, en améliorant plusieurs états pathologiques et en atténuant les allergies. **(Stavropoulou et Bezirtzoglou, 2020)**

Les agents pathogènes induisent une réponse pro-inflammatoire dans les cellules épithéliales en activant le facteur de transcription activant le facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) qui joue un rôle crucial dans l'immunité, l'inflammation et la prolifération cellulaire. Il existe des preuves que les souches probiotiques ont un effet sur l'activation immunitaire épithéliale en bloquant ce facteur. **(Stavropoulou et Bezirtzoglou, 2020)**

L'administration de probiotiques améliore le système immunitaire de multiples façons : stimulation de la production d'anticorps naturels IgM et IgG au niveau systémique, augmentation des anticorps IgA au niveau local et systémique ainsi que de l'interféron et augmentation de la capacité de phagocytose qui module la présence de cytokines. Dans cet esprit, les probiotiques ont montré des effets immunostimulants qui peuvent être associés à l'inflammation initiale suite à la réponse des macrophages humains. **(Stavropoulou et Bezirtzoglou, 2020)**

Il est souligné que la colonisation précoce de l'intestin par des micro-organismes probiotiques tels que les Lactobacilles et les Bifidobactéries offre une protection ultérieure contre de nombreux types de maladies. En outre, la microflore probiotique bénéfique dominée par les Bifidobactéries et les Lactobacilles pourrait modifier le microbiote intestinal

en réduisant le risque de cancer grâce à leur capacité à diminuer les niveaux de β -glucuronidase et de carcinogènes. **(Stavropoulou et Bezirtoglou, 2020)**

En outre, les probiotiques sont capables de produire des substances antimicrobiennes, des bactériocines et d'abaisser le pH afin d'inhiber les pathogènes, d'entrer en compétition avec les pathogènes pour les nutriments et enfin d'améliorer la fonction de barrière intestinale. L'intégrité de la barrière intestinale est la marque d'un écosystème intestinal sain. Comme nous l'avons vu, de nombreux facteurs contribuent à ce problème. Diverses études *in vitro* et sur des animaux ont mis en évidence l'importance du microbiote humain et l'amélioration de la fonction de la barrière muqueuse par un traitement probiotique. Malgré cela, il est difficile d'extrapoler les résultats de ces études aux populations humaines. **(Stavropoulou et Bezirtoglou, 2020)**

II.6. Mécanismes d'action des probiotiques :

Des progrès remarquables ont été réalisés dans le domaine des probiotiques, mais il n'y a pas encore eu d'avancée majeure dans la documentation de leur mécanisme d'action. Les probiotiques peuvent exercer un potentiel positif sur le corps humain par le biais des principaux mécanismes suivants : exclusion compétitive des agents pathogènes, amélioration des fonctions de la barrière intestinale, immunomodulation dans le corps de l'hôte et production de neurotransmetteurs. **(Plaza-Diaz et al., 2019)**

Les probiotiques sont en concurrence avec les pathogènes pour les nutriments et les sites de fixation des récepteurs, ce qui rend leur survie difficile dans l'intestin. **(Plaza-Diaz et al., 2019)** Les probiotiques agissent également comme des agents antimicrobiens en produisant des substances telles que des acides gras à chaîne courte (AGCC), des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène **(Ahire et al., 2021)** et des bactériocines **(Fantinato et al., 2019)**, diminuant ainsi les bactéries pathogènes dans l'intestin. En outre, les probiotiques améliorent la fonction de barrière intestinale en stimulant la production de protéines de mucine **(Chang et al., 2021)**, en régulant l'expression des protéines de jonction serrée, y compris l'occlusion et la claudine 1, et en régulant la réponse immunitaire dans l'intestin **(Bu et al., 2022 ; Ma et al., 2022)**.

Les probiotiques régulent également la réponse immunitaire innée et adaptative en modulant les cellules dendritiques (DC), les macrophages, les lymphocytes B et T. Les probiotiques augmentent également la production de cytokines anti-inflammatoires tout en interagissant avec les cellules épithéliales intestinales et en attirant les macrophages et les

cellules mononucléaires (**Petruzziello et al.,2023**). En outre, les probiotiques peuvent produire des neurotransmetteurs dans l'intestin par l'intermédiaire de l'axe intestin-cerveau. Des souches probiotiques spécifiques peuvent moduler les niveaux de sérotonine, d'acide gamma-aminobutyrique (GABA) et de dopamine, affectant l'humeur, le comportement, la motilité intestinale et les voies liées au stress (**Srivastav et al., 2019 ; Sajedi et al., 2021 ; Gangarajuet al., 2022**).

II.7. Réévaluation de la sécurité des probiotiques chez l'homme :

Le concept de probiotique implique principalement la croyance que les substances déchargées par un micro-organisme provoquent la croissance et la prolifération de l'autre. La prise de conscience croissante et le marché des probiotiques ont nécessité des normes plus élevées et des preuves scientifiques pour les avantages mentionnés de tous les composés probiotiques. Bien que les produits probiotiques présentent de nombreux avantages déclarés, notamment la réduction des désagréments liés à l'estomac et au tractus intestinal et l'amélioration de la santé immunitaire, ces fonctions n'ont pas été expliquées de manière adéquate en termes de mécanismes d'action ou de résultats chroniques. Aucun type de probiotique n'a encore été approuvé par la Food and Drug Administration américaine pour prévenir ou traiter des problèmes de santé. (**Sotoudegan et al.,2019**)

De même, les autorités de contrôle de la sécurité alimentaire en Europe ont refusé toute demande d'approbation d'allégations de santé sur les probiotiques par les fabricants commerciaux en raison du manque de recherche et donc de l'efficacité non prouvée. L'insuffisance des connaissances sur le mécanisme d'action des probiotiques a entravé les efforts visant à garantir la sécurité de leurs applications. Comme l'indique le National Center for Complementary and Integrative Health (Centre national pour la santé complémentaire et intégrative), "indépendamment de certains probiotiques qui ont été jugés sans risque dans les études de recherche, pour soutenir leurs utilisations particulières pour la plupart des conditions de santé, il manque encore beaucoup de preuves suffisantes". Étant donné qu'un nombre croissant de consommateurs consomment des produits probiotiques dans le monde entier, la vérification de la "sécurité" de ces produits est indispensable. Cette revue évalue les effets indésirables des probiotiques. (**Sotoudegan et al.,2019**)

II.8. Bénéfices des probiotiques pour la santé humaine :

Les êtres humains constituent un réservoir unique de groupes de microbes hétérogènes et vivaces qui, ensemble, forment le superorganisme du microbiome humain. L'intestin humain abrite plus de 100 à 1000 espèces microbiennes, qui modulent principalement l'environnement interne de l'hôte et jouent ainsi un rôle majeur dans sa santé. Cette relation symbiotique spectaculaire a suscité des recherches approfondies dans ce domaine. Plus précisément, ces organismes jouent un rôle clé dans la fonction de défense, l'eupepsie, le catabolisme et l'anabolisme, et ont un impact sur les réponses entre le cerveau et l'intestin. L'émergence d'un microbiote résistant et tolérant aux médicaments et antibiotiques conventionnels existants a réduit l'efficacité des médicaments. En outre, les suppléments multiplex nano- encapsulés issus de la biotechnologie moderne s'avèrent coûteux et peu pratiques. Par conséquent, une approche simple, peu coûteuse, réceptive et intrinsèque pour obtenir des bénéfices pour la santé est vitale à l'époque actuelle. **(Kerry et al., 2018)**

La supplémentation en probiotiques, prébiotiques et symbiotiques a donné des résultats prometteurs contre divers pathogènes entériques en raison de leur capacité unique à concurrencer le microbiote pathogène pour les sites d'adhésion, à aliéner les pathogènes ou à stimuler, moduler et réguler la réponse immunitaire de l'hôte en déclenchant l'activation de gènes spécifiques à l'intérieur et à l'extérieur du tractus intestinal de l'hôte. Il a également été démontré que les probiotiques régulent le stockage des graisses et stimulent l'angiogenèse intestinale. Cette étude vise donc à souligner l'impact bénéfique possible des probiotiques sur la santé humaine et les secteurs médicaux, ainsi que sur l'amélioration du mode de vie. **(Kerry et al., 2018)**

II.9. Sources, formulations, administration avancée et bienfaits des probiotiques pour la santé :

Les probiotiques sont définis comme des "micro-organismes vivants" de plus en plus populaires dans un large éventail d'applications alimentaires, car ils sont bénéfiques pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont appliqués de manière adéquate. Les probiotiques les plus courants sont *Lactobacillus* spp, *Bifidobacterium* spp, *Streptococcus* spp, *Enterococcus* spp et *Saccharomyces boulardii*. Le parcours des probiotiques dans le tractus gastro-intestinal n'est pas sans heurts et de nombreuses barrières physiologiques (pH faible, sels biliaires, enzymes, mouvement péristaltique, etc. L'efficacité et le développement des produits probiotiques peuvent être améliorés en manipulant la matrice d'administration des aliments

et cela ne peut être réalisé qu'en explorant la synergie entre les substances phytochimiques et les souches probiotiques. Des études ont évalué la viabilité, la cytotoxicité et la stabilité de souches probiotiques (*L. rhamnosus*) piégées dans des particules à base de cellulose lors d'une exposition à des conditions gastro-intestinales simulées. **(Roobab et al., 2020)**

Ces particules encapsulent les probiotiques et assurent leur diffusion dans les aliments. Les isolats probiotiques potentiels aident à maintenir et à améliorer la santé et conviennent au développement de produits probiotiques fonctionnels. Les souches probiotiques isolées (*L. rhamnosus* et *L. plantarum*) de certains légumes et agrumes, les souches de bactéries lactiques (y compris les lactobacilles, les bifidobactéries et les souches de *Bacillus*) sont également étudiées pour la viabilité ou la résistance à différents aliments tels que le jus d'orange, le fromage et le pain maison, ainsi que les feuilles d'ignames, de papayes, de cocottes, de canne à sucre et de taro. Cependant, le jus d'orange s'est avéré être un support correct pour l'utilisation de *L. casei*, indépendamment de l'utilisation de méthodes d'ajout de probiotiques. En outre, les graines de soja peuvent également être utilisées comme support fixe pour les cellules de *L. casei* car elles peuvent maintenir leur viabilité, ce qui est une caractéristique bénéfique pour les applications futures dans les processus de fermentation et les aliments. En outre, *L. casei* a été déclarée sûre pour la consommation et possède un potentiel probiotique *in vitro*. **(Roobab et al., 2020)**

Afin d'évaluer l'impact potentiel sur la santé d'aliments probiotiques spécifiques lors de leur consommation, l'activité de la souche probiotique *L. casei* a dépassé le seuil requis (10^6 - 10^7 CFU/mL) dans le yaourt glacé produit à partir de baies d'argousier. En outre, les grains de kéfir (un produit de fermentation mixte) ont également été étudiés en tant qu'aliment probiotique potentiel contenant des levures bénéfiques telles que *Kluyveromyces lactis*, *S. unisporus* et *S. boulardii*. Certaines études ont évalué la possibilité d'obtenir des fractions de riz en contrôlant l'égrenage pour favoriser la croissance des bactéries probiotiques *L. plantarum* et *L. reuteri*. En outre, *L. paracasei* et *L. gasseri* isolés du lait maternel présentent d'excellentes caractéristiques fonctionnelles telles que l'hypocholestérolémie (70,78 %), l'activité antioxydante et le potentiel antibiome (59-64 %) ciblant plusieurs agents pathogènes humains. **(Roobab et al., 2020)**

PARTIE III. LES PROBIOTIQUES ASSOCIÉS AUX COSMETIQUE

III.1. Nouvelles avancées scientifiques pour la cosméceutique :

Nous savons que les probiotiques peuvent soulager les symptômes d'un inconfort gastro-intestinal (GI). Nous connaissons aussi les effets des probiotiques pour notre immunité et même pour la santé mentale par le biais de l'axe intestin-cerveau. Mais saviez-vous que les probiotiques peuvent également améliorer la santé de la peau ? À présent, nous pouvons mieux comprendre l'axe intestin-cerveau-peau ainsi que les bienfaits des probiotiques pour notre peau. **(Lo et ND, 2021)**

La peau sert avant tout de barrière pour empêcher l'entrée dans le corps de microbes et de virus. Les autres fonctions importantes de la peau sont le contrôle homéostatique de la température du corps, la réception sensorielle, le maintien de l'équilibre hydrique (la peau empêche la perte d'eau et de liquide extracellulaire), la synthèse de vitamines et d'hormones, et l'absorption de substances topiques. La microflore intestinale semble jouer un rôle crucial dans la prévention de nombreux troubles inflammatoires de la peau. **(Loet ND, 2021)**

En effet, la dysbiose intestinale (déséquilibre du microbiote) ou le syndrome de l'intestin perméable peuvent affecter le microbiome cutané et ses fonctions de base. Cela peut contribuer à des troubles dermatologiques courants comme l'acné, le psoriasis, la dermatite atopique (eczéma) et la rosacée. **(Lo et ND, 2021)**

Il existe trois façons d'utiliser les probiotiques pour la santé de la peau :

- L'application topique
- La prise de suppléments probiotiques
- La consommation d'aliments probiotiques

Les produits pour la peau à application topique qui contiennent des probiotiques ne sont pas entièrement nouveaux ; nous avons tous entendu parler du masque au yaourt. Ce qui est nouveau, c'est que des entreprises cosmétiques commencent à commercialiser des produits contenant des probiotiques. L'utilisation de probiotiques pour les soins cutanés présente quelques difficultés, notamment la nécessité de les conserver au réfrigérateur, car ils sont sensibles à la chaleur, à la lumière et à l'humidité. En fait, pour qu'un probiotique soit efficace, il doit être vivant. C'est pour cette raison que la plupart des formules de soins cutanés ne contiennent pas de probiotiques, mais incluent en revanche des prébiotiques (des fibres non digestibles qui vont alimenter les bonnes bactéries) comme du xylitol, des fructo-oligosaccharides (FOS), du glucomannane et de l'inuline ; ou un produit postbiotique (sous-produit d'une fonction bactérienne naturelle) comme l'*Aqua Posae Filiformis* un post-biotique

idéal pour la sécheresse cutanée, ou du *Lactococcus* ferment lysate pour les rides et le rajeunissement de la peau. **(Lo et ND, 2021)**

Même si les produits topiques ont montré leur efficacité dans plusieurs essais cliniques, particulièrement ceux impliquant le traitement de l'acné, de la dermatite atopique et de la rosacée, il semble encore nécessaire d'approfondir ces recherches afin de démontrer leur efficacité sur de plus larges populations. Aussi, par souci de sûreté, les produits cosmétiques sont censés contenir une faible teneur en micro-organismes (moins de 500 unités formant colonies (UFC)/g pour les produits destinés au contour de l'œil et 1 000 UFC/g pour le reste du visage). **(Lo et ND, 2021)**

III.2. Aspects réglementaires (étiquetage, commercialisation) :

La Food and Drugs Administration (FDA) des États-Unis classe les probiotiques dans différentes catégories, telles que compléments alimentaires, aliments, additifs alimentaires, cosmétiques ou médicaments, en fonction de chaque produit. Cependant, il n'existe pas de réglementation pour les probiotiques topiques, et il n'y a actuellement aucun produit probiotique topique approuvé par la FDA, ce qui montre qu'il est nécessaire d'améliorer la réglementation pour ces produits. Il existe de nombreux produits cosmétiques probiotiques topiques pour le soin de la peau, commercialisés et vendus dans le monde entier. Bien qu'il n'y ait aucune restriction à l'inclusion de probiotiques dans les produits cosmétiques, et que l'approbation de la FDA avant la mise sur le marché n'est pas requise, les entreprises doivent tout de même s'assurer de l'innocuité de leurs produits avant de les proposer aux consommateurs. Outre les tests de sécurité, les produits qui contiennent des micro-organismes vivants doivent être testés afin de garantir la stabilité pendant toute la durée de vie prévue du produit. La FDA continue d'évaluer les données scientifiques sur la sécurité des probiotiques. **(Hyseni et Dodov, 2022)**

Dans l'UE, comme pour tous les produits cosmétiques, les prébiotiques, probiotiques et les postbiotiques doivent répondre à des principes cosmétiques clés. Cependant, il n'existe pas encore de réglementation ou de lignes directrices spécifiques concernant ces substances cosmétiquement actives en relation par rapport au microbiome. En effet, bien que le microbiote cutané ne puisse être séparé de la peau, dans la réglementation cosmétique, microbiome cutané / microbiote n'est pas encore défini, il n'est même pas décrit. Cependant, on s'attend à ce que les résultats scientifiques seront mis en œuvre dans la réglementation des produits cosmétiques et que les définitions et les aspects liés à la sécurité. Plus important encore, il convient de noter

que ces substances cosmétiques ne sont pas interdites et qu'elles peuvent donc être utilisées en toute sécurité. Par conséquent, elles peuvent être considérées comme des substances "classiques", ce qui indique clairement la nécessité de se conformer à la définition des cosmétiques et aux principes. **(Hyseni et Dodov, 2022)**

Il convient de mentionner que le Groupe international volontaire des autorités de réglementation des produits cosmétiques (Voluntary International volontaire des autorités de réglementation des produits cosmétiques) a formé en 2018 un groupe de travail conjoint dans le but précis d'examiner en détail les produits à base de probiotiques dans le secteur des cosmétiques. Sur la base des observations, le groupe a identifié le besoin potentiel de développer des lignes directrices terminologie acceptée au niveau international, la sécurité et la qualité de ces substances dans les produits cosmétiques. **(Hyseni et Dodov, 2022)**

III.3. Le rôle des probiotiques dans le photovieillissement de la peau et les mécanismes associés :

La peau, qui est l'un des plus grands organes, est la plus facilement endommagée par les rayons ultraviolets (UV) après une exposition prolongée au rayonnement solaire. Le photovieillissement est défini comme le vieillissement prématuré de la peau résultant d'une exposition répétée aux rayons UV du soleil. La majorité des troubles cutanés liés à l'âge sont causés par le photovieillissement. Les manifestations cliniques du photovieillissement de la peau comprennent les rides, la décoloration, les télangiectasies et l'aspect sec et rugueux. Ces manifestations sont associées aux changements physiopathologiques de diverses cellules et tissus de l'épiderme et du derme. Par exemple, les rides, qui constituent la caractéristique clinique la plus évidente du photovieillissement, sont principalement induites par une diminution des fibroblastes dermiques, ainsi que par un ralentissement du taux de synthèse du collagène et de l'élastine et une accélération du taux de dégradation. Le photovieillissement cutané n'affecte pas seulement l'aspect esthétique, mais endommage également la fonction normale de la barrière cutanée, augmentant ainsi le risque de maladies inflammatoires de la peau et même de tumeurs malignes. **(Teng et al.,2022)**

Un microenvironnement cutané stable et sain est fortement influencé par le microbiome cutané, qui est principalement composé de bactéries, notamment *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*. Le microbiome cutané, comme le microbiome intestinal, joue un rôle important dans la protection contre les pathogènes externes,

la régulation des réponses immunitaires et la répression des catabolites. Des études ont montré que le microbiome cutané n'est pas statique et immuable, mais qu'il est toujours influencé par l'âge ou le vieillissement de la structure physiologique. Les changements dans la capacité métabolique, la capacité de résistance à l'oxydation (métabolisme des cofacteurs et des vitamines), l'intégrité de la membrane et la capacité de signalisation cellulaire (métabolisme des glycolipides), la capacité de métabolisme des lipides (métabolisme des glycolipides et biosynthèse des acides gras) et la résistance aux pathogènes (biosynthèse des antibiotiques) ont tous été corrélés négativement avec le degré de photovieillissement. En outre, les rayons UV agissent également comme un facteur externe important dans l'induction des changements microécologiques de la peau. **(Teng et al.,2022).**

Les probiotiques sont des micro-organismes actifs qui ont des effets bénéfiques sur l'hôte en modifiant la composition du microbiote. De nombreuses études ont mis en évidence une relation étroite entre le microbiome cutané et la santé et la stabilité de la peau. L'axe intestin-peau indique la relation dans laquelle le microbiome intestinal peut également influencer la santé de la peau en raison de ses propriétés immunologiques. La régulation positive du microbiome cutané ou intestinal par des probiotiques oraux ou topiques est apparue comme une méthode potentielle de prévention clinique du photovieillissement cutané. Les probiotiques oraux sont un groupe de micro-organismes vivants susceptibles de modifier le microbiote intestinal et d'induire un effet photoprotecteur sur des cellules cutanées spécifiques en modulant la réponse immunitaire et les cytokines inflammatoires. En outre, ils peuvent également augmenter les niveaux sériques d'acides gras à chaîne courte (AGCC) et d'acétate, induisant ainsi une série de réponses immunitaires et inflammatoires. Les applications topiques de probiotiques ont été étudiées comme moyen de modifier directement le microbiome de la peau pour prévenir et traiter le photovieillissement cutané. **(Teng et al.,2022)**

En outre, les probiotiques oraux ou topiques sont essentiels dans la gestion d'autres troubles cutanés courants tels que la dermatite atopique, l'acné, la rosacée, et le psoriasis en modulant le microbiome de la peau et les interactions microbiennes entre l'intestin et la peau. **(Teng et al.,2022)**

Il est important de souligner que l'utilisation des probiotiques et des postbiotiques dans les soins de la peau et les conditions dermatologiques n'en est qu'à ses débuts et que ses applications nécessitent des essais humains plus étendus afin de vérifier les risques potentiels

et la fiabilité, ainsi que les actions directes et indirectes précises de ces produits. **(De Almeida et al., 2023)**

III.4. Progrès dans l'utilisation cosmétique des probiotiques : Aspects sanitaires, réglementaires et marketing :

Les approches de manipulation du microbiome cutané visant à traiter divers troubles cutanés comprennent la transplantation de microbiome cutané, la bactériothérapie cutanée et la stimulation prébiotique. La recherche dans ce domaine a révélé que la manipulation de la composition des souches bactériennes du microbiome cutané, ciblée sur les résultats médicaux, peut améliorer de manière significative la santé et l'apparence de la peau. La disponibilité commerciale des produits de soins de la peau à base de probiotiques se développe rapidement dans le monde entier en raison des résultats satisfaisants obtenus en laboratoire et de la perception par le public des probiotiques comme étant intrinsèquement plus sains que d'autres substances bioactives, telles que les substances synthétiques. **(Arora et al., 2024)**

Les principaux résultats de l'utilisation des probiotiques comprennent une réduction significative des rides de la peau, de l'acné et d'autres conditions affectant négativement l'apparence et la fonction saine de la peau. En outre, les probiotiques peuvent favoriser une hydratation normale de la peau, ce qui lui confère une apparence vibrante et brillante. Néanmoins, il reste des défis techniques importants à relever pour optimiser pleinement l'utilisation des probiotiques dans les produits cosmétiques. **(Arora, R et al., 2024)**

PARTIE IV.
BACTÉRIES ASSOCIÉS À L'ACNÉ

IV.1. Microbiome cutané :

IV.1.1. Le microbiome cutané :

La peau humaine est un organe vaste et complexe qui remplit une multitude de fonctions. Elle constitue une barrière physique et immunologique contre les infections tout en interagissant avec le système immunitaire de l'hôte pour moduler la santé et prévenir les maladies. Elle est habitée par un immense éventail de microbes, notamment des bactéries, des champignons, des virus et des parasites, connus collectivement sous le nom de microbiote cutané. Lorsque la barrière cutanée est compromise ou que la composition du microbiote est altérée, l'hôte peut être prédisposé à la maladie. Grâce aux progrès des techniques de laboratoire, notre compréhension du microbiome a évolué, et les altérations de notre flore cutanée sont impliquées à la fois dans les maladies infectieuses et non infectieuses. (Sander et al., 2019)

IV.1.2. Composition du microbiome cutané :

Le microbiome cutané est principalement composée par quatre groupes de bactéries (Tableau 2)

Tableau 3 : Composition du microbiome cutané (Adamczyk et al., 2018)

<i>Actinobactéries</i>	<i>Corynebacterium</i> spp., <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Microbacterium</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp.
<i>Firmicutes</i>	Staphylocoques aérobies et anaérobies non hémolytiques (<i>Staphylococcus</i> spp.)
<i>Clostridium</i> spp	
Streptocoques α -hémolytiques	<i>Streptococcus</i> spp
Entérocoques	<i>Enterococcus</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sphingobacterium</i> spp., <i>Chryseobacterium</i> spp.
<i>Proteobacteria</i>	<i>Janthinobacterium</i> spp., <i>Serratia</i> spp., <i>Halomonas</i> spp., <i>Delftia</i> spp., <i>Comamonas</i> spp.

On estime que 50 % de toutes les bactéries résidant sur la peau appartiennent à l'espèce *S. epidermidis* qui habite la partie supérieure du follicule pileux. Les autres espèces bactériennes vivant à la surface de la peau sont *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus* et *S. capitis*. Les espèces bactériennes dominantes des genres *Corynebacterium* et *Propionibacterium* sont respectivement *C. jeikeium* et *P. acnes*. Les membres du genre bactérien *Micrococcus* isolés à la surface de la peau comprennent *M. luteus* et, plus rarement, *M. varians*, *M. lylae*, *M. sedentarius*, *M. roseus*, *M. kristinae* et *M. nishinomiyaensis*. (Adamczyk et al., 2018)

La peau humaine peut également être colonisée par des bactéries pathogènes, notamment *S. aureus*, les streptocoques du groupe A (*S. pyogenes*), les corynébactéries aérobies (*Corynebacterium* spp.) et les bacilles Gram négatif (*P. aeruginosa*). (Adamczyk et al., 2018)

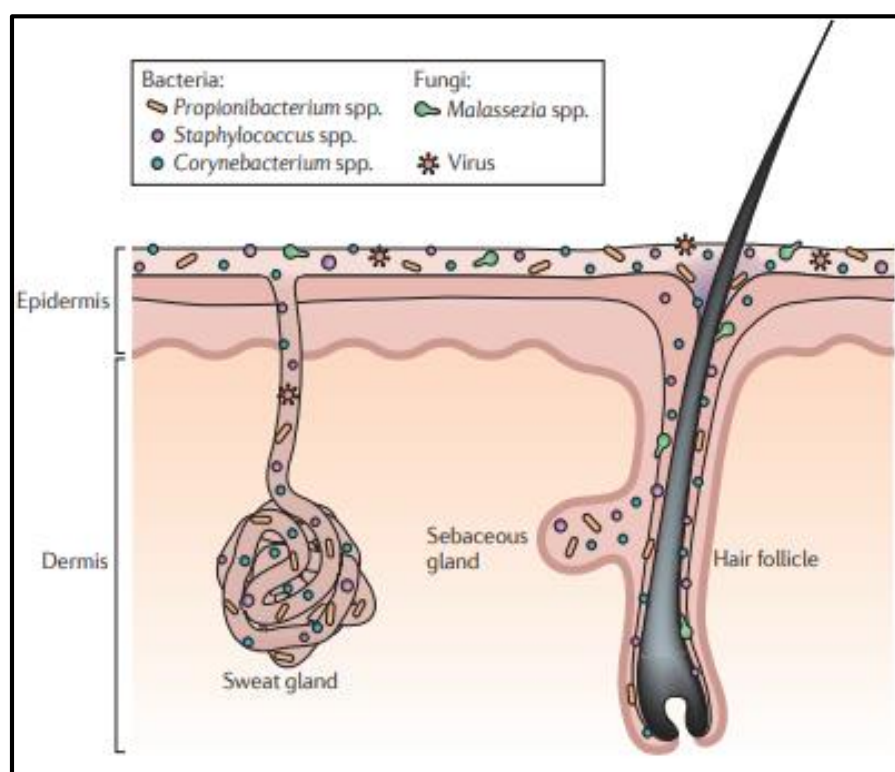


Figure 1 : Physiologie cutanée (Byrd, A. et al., 2018)

IV.1.3. Le microbiome cutané dans la maladie :

Les interactions entre les membres du microbiote façonnent la communauté microbienne résidente et empêchent la colonisation par des bactéries pathogènes dans un processus appelé "résistance à la colonisation". Cependant, dans certains contextes, des

bactéries habituellement bénéfiques pour leurs hôtes peuvent devenir pathogènes. De nombreuses maladies cutanées courantes sont associées à des modifications du microbiote. Souvent due à des espèces commensales communes, comme décrit ci-dessous pour l'acné, l'eczéma et les plaies chroniques. On pense que les troubles cutanés, qu'ils soient rares ou courants, ont des contributions sous-jacentes provenant à la fois d'espèces individuelles et d'altérations de la communauté microbienne. **(Byrd et al., 2018)**

IV.2. Acné Vulgaris :

IV.2.1. L'acné Vulgaire :

L'acné vulgaire (acné) est une infection cutanée inflammatoire très répandue, qui implique l'interaction de plusieurs facteurs. Outre la production accrue de sébum par les glandes sébacées et la kératinisation folliculaire des canaux pilo-sébacés, un troisième acteur principal dans le développement de l'acné a récemment été découvert : le microbiome et ses interactions avec le système immunitaire inné. **(Dréno et al., 2020)** Des facteurs génétiques, raciaux, hormonaux et environnementaux tels que le climat, la température et l'humidité, les cosmétiques, la consommation d'aliments et de médicaments, ainsi que le stress, peuvent également influencer sur la pathogenèse. **(Sitohang et al., 2019)**

Elle survient généralement à la puberté mais est également observée chez les adultes. Sa physiopathologie implique trois acteurs, l'hyperséborrhée, une kératinisation folliculaire anormale et la prolifération de *Propionibacterium acnes* dans l'unité pilo-sébacée. En raison de leur interaction, le micro environnement cutané change et entraîne des réactions inflammatoires de l'hôte qui favorisent la progression des lésions acnéiques. Des recherches récentes ont jeté un nouvel éclairage sur l'implication de la glande sébacée, ainsi que sur l'activité pro-inflammatoire du microbiome cutané dans la pathophysiologie de l'acné. **(Dréno, 2017)**

Les caractéristiques cliniques de l'acné sont les comédons, les papules, les pustules et les nodules. Même si l'acné tend à se résorber d'elle-même, cette anomalie cutanée peut entraîner la formation de cicatrices atrophiques et hypertrophiques susceptibles de diminuer la qualité de vie du patient et de provoquer des troubles psychologiques. **(Sitohang et al., 2019)**

IV.2.2. Les causes et facteurs déclencheurs de l'acné:

Une revue systématique de 53 études réalisée en 2021 a montré qu'un régime à forte charge glycémique, des aliments à indice glycémique élevé, des produits laitiers, du chocolat et des aliments gras ont un effet positif sur le développement de l'acné. **(Leung et al., 2021)**

Des études ont également montré qu'une carence en vitamine D, des suppléments de vitamine B6 et de vitamine B12 à haute dose et des suppléments de protéines de lactosérum peuvent être associés à l'acné. **(Leung et al., 2021)**

Parmi les autres facteurs de prédisposition, citons la prédisposition génétique, l'obésité, la peau grasse/séborrhéique, le pH élevé de la surface de la peau, le stress émotionnel, les traumatismes mécaniques répétitifs, l'exposition excessive au soleil, la pré-menstruation, l'occlusion mécanique, l'application topique de produits gras ou de préparations occlusives, les médicaments... **(Leung et al., 2021)**

IV.2.3. Épidémiologie :

L'acné vulgaire est un trouble inflammatoire cutané très répandu. Plus de 85 % des adolescents sont touchés par l'acné et peuvent en souffrir jusqu'à l'âge adulte. **(Cong et al., 2019)** La prévalence mondiale de l'acné vulgaire dans la population générale est estimée à environ 9,4 %.

Cette affection débute généralement à la puberté, lorsque les hormones sexuelles commencent à être produites, et survient le plus souvent chez les adolescents et les jeunes adultes, avec une réduction progressive de la prévalence avec l'âge. Bien que peu fréquente, l'acné peut survenir pendant la période néonatale et se développer de novo à l'âge adulte. La prévalence de l'acné chez les garçons passe de 40 % à l'âge de 12 ans à 95 % à l'âge de 16 ans.^{4,5} Chez les filles, la prévalence augmente également de 61 % à 83 %.^{4,5} Pendant l'adolescence, il y a une prédominance masculine, en particulier pour les formes les plus sévères d'acné.^{2,6} En revanche, à l'âge adulte, l'affection est plus fréquente chez les femmes que chez les hommes. L'acné légère est plus fréquente chez les Caucasiens, tandis que l'acné sévère tend à être plus fréquente chez les Asiatiques et les Africains. **(Leung et al., 2021)**

IV.2.4. Pathogenèse :

L'acné se développe à partir d'une interaction complexe entre de multiples facteurs. On pense que la génétique joue un rôle important, car le nombre et la taille des glandes sébacées ainsi que leur activité sont héréditaires. Les études de jumeaux montrent que le taux de

concordance pour la prévalence et la gravité de l'acné est extrêmement élevé. L'activité des glandes sébacées est sous l'influence des hormones, en particulier de l'androgène dihydrotestostérone. Au cours de l'adolescence, le corps produit des hormones androgènes à partir des gonades et des glandes surrénales. L'augmentation du sébum, associée à une hyperkératinisation folliculaire anormale, entraîne l'obstruction du canal pilo-sébacé par des kératinocytes "collants" et la formation d'un comédon. Une colonisation bactérienne par *Propionibacterium acnes*, une bactérie anaérobie, peut s'ensuivre. **(Mahto, 2017)**

IV.3. Bactéries associées à l'acné :

IV.3.1. Influence du microbiote intestinal sur les lésions d'acné :

Le microbiote intestinal joue un rôle important dans la formation des lésions acnéiques. Il est également responsable de la bonne immunité de l'organisme et de la défense contre les micro-organismes, déterminant ainsi la tolérance aux substances apportées au corps humain par l'alimentation, ce qui conduit à une réponse immunitaire. L'acné et l'état du tube digestif sont tous deux associés à la qualité du microbiome qui habite les intestins. En outre, la peau et les intestins sont très densément vascularisés et innervés. Ils remplissent des fonctions neuroendocriniennes et immunitaires, entre autres. Un nombre croissant d'études indiquent que la santé des intestins est liée à la santé de la peau. **(Chilicka et al., 2022)**

La recherche sur le microbiote est encore incomplète, car son influence sur l'état de la peau n'a pas été entièrement étudiée. L'alimentation occidentale perturbe l'équilibre entre micro-organismes bénéfiques et pathogènes, ce qui contribue à l'inflammation, y compris les maladies inflammatoires de la peau. Le stress perturbe également l'eubiose, et les bactéries *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* sont particulièrement sensibles à ses effets. En situation de stress, les micro-organismes peuvent produire des neurotransmetteurs inflammatoires pour l'organisme. **(Chilicka et al., 2022)**

Le microbiote modifie également la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC), qui remplissent de nombreuses fonctions, notamment la nutrition des cellules intestinales et la modulation de l'activité cérébrale. L'un de ces acides est l'acide propionique, qui est toxique pour *S.aureus*. Par conséquent, les AGCS peuvent également affecter la résistance de la peau aux staphylocoques cutanés et à *C. Acnes*. Cependant, le microbiote intestinal reste un sujet mal compris, et seuls quelques scientifiques ont étudié la flore intestinale des patients acnéiques, comme le montre le tableau 1. **(Chilicka et al., 2022)**

Tableau 4 : Résumé des études disponibles sur la flore intestinale chez les patients atteints d'acné. (Chilicka et al., 2022)

Auteur et année de l'étude	Conclusions de la recherche
Loveman et al., 1955	Les personnes souffrant d'acné présentent une flore intestinale significativement différente de celle du groupe de contrôle.
Volkova et al., 2001	Les patients atteints d'acné présentaient une variabilité moindre de la microflore intestinale et un ratio plus élevé de <i>Bacterioidetes</i> par rapport aux <i>Firmicutes</i> , ce qui est un type d'entéro du régime alimentaire occidental.
Deng et al., 2018	Réduction du nombre de <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Coprobacillus</i> , <i>Butyricicoccus</i> et <i>Allobaculum</i> chez les patients atteints d'acné par rapport au groupe témoin.
Yan et al., 2018	Des <i>Bacterioidetes</i> spp. qui se sont multipliées dans des conditions de stress ont été isolées chez des patients atteints d'acné.

IV.3.2. Le microbiome cutané dans l'acné :

Le microbiome cutané est divisé en microbes cutanés commensaux " normaux ", qui vivent en homéostasie avec l'hôte et forment le microbiome résident, et en microbes pathogènes provenant de l'environnement, qui vivent temporairement sur la peau et forment le microbiome transitoire. Dans l'acné, le microbiome résident comprend *Cutibacterium acnes* (anciennement appelé *Propionibacterium acnes*) et *Staphylococcus epidermidis*, tandis que le microbiome transitoire comprend *Staphylococcus aureus*. Un déséquilibre microbien ou "dysbiose", par rapport à la distribution normale dans les tissus sains, a été suggéré comme étant impliqué dans la physiopathologie de l'acné inflammatoire. (Dréno et al., 2020)

Cependant, en fonction de la topographie de la peau et de la composition chimique du site et de l'individu, la composition et la diversité des microbes résidents peuvent varier de manière significative. (O'Neill et Gallo, 2018)

Un nombre limité d'études a indiqué que *Staphylococcus spp.* et *Cutibacterium spp.* peuvent interagir en fonction de la souche. Par exemple, certaines souches de staphylocoques peuvent produire des bactériocines ou des acides gras à chaîne courte, empêchant la colonisation et la propagation de *C. acnes* et d'autres bactéries associées à des maladies. (Ahle et al., 2022)

IV.4. Bactéries associées à l'acné :

IV.4.1. Interactions entre la peau, *Cutibacterium acnes* et *Staphylococcus epidermidis* : Un passage possible du commensalisme à la pathogénicité opportuniste :

Cutibacterium et *Staphylococcus*, deux genres de bactéries Gram-positives stables (G+), sont des composants fondamentaux du microbiote cutané et se répartissent largement dans le corps humain en fonction des conditions environnementales de la peau, telles que la température, comprise entre 31,8 et 36,6 °C, et le pH, compris entre 4,2 et 7,9, les deux principaux facteurs affectant leur croissance (Figure 2) . (Fournière et al., 2020)

Les espèces de *Staphylococcus* se trouvent principalement dans les zones humides, dans les voûtes axillaires, les plis antécubitaires, les plis poplités et les tissus plantaires. Les espèces de *Cutibacterium* se trouvent principalement dans les zones sébacées, telles que le visage (glabella, pli alaire et conduit auditif externe) et le dos (Figure 2). (Fournière et al., 2020)

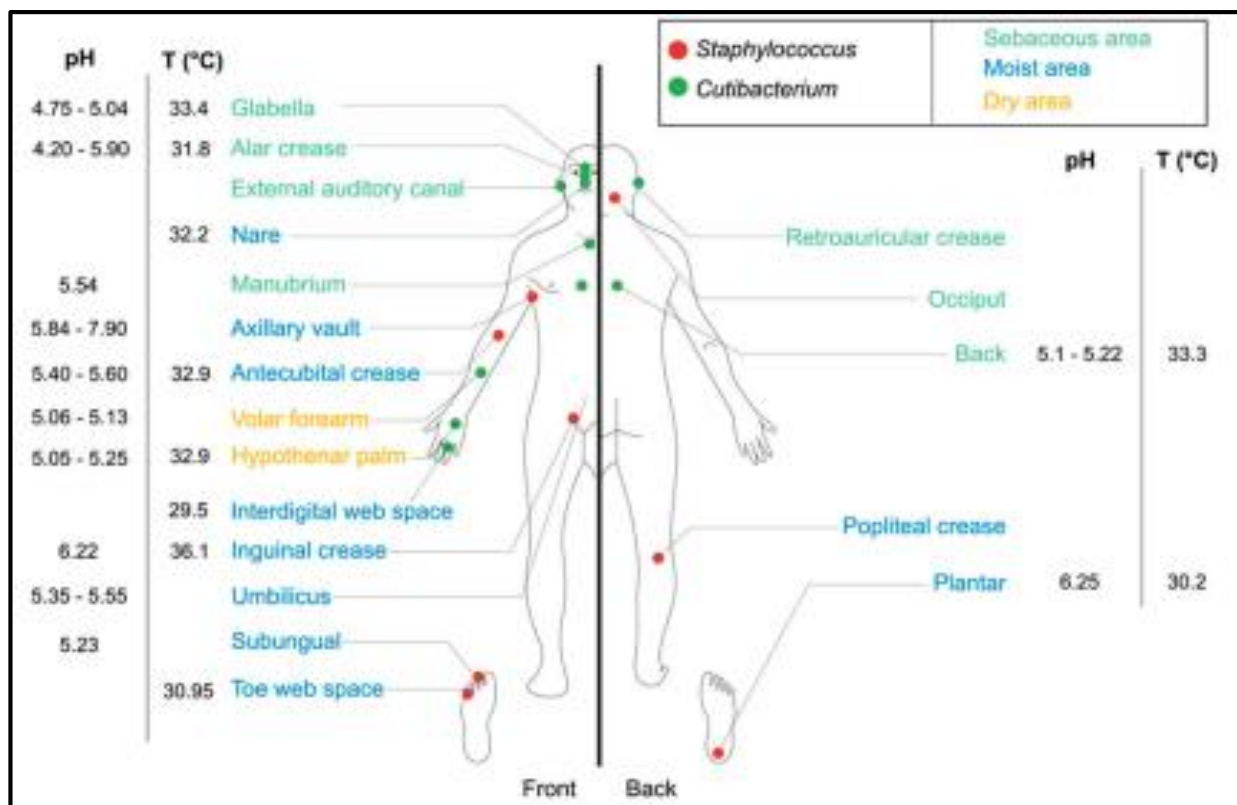


Figure 2 : Distribution topographique des bactéries *Staphylococcus* et *Cutibacterium* (Fournière et al., 2020)

S. epidermidis et *C. acnes* sont généralement considérées comme des bactéries commensales car elles sont inoffensives dans des conditions saines et profitent à la peau lorsque celle-ci n'est pas affectée. Ces bactéries, par le biais de leurs composants de surface microbiens reconnaissant les molécules de la matrice adhésive, interagissent avec les protéines de la matrice extracellulaire de la peau humaine, telles que le sulfate de dermatane ou le collagène de type I, et avec les récepteurs de type péage (TLR2 et TLR4), qui permettent ensuite les voies de coordination entre les bactéries et les cellules de la peau. Plus précisément, les bactéries commensales *S. epidermidis* et *C. acnes* entretiennent une relation symbiotique avec le système cutané et plus spécifiquement une relation mutualiste, puisque les deux organismes y trouvent un avantage. (Fournière et al., 2020)

Dans un microbiote cutané sain et dans des conditions cutanées équilibrées, *S. epidermidis* et *C. acnes* aident la peau à lutter contre les bactéries pathogènes par le biais de plusieurs mécanismes, dont le principal est l'inhibition directe de la croissance des agents pathogènes. (Fournière et al., 2020)

**IV.4.1.1. *Staphylococcus epidermidis* et *Cutibacterium acnes*:
Passage à une pathogénicité opportuniste et corrélation avec
une dysbiose cutanée commune :**

Il convient de noter que le microbiote de la peau n'est pas "tout blanc ou tout noir" et que des changements entre commensalisme et pathogénicité sont couramment observés lorsque la barrière cutanée est perturbée (augmentation drastique du pH de la peau, perte d'eau, desquamation de la peau, apoptose des kératinocytes et inflammation). Dans les conditions pathogènes pour la peau, les souches virulentes de *C. acnes* et de *S. epidermidis* sont souvent présentes sous forme de biofilm, produisant des facteurs de virulence critiques, et sont corrélées à la dysbiose cutanée telle que l'acné ou la dermatite atopique (DA), respectivement (Figure 3). Pour rappel, la dysbiose est un déséquilibre de la biodiversité et de la fonctionnalité du microbiote, souvent caractérisé par une anomalie de la composition, de l'abondance ou de la carence bactérienne, et corrélé au développement de maladies inflammatoires de la peau en fonction de la sévérité de la dysbiose. (Fournière et al., 2020)

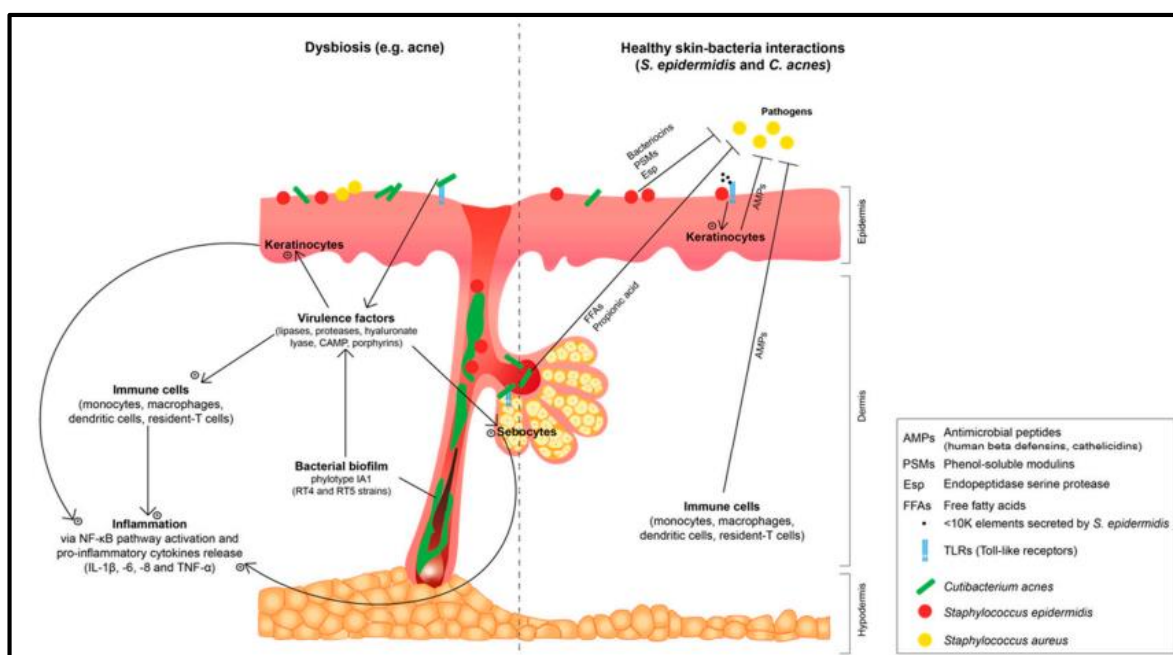


Figure 3 : Interactions entre la peau et les bactéries en cas de dysbiose (par exemple, acné) et de peau saine : accent mis sur *Staphylococcus epidermidis* et *Cutibacterium acnes* (Fournière et al., 2020)

IV.4.2. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) :

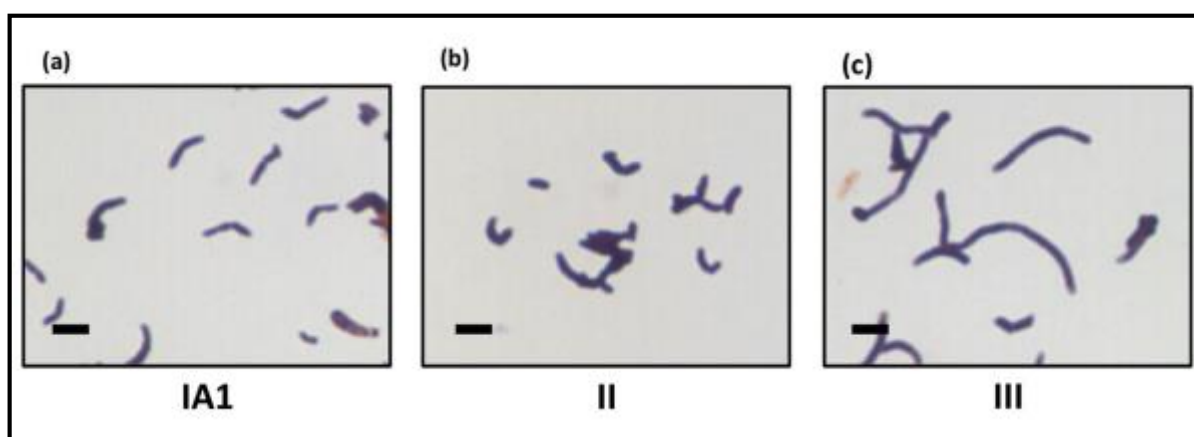
IV.4.2.1. Historique :

Historiquement, *P. acnes* a été isolé pour la première fois il y a plus de cent ans chez un patient présentant une maladie chronique de la peau appelée "acné vulgaire". Suite à cette découverte, *P. acnes* a fait l'objet de plusieurs errances taxonomiques et a été successivement classée dans l'espèce *Bacillus* puis dans l'espèce *Corynebacterium*. Cependant, en 1946, Douglas et Gunter ont montré que cette espèce bactérienne était plus proche des membres du genre *Propionibacterium*, car, comme les autres espèces de ce genre, elle fermente l'acide propionique à partir du lactose dans des conditions anaérobies pour donner un pH cutané acide (favorable à cette flore barrière) qui entrave l'implantation de bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogenes*. (Corvec et al., 2019)

Le genre *Propionibacterium*, décrit par Orla-Jensen en 1909, appartient à l'embranchement des Actinobactéries et à la classe des Propionibacterales. Les espèces les plus connues de ce genre sont *Propionibacterium freudenreichii*, avec sa précieuse contribution au fromage suisse, et *AcidiPropionibacterium acidipropionici*, avec son effet bénéfique sur le métabolisme bovin, mais surtout *P. acnes*, en raison de son rôle dans l'acné et de sa regrettable réputation de contaminer les échantillons humains. (Corvec et al., 2019)

Au sein de la population de *C. acnes* et de ses sous-types, initialement déterminés par le séquençage partiel des gènes *recA* et *tly*, les techniques génomiques ont permis d'identifier six groupes phylogénétiques : IA1, IA2, IB, IC, II et III. Au cours des deux dernières années, il a été proposé de diviser ces phylotypes de *C. acnes* en trois sous-espèces : *C. acnes subsp. acnes* pour le phylotype I, *C. acnes subsp. defendens* pour le phylotype II et *C. acnes subsp. elongatum* pour le phylotype III, notamment sur la base de différences morphologiques. Ces différences sont observables au microscope électronique ainsi qu'après coloration de Gram, soulignant ainsi le pléiomorphisme de cette bactérie, avec des formes ramifiées courtes et longues (Fig. 4). (Corvec et al., 2019)

Figure 4 : Examen direct (coloration de Gram) de *Cutibacterium acnes* des phylotypes IA1 (a), II (b) et III (c). (Corvec et al., 2019)



Cette nouvelle taxonomie est basée sur des différences phylogénétiques et sur un pourcentage d'hybridation ADN-ADN inférieur à 80 % entre les sous-types. En outre, contrairement aux isolats de *C. acnes* de type II et III, les isolats de *C. acnes* de type I, et également de *C. avidum*, sont décrits comme -hémolytiques, (Fig. 5) (Corvec et al., 2019)

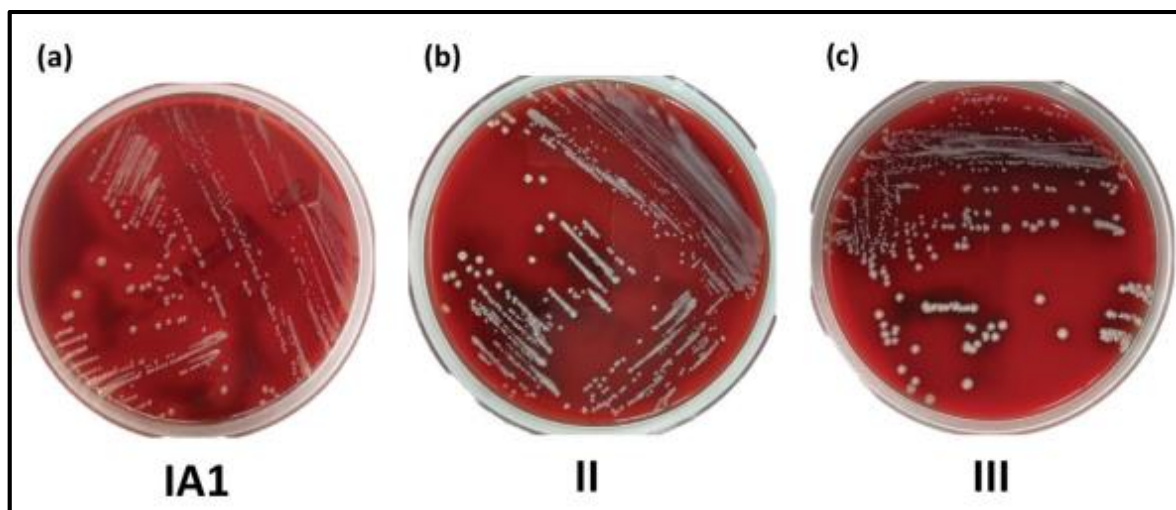


Figure 5 : Cultures de *Cutibacterium acnes* : (a) phylotype IA1 présentant une hémolyse à partir d'un échantillon d'acné ; (b) phylotype II non hémolytique à partir d'un échantillon d'acné ; (c) phylotype III non hémolytique à partir d'un échantillon d'hypomélanose maculaire progressive. (Corvec et al., 2019)

IV.4.2.2. *Cutibacterium acnes* :

Cutibacterium acnes, de l'embranchement des actinobactéries, est une bactérie anaérobie, aérotolérante, diphtéroïde, en forme de bacille, dont la température de croissance optimale est de 37 °C. *C. acnes*, anciennement nommée *Propionibacterium acnes*, se compose de six phylotypes principaux, à savoir IA1, IA2, IB, IC, II et III, et de dix ribotypes principaux, RT 1 à 10, codés dans des allèles uniques de l'ADNr 16S. En raison de sa croissance anaérobie, *C. acnes* se trouve principalement en profondeur dans la couche épidermique, en particulier dans les unités pilo-sébacées (> 95 %), dans les follicules pileux, les poils et les glandes sébacées. Les zones de croissance de *C. acnes* correspondent à des environnements riches en acides oléique et palmitique provenant du sébum, appelés zones sébacées (Figure 2). La bactérie métabolise les acides gras et d'autres fluides sébacés ou lipides pour générer, par le biais de son activité lipasique et du métabolisme central, des acides gras libres (AGL) tels que les acides propionique et acétique. (Fournière et al., 2020)

IV.4.2.3. Reclassification de *Propionibacterium acnes* en *Cutibacterium acnes* :

Récemment, une analyse à haute résolution du génome central combinant les séquences des gènes de l'ARNr 16, le contenu G+C de l'ADN, la taille du génome et le contenu en gènes, a clarifié la phylogénie de la famille des *Propionibacteriaceae*, dans le but de mieux comprendre les relations entre les espèces et d'élucider les processus adaptatifs à l'origine de la transmission et de l'adaptation évolutive de *P. acnes* à la peau humaine. Ces travaux ont conduit à la définition d'un nouveau genre pour les bactéries cutanées, le genre *Cutibacterium* gen. nov. qui comprend les anciennes espèces cutanées. Notamment, des gènes spécifiques ont été identifiés chez ces espèces cutanées, en particulier des gènes de lipase codant pour la triacylglycérol lipase et la lysophospholipase capables de dégrader spécifiquement les lipides du sébum, tandis que d'autres ont disparu par délétions dans le cadre de l'adaptation évolutive des *Pionibacterium* cutanés à la peau humaine. Une reclassification taxonomique a donc été proposée dans laquelle *Propionibacterium acnes* a été renommée *C. acnes* pour tenir compte de tous ces changements adaptatifs génomiques et la différencier d'autres espèces de *Propionibacteria* environnementales, y compris celles présentes dans les produits laitiers et l'aplanse des bovins (Figure 6). (Dréno et al., 2018)

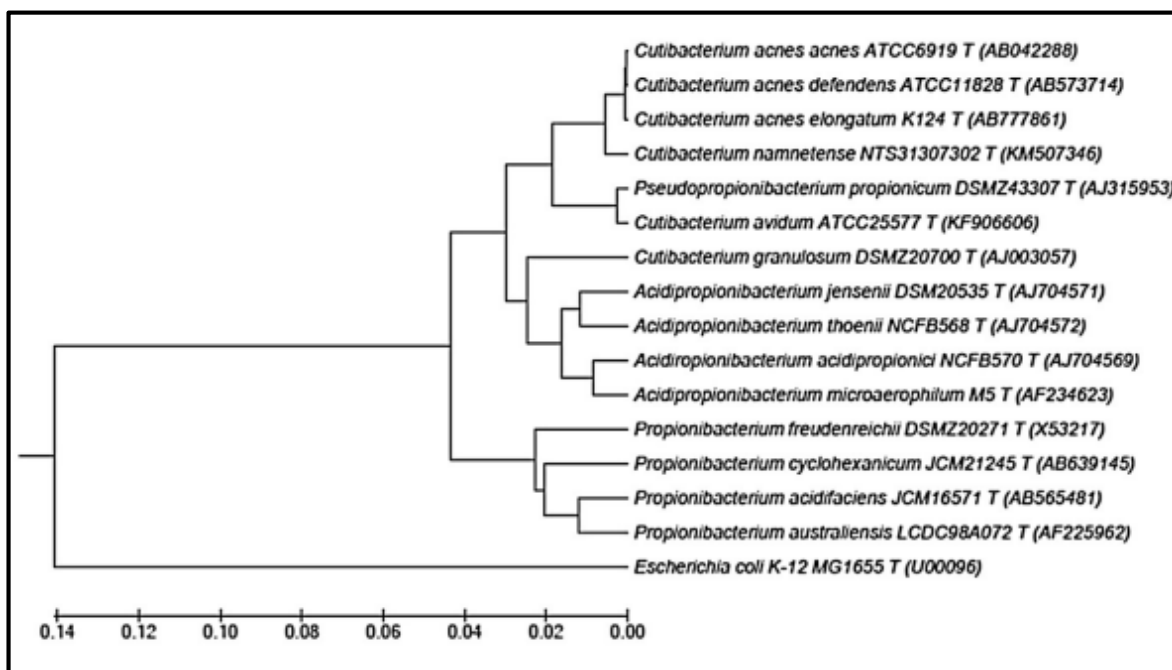


Figure 6 : Arbre phylogénétique suite à l'analyse de 16 séquences nucléotidiques de 1173 pb du gène codant pour l'ARNr 16S chez différents types de *Propionibacteriaceae* en utilisant la méthode à deux paramètres de Kimura et le logiciel MEGA6. (Corvec et al., 2019)

IV.4.2.4. Le rôle de *C.acnes* dans l'acné vulgaire :

P. acnes est considéré comme un membre important du microbiote cutané. Depuis plus de 100 ans, il est associé à la maladie inflammatoire de la peau qu'est l'acné vulgaire. Les quatre principaux facteurs physiopathologiques impliqués dans la pathogenèse de l'acné comprennent le rôle de *P. acnes*, l'augmentation de la séborrhée, l'hyperkératinisation de l'unité pilo-sébacée et l'inflammation. (Platsidaki et Dessinioti, 2018).

La colonisation de la peau par *P. acnes* est nécessaire mais pas suffisante pour l'établissement de la pathologie de l'acné. *P. acnes* domine le microbiote des unités pilo-sébacées et représente 87 % des clones chez les patients atteints d'acné et chez les personnes sans acné. Il a été rapporté que *P. acnes* représente plus de 30 % du microbiote facial chez les patients atteints d'acné. (Platsidaki et Dessinioti, 2018).

Comme *P. acnes* fait partie du microbiote humain normal, les postulats de Koch ne peuvent être satisfaits en ce qui concerne l'établissement d'un effet causal. Les preuves d'un rôle dans la pathogenèse de l'acné inflammatoire sont donc circonstancielles et reposent principalement sur l'observation que les traitements antimicrobiens sont efficaces pour la résolution des symptômes (Figure 7). En outre, l'absence de réponse à un traitement antibiotique est souvent associée à la présence de souches résistantes aux antibiotiques, ce qui réfute l'argument selon lequel les effets des antibiotiques sont uniquement dus à leur activité anti-inflammatoire. En outre, il a été démontré que les patients souffrant de formes sévères d'acné ont des titres d'anticorps contre la bactérie plus élevés que les témoins sains. (McLaughlin et al., 2019)

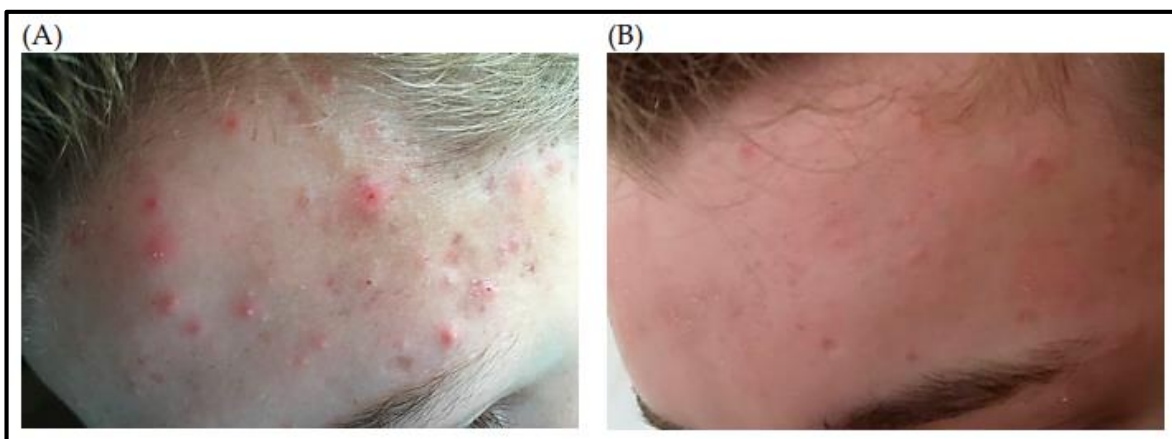


Figure 7 : Adolescent de 14 ans présentant des lésions d'acné inflammatoires et non inflammatoires modérées (A). Après consultation et traitement initial de trois mois par minocycline orale (100 mg/j) et gel antimicrobien topique, son état s'est considérablement amélioré (B). (McLaghulin et al., 2019)

En outre, certaines lésions sont enflammées, mais ne présentent aucun signe de colonisation bactérienne viable, ce qui souligne l'importance d'autres facteurs dans le déclenchement de l'affection, tels que l'altération de la composition du sébum ; notamment, tous les patients atteints d'acné ne présentent pas d'hyper séborrhée. **(McLaughlin et al., 2019)**

En revanche, la visualisation directe de *P. acnes* dans des biopsies cutanées par microscopie à immunofluorescence (IFM) a révélé une association statistiquement significative des populations folliculaires de *P. acnes* avec des témoins acnéiques. En outre, des macrocolonies/biofilms de *P. acnes* très complexes semblent être un phénomène plus courant dans l'acné que chez les sujets normaux et nous pouvons supposer que ces structures pourraient entraver l'écoulement du sébum. **(McLaughlin et al., 2019)**

Cependant, pendant la puberté, la surcolonisation de l'unité pilo-sébacée par *C. acnes* peut entraîner une perte de diversification et une dysbiose, potentiellement à l'origine de l'acné. Une étude clinique récente utilisant la méthode de typage séquentiel à un seul locus a étudié les sous-groupes de *C. acnes* sur le visage et le dos chez des patients souffrant d'acné sévère et chez des sujets en bonne santé. Chez près de 75 % des patients atteints d'acné, les phylotypes de *C. acnes* étaient identiques sur le visage et le dos, alors que ce n'était le cas que chez environ 45 % des sujets sains. Dans le groupe sain, les phylotypes IA1 (39%) et II (43%) étaient les principaux phylotypes, alors que dans le groupe acnéique, le phylotype IA1 (84%), en particulier sur le dos (96%), était le principal phylotype. Cela pourrait confirmer l'hypothèse selon laquelle la gravité de l'acné peut être associée à une perte de diversité des phylotypes de *C. acnes*, à la suite d'une sélection du phylotype IA1/complexe clonal (CC) 18 présents chez tous les patients atteints d'acné. **(Claudel et al., 2019)**

En outre, *C. acnes* active la libération de lipases, de métalloprotéinases matricielles et de hyaluronidases, ce qui entraîne une hyperkératinisation de l'unité pilo-sébacée et, finalement, des comédons, des papules et des pustules. La **figure 8** illustre la différence entre un microbiome sain et un microbiome souffrant de dysbiose. **(Claudel et al., 2019)**

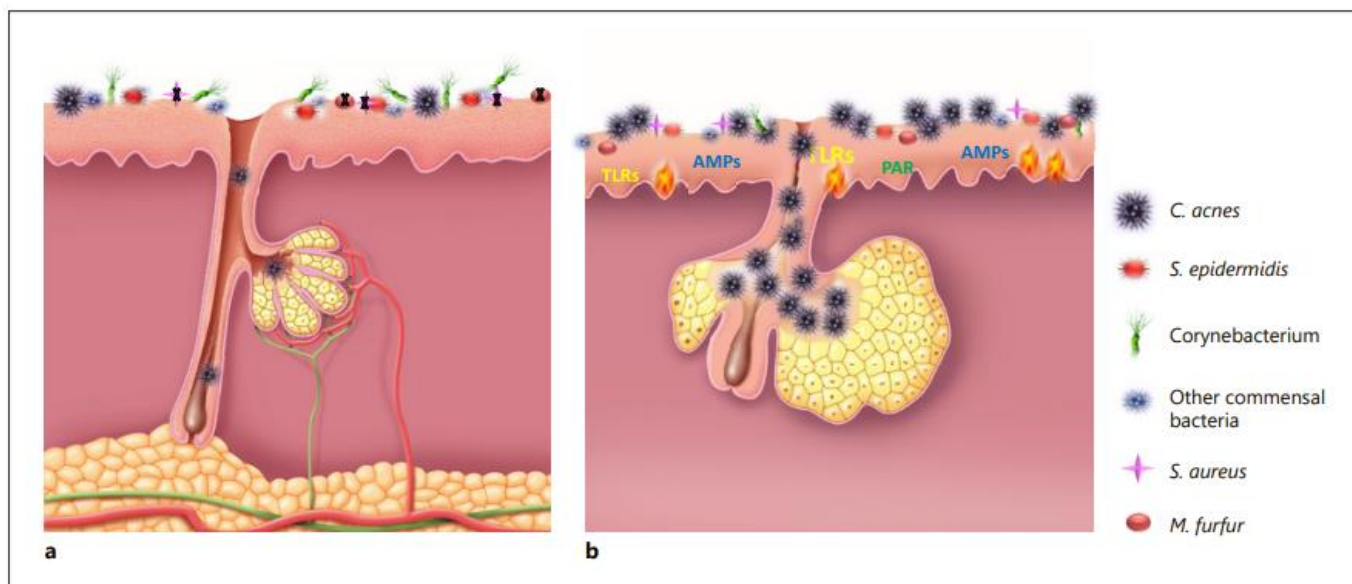


Figure 8 : Peau saine et peau avec lésion d'acné en formation. **a)** Peau saine. Dans une peau saine, *S. epidermidis* contrôle la prolifération de *C. acnes*. **b)** Formation d'un microcomédon après une surcolonisation de la peau par *C. acnes* entraînant une dysbiose. La surcolonisation de *C. acnes* pendant la puberté entraîne une dysbiose et de l'acné. AMP, peptides antimicrobiens ; TLR, Toll-like receptors ; PAR, protease-activated receptors. (Claudel et al.,2019)

IV.4.3. *Staphylococcus epidermidis* :

IV.4.3.1. *Staphylococcus epidermidis* :

Staphylococcus epidermidis, de l'embranchement des Firmicutes, est statique, relativement hydrophobe, aéro-anaérobie facultatif et organisé en grappes, avec une température optimale de croissance entre 30 et 37 °C. *S. epidermidis* se distingue des autres souches de *Staphylococcus* par l'absence d'activité coagulase. *S. epidermidis* se trouve au niveau de la couche cornée et peut être trouvé dans la membrane basale de l'épiderme dans les régions sèches, humides et sébacées (voir Figure 2). L'adhésine intercellulaire polysaccharidique (PIA), un polymère linéaire de N-acétylglucosamine, est le principal constituant de la matrice extracellulaire de *S. epidermidis*. (Fournière et al., 2020)

IV.4.3.2. Le rôle de *S.epidermidis* dans l'acné vulgaire :

Bien que largement apprécié comme un symbiote abondant de la peau, des preuves émergentes suggèrent que la colonisation de la peau par des souches spécifiques de *S. epidermidis* peut en fait être préjudiciable à l'hôte dans certaines conditions. La peau intacte est une formidable barrière contre les pathogènes et les commensaux, mais la perturbation de cette barrière, par mutation génétique ou perturbation physique, peut modifier radicalement le comportement de *S. epidermidis*, qui passe de bénin à pathogène. **(Brown et Horswill, 2020)**

Certaines études indiquent que la population de *S. epidermidis* et de *P. acnes* augmente respectivement de 70 % et de 82 % chez les patients atteints d'acné par rapport aux témoins. La charge microbienne de ces microbes s'est avérée être augmentée simultanément dans le cas de l'acné, ce qui indique un rôle important de ces deux bactéries dans le développement et la régulation de la maladie de l'acné. Sur la base des preuves ci-dessus, nous pouvons dire que *S. epidermidis* joue un rôle important dans la pathogenèse de l'acné, non pas de manière directe, mais de manière indirecte. **(Kumar et al., 2016)**

S. epidermidis et *C. acnes* utilisent le glycérol comme source de carbone commune pour produire différents acides gras à chaîne courte (AGCC) utilisés comme agents antimicrobiens pour se concurrencer. Ils sont tous deux présents dans les lésions acnéiques. Cette présence concomitante a soulevé des questions sur leur rôle respectif dans la pathogenèse de l'acné. Alors qu'il n'existe aucune preuve que *S. epidermidis* joue un rôle actif dans l'apparition de l'acné, *C. acnes* est actuellement associé à l'acné. **(Claudel et al.,2019)**

Différentes études d'antagonisme ont démontré qu'in vivo, *S. epidermidis* contrôle la prolifération de *C. acnes* par la libération d'acide succinique, un produit de fermentation d'acide gras, qui inhibe les TLR de surface des kératinocytes et le facteur de nécrose tumorale et supprime l'IL-6 induit par *C. acnes*. **(Claudel et al.,2019)**

C. acnes et *S. epidermidis* étant tous deux présents sur la peau, l'inhibition de l'inflammation induite par *C. acnes* par *S. epidermidis* peut potentiellement dépendre du miR-143 induit par le staphylocoque LTA sur les kératinocytes, connus pour limiter l'inflammation. **(Claudel et al.,2019)**

En conséquence, un déséquilibre entre *C. acnes* et *S. epidermidis* dans les unités pilo-sébacées des patients acnéiques en faveur des souches de *C. acnes* du phylotype IA1 CC18 (75-80 cas) peut ne pas permettre à *S. epidermidis* de jouer pleinement son rôle de régulateur de l'homéostasie naturelle de la peau en limitant la croissance de *C. acnes*. La **figure 9** illustre visuellement l'interaction entre *C. acnes* et *S. epidermidis*. (Claudel et al.,2019)

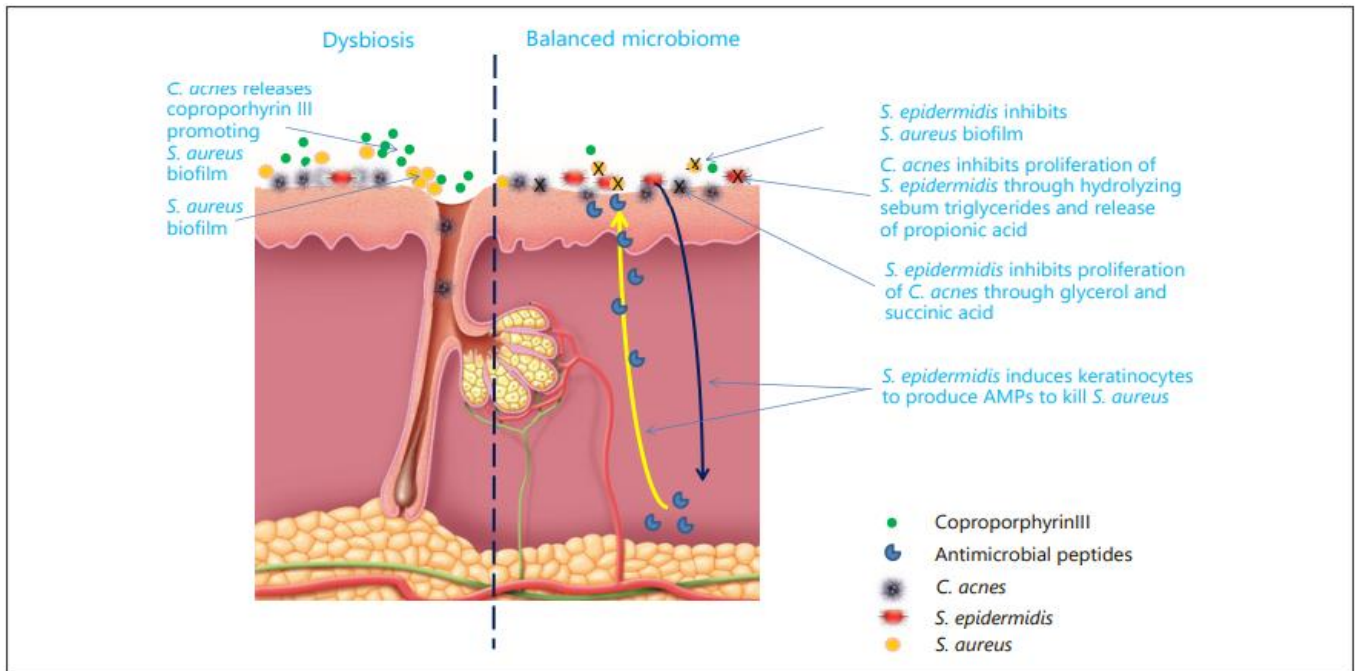


Figure 9 : Interactions bactériennes sur la peau. AMP, peptides antimicrobiens. (Claudel et al.,2019)

PARTIE V.
L'UTILISATION DES PROBIOTIQUES
CONTRE L'ACNE

V.1. Formulations topiques de probiotiques pour les peaux acnéiques :

En raison des récentes découvertes concernant le microbiome cutané, les marques cosmétiques et pharmaceutiques ont commencé à développer et à promouvoir des produits qui cherchent à enrichir et à protéger la diversité des bactéries cutanées saines, en utilisant des probiotiques. Les micro-organismes doivent répondre à certains critères afin d'être désignés comme probiotiques. Les micro-organismes doivent répondre à certains critères pour être désignés comme probiotiques. Ces critères comprennent toutes les informations sur le micro-organisme, telles que son genre et son espèce, une nomenclature scientifiquement valide et des effets bénéfiques sur la santé validés par au moins une étude réalisée chez l'homme. **(Dapkevicius et al., 2023)**

Les traitements probiotiques topiques sont considérés comme sûrs et sans effets indésirables, comparés aux thérapies topiques et systémiques standard. Cependant, il existe peu d'essais cliniques chez l'homme basés sur des probiotiques dans des formules pharmaceutiques topiques pour le traitement de l'acné. Par conséquent, les données cliniques sont insuffisantes pour démontrer l'efficacité et une compréhension approfondie des effets secondaires de ces produits. Par conséquent, des recherches cliniques supplémentaires sont nécessaires, ainsi qu'une meilleure réglementation du manque de connaissances concernant les effets indésirables potentiels de ces produits. En fait, malgré les résultats prometteurs, les effets secondaires des probiotiques topiques ne sont pas bien connus - les produits probiotiques topiques, y compris ceux utilisés dans le traitement et la prévention de l'acné. **(Dapkevicius, I et al., 2023)**

V.2. Probiotiques à usage externe en dermatologie et cosmétologie :

Les probiotiques peuvent être utilisés dans diverses catégories de produits telles que les médicaments, les cosmétiques, les compléments alimentaires, les aliments et les additifs alimentaires. Leur utilisation dans les préparations orales est bien réglementée, tandis que leur utilisation dans les cosmétiques doit encore l'être. Il n'existe pas de réglementation légale pour les probiotiques topiques. **(Chilicka et al., 2022)**

Selon la FDA, un cosmétique est "un produit (à l'exclusion du savon pur) destiné à être appliqué sur le corps humain pour le nettoyer, l'embellir, le rendre plus attrayant ou en modifier l'apparence" **(Chilicka et al., 2022 ; Douj et al., 2023)**

La coopération internationale en matière de réglementation des produits cosmétiques (ICCR) a développé des catégories de produits liés aux microbiomes qui incluent les probiotiques et les postbiotiques. **(Chilicka et al., 2022)**

Les probiotiques ont été l'objet d'études dans le cadre de ce que l'on appelle l'axe intestin-cerveau-peau. Ces études ont montré que les probiotiques sont efficaces dans le traitement de certains troubles dermatologiques, tels que l'acné et la dermatite atopique. **(Dapkevicius, I et al., 2023)** Park et al ont vérifié que les probiotiques modifient plusieurs facteurs impliqués dans la physiopathologie du développement de l'acné. Ainsi, les produits topiques contenant des probiotiques ou leurs lysats ont montré leur potentiel dans la prévention de l'acné. Les personnes souffrant d'acné et traitées avec des probiotiques topiques ont connu une réduction des lésions, de l'érythème et de la charge en bactéries pathogènes, ainsi qu'une amélioration de la barrière cutanée. L'acné étant associée à une prolifération de bactéries pathogènes et le traitement consistant souvent à administrer des antibiotiques, les probiotiques topiques peuvent restaurer la microflore de la peau et réduire les lésions acnéiques sans provoquer d'effets secondaires systémiques. **(Knackstedt et al., 2020)**

Kang et ses collègues ont réalisé un essai clinique en double aveugle, randomisé et contrôlé par placebo sur 70 patients souffrant d'acné. Ces auteurs ont conclu que l'activité contre *C. acnes* produite par *Enterococcus faecalis* SL-5, une espèce du genre *Lactobacillus* extraite de matières fécales humaines, a un rôle potentiel dans le traitement de l'acné et pourrait servir d'alternative aux antibiotiques topiques. Une lotion contenant ce probiotique

a réduit de manière significative les lésions inflammatoires de l'acné, telles que les pustules, par rapport à une lotion placebo. **(Kang et al., 2009 ; Bockmühl et al., 2007)**

L'action des probiotiques est basée sur leur liaison à la surface de l'épiderme, l'inhibition des agents pathogènes, la production de substances antimicrobiennes et l'augmentation des propriétés immunomodulatrices. Les propriétés immunomodulatrices transforment le cosmétique probiotique en une préparation qui peut être utilisée dans le cas de maladies dermatologiques. **(Dapkevicius et al., 2023)**

Les probiotiques ont commencé à être utilisés comme ingrédients dans les produits d'hygiène intime, les shampooings, les crèmes et les dentifrices. **(Chilicka et al., 2022 ; Dapkevicius et al., 2023)**

Depuis plusieurs années, les probiotiques sont ajoutés aux produits de soins quotidiens en cosmétologie. Des fragments de parois cellulaires et des bactéries inanimées sont contenus dans des produits cosmétiques tels que des sérums, des pommades, des crèmes, des baumes pour le corps, des gels pour le corps et des shampooings. Des produits aux propriétés antirides, antivieillessement et hydratantes sont utilisés grâce à l'acide lactique. L'utilisation de ces produits favorise la régénération de la peau abîmée. **(Chilicka et al., 2022)**

La **figure 10** illustre les principaux processus par lesquels les probiotiques favorisent la santé de la peau. Il a été démontré que les probiotiques possèdent un certain nombre de caractéristiques bénéfiques pour la peau, notamment la capacité de réduire l'inflammation cutanée, de guérir plusieurs affections cutanées et de protéger contre la dermatite de contact allergique. En outre, ils sont essentiels pour renforcer la barrière cutanée, favoriser l'absorption de l'eau et retarder le processus de vieillissement de la peau. Ces données offrent une base théorique pour la création de produits probiotiques. **(Douj et al., 2023)**

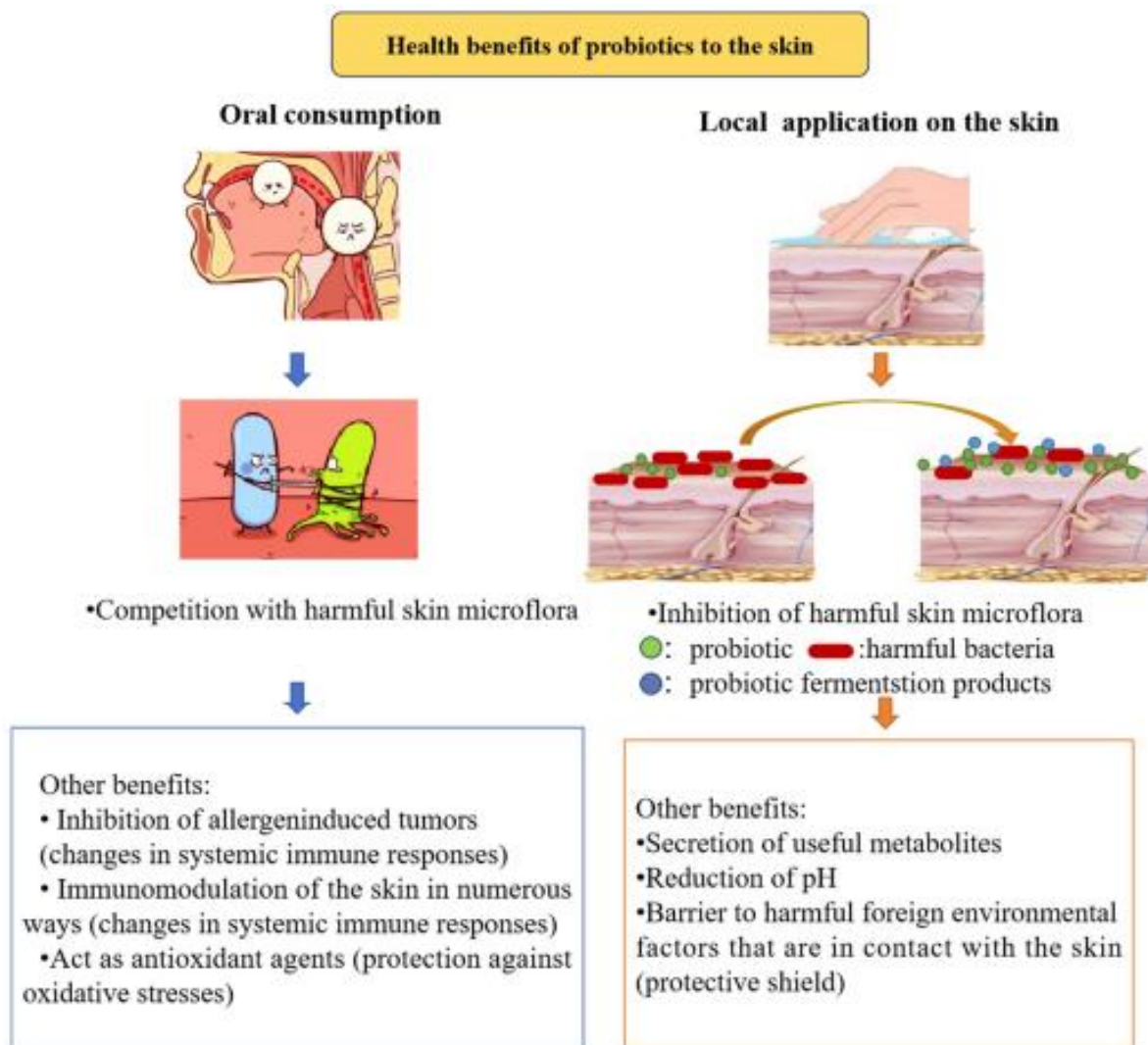


Figure 10 : Les principaux processus par lesquels les probiotiques favorisent la santé de la peau. (Douj et al., 2023)

V.3. L'utilisation des probiotiques dans les produits cosmétiques anti-acné :

Plusieurs études *in vitro* ont montré les effets bénéfiques potentiels des probiotiques sur la prévention de l'acné. Étant donné les effets indésirables potentiels causés par certains traitements standard de l'acné, les probiotiques ont été étudiés comme une alternative ou une thérapie adjuvante en employant des thérapies moins agressives et des effets positifs sur la récupération des symptômes de l'acné (Figure 11) . (Dapkevicius et al., 2023).

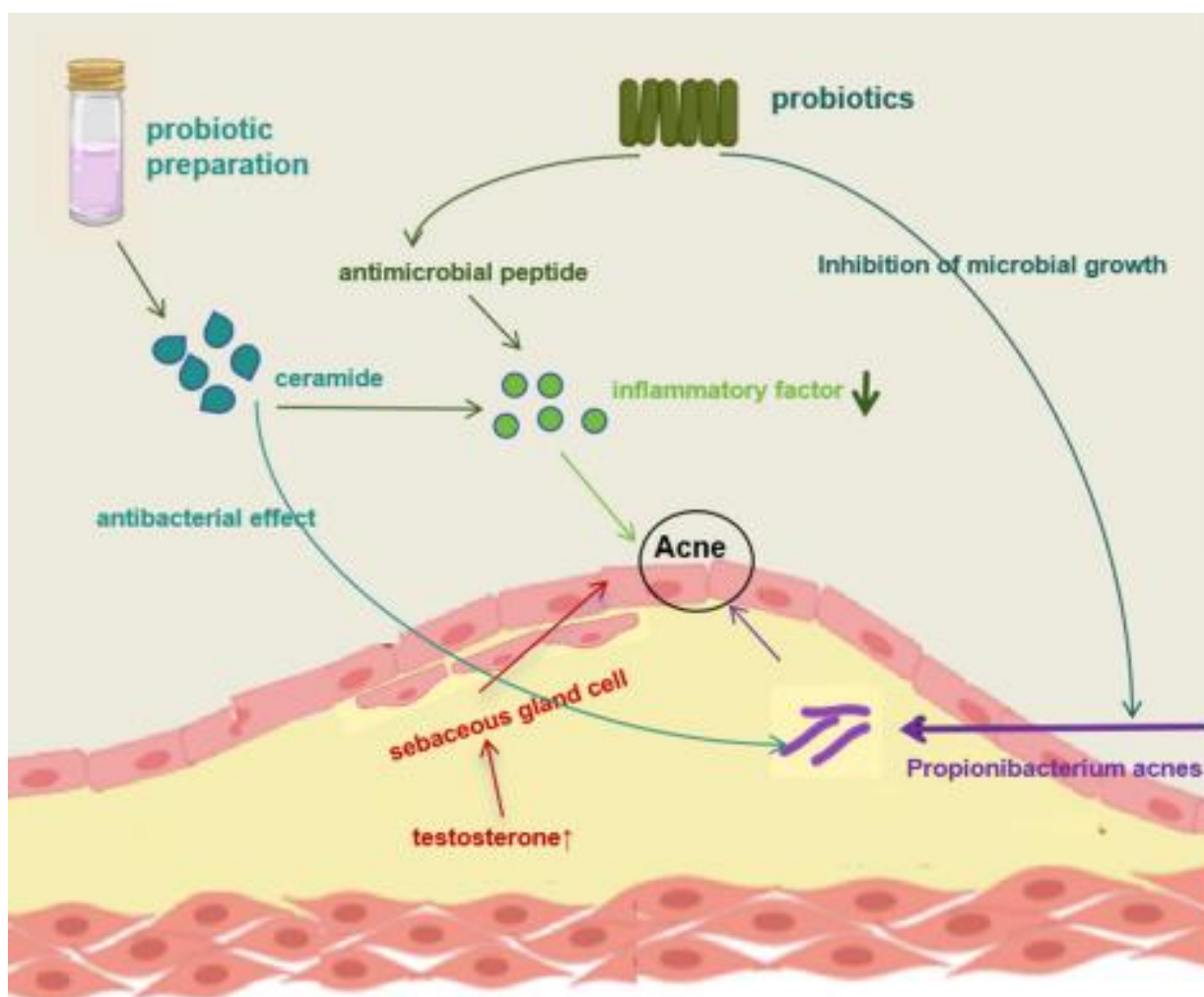


Figure 11 : Le rôle des probiotiques dans le traitement de l'acné. Les principales causes de l'acné sont l'augmentation de la sécrétion d'androgènes, qui contribue à l'augmentation du taux de production des cellules sébacées, la multiplication rapide *Propionibacterium acnes* et les réactions inflammatoires. (Dapkevicius et al., 2023).

Des études in vitro ont détaillé le potentiel des probiotiques, y compris *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis*, pour inhiber directement le développement de l'acné en produisant des protéines antibactériennes telles que le BLIS, pour inhiber de manière significative la croissance de *P. acnes*. En outre, les effets immuno-modulateurs des probiotiques sur les kératinocytes et les cellules épithéliales suggèrent un mécanisme physiologique pour soutenir leur utilisation en tant que thérapie adjuvante pour l'acné. Leurs effets directs s'exercent en inhibant la croissance de *P. acnes* et en diminuant les réponses inflammatoires évidentes, et leurs effets indirects en réduisant les effets secondaires des traitements existants. Ces effets peuvent être dus aux effets bénéfiques de ces traitements probiotiques en utilisant des thérapies non agressives et des effets positifs sur la guérison de l'acné sévère. (Goodarzi et al., 2020)

Une étude *in vitro* a démontré les effets inhibiteurs de la bactériocine produite par *Lactobacillus* species HY499 sur les bactéries inflammatoires et pathogènes de la peau telles que *S. epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* et *P. acnes*. Malgré l'inhibition de la croissance de ces bactéries sur le milieu de culture, la bactériocine n'a exercé aucun effet inhibiteur sur la croissance et la prolifération des fibroblastes. En outre, le test épicutané chez l'homme n'a révélé aucune réaction allergique ni irritation à la suite de l'utilisation de la bactériocine. Les auteurs recommandent d'utiliser la bactériocine produite par *Lactococcus* sp. HY499 comme antimicrobien dans les formulations cosmétiques. L'absence de réactions allergiques et d'irritation constitue un avantage potentiel important des probiotiques par rapport aux traitements existants. **(Goodarzi et al., 2020)**

Une autre étude a montré que *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116 (ST11) inhibait l'inflammation cutanée induite par la substance P et accélérât la régénération et le retour de la fonction de barrière cutanée. Ils ont également constaté que le ST11 éliminait de manière significative tous les effets de la substance P, y compris la vasodilatation, l'œdème, la dégranulation des mastocytes et la libération de TNF- α , par rapport aux témoins. En outre, la récupération de la barrière cutanée associée au ST11 s'est avérée accélérée dans une culture de peau *ex-vivo*. Cet avantage s'est avéré particulièrement utile pour contrer les effets secondaires des traitements conventionnels contenant des radicaux libres. **(Goodarzi et al., 2020)**

PARTIE VI.

MATERIELS ET METHODES

VI.1. Isolement et purification des souches :

VI.1.1. Échantillonnage :

Dans des conditions d'asepsie deux échantillons de lait cru (lait de chèvre et de la brebis) ont été prélevés au niveau du Douar Ouled Maachou Aïn El Hadjar Saïda. Les échantillons sont recueillis par la traite dans des flacons stériles directement après lavage des mamelles et élimination du premier jet de lait, puis ils ont été conservés à 4°C et transportés le même jour au laboratoire.

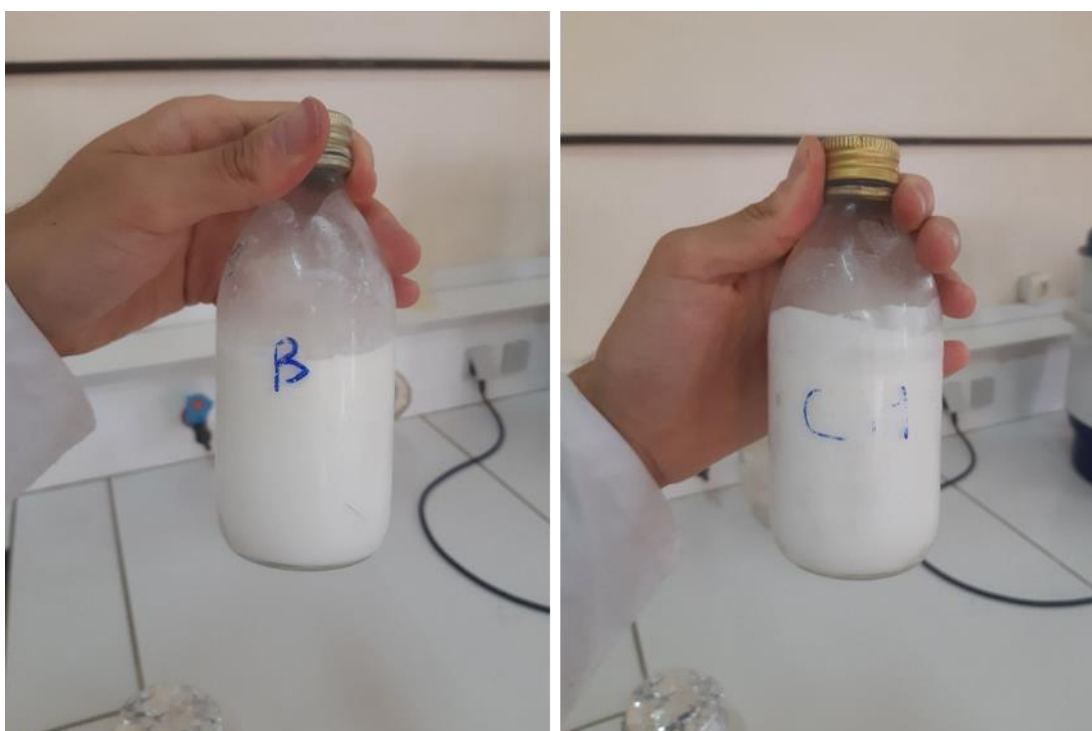


Figure 12 : Les échantillons prélevés (B : Lait du brebis, CH : lait de chèvre)

VI.1.2. Isolement des bactéries lactiques :

Les flacons ont été incubés à 30°C jusqu'à coagulation du lait afin de favoriser le développement de bactéries lactiques. Dix millilitres de chaque échantillon ont été homogénéisés avec 90ml d'eau physiologique stérile (NaCl à 0,9% p/v). Les solutions mère étaient diluées en série de 10^{-1} à 10^{-6} . Puis 100µl de chaque dilution ont été étalées en double sur des boîtes de Pétri contenant du milieu MRS. L'incubation se fait en anaérobiose à 30°C pendant 24h à 48h. (Wang et al., 2014 ; Bai et al., 2016)

VI.1.3. Repiquage et purification :

Des colonies distinctes ont été sélectionnées de manière aléatoire. Plusieurs repiquages successifs ont été effectués sur milieu MRS solide jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes. La purification des souches se fait par la méthode de stries. **(Guiraud, 1998)**

VI.1.4. Identification et coloration de GRAM :

La coloration de Gram permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatifs (G-) et les bactéries Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent de par la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, par la présence d'une membrane externe **(Larpent, 1997)**.

VI.1.4.1. Réalisation d'un frottis :

On dépose sur une lame propre une goutte d'eau distillée puis on prélève à l'aide d'une anse de platine une colonie de la culture. On réalise le frottis en partant du centre de la lame, avec un mouvement circulaire de façon à obtenir un étalement mince et homogène. On sèche et fixe le frottis au-dessus de la flamme du bec bunsen sans trop le chauffer. **(Guiraud, 1998)**

VI.1.4.2. Coloration :

- On dépose quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé. Laisser agir 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée.
- On dépose quelques gouttes de Lugol sur le frottis (mordançage). Laisser agir 1 minute.
- Rincer à l'eau distillée.
- On dépose quelques gouttes d'Alcool (décoloration). Laisser agir 30 secondes.
- Rincer à l'eau distillée.
- On fait recouvrir la lame de fuchsine (Contre coloration). Laisser agir 1 minute.
- Rincer une dernière fois à l'eau distillée.
- Laisser sécher à l'air.
- Observation sous microscope. (Huile à immersion pour l'objectif x100) **(Guiraud, 1998)**

VI.1.5. L'activité hémolytique :

L'étude de l'activité hémolytique a été étudiée selon la méthode de **Maragkoudakis et al. (2006)**. Le caractère hémolytique a été recherché par l'ensemencement des souches lactiques en stries à la surface de la gélose Columbia au sang. Après incubation pendant une période de 24h à 30°C, le type d'hémolyse a été examiné.

VI.1.6. Critères physiologiques et biochimiques :

VI.1.6.1. Test de la catalase :

Ce test permet de déterminer la présence de l'enzyme responsable de la transformation du H_2O_2 en H_2O et O_2 .

Une colonie typique de la culture a été placée sur une lame de verre propre puis une goutte de H_2O_2 a été ajoutée, mélangée et observée. Un dégagement de bulle de gaz signifie que la souche est capable de décomposer le peroxyde d'hydrogène, donc Catalase (+), alors que le contraire indique qu'elle est catalase (-) (Ahirwar et al., 2017).

VI.1.6.2. Test d'oxydase :

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif: Le N- diméthyle paraphénylène diamine (Guillaume, 2004).

VI.1.6.2.1. Technique :

- Placer un disque non imprégné sur une lame à l'aide d'une pince flambée
- Avec l'anse de platine prélever une colonie sur le disque
- La lecture après 30 secondes ;(Le changement de couleur indique le résultat positif, si le disque prend une couleur violette l'oxydase est positive, si le disque reste incolore l'oxydase est négative).

VI.1.7. Conservation des souches :

On prépare des tubes de gélose MRS inclinés. On réalise à l'aide d'une anse chargée de suspension bactérienne préalablement préparée et incubée des stries espacées sur toute la longueur de la pente en commençant par le fond du tube et en remontant. Après incubation à 37°C pendant 24h, les géloses sont conservées à 4°C (Saidi et al, 2002)

VI.2. Isolement des souches acnéiques :

Plusieurs échantillons ont été prélevés chez un dermatologue avec le consentement des patients atteints d'acné. Les échantillons ont été collectés sur une surface de 1 cm² englobant une lésion inflammatoire en frottant avec un écouvillon stérile pendant 45 secondes. Les prélèvements ont été transportés au laboratoire le jour même pour isolation. (Dagnelie, 2018)



Figure 13 : Prélèvements d'acné

Deux millilitres d'eau physiologique stérile a été ajouté dans les écouvillons puis homogénéisé. Les écouvillons ont servi à ensemer en stries la surface du milieu LB préalablement coulé dans des boîtes Pétri. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Plusieurs repiquages successifs ont été effectués sur milieu LB solide jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes. Après une coloration de GRAM a été réalisée. La conservation est réalisée sur gélose inclinée LB à +4°C, à court terme.

VI.2.1. Etude de l'activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques :

VI.2.1.1. Méthode de Fleming et *al.* (1975) :

Le but de ce test est de déterminer l'effet inhibiteur des bactéries lactiques sur des bactéries pathogènes. Pour l'accomplissement de ce test, des pré-cultures de l'ensemble des souches (inhibitrices et indicatrices) sont réalisées, les bactéries lactiques sont cultivées dans un bouillon MRS et les bactéries pathogènes dans du bouillon LB (lysogeny broth).

Les bactéries lactiques sontensemencées en touches à partir des cultures fraîches sur une gélose MRS solide. Après 2h de séchage à température ambiante puis 24h d'incubation à 30°C, les colonies obtenues ont été recouvertes par 10ml de gélose LB semi-solideensemencés à 1% (V/V) de culture fraîche de la souche pathogène indicatrice. L'effet antagoniste se manifeste par l'apparition de zones d'inhibition autour des colonies de bactéries lactiques, dont la taille est mesurée après incubation à 37°C pendant 24h.

VI.3. Préparation et test du crème cosmétique :

VI.3.1. Préparation :

Une crème à base d'émulsion huile dans l'eau (O/W) (formulation semi-solide) a été formulée. L'émulsifiant (acide stéarique) et l'huile d'olive ont été dissous dans la phase huileuse (partie A) et chauffés à 75° C. L'eau distillée -la phase aqueuse- (partie B) est chauffés aussi à 75° C. Après le chauffage, la phase aqueuse a été ajoutée par portions à la phase huileuse avec une agitation continue jusqu'à ce que l'émulsifiant se refroidisse. (Ashish et al., 2013)

VI.3.2. Test *in vitro* :

Le surnagent de chaque souche est ajouté à la crème pour tester l'effet des métabolites secondaires. Les souches acnéiques ont étéensemencées en masse sur milieu LB molle à raison de 1%.

Des touches de mélange crème/surnagent ont été déposés à la surface du milieuensemencé pour chaque souche et une touche de crème sans surnagent (témoin).

PARTIE VII.

RÉSULTATS ET DUSCUSSION

VII.1. Isolement et purification des souches lactiques :

L'isolement à partir des deux échantillons de lait de chèvre et de brebis sur des milieux MRS a permis d'obtenir 12 isolats.

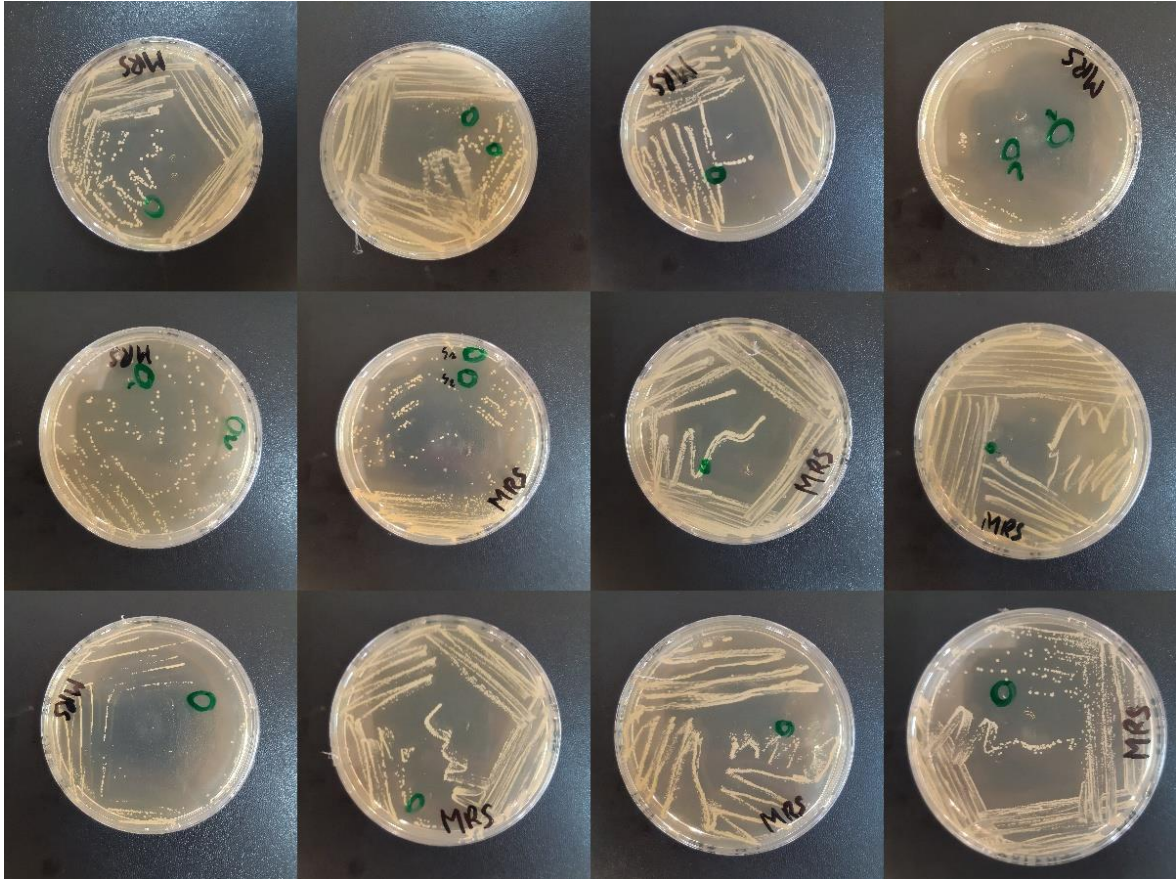


Figure 14 : Résultats de l'isolement de bactéries lactiques.

À partir des isolats obtenus, 16 colonies ont été sélectionnées, repiquées et purifiées sur un milieu MRS.

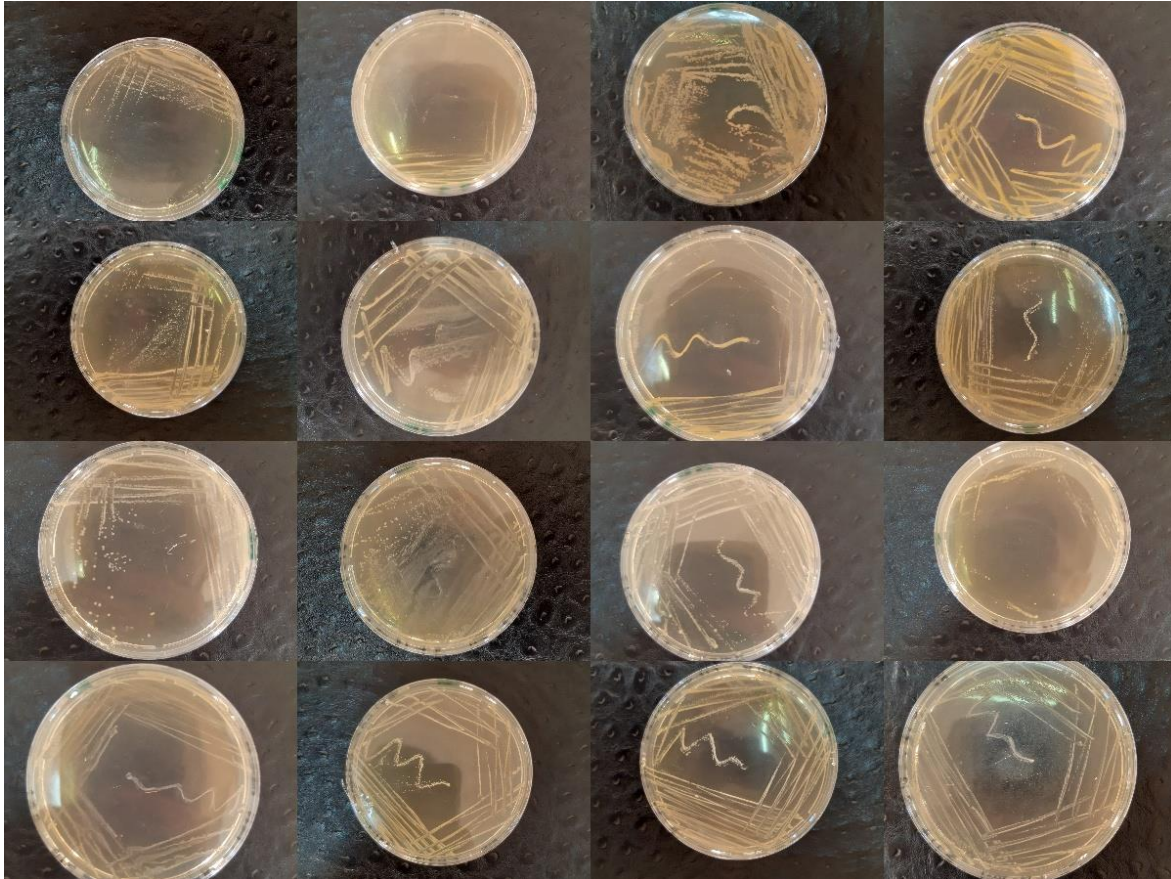


Figure 15 : Résultats de purification de bactéries lactiques.

VII.1.1. Identification et coloration de GRAM :

Une coloration de Gram a été réalisée pour les 16 souches sélectionnées afin de déterminer leurs caractéristiques morphologiques et de classification. Les résultats obtenus de cette coloration, qui permettent d'identifier la nature des parois cellulaires des bactéries, sont détaillés et présentés dans le tableau ci-dessous. Ces données fournissent des informations essentielles pour la classification et l'étude des souches isolées. Quatre souches, à savoir S1, S4, S14 et S15, ont été sélectionnées pour effectuer les tests supplémentaires.

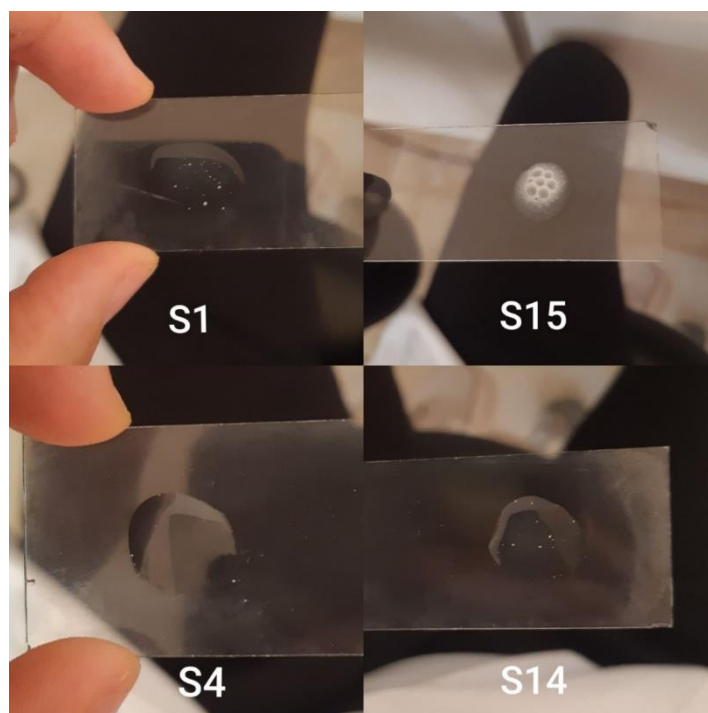
Tableau 5 : Résultats de coloration de GRAM des souches lactiques

Souche	1	2	3	4	5	6	7	8
Forme	Bacille	Cocci	Cocci	Bacille	Cocci	Cocci	Bacille	Cocci
GRAM	+	+	-	-	-	+	+	+
Souche	9	10	11	12	13	14	15	16
Forme	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Cocci	Bacille	Bacille	Bacille
GRAM	+	+	-	-	-	+	+	+

VII.1.2. Critères physiologiques et biochimiques des souches lactiques :

VII.1.2.1. Test de catalase :

L'absence de dégagement de gaz a révélé que trois souches (S1, S4, S14) sont dépourvues de l'enzyme catalase, qui convertit le H_2O_2 en O_2 et en H_2O . Confirmant ainsi que ces souches sont catalase-négatives. En revanche, la souche S15 a montré une activité catalase positive, indiquant la présence de l'enzyme, un trait caractéristique des organismes aérobies ou facultativement anaérobies.

**Figure 16 : Résultats du test de catalase**

VII.1.2.2. Test d'oxydase :

Dans le test d'oxydase, la couleur du disque ne vire pas au violet pour les trois souches (S1, S4, S14), indiquant qu'elles sont oxydase-négatives (absence d'activité oxydase). En revanche, pour la souche S15, un changement de couleur vers le violet a été observé, ce qui indique qu'elle est oxydase-positive. Les résultats de ce test sont présentés ci-dessous dans la figure.



Figure 17 : Résultats du test d'oxydase

VII.1.3. L'activité hémolytique :

Les souches isolées ont été soumises à des tests pour évaluer leur pouvoir hémolytique. Pour cela, elles ont été cultivées sur des milieux de gélose au sang humain. Après une période d'incubation, aucune zone d'hémolyse de type alpha (α) ou bêta (β) n'a été observée autour des colonies. L'absence de ces zones d'hémolyse indique que les souches testées ne possèdent pas la capacité d'hydrolyser le sang humain, c'est-à-dire qu'elles ne produisent pas les enzymes nécessaires pour décomposer les globules rouges. Ces résultats sont illustrés dans la figure jointe.

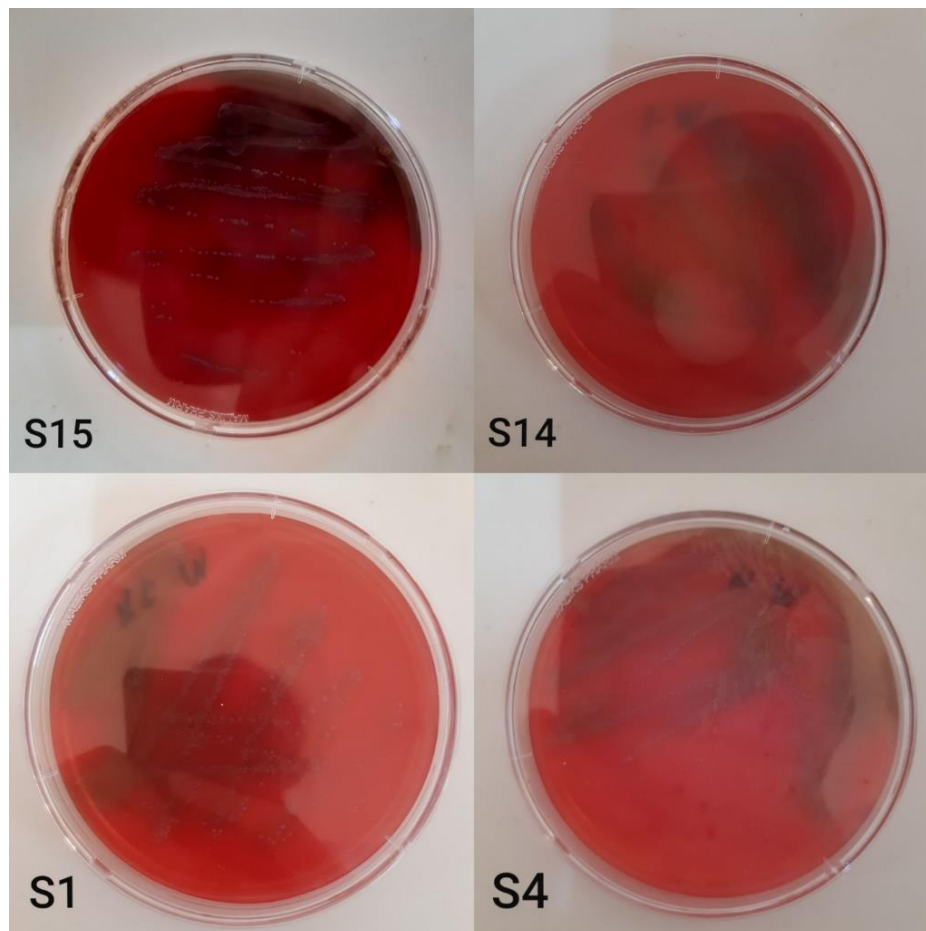


Figure 18 : Résultats de l'activité hémolytique.

VII.2. Isolement et purification des souches acnéiques :

L'isolement et la purification à partir des échantillons prélevés chez des patients acnéiques sur milieu LB ont permis d'obtenir quatre isolats. Les résultats sont présentés ci-dessous.

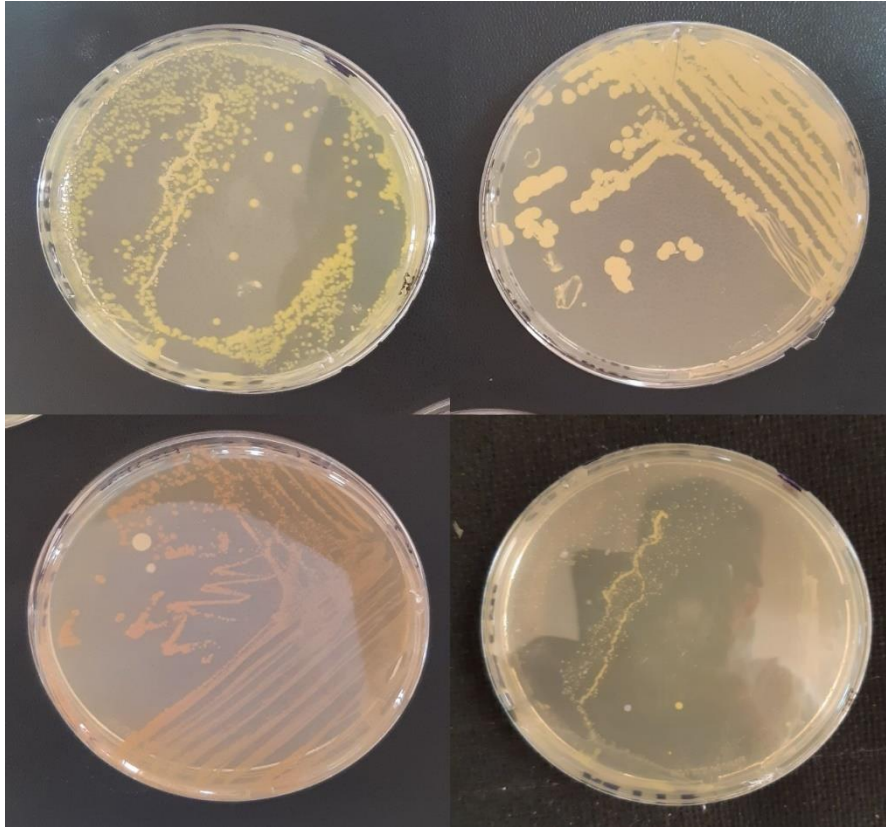


Figure 19 : Résultats de l'isolement et purification des souches acnéiques

Une coloration de Gram a été réalisée pour les souches isolées des échantillons acnéiques. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Résultats de la coloration de GRAM des souches acnéiques

Souche	Forme	GRAM	Mode d'association
A1	Cocci	+	Grappe de raisin
A2	Cocci	+	Grappe de raisin
A3	Bacille	+	Tétrade
A4	Cocci	+	En amas

VII.2.1. Résultats de l'activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques :

VII.2.1.1. Méthode de de Fleming et *al.* (1975) :

Comme illustré dans la figure ci-dessous, les souches probiotiques isolées ont démontré une capacité d'inhibition notable contre les souches acnéiques cibles. Les résultats montrent également l'absence de zone d'inhibition autour du témoin. Cette activité antagoniste est principalement attribuée aux propriétés des probiotiques d'inhiber les souches acnéiques.

Figure 20 : Résultats de l'activité inhibitrice vis-à-vis des souches acnéiques

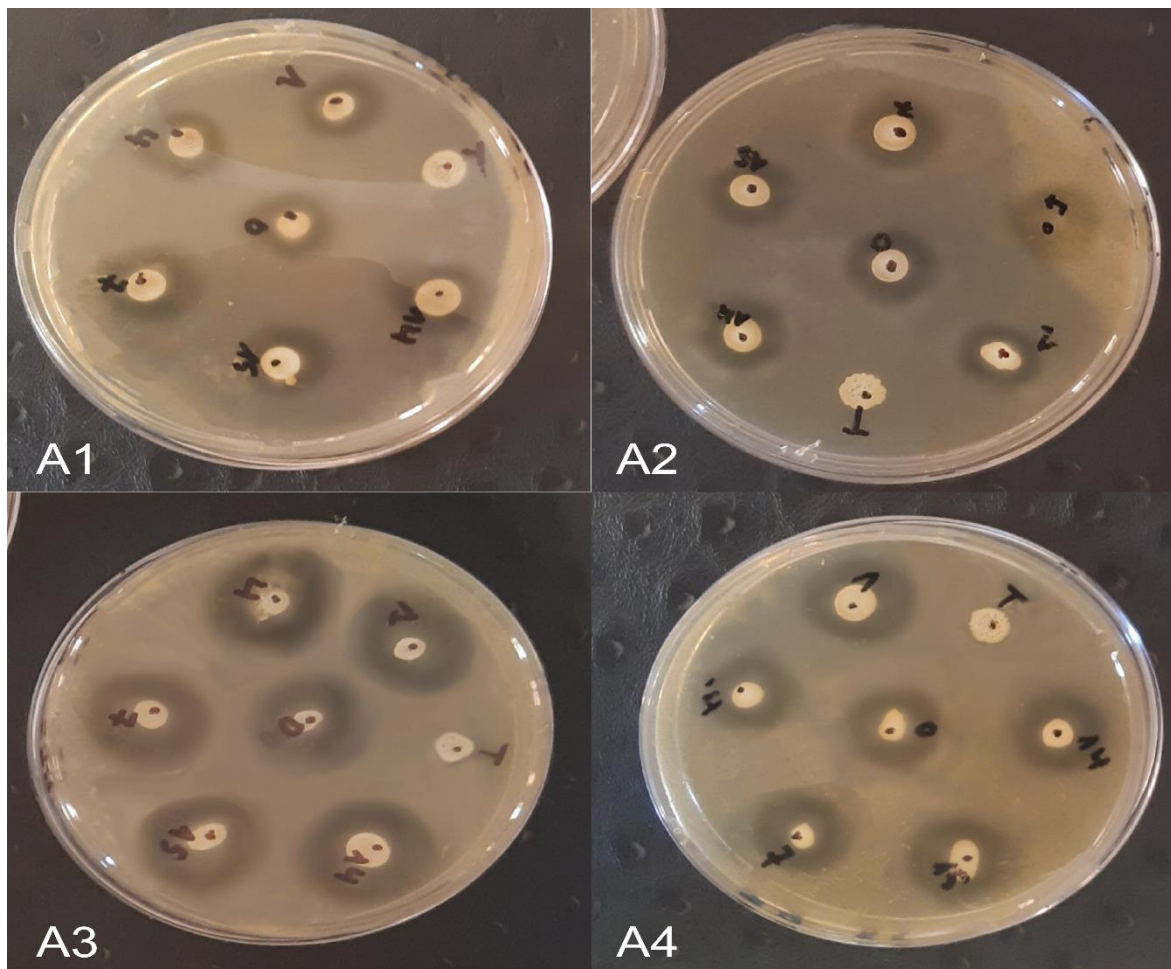


Tableau 7 : Les diamètres des zones d'inhibition

	<i>S1</i>	<i>S4</i>	<i>S14</i>	<i>S15</i>
<i>A1</i>	7 cm	6,5 cm	7,5 cm	7,2 cm
<i>A2</i>	6,3 cm	8 cm	7,3 cm	6,7 cm
<i>A3</i>	10 cm	9,7 cm	11 cm	10,2 cm
<i>A4</i>	9,1 cm	8 cm	7,4 cm	8,6 cm

VII.3. Préparation de la crème cosmétique :

La crème hydratante pour le visage a été formulée en incorporant le surnageant des souches. La crème ainsi obtenue est présentée dans la figure ci-dessous.

Figure 21 : Résultat de la crème obtenus

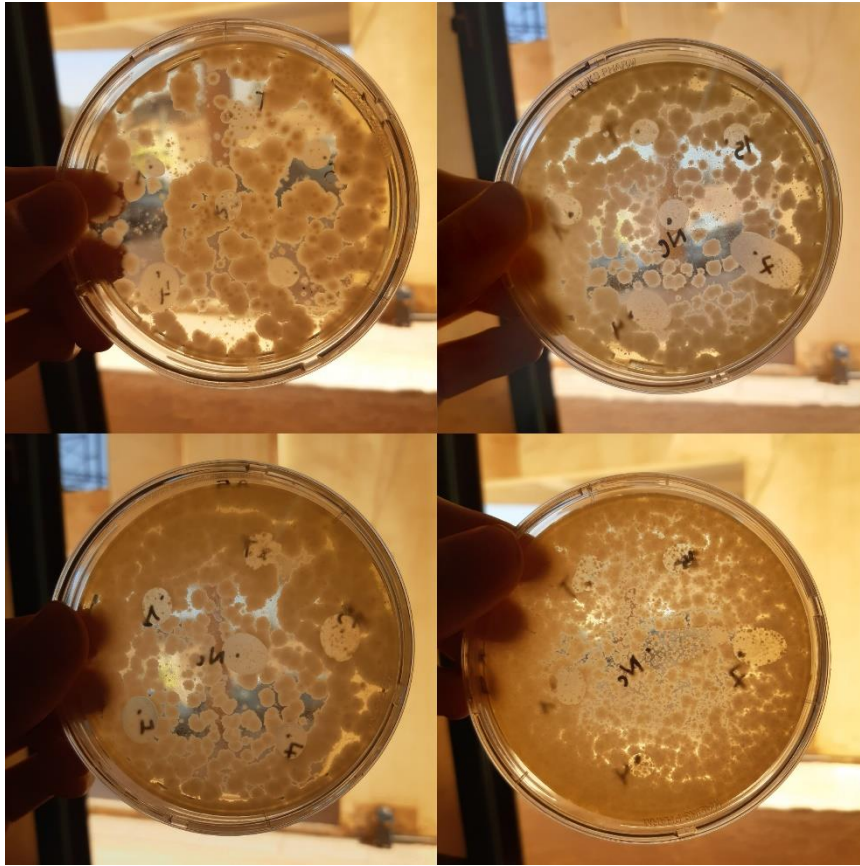
VII.3.1. Test de l'efficacité de la crème *in vitro* :

Figure 22 : Résultats du test de la crème *in vitro*.

L'ensemble des boîtes étant contaminées probablement par des levures, nous sommes dans l'incapacité d'avoir un résultat exploitable, la purification et la réitération de ce dernier test n'a pas été possible par manque de moyen.

Discussion :

Les probiotiques sont largement utilisés en dermatologie. L'étude de l'application des probiotiques dans le traitement de la dermatite atopique, de l'acné, de l'eczéma, des allergies, du vieillissement de la peau, des infections bactériennes et fongiques et des ulcères chroniques du pied diabétique a donné des résultats prometteurs.

Des études *in vitro* ont montré plusieurs propriétés intéressantes de certaines souches probiotiques en ce qui concerne la pathogenèse de l'acné. La plupart des études *in vitro* se sont concentrées sur l'évaluation de la capacité des souches probiotiques à produire des substances antimicrobiennes qui inhibent la croissance des souches acnéiques par différents mécanismes.

- **Etude de l'activité inhibitrice des probiotiques vis-à-vis des souches acnéiques :**

Cette étude nous a permis de comprendre et d'évaluer la capacité des souches probiotiques à inhiber la croissance des souches acnéiques. Nos résultats ont montré que les probiotiques sont capables d'exercer une activité antimicrobienne significative contre les souches acnéiques

Un bon nombre d'études confirment l'efficacité de ces derniers, une étude italienne portant sur 40 patients a impliqué la supplémentation d'une formulation orale contenant 250 mg de *L. acidophilus* lyophilisé et de *Bifidobacterium bifidum* en tant qu'adjuvant aux soins standard. Le groupe supplémenté en probiotiques présentait de meilleurs résultats cliniques, mais aussi une meilleure tolérance et une meilleure observance des antibiotiques. **(Marchetti et al., 1987)**

Des études *in vitro* ont détaillé le potentiel des probiotiques, y compris *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis*, pour inhiber directement le développement de l'acné en produisant des protéines antibactériennes telles que le BLIS, qui a été rapporté par Bowe et al. pour inhiber de manière significative la croissance de *P. acnes* **(Bowe, et al., 2006)**.

Une étude *in vitro* réalisée par Oh et al. a démontré les effets inhibiteurs de la bactériocine produite par *Lactobacillus species* HY499 sur les bactéries inflammatoires et pathogènes de la peau telles que *S. epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* et *P. acnes*. Malgré l'inhibition de la croissance de ces bactéries sur le milieu de culture, la bactériocine n'a exercé aucun effet inhibiteur sur la croissance et la prolifération des fibroblastes. En outre, le test épicutané chez l'homme n'a révélé aucune réaction allergique ni irritation à la suite de l'utilisation de la bactériocine. Les auteurs recommandent d'utiliser la bactériocine produite par

Lactococcus sp. HY499 comme antimicrobien dans les formulations cosmétiques. L'absence de réactions allergiques et d'irritation constitue un avantage potentiel important des probiotiques par rapport aux traitements existants **(Oh et al., 2006)**.

Gueniche et al. ont constaté que *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116 (ST11) inhibait l'inflammation cutanée induite par la substance P et accélérait la régénération et le retour de la fonction de barrière cutanée. Ils ont également constaté que le ST11 éliminait de manière significative tous les effets de la substance P, y compris la vasodilatation, l'œdème, la dégranulation des mastocytes et la libération de TNF- α , par rapport aux témoins. De plus, la récupération de la barrière cutanée associée au ST11 s'est avérée être accélérée dans une culture de peau ex-vivo. Cet avantage s'est avéré particulièrement utile pour contrer les effets secondaires des traitements conventionnels contenant des radicaux libres **(Gueniche et al., 2010)**.

Streptococcus salivarius (Bowe et al., 2006), *Lactococcus* sp. HY 449 **(Oh et al., 2006)** et *Lactobacillus salivarius* LS03 (Deidda et al., 2018) produisent des bactériocines qui inhibent la croissance de *C. acnes*. *Bifidobacterium adolescentis* SPM0308 a été efficace pour contrôler la croissance de *C. acnes* et de *S. aureus* grâce à son activité antimicrobienne **(Lee et al., 2012)**

Un autre mécanisme que les études *in vitro* ont montré être pertinent en termes d'inhibition de la croissance de *C. acnes* est celui de la formation de céramides. Les céramides peuvent retenir l'eau dans la peau et certains d'entre eux, comme la phytosphingosine, ont même montré des propriétés antimicrobiennes contre *C. acnes* **(Pavicic et al., 2007)**. Certains probiotiques, comme *Streptococcus thermophilus*, augmentent la production de céramides **(Di Marzio et al., 1999)**.

En outre, la capacité d'inhibition de la croissance de *C. acnes* des souches probiotiques *Lactobacillus casei* NCFB 161, *Lactobacillus acidophilus* NCFB 1748, *Lactobacillus plantarum* DSM 12028, *Lactobacillus gasseri* NCFB 2233, et *Lactococcus lactis* NCIMB 66 avec des hydrolysats de glucomannane d'*Amorphophallus konjac* ont été démontrée **(Al-Ghazzewi et al., 2010)**.

Nous pouvons raisonnablement affirmer que les probiotiques continuent à susciter un intérêt croissant en tant qu'option thérapeutique prometteuse pour les applications cosmétiques à l'avenir. Leur capacité démontrée à influencer positivement la santé de la peau en modulant le microbiote cutané et en fournissant des bénéfices comme l'amélioration de l'hydratation, la réduction de l'inflammation et le soutien à la barrière cutanée en fait des candidats attrayants

pour des formulations innovantes. Avec des recherches continues et des avancées dans la compréhension de leurs mécanismes d'action et de leur interaction avec la peau humaine, les probiotiques ont le potentiel de révolutionner l'industrie cosmétique en offrant des produits plus efficaces et personnalisés pour le soin de la peau.

PARTIE VIII. CONCLUSION

Conclusion :

À long terme, l'intégration des probiotiques dans le domaine de la cosmétologie permettra de redonner à la peau toute la puissance nécessaire pour faire face aux agressions quotidiennes. En particulier, les problèmes tels que la sécheresse, l'acné ou encore le teint terne s'atténueront plus facilement. D'une manière générale, ils sont bons pour les défenses de la peau. Si la peau se défend mieux, ça signifie qu'elle est apaisée et qu'on a moins de rougeurs et d'inflammations. À partir des résultats obtenus, nous avons isolé plusieurs souches microbiennes provenant des foyers inflammatoires de l'acné et du lait. Après une série de tests et de sélections, nous avons retenu 4 souches acnéiques et 4 souches lactiques à potentielle probiotiques. Les tests d'activité antimicrobienne ont révélé que les souches probiotiques sélectionnées possèdent une capacité significative à inhiber la croissance des souches acnéiques. Ces résultats suggèrent que les souches probiotiques peuvent potentiellement être utilisées comme agents antimicrobiens pour traiter les infections cutanées causées par l'acné. Quoi qu'il en soit, de futures expérimentations chez l'homme seront nécessaires pour étudier plus complètement l'activité de cette bactérie bénéfique. Pour conclure, on peut dire que cette science complexe n'en est qu'à ses débuts mais son potentiel semble infini. Les scientifiques qui planchent sur le sujet en sont convaincus, les bactéries s'apprêtent à révolutionner l'industrie, ne serait-ce que pour contribuer à développer des produits plus respectueux de la peau, et beaucoup moins irritants.

En perspective, il serait intéressant d'envisager les études suivantes :

- ❖ Effectuer une identification plus approfondie des différentes souches isolées « probiotique et acnéiques »
- ❖ Réaliser des études cliniques *in vivo* pour évaluer spécifiquement l'efficacité des probiotiques dans différents types de produits cosmétiques (crèmes, lotions, sérums, etc.) sur des rats wistar puis des populations variées.
- ❖ Évaluer et comparer les effets de différentes souches probiotiques spécifiques utilisées en cosmétique pour déterminer les plus efficaces et les mieux adaptées à chaque type de problème de peau ou d'application cosmétique.
- ❖ Réaliser des études de sécurité à long terme pour évaluer les effets potentiels des probiotiques sur la peau et le microbiome cutané lors d'une utilisation prolongée.
- ❖ Développer des stratégies de positionnement claires pour mettre en valeur les bénéfices des probiotiques en cosmétique, en mettant l'accent sur leur efficacité scientifiquement prouvée, leur sécurité et leur aspect naturel.

PARTIE IX.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

Adamczyk, K., Garnarczyk, A. A., & Antończak, P. P. (2018). The microbiome of the skin. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*, 105(2), 285-297.

Ahire, J., Jakkamsetty, C., Kashikar, M. S., Lakshmi, S. G., and Madempudi, R. S. (2021). In vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* UBLP40 isolated from traditional indigenous fermented food. *Probiotics Antimicrob Proteins* 13, 1413–1424.

Ahirwar, S.S., Gupta, G., Singh, V & Gupta, V., (2017). Comparative study of lactobacillus species in dental caries active subjects. *Asian Journal of Science and Technology* 08(10), 5986- 5991.

Ahle, C. M., Stødkilde, K., Poehlein, A., Bömeke, M., Streit, W. R., Wenck, H., ... & Brüggemann, H. (2022). Interference and co-existence of staphylococci and *Cutibacterium acnes* within the healthy human skin microbiome. *Communications biology*, 5(1), 923.

Al-Ghazzewi, F.H.; Tester, R.F. Effect of konjac glucomannan hydrolysates and probiotics on the growth of the skin bacterium *Propionibacterium acnes* in vitro. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2010, 32, 139–142.

Arora, R., Kaur, R., Babbar, R., Dhingra, S., Dhingra, A. K., & Grewal, A. S. (2024). Evolving Advances in the Cosmetic Use of Probiotics and Postbiotics: Health, Regulatory and Marketing Aspects. *Current Pharmaceutical Biotechnology*.

Ashish Aswal, A. A., Mohini Kalra, M. K., & Abhiram Rout, A. R. (2013). Preparation and evaluation of polyherbal cosmetic cream.

Bai, L. J., Wang, L., & Ji, S. J. (2016). Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharide from *L. helveticus* SMN2-1. *Chemical Engineering Transactions*, 55(1), 61-66

Bockmühl, D.; Jassoy, C.; Nieveler, S.; Scholtyssek, R.; Wadle, A.; Waldmann-Laue, M. Prebiotic Cosmetics: An Alternative to Antibacterial Products. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2007, 29, 63–64.

Bowe, W. P., Filip, J. C., DiRienzo, J., Volgina, A., & Margolis, D. J. (2006). Inhibition of *Propionibacterium acnes* by bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by *Streptococcus salivarius*. *Journal of Drugs in Dermatology: JDD*, 5(9), 868–870.

- Bowe, W.P.; Logan, A.C. Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis—Back to the future? *Gut Pathog.* 2011, 3, 1.
- Brook, I. Bacterial interference. *Crit. Rev. Microbiol.* 1999, 25, 155–172.
- Brown, M. M., & Horswill, A. R. (2020). Staphylococcus epidermidis—Skin friend or foe?. *PLoS pathogens*, 16(11), e1009026.
- Bu, Y., Liu, Y., Liu, Y., Wang, S., Liu, Q., Hao, H., et al. (2022). Screening and probiotic potential evaluation of bacteriocin-producing Lactiplantibacillus plantarum in vitro. *Foods* 11:1575.
- Butel, M. J. (2014). Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Journal des Anti-infectieux*, 16(2), 33-43.
- Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Segre, J. A. (2018). The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 16(3), 143-155.
- Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Segre, J. A. (2018). The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 16(3), 143-155.
- Chang, Y., Jeong, C. H., Cheng, W. N., Choi, Y., Shin, D. M., Lee, S., et al. (2021). Quality characteristics of yogurts fermented with short-chain fatty acid-producing probiotics and their effects on mucin production and probiotic adhesion onto human colon epithelial cells. *J. Dairy Sci.* 104, 7415–7425.
- Chilicka, K., Dzieńdziora-Urbińska, I., Szyguła, R., Asanova, B., & Nowicka, D. (2022). Microbiome and probiotics in acne vulgaris—A narrative review. *Life*, 12(3), 422.
- Chilicka, K.; Rogowska, A.M.; Szyguła, R.; Dzieńdziora-Urbińska, I.; Taradaj, J. A comparison of the effectiveness of azelaic and pyruvic acid peels in the treatment of female adult acne: A randomized controlled trial. *Sci. Rep.* 2020, 10, 12612.
- Claudel, J. P., Auffret, N., Leccia, M. T., Poli, F., Corvec, S., & Dréno, B. (2019). Staphylococcus epidermidis: a potential new player in the physiopathology of acne?. *Dermatology*, 235(4), 287-294.
- Cong, T. X., Hao, D., Wen, X., Li, X. H., He, G., & Jiang, X. (2019). From pathogenesis of acne vulgaris to anti-acne agents. *Archives of dermatological research*, 311, 337-349.

Corvec, S., Dagnelie, M. A., Khammari, A., & Dréno, B. (2019, January). Taxonomy and phylogeny of *Cutibacterium* (formerly *Propionibacterium*) acnes in inflammatory skin diseases. In *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie* (Vol. 146, No. 1, pp. 26-30). Elsevier Masson.

Dagnelie, M. A. (2018). Etude d'acquisition de connaissances sur l'acné nodulaire du dos: impact du microbiote cutané et de l'immunité innée dans la physiopathologie de l'acné sévère du dos (Doctoral dissertation, Nantes).

Dapkevicius, I., Romualdo, V., Marques, A. C., Lopes, C. M., & Amaral, M. H. (2023). Acne Vulgaris Topical Therapies: Application of Probiotics as a New Prevention Strategy. *Cosmetics*, 10(3), 77.

De Almeida, C. V., Antiga, E., & Lulli, M. (2023). Oral and topical probiotics and postbiotics in skincare and dermatological therapy: A concise review. *Microorganisms*, 11(6), 1420.

Deidda, F.; Amoruso, A.; Nicola, S.; Graziano, T.; Pane, M.; Mogna, L. New Approach in Acne Therapy: A Specific Bacteriocin Activity and a Targeted Anti IL-8 Property in Just 1 Probiotic Strain, the *L. salivarius* LS03. *J. Clin. Gastroenterol.* 2018, 52, S78–S81.

Deng, Y.; Wang, H.; Zhou, J.; Mou, Y.; Wang, G.; Xiong, X. Patients with Acne Vulgaris Have a Distinct Gut Microbiota in Comparison with Healthy Controls. *Acta Derm. Venereol.* 2018, 98, 783–790.

Di Marzio, L.; Cinque, B.; De Simone, C.; Cifone, M.G. Effect of the lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus* on ceramide levels in human keratinocytes in vitro and stratum corneum in vivo. *J. Investig. Dermatol.* 1999, 113, 98–106.

Dlamini, T. S., & Chelule, P. D. (2016). The level of knowledge, perception and usage of fermented foods for feeding young children in Heilbron, Free State Province (Doctoral dissertation, Sefako Makgatho Health Sciences University).

Dou, J., Feng, N., Guo, F., Chen, Z., Liang, J., Wang, T., ... & Xu, Z. (2023). Applications of Probiotic Constituents in Cosmetics. *Molecules*, 28(19), 6765.

Dréno, B. (2017). What is new in the pathophysiology of acne, an overview. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 31, 8-12.

Dréno, B., Dagnelie, M. A., Khammari, A., & Corvec, S. (2020). The skin microbiome: a new actor in inflammatory acne. *American journal of clinical dermatology*, 21(Suppl 1), 18-24.

Dréno, B., Pécastaings, S., Corvec, S., Veraldi, S., Khammari, A., & Roques, C. (2018). *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32, 5-14.

Fanfaret, I.S.; Boda, D.; Ion, L.M.; Hosseyni, D.; Leru, P.; Ali, S.; Corcea, S.; Bumbacea, R. Probiotics and prebiotics in atopic dermatitis: Pros and cons (Review). *Exp. Ther. Med.* 2021, 22, 1376.

Fantinato, V., Camargo, H. R., and Sousa, A. L. O. P. (2019). Probiotics study with *Streptococcus salivarius* and its ability to produce bacteriocins and adherence to KB cells. *Rev Odontol UNESP* 48, 1–9.

Fleming, H. P., Etchells, J. L., & Costilow, R. N. (1975). Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied microbiology*, 30(6), 1040-1042.

Fournière, M., Latire, T., Souak, D., Feuilloley, M. G., & Bedoux, G. (2020). *Staphylococcus epidermidis* and *Cutibacterium acnes*: two major sentinels of skin microbiota and the influence of cosmetics. *Microorganisms*, 8(11), 1752.

França, K. Topical Probiotics in Dermatological Therapy and Skincare: A Concise Review. *Dermatol. Ther.* 2021, 11, 71–77.

Gangaraju, D., Raghu, A. V., and Siddalingaiya Gurudutt, P. J. N. S. (2022). Green synthesis of γ -aminobutyric acid using permeabilized probiotic *Enterococcus faecium* for biocatalytic application. *Nano Select* 3, 1436–1447.

Goodarzi, A., Mozafarpour, S., Bodaghabadi, M., & Mohamadi, M. (2020). The potential of probiotics for treating acne vulgaris: A review of literature on acne and microbiota. *Dermatologic therapy*, 33(3), e13279.

Gueniche, A., Benyacoub, J., Philippe, D., Bastien, P., Kusy, N., Breton, L., ... Castiel-Higounenc, I. (2010). *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2116 (ST11) inhibits substance P-induced skin inflammation and accelerates skin barrier function recovery in vitro. *European Journal of Dermatology*, 20(6), 731–737.

Guillaume P.Y. (2004). La microbiologie: les tests enzymatiques, antibiotiques et immunologiques, (en ligne). Lyon, France.

Guiraud .Microbiologie alimentaire, Techniques d'analyse microbiologiques, Ed, Dunod (1998).

Herrero, R., Asins, M. J., Pina, J. A., Carbonell, E. A., & Navarro, L. (1996). Genetic diversity in the orange subfamily Aurantioideae. II. Genetic relationships among genera and species. *Theoretical and Applied Genetics*, 93, 1327-1334.

Hill, C.; Guarner, F.; Reid, G.; Gibson, G.R.; Merenstein, D.J.; Pot, B.; Morelli, L.; Canani, R.B.; Flint, H.J.; Salminen, S.; et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2014, 11, 506–514

Hyseni, E., & Dodov, M. G. (2022). Probiotics in dermatological and cosmetic products--application and efficiency. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(1).

Kang, B.S.; Seo, J.G.; Lee, G.S.; Kim, J.H.; Kim, S.Y.; Han, Y.W.; Kang, H.; Kim, H.O.; Rhee, J.H.; Chung, M.J.; et al. Antimicrobial activity of enterocins from *Enterococcus faecalis* SL-5 against *Propionibacterium acnes*, the causative agent in acne vulgaris, and its therapeutic effect. *J. Microbiol.* 2009, 47, 101–109

Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of food and drug analysis*, 26(3), 927-939.

Knackstedt, R.; Knackstedt, T.; Gatherwright, J. The role of topical probiotics in skin conditions: A systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. *Exp. Dermatol.* 2020, 29, 15–21.

König, H., & Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, 3-41.

Kumar, B., Pathak, R., Mary, P. B., Jha, D., Sardana, K., & Gautam, H. K. (2016). New insights into acne pathogenesis: Exploring the role of acne-associated microbial populations. *Dermatologica sinica*, 34(2), 67-73.

- Larpent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire. Tec & doc, Lavoisier. Paris. 10-72.
- Larpent, J. P. (1990). Les fermentations alimentaires. In-Microbiologie alimentaire, Technique & Documentation, Lavoisier, Apria, 02:3-17
- Lee, D.K.; Kim, M.J.; Ham, J.W.; An, H.M.; Cha, M.K.; Lee, S.W.; Park, C.I.; Shin, S.H.; Lee, K.O.; Kim, K.J.; et al. In vitro evaluation of antibacterial activities and anti-inflammatory effects of Bifidobacterium spp. addressing acne vulgaris. Arch. Pharm. Res. 2012, 35, 1065–1071
- Lee, G.R.; Maarouf, M.; Hendricks, A.J.; Lee, D.E.; Shi, V.Y. Topical probiotics: The unknowns behind their rising popularity. Derm. Online J. 2019, 25, 5
- Leung, A. K., Barankin, B., Lam, J. M., Leong, K. F., & Hon, K. L. (2021). Dermatology: how to manage acne vulgaris. *Drugs in context*, 10.
- Lo, K., & ND, L. (2021). Les profonds effets cutanés des probiotiques. Nouvelles.
- Loveman, D.E.; Noojin, R.O.; Winkler, C.H., Jr. Comparative studies of enteric bacterial flora in acne vulgaris. J. Investig. Dermatol. 1955, 25, 135–137
- Ma, X.-Y., Son, Y.-H., Yoo, J.-W., Joo, M.-K., and Kim, D.-H. (2022). Tight junction protein expression-inducing probiotics alleviate TNBS-induced cognitive impairment with colitis in mice. *Nutrients* 14:2975.
- Mahto, A. (2017). Acne vulgaris. *Medicine*, 45(6), 386-389.
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of Lactobacillus strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16(3), 189-199.
- Marchetti F, Capizzi R, Tulli A. Efficacy of regulators of the intestinal bacterial flora in the therapy of acne vulgaris. Clin Ter. 1987;122:339–343.
- McLaughlin, J., Watterson, S., Layton, A. M., Bjourson, A. J., Barnard, E., & McDowell, A. (2019). Propionibacterium acnes and acne vulgaris: new insights from the integration of population genetic, multi-omic, biochemical and host-microbe studies. *Microorganisms*, 7(5), 128.
- Nowicka, D.; Grywalska, E. Staphylococcus aureus and host Immunity in recurrent furunculosis. Dermatology 2019, 235, 295–305

O'Neill, A. M., & Gallo, R. L. (2018). Host-microbiome interactions and recent progress into understanding the biology of acne vulgaris. *Microbiome*. 2018; 6: 177.

Oh, S., Kim, S. H., Ko, Y., Sim, J. H., Kim, K. S., Lee, S. H., ... Kim, Y. J. (2006). Effect of bacteriocin produced by *Lactococcus* sp. HY 449 on skin-inflammatory bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 44(4), 552–559

Park, S.Y.; Kim, H.S.; Lee, S.H.; Kim, S. Characterization and Analysis of the Skin Microbiota in Acne: Impact of Systemic Antibiotics. *J. Clin. Med.* 2020, 9, 168.

Patton, T. J., & Guandalini, S. (2013). Are probiotic effects dose-related?. In *Probiotic Bacteria and Their Effect on Human Health and Well-Being* (Vol. 107, pp. 151-160). Karger Publishers.

Pavicic, T.; Wollenweber, U.; Farwick, M.; Korting, H.C. Anti-microbial and -inflammatory activity and efficacy of phytosphingosine: An in vitro and in vivo study addressing acne vulgaris. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2007, 29, 181–191.

Petruzzello, C., Saviano, A., and Ojetti, V. J. V. (2023). Probiotics, the immune response and acute appendicitis: a review. *Vaccines* 11:1170.

Platsidaki, E., & Dessinioti, C. (2018). Recent advances in understanding *Propionibacterium acnes* (*Cutibacterium acnes*) in acne. *F1000Research*, 7.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M., and Gil, A. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Adv. Nutr.* 10, S49–S66.

Reisch, M.S. Cosmetics: The next microbiome frontier. *Mitsui Chem. Catal. Sci. Award*. 2017, 95, 30–34

Roobab, U., Batool, Z., Manzoor, M. F., Shabbir, M. A., Khan, M. R., & Aadil, R. M. (2020). Sources, formulations, advanced delivery and health benefits of probiotics. *Current Opinion in Food Science*, 32, 17-28.

Saidi, N., Guessas, B., Bensalah F., Badis, A., Hadadji, M., Henni, D. E., Prevost, H. et Kihal, M. (2002). Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Aleg. Reg. Arides*. 1: 1-11

Sajedi, D., Shabani, R., and Elmieh, A. J. C. (2021). Changes in leptin, serotonin, and cortisol after eight weeks of aerobic exercise with probiotic intake

in a cuprizone-induced demyelination mouse model of multiple sclerosis. *Cytokine* 144:155-190.

Sander, M. A., Sander, M. S., Isaac-Renton, J. L., & Croxen, M. A. (2019). The cutaneous microbiome: implications for dermatology practice. *Journal of cutaneous medicine and surgery*, 23(4), 436-441.

Sanders, M. E., Merenstein, D., Merrifield, C. A., & Hutkins, R. (2018). Probiotics for human use. *Nutrition bulletin*, 43(3), 212-225.

Santacroce, L., Charitos, I. A., & Bottalico, L. (2019). A successful history: probiotics and their potential as antimicrobials. *Expert review of anti-infective therapy*, 17(8), 635-645.

Shokryazdan, P., Faseleh Jahromi, M., Liang, J. B., & Ho, Y. W. (2017). Probiotics: from isolation to application. *Journal of the American College of Nutrition*, 36(8), 666-676.

Sitohang, I. B. S., Fathan, H., Effendi, E., & Wahid, M. (2019). The susceptibility of pathogens associated with acne vulgaris to antibiotics. *Medical Journal of Indonesia*, 28(1), 21-7.

Sotoudegan, F., Daniali, M., Hassani, S., Nikfar, S., & Abdollahi, M. (2019). Reappraisal of probiotics' safety in human. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 22-29.

Srivastav, S., Neupane, S., Bhurtel, S., Katila, N., Maharjan, S., Choi, H., et al. (2019). Probiotics mixture increases butyrate, and subsequently rescues the nigral dopaminergic neurons from MPTP and rotenone-induced neurotoxicity. *J. Nutr. Biochem* 69, 73–86.

Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: a long debate. *Frontiers in immunology*, 11, 554-558.

Teng, Y., Huang, Y., Danfeng, X., Tao, X., & Fan, Y. (2022). The role of probiotics in skin photoaging and related mechanisms: a review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2455-2464.

Volkova, L.A.; Khalif, I.L.; Kabanova, I.N. Impact of the impaired intestinal microflora on the course of acne vulgaris. *Klin. Med.* 2001, 79, 39–41.

Wang, X., Yang, Y., & Huycke, M. M. (2020). Risks associated with enterococci as probiotics. *Food research international*, 129, 108788.

Wang, X., Zang, S., (2014). Distribution characteristics and ecological risk assessment of toxic heavy metals and metalloid in surface water of lakes in Daqing Heilongjiang Province, China. *Ecotoxicology*, 23(1), 609–617.

Yan, H.M.; Zhao, H.J.; Guo, D.Y.; Zhu, P.Q.; Zhang, C.L.; Jiang, W. Gut microbiota alterations in moderate to severe acne vulgaris patients. *J. Dermatol.* 2018, 45, 1166–1171.

Yao, A. O. P. (2023). Etude du potentiel probiotique des microorganismes de diverses matrices biologiques pour des applications en alimentation animale.

Zhang, Z., Lv, J., Pan, L., & Zhang, Y. (2018). Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 8135-8143.