

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES ET DE L'INGENIERIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire
Option: Immunologie Approfondie

**Thème : L'effet des constituants du lait sur le système
immunitaire**

Présenté par :

GARBA Sounna Mahirou
GUERROUDJ Abderrahim
OUOLOGUEM Boucary

Membre de jury :

Président : BENOUARETH D. E. (Pr) Université de Guelma
Examineur : BOUKEMARA H. (M.A. CC) Université de Guelma
Encadreur : BENDJEDDOU D. (M.C) Université de Guelma

Juin 2010

Remerciement

Louange à notre Seigneur "ALLAH" qui nous a doté de la merveilleuse faculté de raisonnement et incité à acquérir le savoir.

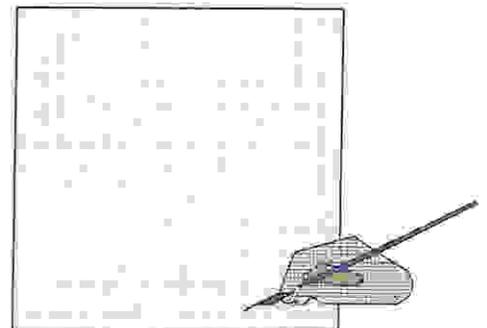
Au terme de ce modeste travail, nous remercions vivement notre promoteur D^r BENDJEDOU D. pour son excellent encadrement, sa vision objective, sans précédente sur tous les aspects concourants à la bonne réalisation de notre projet. Ce fut une grande fierté et un honneur pour nous de travailler sous votre houlette.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent aussi à monsieur le président P^r BENOURETH D. E. et à M^{me} BOUKEMARA H. d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

Nos sincères remerciements et notre gratitude envers D^r BENTORKI chef du laboratoire bactériologique médical de l'Hôpital IBN ZHOR de Guelma et D^r BOUDRAA chef du laboratoire d'analyse médicale et à M^{me} SOUDANI pour leurs précieuses aides et attentions qu'ils nous ont apporté durant l'élaboration de ce travail.

Nous exprimons également notre gratitude à tous les professeurs et enseignants qui ont collaboré à nos formations durant notre cycle primaire et universitaire.

Sans omettre bien sûr de remercier profondément tous nos amis et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation du présent travail.



Dédicaces



Je dédie ce modeste travail à la mémoire de ma mère **Biba Saley** qui était une élite des femmes bien, dont la loi divine ne lui a pas permis de me léguer ses qualités morales, de droiture et de respect.

Qu'Allah le tout puissant puisse lui accorder le paradis et que son âme repose en paix. A men !!!

A la famille Solymane à Louloudjé, Niamey, Tchad, Belgique, et USA.

Mes sincères reconnaissances et remerciements à l'ensemble de la communauté Nigérienne de Guelma pour leur soutien moral et physique.

A mes amis : Issoufou, Adamso, Maranga, Lamine, Dr Salah et Ridha pour leurs accompagnements dans toutes les physionomies de ce bas monde.

A mes oncles : Hassoumi Mossi et Malam Adji pour leurs conseils, patiences, et soutiens.

A mes chouchous : Firdaoussou, Mariam, Cherifa, Chamssia, Boubacar, Chams-edine, Saley et Biba.

Je ne finirais sans remercier Abderrahim et Boucary dont leur qualité d'humanisme et d'intelligence nous ont facilités ce travail.



Garba Sounna Mahirou

Dédicace

*Je dédie ce mémoire à mon père
Amadou Ouologuem, ma mère
Tembelou Ouologuem pour
l'éducation qu'ils ont su me
donner et qui ma permis avec
l'aide de Dieu d'arriver à la
réalisation de ce travail. Je
dédie ce mémoire à mon cher
oncle Gounna Kouriba, à tous
mes frères et sœurs, mes amis et
à toute la communauté malienne
pour leur soutient moral et
physique.*

Ouologuem Boucarry

Liste des abréviations

Liste des tableaux et figures

Introduction générale..... 1

Première partie : Partie Bibliographique

Chapitre I : Le système Immunitaire

I.1. Les composants de l'immunité.....	2
I.1.1. Immunité Innée.....	2
I.1.2. Immunité acquise.....	4
I.2. Organisation du système immunitaire.....	4
I.2.1. Organes.....	4
I.2.2. Cellules du système lymphoïde.....	7
I.2.3. Molécules impliquées dans le système immunitaire.....	11
I.3. Le système immunitaire intestinal.....	13

Chapitre II : Les composants du lait

II.1. Les composants du Lait.....	14
II.1.1. Eau.....	14
II.1.2. Glucides.....	14
II.1.3. Lipides.....	15
II.1.4. Protéines du lait.....	18
II.1.5. Les vitamines.....	21
II.1.6. Minéraux et Oligo-éléments.....	22
II.1.7. Les cellules.....	22

II.2. Comparaison du lait de la femme et celui de la vache.....	23
Chapitre III : l'effet des constituants du lait sur le système immunitaire	
III.1. La lactoferrine.....	25
III.1.1. Activité bactériostatique.....	26
III.1.2. Anti – microbienne.....	26
III.1.3. Activité immunomodulatrice.....	27
III.2. Les caséines.....	30
III.2.1. Activités antibactériennes et immunostimulantes de l' α 1 – caséine.....	30
III.2.2. Activités immunostimulantes de la β – caséine.....	30
III.3. L' α – lactalbumine.....	31
III.3.1. Activités anti – bactériennes.....	31
III.3.2. L' α – lactalbumine et défense immunitaire.....	31
III.4. Les propriétés antimicrobiennes de la β – lactoglobuline.....	31
III.5. La Lactoperoxydase.....	32
III.6. Le lysozyme du lait dans la réponse immunitaire.....	32
III.7. Les cytokines du lait et l'immunité.....	33
III.8. Les oligosaccharides du lait inhibent l'adhésion des pathogènes.....	33
III.8. L'activité des cellules du lait dans la défense immunitaire.....	34
III.9. L'activité des immunoglobulines du lait dans la défense immunitaires.....	34

Deuxième partie : Partie Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1. Animaux et alimentation.....	36
IV.1.1. Animaux.....	36
IV.1.2. Condition d'élevage.....	37
IV.1.3. Régimes.....	38
IV.2. Les prélèvements.....	38
IV.2.1. Prélèvement du sang et des fèces.....	38
IV.2.2. Isolement des macrophages péritonéaux.....	38
IV.2.3. Isolement des cellules des plaques de Peyer.....	39
IV.3. Etudes des prélèvements.....	39
IV.3.1. Le NFS.....	39
IV.3.2. Les macrophages péritonéaux et cellules des plaques de Peyer.....	40
IV.3.3. Analyses bactériologiques.....	41

Chapitre V : Résultats et discussions

V.1. Effet du lait de vache sur le poids corporel des lapins.....	42
V.2. Effet du lait de vache sur les macrophages péritonéaux et les plaques de Peyer des lapins.....	43
V.3. Effet du lait de vache sur les leucocytes sanguins des lapins.....	44
V.4. Effet des régimes sur la flore commensale des lapins.....	45
Conclusion et perspectives.....	47

Bibliographie

Annexe

Résumés et mots clés

Produced with ScanTOPDF

- %** : pourcentage
- °C** : Degré Celsius
- AA** : acide aminé
- Ac** : anticorps
- ADCC** : cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps
- ADN** : acide désoxyribonucléique
- Ag** : antigène
- Api 20 E** : dispositif d'identification des vingt caractères les plus importants des Entérobactéries
- ARN**: acide ribonucléique
- Asn** : asparagine
- BCRs** : récepteur des cellules B
- Br⁻**: ion bromure
- Ca²⁺** : ion calcium
- CD** : groupe de différenciation
- CMH** : complexe majeur d'histocompatibilité
- CMP** : progéniteur lymphoïde commun
- CPA** : cellules présentatrices d'antigènes
- DCs** : cellules dendritiques
- FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations
- FNS** : formule numérique sanguine
- g** : gramme
- GAG** : glycosaminoglycanes
- GALT**: Gut-Associated lymphoid tissue
- Gly**: glycine
- GM-CSF**: granulocyte-monocyte colony stimulating factor
- GN**: gélose nutritive
- GSF** : gélose au sang frais
- H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- I⁻** : ion iodure
- IFN** : interféron
- IgE** : Immunoglobuline E

IL : interleukine
Ile : isoleucine
kDa : kilodalton
kg : kilogramme
L : litre
LB : lymphocyte B
Leu : leucine
LF : lactoferrine
LP : lactoperoxydase
LPS : lipopolysaccharide
LT : lymphocyte T
LTe : lymphocyte T cytotoxique
MALT : Mucosa-associated lymphoïde tissue
MC : Mac conkey
M-CSF : monocyte colony stimulating factor
Met : methionine
mg : milligramme
NK : natural killer
NKR : récepteurs des cellules NK
nm : nanomètre
OBr⁻ : ion hypo
OI⁻ : ion hypoiodide
OSCN⁻ : ion hypothiocyanate
PALS : periarteriolar lymphatic sheath
PBS : Phosphate Buffer Saline
pH : potential hydrogène
Pro : proline
RF_{CSII} : récepteur du fragment cristallisable E
SI : système immunitaire
SLP : système lactoperoxydase
TCR : T cell receptor
TG : triglycrides
Th : lymphocyte T helper
Thr : tyrosine

TLRs : récepteur des cellules T

TNF : facteur de nécrose des tumeurs

T_{reg} : cellules T régulatrice

Trp: tryptophane

UFC : unité formant colonie

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

VIS : virus de l'immunodéficience du singe

Vit : vitamine

Produced with ScanTOPDF

Tableau 1	Résumé des défenses non spécifiques de l'hôte.....	3
Tableau 2	principales caractéristiques des caséines du lait de vache.....	18
Tableau 3	Teneur moyen des principales protéines du lait.....	21
Tableau 4	compositions comparées du lait maternel et du lait de vache.....	24
Tableau 5	effet du lait de vache sur le poids corporel des lapins.....	42
Tableau 6	effet du lait de vache sur le nombre et la viabilité des macrophages péritonéaux et les cellules des plaques de Peyer des lapins.....	43
Tableau 7	effet du lait de vache sur les différentes populations des globules blancs du sang des lapins.....	45
Tableau 8	effet du lait de vache sur la flore commensale des lapins.....	46

Produced with Scantopdf

Figure 1	organisation d'un tissu lymphoïde de la rate.....	5
Figure 2	organisation d'un organe lymphoïde.....	6
Figure 3	Différenciation des cellules sanguines.....	7
Figure 4	structure d'un anticorps.....	12
Figure 5	Elément lymphoïdes de la muqueuse intestinale.....	13
Figure 6	structure du lactose.....	15
Figure 7	Structure d'un globule de matière grasse.....	16
Figure 8	Structure d'un triglycéride.....	16
Figure 9	La neutralisation des LPS par la lactoferrine empêche la formation du complexe ternaire ce qui protège l'organisme du choc septique.....	28
Figure 10	modulation de l'inflammation par la lactoferrine.....	29
Figure 11	photo des lapins étudiés.....	36
Figure 12	un lapin dans une cage métabolique.....	37
Figure 13	prélèvement des macrophages péritonéaux.....	39
Figure 14	Aspect de l'API 20E avant 1 et après 2 poussées de la suspension bactérienne.....	41

Produced with Scantopdf

*INTRODUCTION
GÉNÉRALE*

Produced with ScanTOPDF

S'alimenter est essentiel pour la croissance et la survie des êtres vivants. Cependant, il existe des nutriments qui, bien que contribuant comme source d'énergie ou apport de molécules de base, contiennent également des composants qui améliorent la résistance aux maladies et participent par leurs propriétés à l'état de santé général des individus (Cuibai, 2008).

Pour les jeunes mammifères, le lait est l'unique réponse alimentaire à leurs besoins de vie, voire de survie, car à cette période l'organisme nouveau-né doit tout à la fois entamer une croissance rapide et faire face à une multitude d'agressions externes (Jouan, 2002).

Nous sommes convaincus que le système immunitaire est le garant principal pour assurer la protection des organismes contre les assauts microbiens et les proliférations malignes. Cet ensemble de mouvement contre ces intrus confère la santé chez les organismes. Plusieurs études ont montré l'influence directe ou indirecte de plusieurs constituants du lait sur le système immunitaire en renforçant les défenses naturelles de l'organisme. Ils favorisent aussi le développement de la flore commensale diminuant ainsi le risque des bactéries pathogènes. Ces molécules peuvent réguler négativement la réponse immunitaire hypersensible qui peut endommager les tissus de l'organisme.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet des différents constituants du lait sur l'immunité intestinale et périphérique en se basant sur le nombre des cellules des plaques de Peyer, les macrophages péritonéaux, les leucocytes du sang et le nombre de certaines espèces bactériennes dans les fèces des animaux.

Pour cela, notre étude sera présentée en deux parties :

◆ Une partie théorique comprenant trois chapitres: Le premier chapitre consiste à décrire le système immunitaire, ses composants et son fonctionnement. Le deuxième chapitre décrit les différents composants du lait et le troisième chapitre explique la relation entre ces constituants et le système immunitaire.

◆ La deuxième partie expérimentale décrivant le matériel utilisé, les méthodes suivies et enfin les résultats seront discutés à la lumière des données bibliographiques préexistantes afin d'expliquer les effets observés.

*CHAPITRE I : LE
SYSTÈME
IMMUNITAIRE*

Produced with Scantopdf

Dans un monde potentiellement hostile, rempli d'un nombre étonnant d'agents infectieux, l'organisme a développé une série de mécanismes de défense contre ces pathogènes qui leur sont au moins égaux en efficacité et en ingéniosité (Roitt et Rabson, 2002). Ces mécanismes constituent le système immunitaire. Ce dernier doit faire la distinction entre le soi et le non – soi, participe donc à l'intégrité d'un organisme et à l'élimination de tout ce qui nuit à cette intégrité.

I.1. Les composants de l'immunité

L'immunité est assurée par un ensemble de cellules et tissus. Ils sont répartis dans tout l'organisme. On dit que le système immunitaire est éclaté. Cette caractéristique lui assure une omniprésence et donc une aptitude à traiter un problème infectieux quelque soit le lieu de l'agression (Espinosa et Chillet, 2006). La reconnaissance d'une structure moléculaire ou cellulaire, comme étrangère conduit à sa neutralisation et à son élimination.

Le système immunitaire peut être divisé en deux composants fonctionnels : immunité innée (présente chez tous les métazoaires) et l'immunité adaptative (présente uniquement chez les vertébrés).

I.1.1. Immunité Innée

L'immunité innée représente la première ligne de défense contre beaucoup de micro-organismes communs (Janeway et Travers, 1997). Elle se caractérise par :

- Une mobilisation rapide ;
- Toujours prête à intervenir ;
- Présente en tout point de l'organisme ;
- Ses modes d'action sont invariables ;
- Ne s'adapte pas aux micro-organismes au cours du temps.

Cette immunité est constituée de cinq types de barrières défensives : anatomiques, physiologiques, microbiologique, phagocytaires et inflammatoires. Ses composantes et mécanismes de fonction sont résumés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Résumé des défenses non spécifiques de l'hôte (Adapté de Goldsby *et al.*, 2000 In Cuibaï, 2008).

Type		Mécanisme
<i>Barrières anatomiques</i>	Peau	La barrière mécanique retarde l'entrée des microbes. L'environnement acide (pH 3-5) retarde la croissance des microbes.
	Muqueuses	Le mucus enrobe les micro-organismes étrangers. Les cils rejettent les micro-organismes hors du corps.
<i>Barrières physiologiques</i>	Température	La température corporelle normale inhibe la croissance de certains pathogènes. La fièvre inhibe la croissance de certains pathogènes.
	pH acide	L'acidité du contenu stomacal tue la plupart des micro-organismes ingérés.
<i>Barrière microbiologique</i>		Compétition de la flore commensale pour les nutriments et les sites d'attachements, Production de substance antibactérienne (colicine).
<i>Médiateurs chimiques</i>		Le lysozyme clive la paroi cellulaire des bactéries. L'interféron induit un état antiviral dans les cellules non infectées. Le complément lyse les micro-organismes ou facilite la phagocytose.
<i>Mécanisme phagocytaires ou endocytaires</i>		Certaines cellules internalisent (endocytose) et fragmentent les macromolécules étrangères. Des cellules spécialisées (monocytes du sang, neutrophiles, macrophages tissulaires) internalisent (phagocytose), tuent et digèrent des micro-organismes entiers.
<i>Mécanisme inflammatoires</i>		L'atteinte cellulaire et l'infection induisent une fuite du fluide vasculaire qui contient des protéines sériques douées d'une activité antibactérienne ; elles induisent aussi un influx de cellules phagocytaires dans la zone affectée.

I.1.2. Immunité acquise

Pendant que l'immunité naturelle élimine les microorganismes, l'immunité spécifique se met en place par l'intermédiaire de cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Celles-ci regroupent les cellules dendritiques, les macrophages et les cellules B. Après la reconnaissance de l'antigène, les lymphocytes B et T stimulés, prolifèrent et se différencient en lymphocytes effecteurs (Parham, 2003). Ces cellules vont participer à l'élimination du pathogène par une réponse cellulaire et humorale. L'immunité acquise présente quatre propriétés caractéristiques :

- Spécificité antigénique ;
- Diversité ;
- Mémoire immunitaire ;
- Reconnaissance du soi et du non-soi

I.2. Organisation du système immunitaire

Le système immunitaire est constitué d'un complexe de molécules, cellules, tissus et organes. L'organisation des cellules de l'immunité en tissus et organes favorise les interactions cellulaires et leur permet d'accomplir leurs fonctions le plus efficacement possible.

I.2.1. Organes

Les organes lymphoïdes sont des tissus organisés où les lymphocytes interagissent avec les cellules non-lymphoïdes qui jouent un rôle important à la fois pour leur maturation et pour la mise en place des réponses immunes adaptatives. On distingue les organes lymphoïdes centraux ou primaires (thymus, moelle osseuse) et les organes lymphoïdes périphériques ou secondaires (rate ganglion lymphatique etc).

Les organes immunitaires primaires sont les organes de la lymphopoïèse et de la myélopoïèse. Dans ces organes ont lieu la différenciation, la prolifération et la maturation des différentes lignées cellulaires du système immunitaire (Janeway et Travers, 1997).

Les organes lymphoïdes secondaires constituent des sites où se déroulent la réponse immunitaire adaptative (Espinosa et Chillet, 2006). Ils comprennent des organes structurés et encapsulés (les ganglions lymphatiques et la rate) et des accumulations de tissus lymphoïdes

non encapsulé, distribuées à travers le corps, notamment en association avec les muqueuses (de mucosa-associated lymphoïde tissu : MALT).

a) Rate

La rate est un organe lymphoïde secondaire particulier car le seul recevant les antigènes issus de la circulation sanguine. Elle est aplatie et volumineuse située dans le quart supérieur gauche de l'abdomen, derrière l'estomac. La rate contient les compartiments spécialisés qui servent d'espace de rencontre où les défenses immunitaires confrontent les antigènes.

La masse de la rate est surtout représentée par la pulpe rouge, endroit où s'opère la destruction des globules rouges. Des lymphocytes entourent les artéριοles qui pénètrent dans la rate et constituent des zones appelées pulpes blanches (PALS : periarteriolar lymphatic sheath) formant des gaines lymphoïdes périartériolaires contenant surtout des lymphocytes T entourés par une couronne de cellules B organisées en follicules lymphoïdes primaires (figure 1) (Janeway et Travers, 1997).

Dans la zone marginale, les antigènes sont captés par les cellules dendritiques interdigitées, qui les apportent au PALS. Les lymphocytes du sang entrent eux aussi dans les sinus de la zone marginale et migrent vers le PALS où ils seront activés par les cellules dendritiques interdigitées.

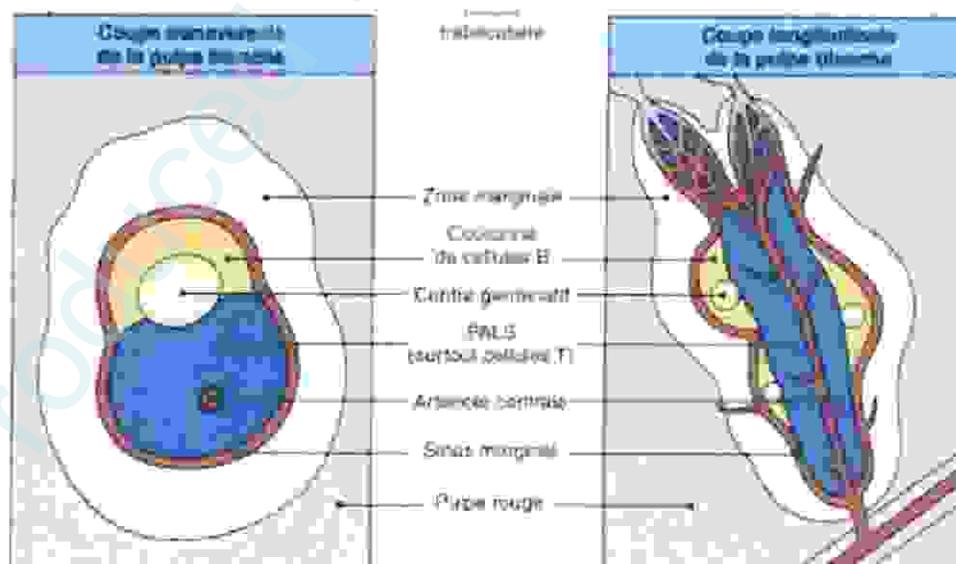


Figure 1 : organisation d'un tissu lymphoïde de la rate (Janeway *et al.*, 2003)

b) Les ganglions périphériques

Les ganglions sont des organes disséminés dans tout l'organisme, se trouvant le long des voies lymphatiques, et sont particulièrement nombreux au niveaux du thorax, de l'abdomen, de l'aisselle et du cou. Les cellules immunitaires sont réparties en trois grandes régions (**figure 2**)

- Le cortex, encore appelé aire B, contient les follicules. Ces derniers sont des regroupements de cellules B. Il est dit primaire lorsque les cellules sont naïves, au repos ; et secondaire lorsqu'il est le siège des réponses immunitaires humorales.
- Le paracortex, encore appelé aire T, contient principalement des lymphocytes T en recirculation et des cellules dendritiques.
- La médulla contient un riche réseau de sinus et gorgée de lymphes. On y trouve quelques macrophages et, lors d'une réponse adaptative primaire, des plasmocytes.

Cette organisation favorise les interactions cruciales entre les lymphocytes B et T lors de la rencontre de l'antigène (Janeway et Travers, 1997).

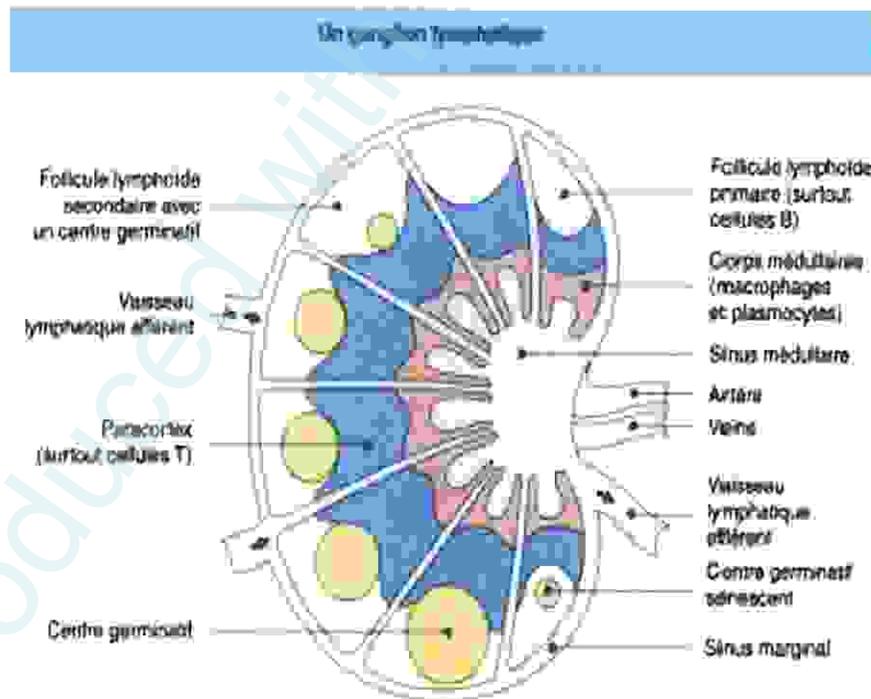


Figure 2 : organisation d'un organe lymphoïde (Janeway et al., 2003)

1.2.2. Cellules du système lymphoïde

Tous les éléments cellulaires du sang, y compris les globules rouges, les plaquettes, et les globules blancs du système immunitaire dérivent originellement du même précurseur : la cellule souche hématopoïétique de la moelle osseuse (Janeway et Travers, 1997). Les différents types de cellules sanguines et les relations entre leurs lignées sont résumés dans la figure 3.

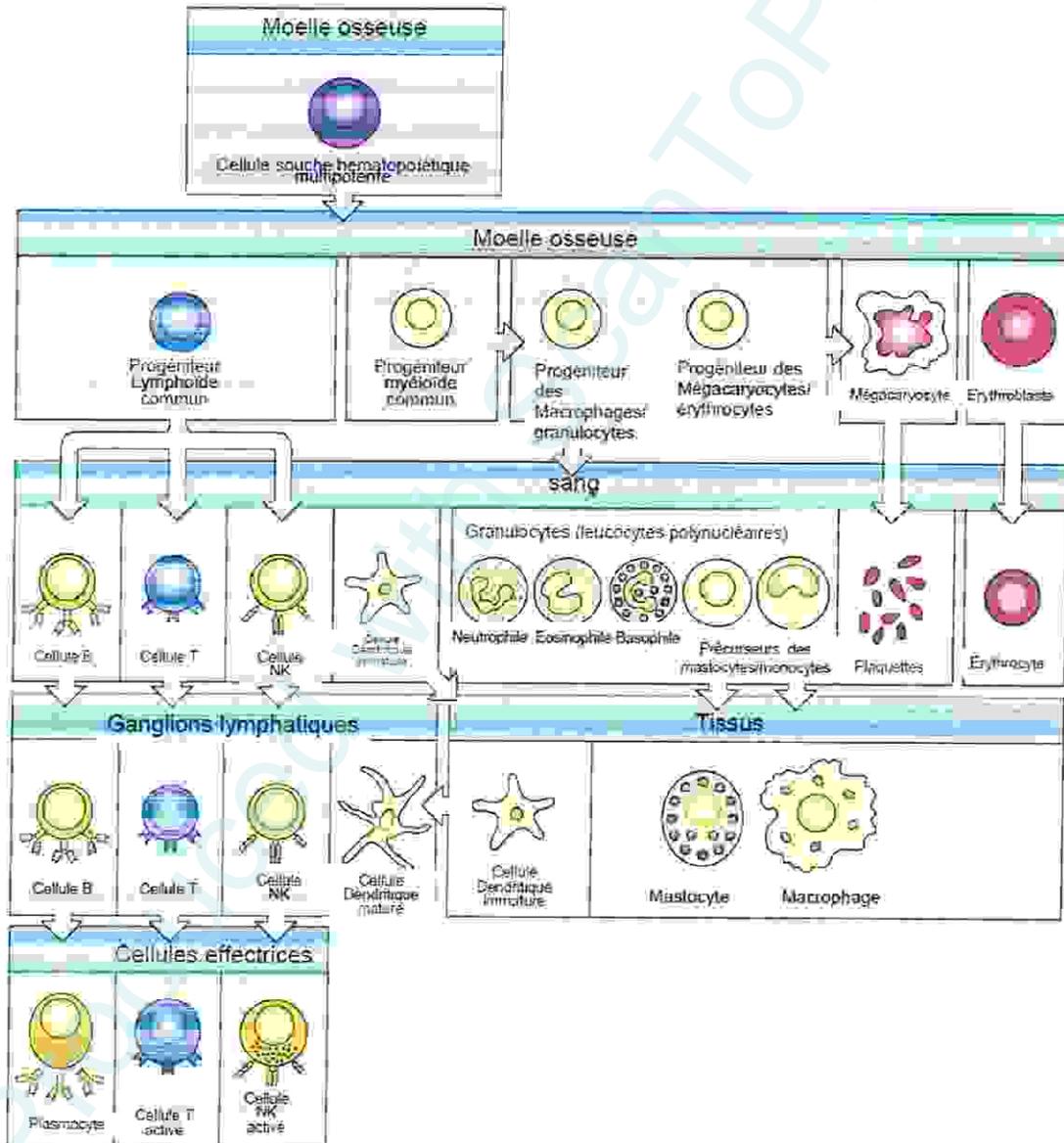


Figure 3 : Différenciation des cellules sanguines (Janeway et Travers, 1997).

a) **Lignée myéloïde**

Cette lignée, issue du CMP (Progéniteur Myéloïde Commun), fournit la majorité des cellules du système immunitaire inné. Elle comprend trois grandes lignées leucocytaires : la lignée monocyttaire (monocytes, les macrophages, et les cellules dendritiques); la lignée granulocytaire (neutrophiles, basophiles, éosinophiles), et les mastocytes.

Les monocytes : sont de grosses cellules (15 à 30µm), leur cytoplasme contient beaucoup de lysosomes et des granules azurophiles. Les monocytes représentent 3 à 10% des globules blancs. Ils migrent dans les tissus en se différenciant en deux types de cellules distincts : les macrophages et les cellules dendritiques myéloïdes. Les monocytes ont une fonction majoritairement phagocytaire et plus accessoirement de cellules présentatrice de l'antigène (Espinosa et Chillet, 2006).

Les macrophages : Découverts en 1884 par Metchnikoff, les macrophages se différencient continuellement à partir des monocytes circulants qui quittent la circulation pour migrer dans les tissus à travers tout l'organisme. On les trouve particulièrement en grand nombre dans le tissu conjonctif et le long de certains vaisseaux sanguins dans le foie et la rate. Le macrophage est capable de phagocyter les antigènes, les dégrader grâce à des lysosomes et les présenter par les molécules de CMH aux cellules immunocompétentes (Homborg, 1999).

Les cellules dendritiques : Ce groupe de cellules peuvent dériver soit de la lignée lymphoïde ou de la lignée des phagocytes mononucléaires. Elles possèdent à la fois des propriétés de phagocytose et de macropinocytose en ingérant une grande quantité de fluide extracellulaire.

Les cellules dendritiques captent les antigènes et migrent vers les organes secondaires ou elles appréhendent l'antigène et le présentent aux cellules T (Male *et al.*, 2007). Une caractéristique majeure des cellules dendritiques est leur capacité de maturation suite à la capture d'un élément étranger. Elles sont présentes dans tous les tissus de l'organisme à l'exception du cerveau et la cornée, et constituent de 0,2 -2% de leur masse cellulaire (Espinosa et Chillet, 2006). Il existe deux catégories principales de DCs : les DCs migrantes et les DCs résidentes des organes lymphoïdes qui sont distinguées par les voies empruntées pour accéder aux organes lymphoïdes (Villadangos et Schnorrer, 2007 In Cuibai, 2008).

Les granulocytes neutrophiles : sont des cellules de 10 -15 μm de diamètre avec un noyau polylobé (2 – 5 lobes). Ils représentent 50 – 70% des globules blancs. Les neutrophiles possèdent trois types de granulations : les granules azurophiles ou primaires, les granules spécifiques ou secondaires, les petits granules de stockage. Ces granules contiennent de nombreuses enzymes et molécules antimicrobiennes (Espinosa et Chillet, 2006). A la différence des macrophages, les neutrophiles ne résident pas dans les tissus sains, mais migrent rapidement vers les foyers de la lésion tissulaire. Ils se trouvent ainsi sur la première ligne de défense de l'immunité innée, où ils exercent leur activité phagocytaire et microbicide (Parham, 2003).

Les granulocytes éosinophiles : Ils présentent un noyau à deux lobes réunis par un pont chromatien. Les éosinophiles circulent 6 – 8 heures dans le sang et représentent 1 – 3% des globules blancs (Espinosa et Chillet, 2006). Leurs granules contiennent des produits toxiques pour différents parasites et d'autres qui diminuent la réponse inflammatoire avec : l'histaminase et une arylsulphatase qui inactivent respectivement l'histamine et les leucotriènes produits par les mastocytes (Homborg, 1999).

Les granulocytes basophiles : Ils ont été décrits en 1879 par Ehrlich. Ces cellules circulent dans le sang et représentent 1% des globules blancs. L'absence de marqueurs caractéristiques fait d'eux, des cellules peu étudiées et longtemps considérées comme la forme sanguine des mastocytes. Les basophiles sont les plus petits granulocytes (environ 10 – 12 μm), et contiennent de volumineuses granulations cytoplasmiques remplies des médiateurs tels que l'histamine et l'héparine. Ils sont fonctionnellement proches des mastocytes et partagent avec ces derniers le récepteur de forte affinité pour les IgE : $\text{RF}_{\text{c}\epsilon\text{I}}$.

Les mastocytes : Ehrlich fut le premier à décrire les mastocytes à la fin des années 1870. Ce sont des cellules de 10 - 20 μm , d'aspect mononuclée, localisés à proximité des vaisseaux sanguins dans les tissus. Ces cellules sont impliquées dans la réaction inflammatoire, les défenses antimicrobiennes mais aussi dans les manifestations allergiques.

b) Lignée lymphoïdes

Par définition, les cellules de la lignée lymphoïdes dérivent du même précurseur : le progéniteur lymphoïde commun. Ces cellules sont présent essentiellement dans le système lymphatique, d'où leur nom (les lymphocytes). Il existe trois types principaux de lymphocytes : les lymphocytes B, les lymphocytes T et les cellules NK (de natural killer).

Les Lymphocytes T : Ils présentent un peu plus de 70% des lymphocytes totaux. Les lymphocytes T sont localisés au niveau des organes lymphoïdes secondaires, leur fonction majeure est d'induire une réponse ou une réaction immunitaire spécifique à l'antigène après reconnaissance à l'aide de leur récepteur TCR (T cell receptor). La maturation des cellules T se fait dans le thymus, d'où son nom (Thymocytes). Selon leurs marqueurs de surface les lymphocytes T sont divisés en deux groupes : les lymphocytes T CD4+ qui donnent après activation des cellules dites : Th (pour helper) et T CD4+ mémoire. Ces cellules sont des véritables managers orientant l'immunité vers une réponse cellulaire ou une réponse humorale. Le deuxième groupe est celui des TCD8+ qui vont devenir après activation des cellules Tc (pour cytotoxique) et T CD8+ mémoire. Elles peuvent lyser les cellules infectées de l'organisme grâce au contenu puissant de leurs granules (Homberg, 1999). Récemment une troisième sous population des cellules T, les cellules T régulatrice (T_{reg}), ont été caractérisées (Kindt *et al.*, 2007).

Les Lymphocytes B : Les lymphocytes B ne représentent que 5 à 15 % des lymphocytes du sang. Après leur maturation, ils quittent la moelle osseuse aux zones B des organes lymphoïdes secondaires pour recevoir un stimulus d'activation (Homberg, 1999). Le BCR (B cell receptor) joue un rôle important dans la différenciation des cellules B et leur assure la transduction du signal après rencontre avec l'antigène. Les cellules B ne peuvent être activées qu'en collaboration avec les lymphocytes T CD4 pour donner à la fin de leur différenciation des plasmocytes et des lymphocytes B à mémoire (Gorochov et Papo, 2000).

Les lymphocytes B effecteurs restent dans les organes lymphoïdes, et n'ont pas besoin de migrer dans les foyers infectieux, elles sécrètent des anticorps qui pénètrent dans le sang pour trouver les antigènes (Abbas et Lichtman, 2009). Les anticorps produits par un plasmocyte donné ont tous la même spécificité et appartiennent à la même classe d'immunoglobulines. Il existe une population des LBs dite : « B-1 » caractérisée par l'expression de la molécule CD5, ces cellules produisent des anticorps appelés : « naturels » qui sont polyréactifs (Male *et al.*, 2007).

Les NK (de natural killer) : Les cellules NK sont des cellules de l'immunité innée qui possèdent un jeu de récepteurs (NKR) leur permettant d'identifier leurs cellules cibles (Espinosa et Chillet, 2006). Elles sont des cellules capables de détruire une grande variété de cellules cibles, soit infectées par un virus, soit transformées, sans sensibilisation préalable (Male *et al.*, 2007).

Les cellules NK éliminent leurs cibles de deux façons différentes. Dans certains cas, elles utilisent leurs récepteurs pour distinguer des anomalies, en particulier une réduction du nombre de molécules du CMH de classe I ou le profil inhabituel des antigènes de surface. Une autre voie par laquelle ces cellules reconnaissent les cellules cibles potentielles est l'intervention des anticorps antitumoraux ou antiviraux produits par le système immunitaire lors de l'infection : cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ou ADCC) (Kindt *et al.*, 2007).

I.2.3. Molécules impliquées dans le système immunitaire

Les cellules de l'immunité exercent leurs fonctions par l'intermédiaire de molécules qu'elles produisent. Certaines de ces molécules sont des protéines membranaires et servent «d'agents de liaison» intercellulaires, d'autres secrétées qui agissent dans l'environnement immédiat sur le site même de la réaction immunitaire (effets autocrine, paracrine), enfin d'autres diffusent à distance et sont des messagers de l'immunité (effet exocrine).

a) Immunoglobulines

Les immunoglobulines sont des glycoprotéines synthétisées par des plasmocytes, présentes dans le plasma mais aussi dans les autres liquides biologiques de l'organisme et les sécrétions. Les immunoglobulines sont douées d'activité anticorps : elles représentent les agents de l'immunité humorale. Leur structure en Y comporte 4 chaînes polypeptidiques : 2 chaînes lourdes identiques (chaînes H pour heavy), et 2 chaînes légères identiques (chaîne L pour light) réunies entre elles par des ponts disulfures (Janeway et Travers ,1997). La tige du Y, appelée région constante alors que leur bout constitue la région variable qui se lie à l'antigène **figure 4**.

Il y a deux types de chaînes légères, κ et λ (kappa et lambda) et cinq types de chaînes lourdes. La différence entre ces chaînes lourdes caractérise les cinq classes des Ig : IgA, IgD, IgM, IgE, IgG (Parham, 2003).

La molécule d'anticorps possède deux fonctions principales : L'une est de se fixer aux antigènes étrangers ; l'autre est d'induire les fonctions effectrices pour neutraliser ou contribuer à l'élimination des agents étrangers envahisseurs (Kindt *et al.*, 2007).

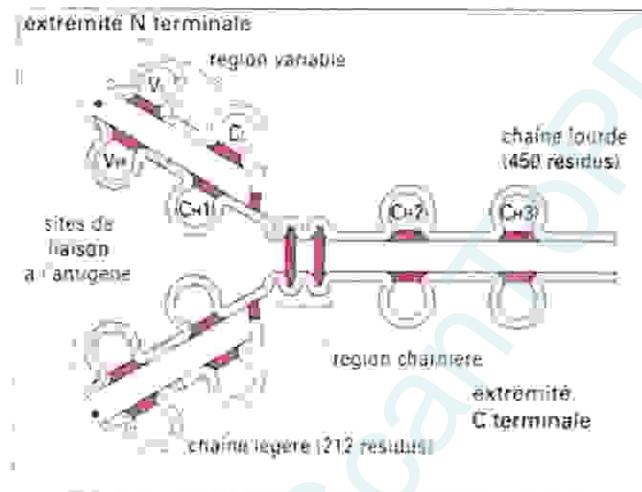


Figure 04 : structure d'un anticorps (Male *et al.*, 2007)

b) Système du complément

Le système du complément est un ensemble de plus de trente protéines plasmatiques et membranaires jouant un rôle essentiel dans l'élimination des micro-organismes et des fonctions régulatrices. Il participe à l'opsonisation, à la réponse inflammatoire, à l'élimination des complexes Ag-Ac et à la destruction des pathogènes (Espinosa et Chillet, 2006). Ces protéines sont synthétisées par les hépatocytes, les monocytes du sang, les macrophages des tissus et les cellules épithéliales des tractus gastro-intestinal et génito-urinaire (Kindt *et al.*, 2007).

Les fonctions effectrices peuvent être activées par trois voies : La voie classique, la voie des lectines, et la voie alterne. Ces trois chemins convergent à la formation du complexe d'attaque membranaire (Janeway et Travers, 1997).

c) Cytokines

Les cytokines sont des glycoprotéines de faible masse moléculaire (8 à 50kDa), sécrétées par la majorité des cellules de l'organisme et principalement par les leucocytes, permettant aux cellules de communiquer au sein du système immunitaire (SI) et aussi entre le SI et les autres systèmes de l'organisme (Espinosa et Chillet, 2006). Elles régulent l'intensité et la durée de la réponse immunitaire en stimulant ou en inhibant l'activation, la prolifération

et/ou la différenciation des différentes cellules et en régulant la sécrétion des Acs ou d'autres cytokines. La sensibilité d'une cellule cible à une cytokine particulière est déterminée par la présence de récepteurs membranaires spécifiques (Kindt *et al.*, 2007).

I.3. Le système immunitaire intestinal

Si la digestion et l'assimilation des nutriments sont ses fonctions premières, la muqueuse est aussi le siège d'interaction avec des substances étrangères et des micro-organismes venus de l'extérieur. L'intestin abrite le GALT (Gut-Associated lymphoid tissue) qui contient à lui seul plus de 80 % des cellules immunitaires de l'organisme, et plus de lymphocytes que tous les autres organes lymphoïdes combinés [1]. La composition du GALT est résumée dans la figure 5.

Les cellules épithéliales des muqueuses intestinales jouent un rôle important dans la promotion de la réponse immunitaire en délivrant des antigènes étrangers venant de la lumière intestinale. Ce transport d'antigène (Ag) est effectué par des cellules spécialisées, appelées cellules M. Les Ags transportés à travers la muqueuse par les cellules M peuvent activer les cellules B qui se différencient en plasmocytes et sécrètent des Acs de la classe IgA. Cette classe d'anticorps est spécialisée pour la sécrétion et représente un outil important de l'organisme pour lutter contre de nombreux types d'infections au niveau des muqueuses (Kindt *et al.*, 2007).

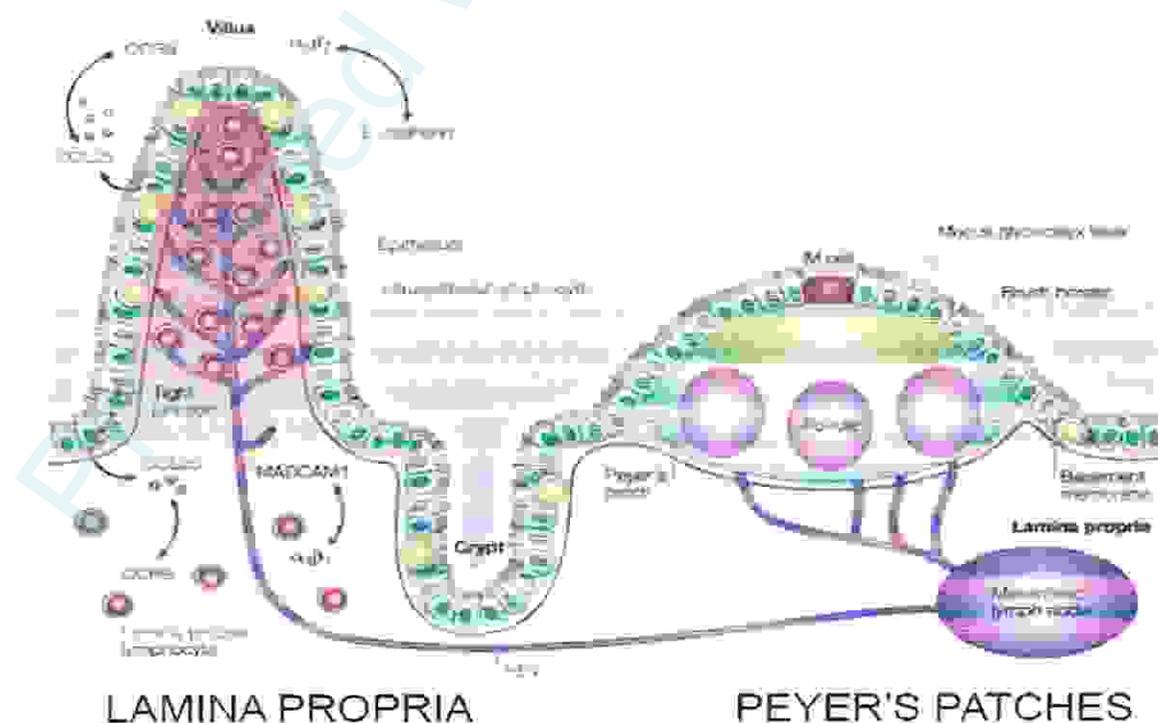


Figure 5 : Élément lymphoïdes de la muqueuse intestinale [2].

*CHAPITRE II : LE LAIT
ET SES COMPOSANTS*

Produced with Scantopdf

Le lait est un liquide nutritif blanc ou blanchâtre destiné à l'alimentation et sécrété par les glandes mammaires des mammifères. Il constitue la référence pour l'alimentation des jeunes mammifères pendant les premiers mois de la vie [3]. Il est une matière première complexe, hétérogène, vivante et de conservation difficile (Abiazar, 2007). Ce lait sécrété par les différentes espèces présentent des caractéristiques communes et contiennent les mêmes catégories de composants. Cependant, les proportions de ces composants varient largement d'une espèce à l'autre [4].

II.1. Les composants du Lait

Il est constitué d'eau, de lipides, de glucides, de protéines, de sels et d'une longue liste de constituants divers (Jennes, 1999 In Valentina, 2009). Dans cette liste se trouve des cellules immunitaires intactes (lymphocytes B et T, macrophages, leucocytes) et des facteurs stimulants de l'immunité (nucléotides) [5].

II.1.1. Eau

L'eau qui représente 80 % du poids du corps est aussi le principal constituant du lait, à raison de 905 g par litre de lait. Cette proportion varie en fonction des mammifères. Son caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines (Amiot et al, 2002). Via le sang, l'eau permet l'acheminement de l'oxygène et des substances nutritives vers toutes les parties du corps. Elle permet aussi l'élimination des toxines par les reins et assure la régulation thermique du corps [6].

II.1.2. Glucides

La quasi-totalité des glucides est sous forme de lactose hydraté. Une très faible partie est sous forme de polysides libres ou de glucides combinés (Vierling, 2008). Le lactose est un disaccharide formé par l'union de deux monosaccharides, le D-glucose et le D-galactose, par un lien glycosidique C1(β)-C4 (Figure 6). Ce disaccharide pourrait être un témoin d'une régulation de la production lactée car, de tous les composants, il est l'un de ceux dont le taux varie le moins au cours de la lactation (70 g/litre avec un coefficient de variation inférieur à 4

enzyme, la lactase permet au nourrisson de transformer le lactose en glucose et en galactose.

Le lactose possède plusieurs propriétés bénéfiques :

- Il favorise l'assimilation de plusieurs minéraux ;
- Il permet la prolifération de lactobacilles, qui provoquent une acidification dans le grêle, ce qui inhibe l'implantation de germes pathogènes et induit la présentation des minéraux sous une forme chlorure assimilable ;
- Sa décomposition libère du galactose, un sucre indispensable pour le développement du système nerveux central et la fabrication de la myéline, qui recouvre les fibres nerveuses (Seignalet et Joyeux, 2004) ;
- Le glucose obtenu de la décomposition du lactose joue un rôle de combustibles, nécessaire au travail et au développement de la machine de l'organisme [7].

Il existe aussi dans le lait de faible quantité de monosaccharides (fructose 2g/l environ) et des quantités parfois importantes d'oligosaccharides (α - glucosides jusqu'à 14g/l). Le rôle des oligosaccharides est encore incompris mais il est probable qu'ils favorisent le développement intestinal d'une flore microbienne (*Lactobacillus bifidus*) qui protège la muqueuse intestinale contre les agressions bactériennes [5].

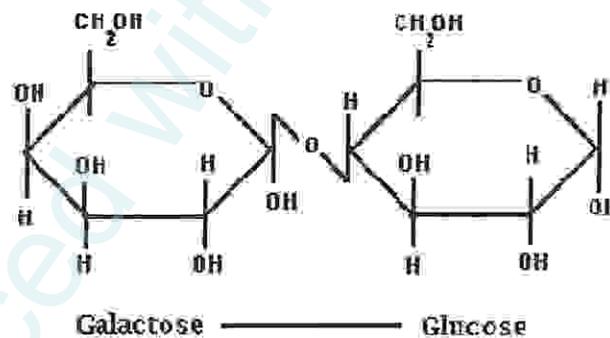


Figure 6 : structure du lactose

II.1.3. Lipides

Leur concentration dans le lait vaut en moyenne 39 g/L. Cette teneur peut subir des variations importantes (de 3 à 180 grammes par litre) suivant l'heure de la journée, l'âge de l'enfant, le volume de la tétée, la constitution de la mère et son type d'alimentation. La synthèse des lipides est complexe et longue, c'est pourquoi les lipides ne se concentrent dans le lait humain qu'en fin de tétée de chaque sein.

Les matières grasses (lipides) du lait sont sous forme de petits globules sphériques qui sont invisibles à l'œil nu, avec une dimension d'environ 0.1 à 20 μm. Ces globules sont constitués de triglycéride, des phospholipides, du (bon) cholestérol, et des acides gras (linoléique, linoléique) (Figure 7) (Amiot *et al.*, 2002).

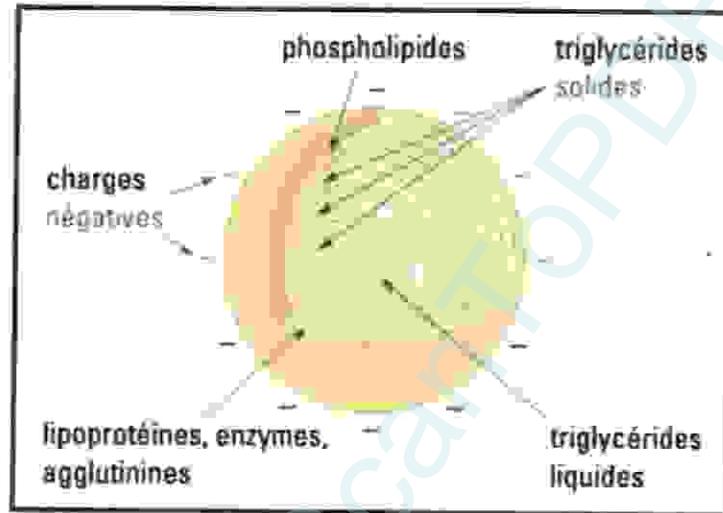


Figure 7 : Structure d'un globule de matière grasse (Amiot *et al.*, 2002).

a. Les Triglycérides

Dans le lait, les graisses sont presque exclusivement des triglycérides (98 pour cent). Ce sont des esters du glycérol, c'est-à-dire qu'ils sont formés par condensation de trois molécules d'acides gras sur une molécule de glycérol, par perte de trois molécules d'eau. La figure 8 montre la structure de cette molécule. Dans le colostrum, la matière grasse est en faible quantité et constituée surtout de triglycérides à chaînes longues poly insaturées. Ces acides gras semblent être très rapidement incorporés dans les cellules neuronales du cerveau encore en formation (FAO, 1995). Ils jouent un rôle dans la myélinisation du système nerveux, l'acuité de la vision et la synthèse d'hormones

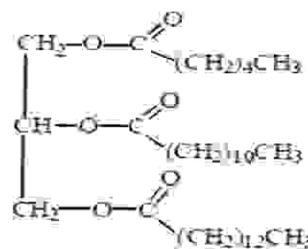


Figure 8 : Structure d'un triglycéride

b. Les acides gras

Ils sont constitués d'une chaîne linéaire d'atomes de carbone et d'hydrogène dont le nombre d'atomes de carbone est toujours pair, entre 4 et 32 ; le premier de ces atomes porte la fonction acide ou dite carboxyle.

De nombreuses études ont constaté l'importance des acides gras présents dans le lait humain pour la santé de l'enfant. Les taux « normaux » des acides gras dans le lait humain sont en cours de recherche : ces taux varient suivant les mères. Donc un rajout d'acide gras aux laits industriels pourrait causer un impact négatif sur la croissance et le développement neurologique, car celui-ci induisait une mauvaise assimilation d'autres acides gras chez le prématuré [6].

c. Phospholipides

Les phospholipides du lait, classés comme lipides complexes, se distinguent par la présence de phosphore dans leurs structures. Ils contiennent du glycérol ou de la sphingosine relié à un ou deux acides gras et à un groupement phosphate auquel est rattaché un groupement azoté (acides aminé). On distingue dans le lait trois types de phospholipides : les lécithines, les céphalines et les sphingomyélines (Amiot *et al.*, 2002). Chez le nourrisson, les phospholipides représentent environ le quart de la matière solide du cerveau ; ils font partie intégrante du système vasculaire duquel le cerveau dépend (Beaudry, 2006).

Les phospholipides présentent un caractère amphipolaire caractérisé par la présence d'une partie hydrophile, qui associe à l'eau, et une partie lipophile, qui associe aux constituants du globule de matières grasses.

d. Cholestérol

Il s'agit d'une composante essentielle de toutes les membranes cellulaires. Le cholestérol est nécessaire à la croissance, à la réplication et au maintien des cellules. Les enfants allaités ont un apport élevé de cholestérol comparativement à celui des adultes (25 mg/kg de poids contre 4 mg/kg de poids). Ils ont aussi un niveau de cholestérol plasmatique plus élevé que les enfants recevant des préparations commerciales (Koletzko *et al.*, 2001 In Beaudry, 2006).

II.1.4. Protéines du lait

Les protéines présentent environ 10g/l dans le lait humain (FAO, 1995). Ils sont regroupés en deux groupes principaux : les caséines, fraction insoluble à pH 4.6 et à 20°C et les protéines du lactosérum. Les caséines forment près de 80% des protéines de lait.

La fraction des protéines du lactosérum contient un grand nombre de composants comme : La β -Lactoglobuline, l' α -Lactalbumine, la sérum-albumine, la lactoferrine, les immunoglobulines (Jouan, 2002).

a. Les caséines

La caséine est un mélange hétérogène de protéines phosphorylées, spécifiques du lait. Elles forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait. Les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle avec une taille comprise entre 100 et 500nm (Amiot *et al.*, 2002). On distingue 4 espèces de caséines : les caséines α_1 , α_2 , β et κ . Il existe également une γ -caséine qui est formée par l'hydrolyse de la β -caséine.

Les différentes caséines ont des poids moléculaire très proche les un des l'autres. Les caséines α_1 , β représentent à elles seules, 70% de la caséine totale du lait (Jouan, 2002).

La caséine est l'une des glycoprotéines présentes dans le lait humain qui favorise la croissance de certaines bactéries bénéfiques ou qui interagit avec des virus et bactéries pathogènes pour les empêcher d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin, prévenant ainsi l'inflammation (Beaudry, 2006). Le **tableau 2** présente les différents caractères de ces protéines.

Tableau 2 : principales caractéristiques des caséines du lait de vache (Jouan, 2002)

Caséines	Taux g/l	Proportion (%)	Poids moléculaire	Nombre d'acides aminés	Acides aminés acides	Prolinne	Sérine	Phosphore Atomes/mole
α_1	9.5	36	23600	199	54	17	16	8
α_2	2.7	10	25250	207	58	10	17	10-13
β	9.0	34	24000	209	48	34	16	5
κ	3.5	13	19000	169	38	20	13	2
γ	1.9	7	21000	181	39	33	11	1

b. Les protéines du lactosérum

Elles représentent environ 20% des protéines totales, les protéines solubles sont importantes pour leurs rôles nutritionnel et immunitaire.

L' α -lactalbumine : c'est une petite molécule qui a été déterminée par Brew *et al.*, 1970. Elle possède un site de liaison spécifique du Ca^{2+} . Ce site lui assure la stabilisation de sa structure native et lui permet de fixer les polyamines par l'intermédiaire de leurs groupements NH_3^+ terminaux. Elle fait partie intégrante du lactose synthétase à l'origine de la synthèse du lactose. Elle représente une forte analogie avec le lysozyme : poids moléculaire et séquence d'AA similarité. Cependant l' α -lactalbumine ne partage pas les propriétés bactéricides du lysozyme.

La β -lactoglobuline : La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 50%. Son taux est 2.5 à 3g/litre, sous sa forme monomère elle a un poids moléculaire de 18400 daltons et à l'état naturelle, elle se trouve sous forme dimérique avec un poids moléculaire de 36800 daltons. La β -lactoglobuline possède un site de liaison commun pour la vitamine A et D comme elle peut lier d'autres molécules tels que les acides gras. Cette protéine est absente dans le lait de femme.

Sérum albumine : Elle est présente dans le lactosérum à la concentration de 0.3g par litre. Son poids moléculaire est de 69Kda. Sa structure comporte trois domaines homologues qui se réunissent pour former une molécule en forme de cœur. Le sérum albumine est identique au sérum albumine du plasma sanguin : poids moléculaire, mobilité électrophorétique, composition en acides aminés similaires (Jouan, 2002). Il joue un rôle important dans le transport des différentes substances, comme certaines métabolites physiologiques, d'hormones et acides gras insolubles. La présence de ces acides lui confère une résistance à la dénaturation thermique (Amiot *et al.*, 2002).

Lactoferrine : La lactoferrine est une métalloprotéine appartenant à la famille des transferrines. Sa chaîne polypeptidique unique est bilobée. Chaque lobe contient un site de fixation du fer ferrique et un site de liaison des bicarbonates. La présence des bicarbonates est indispensable à la liaison de ce métal. La lactoferrine exerce des propriétés bactériostatiques liées à sa capacité à chélater le fer nécessaire au développement de nombreuses bactéries. L'hydrolyse de la lactoferrine par la pepsine donne une petite protéine appelée la

lactoferricine. Cette molécule a une activité antimicrobienne 12 fois plus que la lactoferrine (Jouan, 2002).

Lactoperoxydase : c'est un enzyme (protéine) qui fait partie des systèmes de défense naturels non immunitaires décrits dans le lait et les sécrétions des glandes exocrines telles la salive, les larmes, ou les sécrétions intestinales (Perraudin, 1991). Elle possède un atome de fer par molécule. Son taux est de 0.07, avec un PM de 78000 daltons. La lactoperoxydase ne possède pas, par elle-même, de propriétés antimicrobiennes mais en présence de thiocyanate et l' H_2O_2 , elle constitue un puissant système de lutte contre le développement des bactéries. Elle est bactéricide vis-à-vis des bactéries Gram négatif et bactériostatique vis-à-vis des bactéries Gram positif (Jouan, 2002).

Le lysozyme : le lysozyme est un enzyme hydrolysant des liaisons glycosidiques particulières, qui interviennent notamment dans la configuration des parois bactériennes (Reiter, 1984 In FAO, 1995). Le lait humain possède, grâce au lysozyme un effet bactériolytique puissant de l'ordre de 100 à 10 000 fois plus élevé que chez de nombreux mammifères (FAO, 1995).

Immunoglobulines : Ce sont des glycoprotéines de masse moléculaire élevée (160 000 IgA, IgG, 960 000 IgM). Leur taux moyen est de 0,65 g/L de lactosérum (Jouan, 2002). La principale d'entre elles (IgA) existe sous forme d'anticorps sécrétoire. Ils sont dirigés contre un ensemble de bactéries digestives ou respiratoires, de virus et même de parasites (Hanson, 1988 In FAO, 1995).

Caséinmacropeptide : Il est appelé aussi caséinopeptide, ou caséinoglycopeptide. C'est un glycopeptide issu de l'hydrolyse de la κ -caséine par la chymosine. Son poids moléculaire est de 8 000 daltons. Il est caractérisé par sa richesse en acides aminés alcools, serine et thréonine, qui constituent le quart des acides aminés totaux. La partie polysaccharidique est liée aux molécules de thréonine. Son taux est compris entre 1,20 et 1,50 g/L de lactosérum (Jouan, 2002).

II.1.5. Les vitamines

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. On les trouve en très petite quantité dans les aliments. Les vitamines sont groupées en deux classes selon leur solubilité (voir tableau 3), soit les vitamines hydrosolubles (exemple : vit B₂ joue un rôle important dans la transformation des aliments en énergie) et les vitamines liposolubles (exemple : vit A est essentielle pour la vision) (Amiot *et al.*, 2002). Leur concentration est principalement influencée par l'apport alimentaire de la mère dans le cas des vitamines hydrosolubles et, à un degré moindre, par son apport alimentaire et ses réserves tissulaires dans le cas des vitamines liposolubles (Beaudry *et al.*, 2006).

Tableau 3 : Teneur moyen des principales vit du lait (Adapté d'Amiot *et al.*, 2002).

Vitamines		Teneur moyenne
Vitamines liposolubles:	Vitamine A (carotènes)	40ug/100tnl
	Vitamine D	2,4ug/100ml
	Vitamine E	100ug/100ml
	Vitamine K	5ug/100ml
Vitamines hydrosolubles	Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100ml
	Vitamine B1 (thiamine)	45ug/100ml
	Vitamine B2 (riboflavine)	175 ug /100 ml
	Vitamine B6 (pyridoxine)	50 ug/100ml
	Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0,45 m/100 ml
	Niacine et niacinamide	90 ug/100 ml
	Acide pantothenique	350 ug/100 ml
	Acide tolique	5.5 ug/100ml
	Vitamine H (biotine)	3,5ug /100 ml

II.1.6. Minéraux et Oligo-éléments

La quantité de sels minéraux et oligo-éléments (2 g/l) du lait maternel est adaptée aux possibilités d'élimination rénale du bébé dont les organes ne sont pas encore matures [3].

Les minéraux du lait : se trouvent sous deux formes principales, surtout sous forme de sels ionisés et solubles dans le sérum et sous forme micellaire insoluble. Les éléments basiques majeurs comme le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les constituants acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures. En outre, le calcium, le magnésium, les citrates et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines (Amiot *et al.*, 2002). Les concentrations des minéraux varient fortement d'un lait à un autre. Elles ne sont pas influencées par le régime alimentaire maternel (FAO, 1995).

Les oligo-éléments : ils sont en faibles concentrations ou à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, brome, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium et probablement certains autres. Leur concentration est élevée dans le colostrum. Ils jouent un rôle essentiel dans la constitution du squelette.

II.1.7. Les cellules

Le lait contient des globules blancs (surtout le colostrum), essentiellement des polynucléaires neutrophiles et des macrophages possédant un pouvoir phagocytaire, mais ayant une motilité différente de celle de leurs homologues sanguins. Présents dans le tube digestif du nourrisson, ces globules blancs reprennent sans doute une fonction et colonisent les tissus muqueux intestinaux. Le lait contient aussi des lymphocytes, conservant, parfois à un degré moindre un ensemble de propriétés habituelles des éléments sanguins (FAO, 1995). Les lymphocytes B (20% des lymphocytes du lait) synthétisent l'IgA. Les lymphocytes T (80% des lymphocytes du lait) seraient incorporés dans les tissus du nourrisson, produisant chez lui une immunisation adoptive à court terme. Tant les lymphocytes T que les B réagissent aux organismes qui envahissent la voie intestinale.

L'action de toutes ces cellules contenues dans le colostrum et le lait humain dépend en fait de leur capacité à survivre à travers le tractus gastro-intestinal. Immédiatement après le début d'une tétée, le pH monte à 6.0 et retourne à la normale en trois heures, les cellules de lait tolèrent ce pH (Beaudry *et al.*, 2006).

II.2. Comparaison du lait de la femme et celui de la vache

Hormis leur couleur blanche, les différents laits animaux sont très dissemblables dans leur composition biochimique quel que soit le constituant pris en considération (Tableau 4). Cela est très logique : ils sont parfaitement adaptés aux besoins spécifiques d'une espèce non seulement sur le plan nutritionnel mais aussi sur le plan hormonal, immunologique et neurologique [8].

- **protéines** : le lait maternel contient 3 fois moins de protéines et 6 fois moins de caséines que le lait de vache. quantitativement, le lait de femme est caractérisé par sa richesse en α -lactalbumine et sa teneur en lactoferrine, en immunoglobulines et lysozymes. la β -lactoglobuline prédominante dans le lait de vache est absente du lait humain. en outre, les composants azotés non protéiques du lait de mère (acides aminés et urée) constituent une fraction plus importante de l'azote total (25%) que dans le lait de vache.
- **Lipides** : quantitativement, les teneurs en graisse sont comparables, sous forme de globules gras le lait humain. les triglycérides constituent 98 % des lipides du lait de femme avec une absence presque complète d'acides gras à moins de 10 atomes de carbone et une prédominance des acides gras en C16 :0, C18 :1, C18 :2. le lait féminin est particulièrement riche en acides gras essentiels (acide linoléique C18 :2 et α -linoléique, C18 :3) et en acides gras poly insaturés à longue chaîne. enfin, la teneur en cholestérol est de 10.3mg/dl, soit nettement plus élevée que dans le lait de vache.
- **Glucides** : Le lait de femme comporte 20% environ de sucres complexes, inexistant chez les bovidés, et dédiés à un rôle immunologique et neurologique [7]. Le lactose est le sucre dominant à côté de monosaccharides divers incorporés dans des oligosaccharides. Les vitamines sont en moyenne cinq fois mieux représentées dans le lait de femme. Enfin, le lait de mère contient environ 3.5 fois moins de sels minéraux que le lait de vache.

Le lait de vache est totalement inadapté, à plus forte raison s'il est demi-écrémé, à l'alimentation du nourrisson. Les laits issus d'autres mammifères les sont encore plus (Bourrillon, 2008).

Tableau 4 : compositions comparées du lait maternel et du lait de vache (Bourrillon, 2008)

Constituants	Lait humain	Lait de vache
Calories (Kcal/dL)	60-70	65-75
Protéines (g/dL)	0.8-1.2	3.0-3.5
Caséines (%)	40	80
Protéines solubles (%)	60	20
Azote non protéique (mg)	40	30
Lipides (g/dL)	3-4	3.5-4
Acide linoléique (mg/dL)	350	90
Acide linoléique (mg/dL)	22	61
Glucides (total g/dL)	6-7	4.5-5
Lactose (%)	85-90	100
Oligosaccharides (%)	10-15	-
Autres sucres (%)	-	-
Minéraux (total mg/dL)	200	700
Sodium (mg)	10-20	70
Chlore (mg)	45	110
Calcium (mg)	30	120
Phosphore (mg)	15	90
Ca/P	2	1.3
Magnesium(mg)	3.5	12
Fer (mg)	40-150	20-60
Vitamines (/dl)	203	45
A (UI)	2-3	2-3
E (mg)	3.8	11
C (mg)	0.180	0.440
B1 (mg)	0.031	1.750
B2 (mg)	0.059	0.510
B6 (mg)	0.01	6.6
B12 (µg)	1.15	17
Vitamine K1 (µg)	5.2	37.7
Ac. folique (µg)	230	-
Niacine (PP) (µg)	260	-
Biotine (µg)	0.76	-
Charge osmolaire rénale (mOsm/dl)	8	23

*CHAPITRE III : L'EFFET
DES CONSTITUANTS
DU LAIT SUR LE
SYSTÈME
IMMUNITAIRE*

Le jeune mammifère a un système immunitaire immature; il a donc besoin de la couverture immunitaire maternelle. Dans ces conditions le lait est irremplaçable pour conférer une immunité passive chez ces progénitures, avant l'arrivée à maturité de leur propre système immunitaire (Massol, 1998). Par sa composition en protéines, en acides gras à chaîne courte et du lactose fermentable, le lait acidifie le milieu intestinal de l'enfant ce qui favorise la croissance de la flore bactérienne commensales bénéfique pour l'immunité [9]. Les mamans apportent aussi des protéines et cellules immunocompétentes qui empêchent la prolifération des microbes nuisibles à la santé de leurs descendances. Les mécanismes par lesquels ces composants agissent sont : soit de moduler le système immunitaire (stimuler/inhiber), soit d'exercer directement leurs effets sur les agents en cause.

Nous verrons dans ce chapitre comment les constituants du lait produit par les mères des mammifères protégeront leurs enfants contre les assauts de bactéries et de virus qui proviennent de son milieu de vie ou contre d'autres agressions envers son système immunitaire.

III.1. La lactoferrine

La Lactoferrine (Lf) est une glycoprotéine qui lie le fer, se trouve dans le lait et dans beaucoup des sécrétions exocrines qui baignent les surfaces des muqueuses (Naidu, 2000). Elle est présente uniquement chez les mammifères (Baldwin, 1993 In Culbai, 2008).

C'est l'une des protéines du lait les plus recherchées, non seulement pour leur intérêt nutritionnel, mais surtout pour d'autres propriétés qui leur permettent de trouver un débouché de valorisation dans d'autres secteurs tels que la pharmacie et la cosmétique (Perraudin, 1991). Cette protéine possède plusieurs activités pour la défense de l'hôte : activités bactériostatique, activité anti - microbienne et activité immunomodulatrice.

III.1.1. Activité bactériostatique

La lactoferrine exerce un effet bactériostatique sur les souches bactériennes à Gram- et à Gram+ principalement lié à sa capacité à chélater le fer et à priver ainsi les micro-organismes d'un élément indispensable à leur croissance (Finkelstein et Sciortino, 1983). Cette hypothèse a été soutenue par de divers résultats de laboratoires, tel que l'addition exogène du fer dans le milieu pourrait renverser l'effet bactériostatique où la Lf fer-saturée est non-inhibitrice. Cet effet pourrait être lié à son adsorption sur les membranes externes des bactéries entraînant un bouleversement de leur activité (Ellison *et al.*, 1988). Des modifications de conditions de culture bactérienne affectant le pH, la température, l'osmolarité peuvent influencer les effets bactériologiques de la lactoferrine (Jouan, 2002).

III.1.2. Anti – microbienne

La Lf est un élément clef du système de défense inné de l'hôte et possède un large spectre antimicrobien qui s'étend des bactéries Gram- et Gram+, levures, champignons, à certains virus et protozoaires. Récemment, le groupe de Teng a fait une découverte primordiale en montrant que l'expression de la Lf pouvait être directement induite par un stimulus pro - inflammatoire : LPS ou ARN double brin, mimant une attaque virale (Limmon *et al.*, 2009 In Pièce *et al.*, 2009).

Activité antibactérienne : L'activité bactéricide a été montrée pour être associée à un fragment N-terminal libéré de la lactoferrine par protéolyse. Par sa capacité à se fixer directement aux LPS, aux acides lipoteichoïques (molécules de la paroi bactérienne) ou aux porines, la Lf déstabilise la membrane des bactéries, provoque leur fragilisation et augmente leur perméabilité. L'activité bactéricide de la Lf passe également par l'inhibition de l'attachement des bactéries aux cellules hôtes. Ainsi, en se fixant aux GAG (glycosaminoglycanes) et intégrines de l'hôte, la Lf neutralise ces pathogènes dès les premiers stades de l'infection (Pierce *et al.*, 2009). Une nouvelle activité antibactérienne étonnante de Lf a été récemment découverte avec les rapports que la Lf humaine montre une activité protéolytique vers les facteurs de virulence bactérienne, diminuant la pathogénicité de certains micro-organismes.

Activité antivirale : La Lf exerce cette activité contre des virus à ADN et à ARN, en particulier ceux de l'hépatite, de l'herpès et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Le mécanisme de l'action antivirale de la Lf n'est pas complètement élucidé. Néanmoins,

dans la plupart des études réalisées *in vitro*, la Lf inhibe l'attachement et l'entrée des virus en interagissant avec les GAG et les intégrines utilisés par les virus pour pénétrer dans leurs cellules hôtes (Pièce *et al.*, 2009).

Activité antifongique : Le mode d'action antifongique de la lactoferrine a été proposé d'être due à une perturbation de la paroi cellulaire (Wakabayashi *et al.*, 1996 In Jenssen et Hancock, 2008). Chez *Candida*, il a été conclu que l'activité de la lactoferrine humaine candidacide est due à une interaction directe de la protéine à la surface des cellules fongiques (Valenti *et al.*, 1985 In Jenssen et Hancock, 2008).

Activité antiparasitaire : L'activité antiparasitaire semble complexe et fait appel aux différentes stratégies mises en place par la Lf : fixation à la membrane de l'amibe *Entamoeba histolytica* causant ainsi des dommages importants, inhibition de la croissance de *Toxoplasma gondii* dans ses cellules hôtes et interaction avec des récepteurs spécifiques présents à la surface de *Trichomonas vaginalis* et *Trypanosoma cruzi* (Pièce *et al.*, 2009).

III.1.3. Activité immunomodulatrice

La lactoferrine renforce la réponse immunitaire directement et indirectement, en réaction à un large éventail d'attaques immunitaires. La façon exacte dont elle exerce ses fonctions immunomodulatrices ou stimulantes du système immunitaire n'est pas nettement élucidée. Des récepteurs spécifiques à la lactoferrine sont situés sur de nombreuses cellules immunitaires, comme les lymphocytes, les monocytes et les macrophages. Elle est directement impliquée dans la régulation de l'activité des cellules naturelles tueuses (NK) [10].

Activité pro – inflammatoire : Les expressions modifiées de cytokines, la plupart proinflammatoires ont été détectées dans la présence de Lf exogène, avec une diminution de la production d'IL-10 (Broxmeyer *et al.*, 1987; Machnicki *et al.*, 1993; Guillen *et al.*, 2002 In Legrand *et al.*, 2006).

Activité anti – inflammatoire : La Lf est un puissant modulateur de la réponse inflammatoire protégeant l'organisme des agressions de pathogènes mais jouant également un rôle clef dans les pathologies inflammatoires. En interagissant avec les LPS et de nombreux récepteurs à la surface des cellules épithéliales et immunes, la Lf module la production de cytokines (TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-10) et le recrutement de cellules immunes au site de

l'inflammation et protège ainsi du choc septique (Pierce *et al.* ; 2009). Le mécanisme d'action de cette protection est illustré par la **Figure 3**.

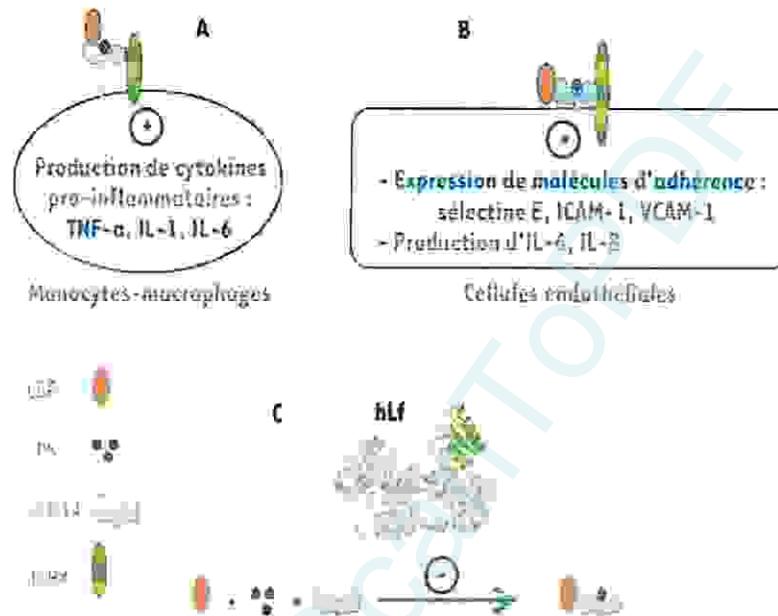


Figure 3 : La neutralisation des LPS par la lactoferrine empêche la formation du complexe ternaire ce qui protège l'organisme du choc septique (Pièce *et al.*, 2009).

Activité anti-oxydante : L'activation des monocytes/macrophages par les LPS ou le TNF- α déclenche l'activité phagocytaire et conduit à une production accrue d'espèces oxygénées réactives qui peut être amplifiée en présence de fer libre. La Lf libérée au site de l'inflammation, en piégeant le fer, limite ce processus et le dommage causé aux membranes cellulaires en prévenant la peroxydation des lipides. Récemment, une étude clinique sur une cohorte de 90 patients atteints d'hépatite C chronique montre que les sujets qui ont ingéré de la Lf bovine présentent une amélioration de leur statut oxydant hépatique (Konishi *et al.*, 2006).

Immunomodulation de la réponse Th1/Th2 : Les études expérimentales *in vitro* et *in vivo* montrent que la Lf induit l'expression du marqueur de différenciation CD4 et la maturation des lymphocytes T. Ainsi, elle semble induire une polarisation Th1 lors des maladies infectieuses et tumorales. Mais la Lf peut aussi inhiber les réponses Th1 en cas d'inflammation excessive et limiter ainsi les dommages tissulaires. Enfin la Lf protège des pathologies dues à un excès de cytokines Th1 ou Th2, comme les maladies auto-immunes ou les maladies allergiques, respectivement (Fisher *et al.*, 2006).

L'activation des cellules immunitaires : Une étude a montré que la Lf peut activer les macrophages par des voies de signalisation TLR4-dépendante et Indépendante. La liaison de la Lf aux macrophages améliore la phagocytose des agents pathogènes. Son administration orale stimule les fonctions immunitaires associées à l'intestin, y compris la production d'IL-18 et de l'interféron- γ , et a ensuite soulevé l'activité des cellules NK et l'activation accrue des lymphocytes T CD4⁺ et lymphocytes T CD8⁺ (Kuhara *et al.*, 2006). La **Figure 10** résume les différentes activités modulatrices de la lactoferrine

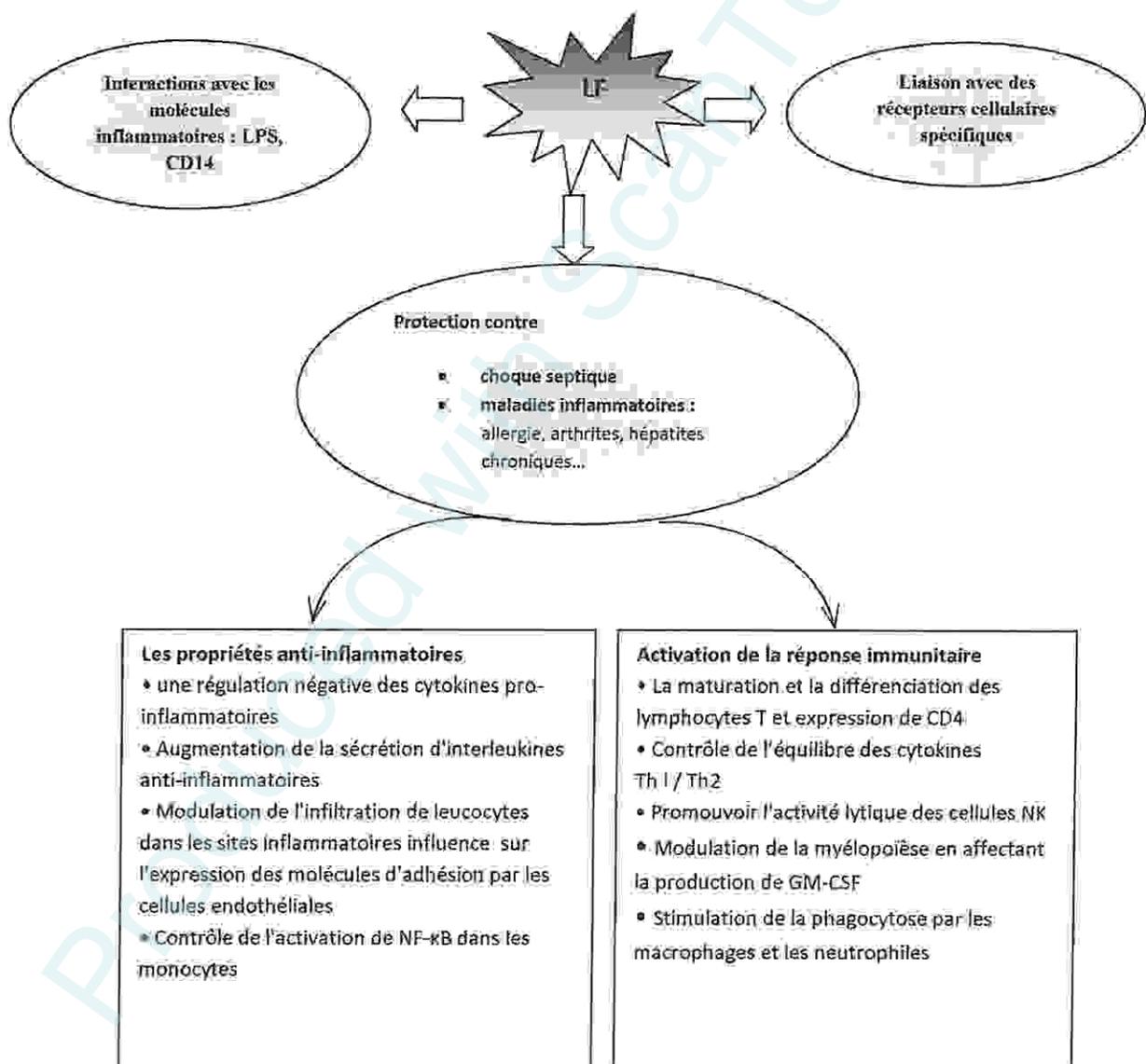


Figure 10 : modulation de l'inflammation par la lactoferrine (Legrand, *et al.* 2008)

III.2. Les caséines

Les études effectuées sur le rôle de caséines dans l'immunité se sont principalement basées sur les caséines les plus abondants dans le lait (α_1 – caséine, et la β – caséine).

III.2.1. Activités antibactériennes et immunostimulante de l' α_1 – caséine

A partir d'un hydrolysate de caséine totale bovine par la trypsine, Migliore Samour *et al.* (1989), ont isolé et purifié l'hexapeptide C-terminal de l' α_1 -caséine (Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp. CEI6). Celui-ci stimule, significativement, la phagocytose des hématies de mouton par les macrophages murins.

Un peptide anti-bactérien a été isolé après hydrolyse, par la chymosine, de la caséine bovine purifiée (Lahov et Regelson, 1996 In Jouan, 2002). Il a été dénommé isracidine. L'isracidine protège, efficacement, *in vivo*, contre l'infection par le Staphylococcus doré, souche Smith. Il peut, aussi, être utile pour la prophylaxie des mastites chroniques (Jouan, 2002).

III.2.2. Activités immunostimulante de la β – caséine

Les activités de l'immunomodulatrice des abrégés de la caséine ont bien été étudiées sur les cellules immunitaires en quantifiant le degré de phagocytose (Migliore-Samour *et al.*, 1989), de multiplication (Coste *et al.*, 1992), de production d'immunoglobuline (Hata *et al.*, 1998), et de cytotoxicité (Matin et Otani., 2002).

Des études effectuées sur la β – caséine bovine et sa ressemblance structurale avec celui de l'humain ont conduit Jolies *et al* en 1982 à rechercher la présence d'un peptide immunostimulant dans la β -caséine bovine. Ils ont isolé un hexapeptide correspondant à la séquence 63-68, -Pro-Gly-Pro-Ile-Pro-Asn- (Migliore-Samour et Jollès, 1988).

La β -caséine bovine renferme un autre peptide immunostimulant. Il s'agit du tripeptide, Leu-Leu-Tyr correspondant à la séquence 191-193 de la protéine (Migliore-Samour *et al.*, 1989). Il stimule la phagocytose des hématies du mouton par les macrophages du péritoine de la souris avec une activité similaire à celle de l'hexapeptide 63-68.

Enfin, il a été démontré par Wong *et al* en 1996 que la β -caséine bovine purifiée a des effets mitogéniques sur les lymphocytes T stimulés par la concanavaline et les lymphocytes B stimulés par le lipopolysaccharide. Elle stimule la production d'IL-1 par les macrophages. Cette cytokine est un puissant régulateur du système immunitaire.

Tous ces résultats montrent que la β – caséine bovine est immunomodulatrice et qu'elle est principalement, immunostimulante (Jouan, 2002).

III.3. L' α – lactalbumine

L' α -lactalbumine est une petite molécule constituée de 123 acides aminés et son poids moléculaire est de 14,2 KDa. La protéine native n'a aucun effet bactéricide, mais après hydrolyse, elle donne des peptides bactéricides.

III.3.1. Activités anti – bactériennes

L'hydrolyse de l' α -lactalbumine par de différents enzymes (trypsine, chymotrypsine), génère des peptides antibactériens vis-à-vis des bactéries Gram positif et Gram négatif. Ils sont plus efficaces contre les Gram⁻ que les Gram⁺. Les peptides issus de l'hydrolyse sont chargés négativement ce qui pourrait expliquer leur faible activité vis-à-vis des bactéries Gram⁻ dont la membrane externe est constituée de lipopolysaccharides à charge négative (Pellegrini *et al.*, 1999 In Gauthier *et al.*, 2006).

III.3.2. L' α – lactalbumine et défense immunitaire

L'administration d' α – lactalbumine, chez des souris immunisées par des érythrocytes de moutons, accroît la réponse immunitaire qui se traduit par une augmentation du poids du thymus, du nombre des thymocytes et des lymphocytes (Parker et Goodrum, 1990).

Un peptide synthétique Gly-Leu-Leu, correspondant à la séquence 51-53 à partir d' α -lactalbumine, augmente de manière significative la phagocytose des érythrocytes de mouton par les macrophages péritonéaux murins et protège les souris contre des infections létales de *Klebsiella pneumoniae* (Berthou *et al.*, 1987 In Guauthir, 2006). Ce peptide stimule également, de manière dose-dépendante, la fixation des érythrocytes humaines sénescents aux cellules monocytaires et macrophages, et leur phagocytose par ces cellules (Gattegno *et al.*, 1988 In Guauthir, 2006).

III.4. Les propriétés antimicrobiennes de la β – lactoglobuline

L'acylation des groupements aminés des molécules de lysine de la β -lactoglobuline par l'anhydride succinique ou anhydride de l'acide cis-aconitique confère à la protéine des propriétés anti-HIV-1 et HIV-2 *in vitro* (Swart *et al.*, 1996). Les β -lactoglobulines bovines A et B natives sont sans effet sur la réplication, *in vitro*, des virus HIV-1 et HIV-2 dans les lymphocytes TCD4 (Jouan, 2002). La β -lactoglobuline bovine modifiée par anhydride 3-hydroxyphthalique bloque, *in vitro*, la liaison entre les récepteurs des CD4 et les

glycoprotéines de surface des virus -HIV-1 et HIV-2 et du virus de l'immunodéficience du singe (VIS) (Neurath *et al.*, 1996).

Des fragments peptidiques sont produits par la digestion trypsique de la β - lactoglobuline et sont également actifs contre les bactéries à Gram-positif (Pellegrini, *et al.*, 2001 In Gauthier *et al.*, 2006).

III.5. Lactoperoxydase

La lactoperoxydase est une enzyme naturellement présente dans le lait. Elle possède des propriétés antimicrobiennes lorsqu'elle est associée à ses substrats qui sont le thiocyanate et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). L'ensemble de ces composants constitue le système lactoperoxydase (SLP). Leur première fonction est de catalyser l'oxydation de certaines molécules en présence de peroxyde d'hydrogène dans le but de générer des composés présentant une large activité antimicrobienne (Kussendrager et van Hooijdonk, 2000 In Sagoua, 2009). Elle joue un rôle important dans la protection des glandes mammaires et dans le tractus intestinal des nouveaux nés où elle inhibe la croissance des micro-organismes pathogènes (Naidu, 2000). La lactoperoxydase catalyse la peroxydation de l'ion thiocyanate SCN^- et des ions iodure et bromure I^- , Br^- pour donner les ions $OSCN^-$, OI^- , OBr^- , qui ont, soit une activité bactéricide, soit bactériostatique vis-à-vis de plusieurs espèces bactériennes (Ihalin *et al.*, 2005).

III.6. Le lysozyme du lait dans la réponse immunitaire

Le lysozyme est une enzyme qui digère les bactéries plutôt que les nutriments, en hydrolysant un lien dans les parois cellulaires de certaines bactéries, particulièrement le gram positif. Le lysozyme (comme la lactoferrine) est présent dans d'autres sécrétions exocrines. Sa concentration dans le lait augmente avec la durée de la lactation. Elle y est plus élevée que dans le sérum de la mère 4, 7 et 300 fois plus élevée que dans le lait de vache (Lawrence, 2005).

Le lysozyme peut être trouvé sous forme de complexe avec les Immunoglobulines de types A (IgA), ce qui permet une optimisation de l'agent bactéricide sur la surface bactérienne et augmente ainsi son efficacité (Adinolfi 1966 In Bernt et Walker, 2001). Sa résistance face à la dégradation du pH acide de l'estomac et la trypsine pancréatique lui confère une forte

résistance à la protéolyse intestinale où le lysozyme exerce sa fonction (Bernt et Walker, 2001).

III. 7. Les cytokines du lait et l'immunité

Le lait contient plusieurs cytokines polypeptidiques qui agissent en mode d'autocrine/paracrine en se liant aux récepteurs cellulaires spécifiques. Elles fonctionnent en réseaux et orchestrent le développement et les fonctions du système immunitaire. Plusieurs différentes cytokines et chimiokines ont été découverts dans le lait humain ces dernières années, et la liste se développe très rapidement. Ces cytokines sont entre autres IL-1, TNF- α , IL-6, IFN, GM-CSF, M-CSF. Elles agissent différemment dans le système immunitaire de l'enfant ; certains comme IL-1 et IFN- γ peuvent probablement influencer la production des agents de la défense, des IgAs, ou d'autres cytokines par la glande mammaire. Les Chimiokines CXC, qui sont des activateurs efficaces des neutrophiles, ont une activité chimiotactique pour les lymphocytes intestinaux intraépithéliaux et jouent un rôle important dans la défense de l'hôte contre des infections bactériennes. Les facteurs Colonie-stimulants, tels que M-CSF et GM-CSF, jouent un rôle important dans la prolifération, différenciation, et la survie des macrophages de lait. Le M-CSF induit les macrophages à produire le récepteur d'IL-1 antagoniste, une molécule anti-inflammatoire récemment découverte dans le lait humain (Garofalo, 2010).

III.8. Les oligosaccharides du lait inhibent l'adhésion des pathogènes

Le lait humain renferme une quantité importante d'oligosaccharides et de glycoconjugués qui agissent comme des ligands pour les microorganismes, les virus et leurs toxines. Pour déclencher une infection, les bactéries et les virus doivent s'attacher à des structures particulières sur les glycolipides ou les glycoprotéines à la surface des cellules épithéliales (Beaudry, 2006). Les oligosaccharides et les glycoconjugués du lait maternel inhibent l'adhésion sur leurs cellules cibles des bactéries, des virus, et des toxines. C'est le cas par exemple du pneumocoque et de l'*Haemophilus influenza* (Hanson *et al.*, 2002) sur l'épithélium du pharynx, ce qui permet de prévenir ces infections respiratoires (Hamost, 2001 ; Hanson *et al.*, 2002), de même que plusieurs autres (Coppa *et al.*, 1999 ; Newburg, 2000). Les composants les mieux connus de ce groupe sont la mucine et la

lactadhérine. On sait moins de choses sur les gangliosides ou les glycosaminoglycans (Hamosh, 2001).

En prévenant le développement des pathogènes, ils favorisent l'établissement d'une flore bifidogène. Selon Coppa *et al.*, 2004 In Beaudry, 2006, la différence considérable dans la composition de la microflore intestinale de bébés allaités et non allaités serait due à la différence dans la composition des laits, entre autres en oligosaccharides.

III.8. L'activité des cellules du lait dans la défense immunitaire

Les cellules immunitaires sont abondantes dans le lait. Elles sont constituées de globules blancs, ou leucocytes, qui combattent eux-mêmes l'infection et activent d'autres mécanismes de défense. La plupart des cellules sont des neutrophiles, un type de phagocyte qui circule normalement dans le sang. Les neutrophiles continuent d'agir comme phagocytes dans l'intestin du bébé. Cependant, ils sont moins agressifs que les neutrophiles sanguins et disparaissent virtuellement du lait maternel six semaines après la naissance. Le second leucocyte le plus commun est le macrophage. Son action est phagocytaire comme le neutrophile et remplit plusieurs autres fonctions protectrices. Les macrophages constituent quelque 40% de tous les leucocytes dans le colostrum. Ils sont beaucoup plus actifs que les neutrophiles dans le lait, et des recherches plus récentes suggèrent que leur mobilité soit plus importante que celles de leurs contreparties dans le sang. En plus de leur action phagocytaire les macrophages dans le lait maternel produisent le lysozyme, augmentent leur nombre dans les voies gastro-intestinales du bébé. De plus, les macrophages dans les voies digestives peuvent susciter l'action des lymphocytes contre les invasions. Les lymphocytes représentent 10% des globules blancs dans le lait. Ils sont constitués des lymphocytes B qui donnent lieu aux anticorps et des lymphocytes T, qui tuent directement les cellules infectées ou envoient des messages chimiques qui mobilisent d'autres composants du système immunitaire [11].

III.9. L'activité des immunoglobulines du lait dans la défense immunitaires

En réponse, des lymphocytes B migrent vers les glandes mammaires (ou autres glandes exocrines) où ils produiront des anticorps complexes capables de s'attacher à un récepteur spécifique à la base des cellules épithéliales de la glande mammaire (cellules

lactifères) ; c'est le lien « entéromammaire » (Beaudry, 2006). Ces complexes d'IgA attachés à la portion du récepteur appelée composante sécrétoire sont transportés à travers la cellule épithéliale dans le lait (ou autres sécrétions exocrines selon le cas) (Hanson *et al.*, 2002 In Beaudry, 2006).

Ces anticorps fournissent une immunisation passive aux jeunes mammifères. Ils sont immunostimulants lorsque ces anticorps augmentent les mécanismes de défense de l'organisme contre les maladies infectieuses et immunosuppresseurs lorsqu'ils réduisent l'inflammation et le développement des allergies; ensemble, ces immunoglobulines fournissent un équilibre délicat au cours des premiers jours de vie [12].

Ses efficacités de protection locale sont liées à leur plus grande résistance à la digestion acide et enzymatique, renforcée par la présence dans le lait de l' α_1 - antitrypsine. Ces IgA assurent leur rôle en inhibant l'attachement des agents pathogènes sur les glycoprotéines de la membrane intestinale. Par ce même mécanisme ils réduiraient également l'absorption de certains antigènes alimentaires, en liaison avec les autres facteurs solubles protéiques du lait maternel.

*PARTIE
EXPÉRIMENTALE*

Produced with Scantopdf

CHAPITRE IV :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

Produced with Scantopdf

Notre étude a été effectuée sur huit lapins. La partie expérimentale a été réalisée dans les laboratoires du département de biologie de l'université de Guelma, le laboratoire d'analyse médicale de Dr Boudraa, et le laboratoire de bactériologie médicale à l'hôpital d'Ibn Zhor de Guelma.

IV.1. Animaux et alimentation

IV.1.1. Animaux

Les expériences sont réalisées sur 8 lapins séparés aléatoirement en deux groupes de quatre individus (1^o groupe : S₁, S₂, S₃, S₄ et 2^o groupe : T₁, T₂, T₃, T₄ avec S = Spécimen et T = Témoin). Ces lapins sont âgés de 2 – 4 mois au moment de la réception. Chaque lapin est identifié en fonction d'un signe qu'il a reçu (Figure 11).



Figure 11 : photo des lapins étudiés

IV.1.2. Condition d'élevage

Les animaux sont hébergés dans la salle de l'animalerie du département de biologie à l'université 08 Mai 45 de Guelma. Cette pièce par son architecture confère une bonne aération aux animaux. La température ainsi que l'humidité de la salle ne sont pas contrôlées. Ils sont logés dans des cages en acier, dont les dimensions et la structure permettent aux animaux de vivre à l'écart des prédateurs. Ils sont soumis à un cycle de 13 heures de lumière du jour suivies de 11 heures d'obscurité de la nuit. L'eau et la nourriture leur sont disponibles dans ces cages. La nourriture est renouvelée tous les jours matin et soir, les cages sont nettoyées chaque matin de la journée.

Avant d'être sacrifié chaque lapin passe une nuit dans une cage métabolique, un lieu où son alimentation et l'eau lui sont disponibles (**figure 12**). Cet isolement ne change pas leurs régimes, mais permet de recueillir leurs selles pour l'analyse bactériologique.

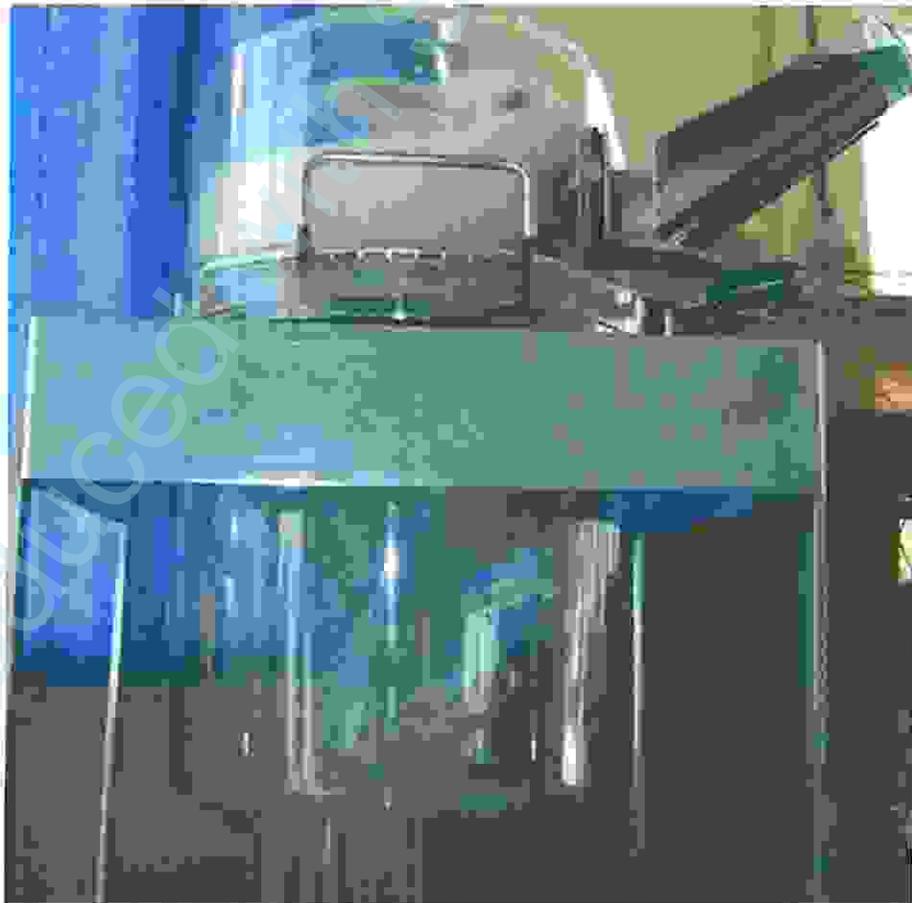


Figure 12: un lapin dans une cage métabolique

IV.1.3. Régimes

Chaque lapin des deux groupes est soumis à un régime habituel dont le menu est composé de salade, de la carotte, de l'eau et d'autres types d'herbe pendant 2 à 5 jours. Durant ce temps, chaque lapin du premier groupe est obligé à prendre (par gavage) une quantité de lait de vache. La valeur de cette quantité est estimée en fonction du poids corporelle de l'animal (0,5 ml pour 10 grammes).

IV.2. Les prélèvements

IV.2.1. Prélèvement du sang et des fèces

Le sang des lapins a été prélevé par ponction intraveineuse à l'aide d'aiguille au niveau des oreilles. Ces prélèvements effectués au 3^e jour sont immédiatement recueillis dans des tubes héparinés pour éviter la coagulation du sang. Les cellules sanguines sont comptées à l'aide d'un appareil d'énumération sanguine. Les échantillons de fèces ont également été recueillis individuellement au même jour par l'utilisation de la cage métabolique. Avant dilution chaque grain de selle est pesé puis broyer dans 10 millilitres de l'eau physiologique stérile. Deux dilutions décimales sont effectuées à partir de cette solution mère.

IV.2.2. Isolement des macrophages péritonéaux

Les animaux sont euthanasiés dans un dessiccateur avec du chloroforme, après avoir stérilisé le matériel de dissection et enlevé la peau sans ouvrir les muscles péritonéaux. 15ml de la solution de PBS (pour la préparation de cette solution voir annexe) sont introduit dans la cavité péritonéale à l'aide d'une seringue stérile. Cela mobilise les macrophages péritonéaux qui seront prélevé avec le PBS introduit (figure 12). La suspension obtenue est lavée 3 fois par des centrifugations de 1500 tours/mn pendant 5 minutes.

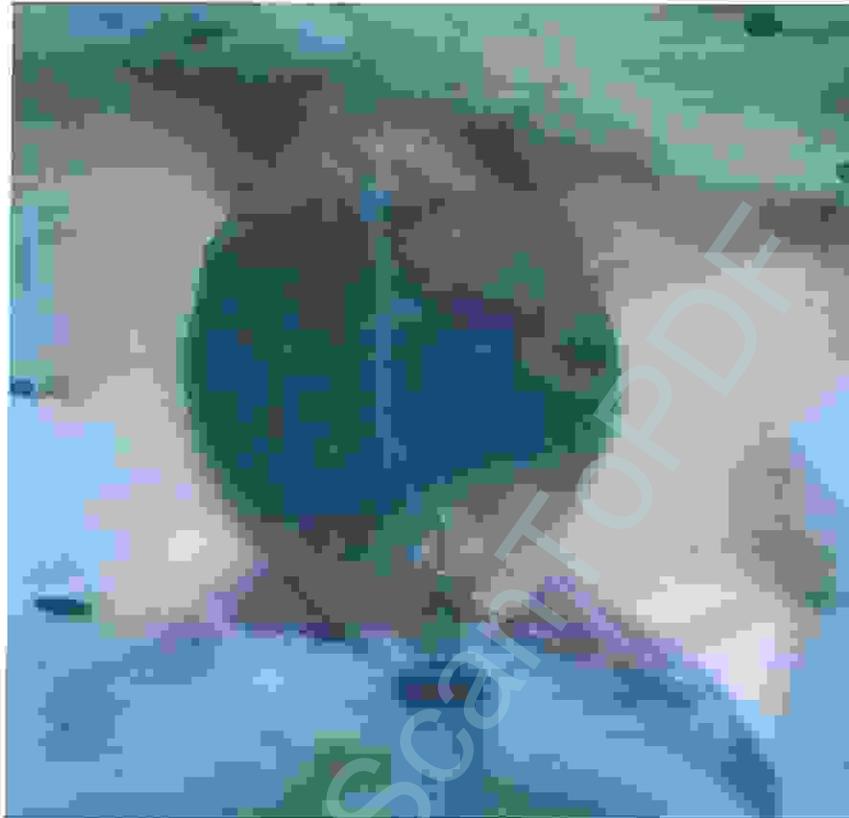


Figure 12 : prélèvement des macrophages péritonéaux

IV.2.3. L'isolement des cellules des plaques de Peyer

Après avoir ouvert la cavité péritonéale pour accéder aux intestins, les plaques de Peyer sont isolées à l'aide de deux pinces sous la loupe binoculaire. Elles sont déposées dans une boîte de pétri contenant du PBS puis dilacérée. La suspension cellulaire est placée dans un tube après être filtrée sur une gaze fixée à un entonnoir et puis centrifugée pendant 10 min à 1500 rpm. Le traitement de lavage est répété 3 fois.

IV.3. Études des prélèvements

IV.3.1. Le FNS

C'est un examen qui permet de comptabiliser les différents éléments figurés du sang. L'étude que nous avons effectuée s'est limitée aux leucocytes qui sont des principaux acteurs de la réponse immunitaire. Après prélèvement, les échantillons sanguins sont immédiatement transportés au laboratoire d'analyse médicale de Dr Boudraa où nous avons analysé nos spécimens de sang.

L'analyse est simple, il suffit d'allumer l'appareil et d'attendre que l'aiguille sorte, mettre l'échantillon puis appuyer sur la manchette et enfin patienter que le résultat soit imprimé par une imprimante reliée à la machine.

IV.3.2. Les macrophages péritonéaux et cellules des plaques de Peyer

A la fin du dernier lavage de la suspension cellulaire, le culot est remis en suspension dans 3ml de PBS, à partir de laquelle 100µl sont dilués dans 900µl de bleu de trypan (pour la préparation du bleu de trypan voir annexe). Ce mélange est laissé reposer pendant trois minutes pour permettre au colorant d'agir. Ce colorant permet de différencier les cellules vivantes des cellules mortes, car les cellules vivantes excluent le bleu de trypan en consommant d'énergie. Pendant ce temps de coloration, l'on place la cellule de Malassez sous l'objectif du microscope puis faire la mise au point du quadrillage de comptage.

Après pipetage, prendre quelques microlitres du mélange, le délivrer par capillarité entre la cellule de Malassez et lamelle en évitant tout débordement vers les rigoles. Les cellules dans les rectangles des quatre coins sont comptées puis les cellules colorées (mortes) sont énumérées pour pouvoir calculer le pourcentage de viabilité cellulaire. Le nombre cellules de l'échantillon est obtenu par la formule suivante :

$$N = \frac{n}{V} \times f$$

N : nombre de cellules dans l'échantillon

n : nombre de cellules comptées sur la lame

V: volume de comptage

f : facteur de dilution

Le pourcentage de viabilité est calculé selon l'équation suivante:

$$\text{Viabilité (\%)} = \frac{(\text{Nombre total des cellules} - \text{Nombre de cellules mortes}) \times 100}{\text{Nombre total des cellules}}$$

IV.3.3. Analyses bactériologiques

Des fèces recueillies à la fin de chaque expérience pour la recherche de la flore commensale sont dilués au 1/1000 avant d'être étalées sur gélose nutritive (GN), sur Mac conkey (MC) et gélose au sang frais (GSF). Après une incubation de 24 heures, on passe à la lecture des cultures. Les bactéries ont été dénombrées en comptant le nombre de colonies semblables par ensemencement. Elles sont passées à une coloration de gram puis ré-isolement sur MC pour pouvoir les identifier par la méthode d'Api système (Api 20 E : dispositif d'identification des vingt caractères les plus importants des Entérobactéries) (figure 13). L'identification des lactobacilles s'est limitée au test de catalase, d'oxydase, et de mobilité. Cette étape permet ici d'identifier les souches retrouvées chez chaque animal afin de comparer quelques une d'entre elles. Dans le cas où une culture contient deux ou plusieurs types de souches, nous nous sommes limités aux souches communes entre les différents lapins.



Figure 13 : Aspect de l'API 20E avant 1 et après 2 poussées de la suspension bactérienne

CHAPITRE V :
RÉSULTATS ET
DISCUSSIONS

Produced with Scantopdf

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence du lait de vache sur le système immunitaire et de la flore fécale des lapins. Ce lait est obtenu au niveau des vaches en cours d'allaitement, sans suivre aucune modification artificielle ou industrielle. Il est additionné au régime de base des lapins. Pour chacun de ces deux régimes (régime de base et régime de base plus du lait), nous avons étudié l'évolution des paramètres immunitaires en comptant les leucocytes du sang, les cellules de plaque de Peyer et les macrophages péritonéaux. Nous nous sommes également intéressés aux flores commensales cultivables sur GN, MC et GSF à la fin de l'expérience et aux poids des lapins. Sur chacun de ces études nous avons obtenu des résultats qui sont résumés dans les tableaux 5 à 8.

V.1. Effet du lait de vache sur le poids corporel des lapins

Les lapins ont tous été pesés au début et à la fin de l'expérience. Les résultats des poids corporels obtenus avant et après régimes et présentés dans le **tableau 5**, montrent une petite augmentation chez tous les animaux qui ont suivi l'expérience. Cela est dû à l'évolution des animaux qui étaient en pleine croissance à cause de leur jeune âge. Elle est également liée aux régimes et à la durée de l'expérience.

Tableau 5 : effet du lait de vache sur le poids corporel des lapins.

Lapins	Poids initial (PI) g	Poids final (PF) g
Les témoins	251	252
Les traités	322	325.5

V.2. Effet du lait de vache sur les macrophages péritonéaux et les plaques de Peyer des lapins

Pour chaque régime, nous avons calculé la moyenne de numération et la viabilité cellulaire obtenus individuellement pour les 6 lapins composant les deux lots. Ceux des deux lapins décédés au 5^e jour du traitement n'ont pas été pris en compte, car nous n'avons pas pu énumérer leurs macrophages péritonéaux et les cellules de plaque de Peyer. Les résultats présentés dans le **tableau 6**, montrent une viabilité de 94,6 à 98% ce qui explique le respect des différentes étapes de l'expérimentation. Sur ce **tableau** ci-dessous, nous observons que le nombre des macrophages péritonéaux a augmenté de 77×10^3 à 110×10^3 cellules/ μl et de 128×10^3 à 180×10^3 cellules/ μl pour les cellules de plaque de Peyer. Signalons que cette augmentation a atteint une valeur respective de 43% et 41%. Ce qui explique que les constituants du lait de vache ont un effet positif sur la production des cellules immunes des lapins. Donc le lait pourrait être un élément très important pour augmenter une réponse immunitaire intestinale et péritonéale adéquate. Pour le constituant du lait responsable de cette stimulation, ça pourrait être la lactoferrine parce que plusieurs études ont montré son efficacité dans ce sens (Pierce *et al.*, 2009).

Les constituants du lait en traversant la muqueuse intestinale par transcytose vont agir sur les cellules immunes pour donner des réponses diverses. Parmi ces réponses, il y a l'augmentation du nombre et l'activation des cellules immunes.

Tableau 6 : effet du lait de vache sur le nombre et la viabilité des macrophages péritonéaux et les cellules des plaques de Peyer des lapins.

Lapins	Macrophages péritonéaux			Cellules des plaques de Peyer		
	Moyenne des macrophages (cellules/ μl)	% de l'augmentation	Viabilité cellulaire	Moyenne des cellules (cellules/ μl)	% de l'augmentation	Viabilité cellulaire
Les témoins	77×10^3	x	95.7%	128×10^3	x	94.6%
Les traités	110×10^3	43%	98%	180×10^3	41%	97.09%

V.3. Effet du lait de vache sur les leucocytes sanguins

Nous avons effectué un prélèvement du sang à fin de compter le nombre des différentes populations leucocytaires pour les témoins et pour les traités. L'analyse a été réalisée à l'aide d'un appareil sophistiqué dans le laboratoire d'analyse médicale de Dr Boudraa. Le **tableau 7** présente les résultats.

Pour les leucocytes du sang, et d'après les résultats présentés **tableau 7** on remarque une augmentation de certaines populations et une réduction d'autres. Les augmentations ont été observées au niveau des lymphocytes, les monocytes, et les éosinophiles. Quant aux basophiles et les neutrophiles, leurs taux ont été réduit légèrement chez les traités par rapport aux témoins. Cela montre l'effet régulateur du lait. Les neutrophiles jouent un rôle très important dans les réponses contre les infections bactériennes. A cet effet son taux augmente lors d'une infection bactérienne et au niveau du site de celle-ci. Hors de cela, l'organisme réduit son nombre. Le lait par ces constituants à fonctions multiples favorisent l'organisme de répondre dans ce sens.

Les basophiles contiennent de volumineuses granulations cytoplasmiques remplies des médiateurs pro-inflammatoires. Donc ces taux diminués prouvent que les animaux n'étaient pas infectés au moment des expériences.

L'augmentation des lymphocytes, éosinophiles et monocytes, défend l'idée que certains constituants du lait ont un effet sur la production des cytokines agissent de plusieurs façons pour donner des résultats différentes y compris l'augmentation des leucocytes. En allant dans ce sens, ces molécules mènent la différenciation des cellules souches vers la production des lymphocytes, des éosinophiles ou des monocytes selon les besoins de l'organisme. Cet avis confirme des études effectuées sur l'alpha-lactalbumine par Parker et Goodrum en 1990.

Ces résultats sur les leucocytes sanguins suggèrent que le lait a un double effet (régulation négatif/positif) sur le système immunitaire.

Tableau 7 : effet du lait de vache sur les différentes populations des globules blancs du sang des lapins.

Leucocytes sanguins		Témoins	Traités
Lymphocytes	Moyenne	1.76×10^3 cellules/ μ l	2.99×10^3 cellules/ μ l
Monocytes	Moyenne	0.2×10^3 cellules/ μ l	0.26×10^3 cellules/ μ l
Basophiles	Moyenne	0.27×10^3 cellules/ μ l	0.255×10^3 cellules/ μ l
Eosinophiles	Moyenne	0.11×10^3 cellules/ μ l	0.145×10^3 cellules/ μ l
Neutrophiles	Moyenne	0.04×10^3 cellules/ μ l	0.035×10^3 cellules/ μ l

V.4. Effet du lait sur la flore fécale

Concernant l'effet du lait sur la flore commensale, les résultats obtenus et présentés dans le **tableau 8** sont exprimés en unité formant colonies par gramme de selle (UFC/g). On remarque trois espèces bactériennes qui sont communes aux lapins témoins et traités (*Lactobacilles*, *Enter agglomerous*, et *Morganella morganii*) et un type bactérien qui n'est présent que chez les témoins (*Shigella sp.*).

En outre, ces résultats montrent une augmentation des *Lactobacilles*, *Enterobacter agglomerous*, et *Morganella morganii* chez des lapins traités. L'augmentation des *Lactobacilles* n'est pas étonnant, car c'est une espèce bactérienne du lait et sa présence dans le lait provoque une acidification du milieu (Seignalet et Joyeux, 2004).

Etant donné le traitement des lapins est fait par voie digestif, cela permet son passage dans le grêle où les lactobacilles se développent, acidifient l'environnement intestinal et provoque l'évolution des bactéries commensales. Ce-ci explique l'augmentation des *Enterobacter agglomerous*, et *Morganella morganii*.

Pour le *Shigella sp.*, il pourrait être une forme pathogène, dans ce cas les explications précédentes justifient son absence chez les traités. Les lactobacilles en acidifiant l'environnement intestinal empêchent aux bactéries pathogènes de se développer voire même de disparaître (Seignalet et Joyeux, 2004).

Tableau 8 : effet du lait de vache sur la flore commensale des lapins.

Lapins	<i>Lactobacilles</i> (UFC/g de fèces)	<i>Enter agglomerous</i> (UFC/g de fèces)	<i>Morganella morganii</i> (UFC/g de fèces)	<i>Shigella sp.</i> (UFC/g de fèces)
Témoins	10^6	$0,7 \times 10^6$	$0,1 \times 10^6$	$0,1 \times 10^6$
Traités	$1,2 \times 10^6$	10^6	$0,83 \times 10^6$	0

*CONCLUSION ET
PERSPECTIVES*

Produced with ScanTOPDF

Au cours de notre travail nous avons tenté d'étudier l'effet des constituants du lait sur le système immunitaire. Pour bien comprendre la relation lait-système immunitaire, nous avons étudié l'effet du lait de vache sur certains paramètres immunologiques des lapins (macrophages péritonéaux, cellules des plaques de Peyer, leucocytes du sang et le nombre de certaines espèces bactériennes commensales).

Les résultats indiquent que le lait a des effets remarquables sur le fonctionnement du système immunitaire et sur la flore intestinale. Ses composants agissent sur plusieurs niveaux en améliorant l'immunité de l'organisme et en diminuant le risque des bactéries pathogènes.

L'une des lacunes dans ce travail est l'utilisation du lait tout en entier pour suivre ce traitement. Ce pendant, il faut toujours mettre en considération la spécificité des espèces car la composition du lait de vache est liée aux besoins des veaux et non pour les lapereaux.

Ce travail est un préliminaire, dans le futur il est préférable de travailler sur le lait de vache en général et les constituants en particulier et faire l'expérience sur les humains, car c'est un élément additif de nutrition. Ce travail en appelle d'autres, afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans ces différentes modulations.

- Abiazar R. (2007) : Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubie Propriétés technologiques des coagulums obtenus, Thèse doctorale, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 196p.
- Abbas A.K. et Lichtman A.H. (2009): Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique, Ed. Elsevier, 3eme édition, Paris, 308p.
- Amiot J., Fournier S., Y., Paquin P. et Simpson R. (2002) : Composition, propriétés physicochimiques, valeurs nutritive, qualité technologiques d'analyse du lait In presses internationales polytechnique Ed, Montréal, Québec, Canada, pp: 1 – 73.
- Baltzer I., Strandvik B. et Telemo E. (2003): The Transfer of Immunity from Mother to Child, *Ann N Y Acad Sci*, 987: 199-206.
- Beaudry M., Chiasson S., et Lauzière J. (2006) : Biologie d'allaitement, Ed. Le Delta I, Québec, 614p.
- Bernt K. et Walker A.W. (2001): Human milk and the response of intestinal epithelium to infection In Kluwer Academic/ Plenum ed; New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, pp: 3 – 10.
- Bourrillon A. (2008) : Pédiatrie, Ed.Elsevier Masson, Paris, 837p.
- Coppa G.V., Pierani P., Zampini L., Carloni I., Carlucci V., et Gabrielli O. (1999): Oligosaccharides in Human Milk During Different Phases of Lactation, *Acta Paediatr*, 88(Suppl. 430) : 89-94.
- Coste M., Rochet V., Leonil J., Molle D., Bouhallab S. et Tome D. (1992): Identification of C-terminal peptides of bovine beta-casein that enhance proliferation of rat lymphocytes. *Immunol Lett*, 33: 41–6.
- Cuibai F. (2008) : L'influence de la lactoferrine, de probiotiques et du SM3 (extrait enrichi en sphingolipides) sur des fonctions immunitaires de la souris, Thèse doctorale, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 195p.

- Ellison R., Giehl T. et Force F. (1988) : Damage of the outer membrane of Gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin. *Infect. Immun.* 56, 2774-2781.
- Espinosa E. et Chillet P. (2006) : *Immunologie*, Ed. ellipses, Paris, 432p.
- FAO (1995) : *Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine*, Ed. Bibliothèque David Lubin, Rome 300p.
- Fisher R., Debbabi H., Dubarry M., Boyaka P. et Tomé D. (2006) : Regulation of physiological and pathological Th1 and Th2 responses by lactoferrin, *Biochem Cell Biol* , 303-311.
- Finkelstein R. A., Sciortino C. V. (1983) : Role of iron in microbe-host interactions *Rev Infect Dis* 5 Suppl 4: S759-77.
- Gauthier F.S., Pouliot Y., et Saint-Sauveur D. (2006) : Immunomodulatory peptides obtained by the enzymatic hydrolysis of whey proteins, *International Dairy Journal*, 1315-1323.
- Gorochov G., Papo T (2000) : *Immunologie*, Ed. Doin, Paris, 53p.
- Hamosh M. (2001) : Bioactive factors in human milk, *Pediatr Clin North Am*, 48(1): 69-86.
- Hanson L.A., Korotkova M., Haversen L., Mattsby-Baltzer I., Hahn-Zoric M., Silfverdal, B. Strandvik S.A. et Telemo E. (2002) : Breast-feeding, A Complex Support System for the Offspring, *Pediatr Int*, 44(4) : 347-352.
- Hata I, Higashiyama S., Otani H. (1998) : Identification of a phosphopeptide in bovine alpha s1-casein digest as a factor influencing proliferation and immunoglobulin production in lymphocyte cultures. *J Dairy Res*, 65:569-78.
- Homberg J. C. (1999) : *Immunologie Fondamentale*, Ed. Estem, Paris 232p.
- Ihalin R., Nuutila J., Loimaranta V., Lenander M., Tenovuori J., et Lilius E.M. (2005) : Susceptibility of *Fusobacterium nucleatum* to killing by peroxidase-iodine-hydrogen peroxide combination in buffer solution and human whole saliva. *Anaerobe*, 9, 23-30.
- Janeway C. A et Travers P. (1997) : *Immunobiologie*, De Boeck (ed), 2eme édition, Paris, Bruxelles 582p.

- Janeway C. A., Travers P., Walport M., et Shlomchik M. J. (2003): *Immunobiologie*, De boeck Ed, 2e edition, Paris, Bruxelles, 796p.
- Jensen H. et Hancock R.E. (2008). Antimicrobial properties of lactoferrin, *biochimie*, 19-29.
- Jouan P. (2002): *Lactoprotéine et lactopeptide, Propriété biologique*, Ed. INRA, Paris 130p.
- Kindt T. J., Richard A., Goldsby., Barbara A. et Osborne (2007): *Immunologie, le cours de Janis kuby avec questions de révision*. Ed. Dunod, 6eme édition, Paris 584p.
- Konishi M., Iwasa M., et Yamauchi K. (2006): Lactoferrin inhibits lipid peroxidation in patients with chronic hepatitis C. *Hepato Res*, 36: 27-32.
- Kuhara T., Yamauchi K. et Takase M. (2006): Oral administration of lactoferrin raises NK cell activity in mice, *Biochim. Cell Biol*, 382-403.
- Lawrence R. A. et Lawrence R.M. (2005): *Breastfeeding, a guide for the Medical Profession*, Ed. Elsevier Mosby, 6eme edition, Philadelphie, 455p.
- Legrand D., Ellass E., Carpentier M., Mazurier J. (2006): Interaction of lactoferrin with cells involved in immune function, *Biochem. Cell Biol*, 282-290.
- Male D., Brostoff J., Roth D B., Roitt I. (2007): *Immunologie* , Ed. Elsevier Masson, 7eme édition, Paris, 624p.
- Massol M. (1998): allaitement maternel et lait de vache, *Aesculape*, 1 (10).
- Marin D. M. et Otani H. (2002): Cytotoxic and antimicrobial activities of chemically synthesized k-casecidin and its partial peptide fragments, *J Dairy Res*, 69:329-34.
- Migliore-Samour D., Floc'h F. et Jolles P. (1989): Biologically active casein peptides implicated in immunomodulation, *J .Dairy Res*, 56:357-62.
- Migliore-Samour D. et Jolles P. (1988): Casein a prohormone with an immunomodulating role for the newborn, *Experientia*, 44,188-193.
- Naidu A.S. (2000): *Lactoferrin: natural, multifunctional, antimicrobial*, Ed. CRC Press Boca, Raton London, New York, Washington 93p.

- Neurath A., Jiang S., Strick N., Lin K., Li Y.Y et Debnath K. (1996): Bonine β -lactogloulin modified by 3-hydraxyphthalic anhydride blocks the CD4 cell receptor for HIV, *Nature Med.*, 2. 230-234.
- Newburg D.S. (2000): Oligosaccharides in Human Milk et Bacterial Colonization, *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 30(2): 8-17.
- Parker N., et Goodrum K. (1990): A comparaison casein lactalbumine and soy protein effect on immune reponse to a T_H1 dependent antigen, *Nutr. Res.*, 10:781-792.
- Perham P. (2003): *Le système immunitaire*, Ed. De Boeck, Paris, Bruxelles, 407p.
- Perraudin J.P. (1991): Protéines à activités biologiques: lactoferrine et lactoperoxydase Connaissances récemment acquises et technologies d'obtention, Elsevier/INRA, 71, 191-211.
- Pierce A., Legrand D. et Mazurier J. (2009) : la lactoferrine : une protéine multifonctionnelle, *Médecine science* 25 (4): 361-9.
- Roberto G. M. (2010): Cytokines in human milk. *J Pediatr.*, 36-40.
- Roitt I. et Rabson A. (2000): *Immunologie Médicale*, Ed. Maloine, Paris, 272p.
- Sagoua W. (2009): Etude synergique du couplage du Système Lactoperoxydase avec d'autres molécules naturelles actives ayant des propriétés antifongiques pour l'amélioration de la conservation en frais des bananes, Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des pays de vaucluse, 219p.
- Seignalet J. et Joyeux H. (2004) : *L'alimentation ou la troisième médecine*, 5e édition, édité par l'Office d'Édition Impression Librairie (O.E.I.L.): François-Xavier de Guibert, Paris, 658p.
- Swart P., Kuiper M., Smit C., Pauwels R., Bethum M-P., De clerq E., Meijer D. et Huiman J. (1996): Antiviral effects of milk proteins: acylation results in polyanionic compounds with potent activity against human immunodeficiency virus type 1 and 2 in vitro AIDS, *Res Hum, Retrov.*, 12: 769-775.
- Valentina S.E.P. (2009): Fractionnement de protéines du lait par filtration dynamique, Thèse Doctorale, Université de technologie Compiègne 159p.

- Vierling E. (2008) : Aliments et boissons : filières et produits, Ed. doin, 3eme édition, Bordeaux, 284p.

Sites Web:

- [1] Guggenbühl N., (2004) : Des probiotiques pour « booster » l'immunité.
www.healthandfood.be/html/fr/article/64/probio_booster_immu.htm, mise à jour Mars/Avril 2004 et Sciences Today, date de consultation le 29 Mars 2010.
- [2] Anonyme, wikipedia.org/wiki/Cytokine, Dernière modification le 26 mars 2010 à 01:10, date de consultation le 02 avril 2010.
- [3] Anonyme, le Lait maternel, www.wikipedia.fr, mise à jour le 8 avril 2010, date de consultation : 27 Avril 2010.
- [4] Anonyme, Lait d'animaux laitiers www.cd3wd.com/CD3WD_40, date de consultation : 27 Avril 2010.
- [5] Anonyme, Les avantages de l'allaitement maternel, www.doctissimo.fr/html/nutrition, date de consultation 26 Avril 2010.
- [6] Anonyme, Dossier sur le lait de Vache, www.laitetsante.com/article3,
Date de consultation le 28 Avril 2010.
- [7] Djelouat et Lahaye, Le lait Maternel un Nouveau Regard, knol.google.com, mise à jour 31 Août 2009, date de consultation le 26 Avril 2010.
- [8] Anonyme, Comparaison lait de femme / lait de vache, <http://www.med.univ-montp1.fr>, date de consultation : 27 Avril 2010.
- [9] Thirion M., Lait et défenses immunitaires,
www.santeallaitementmaternel.com/se_former, date de consultation : 26 Avril 2010.
- [10] Anonyme (1999): Lactoferrine, www.oralia.com/fichier/. Date de consultation: 21 avril 2010.
- [11] Newman J., Comment le lait maternel protège les nouveaux-nés,
www.mamadearest.ca/fr/download/newman, date de consultation 30 Avril 2010.

- [12] Bel S. J., Concentré de protéines de petit-lait enrichi d'immunoglobulines,
www.milkingredients.ca/DCP/app/filerepository, date de consultation : 08 Mai 2010.

Produced with ScanTOPDF

Protocole de préparation de la solution de PBS :

La préparation de PBS nécessite une préparation préalable de solution d'HCl de NaOH

- Préparation d'HCl 0,1N : Ajoutons 50ml d'eau distillée dans 0,93 ml d'Hcl
Agitons ce mélange
Ajoutons 40,7 ml d'eau distillée
- Préparation du NaOH 0,1N : Dissoudre 0,4g de NaOH dans 50ml d'eau distillée
Ajoutons d'eau distillée pour à 100 ml de solution
- Pour la solution de PBS : 1,6 g de Nacl
230 mg de Na_2HPO_4
20 mg de KH_2PO_4
20mg de Kcl

Sont dissous dans 200ml × 5 d'eau distillée

Pour ajustement du pH de cette solution à 7,2 les solutions du NaOH 0,1N et d'HCl 0,1N sont utilisées

Protocole de préparation du bleu de trypan :

- 0,2 g de bleu de trypan dans 100 ml d'eau distillée,
- Agitons à l'aide d'un agitateur magnétique
- Filtrons ce mélange sur un papier whatman N°2

Résumé

L'immunité d'un organisme est assurée par un ensemble de mécanismes découlant d'une coopération moléculaire et cellulaire. L'efficacité de ces mécanismes de défense est liée à l'état physiologique et à la maturité de l'organisme, et aux nutriments qu'acquiert celui-ci.

Le lait est l'un de ces nutriments qui modulent les fonctions immunitaires des mammifères. Par sa composition en molécules complexes à fonction multiples et en cellules immunes, le lait améliore la résistance aux maladies et participe par ses propriétés à l'état de santé général des individus.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet du lait de vache administré par gavage sur le nombre des macrophages, des cellules des plaques de Peyer, des leucocytes du sang et des bactéries de la flore commensale des lapins. Les résultats obtenus ont montré pour tous les paramètres étudiés une nette efficacité de l'apport de lait, ceux qui confirment l'importance de cet aliment dans la modulation de l'immunité de l'hôte. Cependant, des travaux supplémentaires sont nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents.

Mots clés : système immunitaire, composants du lait, plaque de Peyer, leucocytes du sang, macrophages péritonéaux, immuno-modulation, la flore commensale.

Produced with

Summary

The immunity of an organism is ensured by a set of mechanisms from a molecular and cellular cooperation. The effectiveness of these defense mechanisms is related to the physiological condition, maturity of the organism and nutrients.

Milk is one of those nutrients that modulate immune function in mammals. By its composition according to many complex molecules and immune cells, milk improves resistance to disease and participates by its properties in the overall health of individuals.

The objective of this work is to study the effect of cow milk on the number of macrophages, Paneth cells, blood leukocytes and bacteria of the commensally flora of rabbits. The results showed for all parameters a net efficiency of milk intake, these confirm the importance of this nutriment in the modulation of host immunity. However, further work is needed to understand these mechanisms.

Keywords : immune system, components of milk, Paneth cells, leukocytes, peritoneal macrophages, immune modulation, the commensally flora.

Produced with Scantopdf

ملخص:

تؤمن مناعة الجسم بمجموعة آليات تنجم عن تعاون جزئي و خلوي. ترتبط فعالية هذه الآليات الدفاعية بالوضع الفيزيولوجي، اكتمال نمو الجسم وبالأغذية الذي يتحصل عليها.

يعتبر الحليب واحداً من هذه الأغذية المعدلة للوظائف المناعية للشدييات. من خلال تركيبته من جزيئات معقدة ذات وظائف متنوعة ومن خلايا مناعية، فالحليب يحسن مقاومة الأمراض و يشارك من خلال خصائصه في الوضع الصحي العام للأفراد.

يهدف هذا العمل إلى دراسة مفعول حليب البقر المعطى عن طريق الزق على عدد الخلايا البالعة، خلايا صفائح "بييار"، الكريات البيضاء الدموية و البكتيريا المتطفلة لأرانب. وقد بينت النتائج المتحصل عليها فعالية الحليب الواضحة على كل العوامل المدروسة، مما يؤكد أهمية هذا الغذاء في تعديل مناعة الجسم. مع ذلك، يتطلب هذا العمل إجراء دراسة إضافية ومكتملة من أجل فهم أفضل للآليات الخفية.

الكلمات المفتاحية: الجهاز المناعي، مكونات الحليب، صفائح "بييار"، الكريات البيضاء الدموية، البالعات الصفافية، تكيف مناعي، البكتيريا المتطفلة.