

- Devenir des probiotiques dans le tractus digestif humain
- Modulation de l'activité de la β -galactosidase de *S. thermophilus* par la flore intestinale humaine
- Echec de l'utilisation de *L. rhamnosus* contre la dermatite atopique chez le nourrisson
- Effet immunitaire de probiotiques chez l'homme sain : test d'une relation dose-réponse
- Des probiotiques pour le traitement du rhume et de la grippe
- Exploration de l'effet anti-obésité d'un probiotique producteur d'acides linoléiques conjugués
- Evaluation des effets des probiotiques sur le tractus intestinal de l'homme
- Un probiotique réduit les lésions pulmonaires chez la souris
- Un probiotique pour la mère sans effet pour son nouveau-né
- Une bifidobactérie régulant la production de TGF- β via la protéine Smad7
- Rôle des bactéries commensales dans l'immunité intestinale

Cette lettre de veille sur les bactéries lactiques est une production de la mission scientifique de

SYNDIFRAIS

Directeur de la publication
Bernard Cochin (Syndifrais)

Coordinateur scientifique
Denis Mater

Comité de lecture

la Mission scientifique Syndifrais
Jean Louis Bresson (Hôpital des enfants malades, Paris), Nadine Cerf-Bensussan (Hôpital Necker, Paris), Jean Fioramonti (INRA, Toulouse), Robert Ducluzeau (Directeur de recherche INRA), Jean-Marie Eustache (MLC), Irene Lenoir-Wijnkoop (Danone Vitapole), Laure Jolly (Nestlé France), Brigitte Rousseau (Yoplait), Purification Relano (Danone Vitapole)

Veille scientifique
Vanessa Bodot (CERIN)

Éditeur



Responsable de l'information
Eric Labouze (BIO Intelligence Service)

Rédacteur
Lamy Moulay (BIO Intelligence Service)

Yaourts & Laites fermentés

Décembre 2006 - Lettre N° 30

Santé • Nutrition • Flore

VEILLE SCIENTIFIQUE • BACTERIES LACTIQUES VIVANTES • PROBIOTIQUES

édito

Lactobacillus bulgaricus - les leçons de sa séquence génomique

Dr Maarten van de Guchte

Institut National de la Recherche Agronomique, INRA, Unité de Génétique Microbienne, Jouy-en-Josas, France

Le yaourt, produit issu de la fermentation du lait par *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*) et *Streptococcus thermophilus*, a une réputation établie de longue date en tant que produit d'intérêt nutritionnel, naturel et sûr au plan de la sécurité alimentaire, ainsi qu'en tant qu'élément d'une alimentation saine. Il est à la base du concept de probiotique. Du point de vue économique, c'est le produit le plus important parmi les produits laitiers fermentés alors même que le marché des produits dérivés contenant d'autres probiotiques (comme *Lactobacillus casei*) est en pleine expansion.

Depuis la publication récente de la séquence complète du génome de *L. bulgaricus*, précédée de deux ans par celle de *S. thermophilus*, nous disposons d'une mine d'informations pour étudier comment les bactéries du yaourt interagissent entre elles et avec leur environnement.

L'analyse du génome de *L. bulgaricus* nous montre que ce probiotique est en pleine évolution, ce qui apparaît comme une adaptation au lait, milieu riche en lactose et en protéines. Un très grand nombre de pseudogènes et des voies métaboliques incomplètes indiquent en effet que cette bactérie a perdu beaucoup de ses capacités à métaboliser les sucres et à synthétiser les acides aminés pour mieux profiter des ressources du lait.

L. bulgaricus est un membre du complexe acidophilus, un groupe de lactobacilles très proches les uns des autres, qui comprend un grand nombre d'espèces se prévalant de caractéristiques probiotiques (*L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. gasseri*). Ce groupe anciennement connu sous la dénomination *delbrueckii* a reçu son nom actuel lorsque le contenu en bases GC de *L. delbrueckii* (50%) s'est révélé très différent de celui des autres membres du groupe (35%). Le génome de *L. bulgaricus* révèle que cette différence concerne essentiellement la position 3 des codons où la teneur en GC est éminemment élevée en comparaison à d'autres bactéries. Cette observation suggère que *L. bulgaricus* est en train d'évoluer vers une plus grande teneur en GC ; ce contenu atypique en GC semble donc refléter une évolution récente qui indique un avenir différent plutôt qu'un passé différent.

Du point de vue phénotypique, *L. acidophilus* et *L. johnsonii* se ressemblent plus entre eux que l'un et l'autre ne ressemblent à *L. bulgaricus*. Pourtant, l'analyse des ARNr 16S, tout comme la phylogénie que l'on peut maintenant établir en considérant l'ensemble des séquences protéiques déduites du génome, montrent sans ambiguïté que *L. acidophilus* est plus apparenté à *L. bulgaricus* qu'à *L. johnsonii*. Des transferts génétiques horizontaux de grande envergure semblent s'être produits entre *L. acidophilus* et *L. johnsonii*, expliquant (au moins en partie) leur ressemblance.

Ainsi, *L. bulgaricus* est plus proche des autres membres du complexe acidophilus qu'on ne le pensait, ce qui fait resurgir une ancienne controverse sur le fait que cette bactérie doive ou non être considérée comme probiotique. Tandis que *L. bulgaricus* a déjà été impliqué dans l'amélioration de la tolérance au lactose, la séquence du génome récemment établie suggère que la souche ATCC11842 est également capable de produire du folate, une vitamine essentielle du groupe B. Ces deux propriétés sont en accord avec la définition proposée par la FAO selon laquelle "les probiotiques sont des micro-organismes qui, administrés en quantités adéquates, confèrent à l'hôte un bénéfice santé".

Considérant l'évolution qui s'opère chez cette bactérie, on peut s'attendre à des différences importantes entre les souches comme en témoignent les différences de résistance à l'acidité qui ont déjà été mises en évidence. Il pourrait en être de même pour les propriétés probiotiques. La souche ATCC11842 contient par exemple un gène partiel d'une hydrolase des sels biliaries dont on peut supposer qu'une copie complète pourrait être présente chez d'autres souches. L'expression de cette enzyme pourrait alors influencer la survie de la bactérie dans le tractus gastro-intestinal de l'homme. Seules les recherches futures pourront apporter les réponses.

van de Guchte M, Penaud S, Grimaldi C, Barbe V, Bryson K, Nicolas P, Robert C, Oztas S, Mangenot S, Couloux A, Loux V, Dervyn R, Bossy R, Bolotin A, Batto JM, Walunas T, Gibrat JF, Bessières P, Weissenbach J, Ehrlich SD, Maguin E (2006). The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* reveals extensive and ongoing reductive evolution. Proc Natl Acad Sci USA. 13:9274-9279.
Nicolas P, Bessières P, Ehrlich SD, Maguin E, van de Guchte M (2006). Extensive transfer of core genome genes between two *Lactobacillus* species found in the human gastrointestinal tract. Submitted manuscript.
Guillouard I, Lim EM, van de Guchte M, Grimaldi C, Penaud S, Maguin E (2004). Tolérance et réponse adaptative au stress acide chez *Lactobacillus bulgaricus*. Lait. 84:1-6.
Bolotin A, Quinquis B, Renault P, Sorokin A, Ehrlich SD, Kulakauskas S, Lapidus A, Goltsman E, Mazur M, Pusch GD, Fonstein M, Overbeek R, Kyprides N, Purnelle B, Prozzi D, Ngui K, Masuy D, Hancy F, Burteau S, Boutry M, Delcour J, Goffeau A, Hols P (2004). Complete sequence and comparative genome analysis of the dairy bacterium *Streptococcus thermophilus*. Nat Biotechnol 22:1554-1558.

Devenir des probiotiques dans le tractus digestif humain

La survie des probiotiques durant leur passage dans le tractus digestif est souvent considérée comme un critère clé qui garantirait leurs effets santé, ou moins pour certains d'entre eux. Deux publications indépendantes ont évalué la survie de différents probiotiques.

La première étude (1) a mesuré la persistance des ferments du yaourt dans les selles d'adultes ayant consommé un yaourt commercial durant une semaine. Le protocole expérimental imposait aux sujets une abstinence de tout produit laitier frais et de yaourt pendant les 2 semaines précédant l'inclusion. La semaine suivante, ils étaient tenus de consommer 2 yaourts par jour (5×10^{10} UFC de *Streptococcus thermophilus* et 6×10^9 UFC de *Lactobacillus bulgaricus*). Ces deux bactéries ont été identifiées à partir d'échantillons de selles par culture sur un milieu sélectif. La pertinence de ce milieu réside dans la possibilité de discriminer par la couleur de leurs colonies les deux bactéries du yaourt parmi d'autres genres bactériens. Les résultats de cette identification par une technique microbiologique ont dans un deuxième temps été confirmés par des techniques moléculaires permettant d'identifier les bactéries au niveau de la souche. Bien que *L. bulgaricus* ait été récolté vivant pour l'ensemble des 10 sujets enrôlés dans l'étude, *S. thermophilus* n'a été récolté vivant que pour un seul d'entre eux.

La seconde étude (2) s'est donnée comme objectif d'évaluer la viabilité de *Lactobacillus casei* DN-114 001 à la fois dans l'iléon et dans les selles. La quantité totale de *L. casei* DN-114 001 collectée dans l'iléon au bout de 8 heures est en moyenne de $1,6 \times 10^9$ UFC, ce qui correspond à un taux moyen de récupéra-

tion du lactobacille vivant d'environ 3,6% par rapport à la quantité consommée (300 mL de lait fermenté contenant environ 10^8 UFC.mL⁻¹ absorbé en une seule prise).

Dans les selles, la quantité maximale de *L. casei* DN-114 001, soit 4×10^7 UFC, est collectée entre le 4^e et le 7^e jour de consommation du lait fermenté. Les auteurs estiment que le taux de survie dans les selles est d'environ 28,4%. Trois hypothèses sont avancées par les auteurs pour expliquer la disparité entre les taux de survie mesurés dans les selles et dans l'iléon : (i) des biais méthodologiques peuvent engendrer une sous-estimation du taux de survie iléale ; (ii) la possibilité que le probiotique se multiplie dans le côlon ; (iii) la différence de mode de consommation du lait fermenté soit une seule prise de 300 mL dans le cas des prélèvements iléaux contre trois prises espacées de 100 mL pour l'étude sur les selles.

Ces deux études confirment que des probiotiques peuvent parcourir le tractus digestif et parvenir à l'intestin grêle terminal à l'état vivant. C'est le cas pour *L. casei* DN-114 001 et pour *L. bulgaricus*. La démonstration est moins évidente pour *S. thermophilus* dans la mesure où cette bactérie n'est détectée que dans les selles d'un seul individu sur dix. Les auteurs n'excluent toutefois pas qu'une consommation plus importante ou prolongée de yaourt aurait pu conduire à sa détection chez une fraction plus importante de sujets. Ces deux études ne disent pas cependant si les taux de probiotiques collectés sont compatibles avec un effet biologique chez l'homme.

Dans une étude antérieure (3), des auteurs avaient conclu que les bactéries du yaourt ne survivaient quasiment pas au transit. La

méthodologie utilisée contrastait nettement avec celles des deux études présentées ici, dans la mesure où l'identification des bactéries était effectuée directement par des techniques moléculaires, sans réelle sélection préalable par culture. Les études menées par Elli *et al.* et Oozeer *et al.* montrent que des techniques de microbiologie adaptées permettent de sélectionner efficacement les bactéries recherchées et que les techniques moléculaires peuvent être utilisées de façon complémentaire pour confirmer leur identification. L'ensemble des études discutées ici soulignent par ailleurs l'influence de l'approche méthodologique sur les conclusions qui peuvent être tirées en matière de survie. Si les outils moléculaires présentent des atouts indéniables en termes de spécificité d'identification, leur utilisation reste toutefois indissociable des outils de microbiologie classique, d'autant plus que des techniques de culture sélective suffisamment discriminantes semblent aujourd'hui disponibles.

1• Elli M, Callegari ML, Ferrari S, Bessi E, Cattivelli D, Soldi S, Morelli L, Goupil Feuillerat N, Antoine JM (2006). Survival of yogurt bacteria in the human gut. *Appl Environ Microbiol* 72:5113-5117.

2• Oozeer R, Leplingard A, Mater DDG, Mogenet A, Michelin R, Seksek I, Marteau P, Dore J, Bresson JL, Corthier G (2006). Survival of *Lactobacillus casei* in the human digestive tract after consumption of fermented milk. *Appl Environ Microbiol* 72:5615-5617.

3• del Campo R, Bravo D, Canton R, Ruiz-Garbajosa P, Garcia-Albiach R, Montesi-Libois A, Yuste FJ, Abreira V, Baquero F (2005). Scarce evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces after daily yogurt consumption by healthy volunteers. *Appl Environ Microbiol* 71:547-549.

Modulation de l'activité de la β -galactosidase de *S. Thermophilus*

par la flore intestinale humaine

Les publications discutées ci-dessus évoquent la survie de probiotiques dans le tractus digestif humain, sous-entendu que la survie est un gage de fonctionnalité et, en conséquence, des effets santé induits par le probiotique. Qu'en est-t-il ?

Une équipe de chercheurs français de l'Institut National de Recherches Agronomiques (INRA), a évalué la fonctionnalité de la β -galactosidase de *Streptococcus thermophilus in situ* chez la souris (4).

Des résultats préalables, publiés par la même équipe, avaient montré que *S. thermophilus* produisait une β -galactosidase active durant le transit chez la souris gnotoxénique (5, 6). Dans la mesure où, dans ce type de modèle, la seule espèce bactérienne présente dans le tube digestif de la souris est la bactérie *S. thermophilus* introduite pour l'étude, il n'était jusqu'alors pas possible de mesurer l'influence potentielle de la flore autochtone sur l'expression de cette enzyme. C'est l'objectif visé pour cette nouvelle publication. Les auteurs ont étudié la cinétique de transit, mesuré les taux de survie de *S. thermophilus* et déterminé l'activité de la β -galactosidase dans différents compartiments de l'intestin de souris gnotoxéniques ou possédant une flore humaine.

Pour rappel, la souche de *S. thermophilus* utilisée dans ces études a été génétiquement modifiée au niveau de l'opéron lactose, en

introduisant un gène codant pour une enzyme appelée luciférase à la place du gène de la β -galactosidase. L'expression de la luciférase peut être facilement mise en évidence grâce à la lumière qui est émise lorsque l'enzyme hydrolyse certains substrats aldéhydiques ; l'activité enzymatique peut alors être mesurée par luminométrie. Si les bactéries sont vivantes, le lactose active l'opéron, déclenchant la synthèse de luciférase comme s'il s'agissait de β -galactosidase. L'expérience montre qu'une activité luciférase importante peut être détectée dans les fèces de souris préalablement gavées avec la souche de *S. thermophilus* modifiée et consommant de l'eau lactosée.

Dans les deux modèles murins étudiés, *S. thermophilus* atteint le caecum en 2 heures et son taux de survie est proche de 100%. Chez les souris gnotoxéniques, l'activité de la β -galactosidase est détectée dans la seconde moitié de l'intestin grêle ainsi que dans le compartiment caecum/côlon. Si l'enzyme est également activée dans la seconde moitié de l'intestin grêle des souris à flore humaine, elle est en revanche inhibée de manière drastique dans le segment caecum/côlon.

Dans le compartiment caecum/côlon la flore humaine semble donc interférer avec l'expression de l'opéron lactose alors que l'intégrité de *S. thermophilus* n'est pas altérée et que la bactérie demeure vivante. Cette observation suggère que la flore résidente est

capable de modifier la physiologie de *S. thermophilus* sans pour autant toucher à sa viabilité.

Ces résultats montrent que *S. thermophilus* survit dans l'intestin grêle et qu'il y exprime une β -galactosidase active. Il est à souligner que c'est dans l'intestin grêle que l'activité lactasique est primordiale car si le lactose n'est pas digéré dans cette partie de l'intestin il parvient au côlon où sa fermentation est à l'origine des troubles associés à sa maldigestion. Ces résultats confortent par ailleurs l'idée qu'un produit laitier contenant un probiotique doté de β -galactosidase pourrait être toléré par les personnes dont l'activité lactasique est déficiente. Ces études chez la souris sont à considérer comme préliminaires à des résultats attendus chez l'homme.

4• Mater DDG, Drouault-Holowacz S, Oozeer R, Langella P, Anba J, Corthier G (2006). Beta-galactosidase production by *Streptococcus thermophilus* is higher in the small intestine than in the caecum of human-microbiota-associated mice after lactose supplementation. *Br J Nutr* 96:177-181. This work was supported by the Scientific Committee of SynDifra.

5• Drouault S, Anba J, Corthier G. (2002). *Streptococcus thermophilus* is able to produce a beta-galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ-free mice. *Appl Environ Microbiol* 68:938-941.

6• Cerf-Bensussan N. (2002). Un nouvel éclairage sur le rôle direct des bactéries lactiques vivantes dans la digestion du lactose. *Yaourts Lait Fermentés*, Lettre n°8, Editorial p.1.

Echec de l'utilisation de *L. rhamnosus* contre la dermatite atopique

chez le nourrisson

Des études ont suggéré que des probiotiques puissent être bénéfiques dans la prévention et/ou le traitement de manifestations allergiques comme la dermatite atopique et l'allergie aux protéines du lait (7-11).

A son tour, une équipe néerlandaise a conduit une étude clinique (randomisée, placebo, double aveugle) afin d'évaluer les effets de deux laits infantiles contenant chacun une souche du probiotique *Lactobacillus rhamnosus* sur les symptômes de la dermatite atopique chez le nourrisson (12).

Cinquante nourrissons (âge < 5 mois) souffrant de dermatite atopique ont été répartis en 3 groupes. L'un reçoit un lait infantile hydrolysé (témoin) et les deux autres groupes reçoivent ce même lait additionné soit d'une souche non précisée de *L. rhamnosus*, soit de *L. rhamnosus* GG. Le lait est consommé pendant 3 mois et les probiotiques sont administrés à raison de 5×10^9 UFC pour 100 mL de lait reconstitué.

L'évolution clinique de la sévérité de la dermatite est mesurée par le test spécifique SCORAD ; la sensibilisation allergique est estimée par la mesure des taux d'IgG circulants et par la réponse cutanée à une batterie d'allergènes alimentaires (e.g. protéines du lait). L'inflammation est esti-

mée par la mesure du nombre d'éosinophiles sanguins, de la protéine X des éosinophiles dans les urines, de l' α -antitrypsine fécale et de la production des cytokines IL-4, IL-5 et IFN γ par les lymphocytes après stimulation.

Les résultats sont sans appel : aucune différence statistique significative entre les groupes n'a été mesurée quels que soient les paramètres cliniques ou biochimiques évalués.

Les probiotiques utilisés dans cette étude n'ont induit ni effet immunitaire probant ni effet clinique significatif contre la dermatite atopique. En conséquence, ces résultats indiquent clairement qu'une supplémentation orale avec l'une ou l'autre des deux souches de *L. rhamnosus* testées n'entraîne aucun impact significatif sur la dermatite atopique chez le nourrisson.

Ces résultats sont en contradiction avec une étude antérieure (5) qui montrait que la consommation de lait infantile hydrolysé et contenant *L. rhamnosus* GG pendant 1 mois a entraîné chez les enfants atteints de dermatite atopique une amélioration des symptômes mesurés par le SCORAD. Cependant, dans cette étude, le groupe témoin ne recevait pas de lait comme placebo mais un hydrolysate de lactosérum. En conséquence, l'effet potentiel du probio-

tique ne pouvait pas être réellement évalué avec le protocole mis en place.

En somme, les effets des probiotiques contre la dermatite atopique ne sont aujourd'hui pas établis. Pour interpréter les résultats des études menées dans ce domaine, la vigilance devra être de mise vis-à-vis du protocole expérimental mais aussi vis-à-vis de la souche de probiotique utilisée, étant donné que les caractéristiques d'une souche bactérienne lui sont spécifiques.

7• Majamaa H, Isolauri E. (1997). Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 99:179-185.

8• Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 357:1076-1079.

9• Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. (2002). Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 109:119-121.

10• Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, Michaelsen KF, Jeppesen DL, Valerius NH, Paerregaard A. (2003). Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 111:389-395.

11• Weston S, Halbert A, Richmond P, Prescott SL. (2005). Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child* 90:892-897.

12• Brouwer ML, Wolt-Plompen SA, Dubois AE, van der Heide S, Jansen DF, Hoijer MA, Kauffman HF, Duiverman EJ. (2006). No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy*. 36:899-906.

Effet immunitaire de probiotiques chez l'homme sain :

test d'une relation dose-réponse

Les études qui évaluent un effet dose-réponse des probiotiques sont rares. Celle qui est rapportée ici évalue chez de jeunes adultes sains la capacité immunomodulatrice de *Bifidobacterium lactis* BB-12 et *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* CRL-431, administrés à différentes doses (13). Il s'agit d'une étude clinique menée en double insu et contrôlée par un placebo.

Un groupe de 71 jeunes adultes (18-40 ans) en bonne santé ont reçu pendant 3 semaines consécutives des capsules contenant un mélange (1/1) des deux probiotiques aux doses 0, 10^8 , 10^9 , 10^{10} et 10^{11} UFC par jour.

Différents paramètres ont été mesurés afin d'évaluer la capacité immunomodulatrice du mélange de probiotiques. L'évaluation de l'activité phagocytaire ne

montre aucune différence statistiquement significative – quelle que soit la dose de probiotiques – en comparant les résultats obtenus chez les sujets traités à ceux obtenus chez les sujets recevant le placebo ou à ceux obtenus avant inclusion dans l'étude. Il en est de même pour les IgA fécales, pour les IgA, IgM et IgG sériques (mesurées chez les témoins et chez ceux recevant 10^{10} UFC), pour la production de cytokines (IL-10 et IFN γ) par des lymphocytes stimulés *in vitro*.

Selon les auteurs, le mélange de probiotiques utilisé dans cette étude n'a pas d'effets immunitaires probants chez de jeunes adultes en bonne santé ; ceci est observé quelles que soient les concentrations de probiotiques utilisées. Les auteurs expliquent cette absence d'action, qui contredit des études antérieu-

res, par le fait, entre autres, que la plupart de ces études ont été conduites en utilisant des laits fermentés contenant les probiotiques et en conséquence les laits fermentés *per se* exercent peut-être un effet indépendant des probiotiques qu'ils véhiculent. Par ailleurs, peu d'études ont été conduites chez un groupe d'adultes jeunes et en bonne santé qui à l'inverse d'autres groupes (e.g. seniors, personnes allergique) se montre moins sensible à la modulation du système immunitaire.

13• Christensen HR, Larsen CN, Kaestel P, Rosholm LB, Sternberg C, Michaelsen KF, Frokiaer H. (2006). Immunomodulating potential of supplementation with probiotics: a dose-response study in healthy young adults. *FEMS Immunol Med Microbiol* 47:380-390.

Cette Lettre scientifique "Yaourts & Laits Fermentés" peut également être consultée sur internet à l'adresse : www.maison-du-lait.com

Des probiotiques pour le traitement du rhume et de la grippe

Les actions des probiotiques ne semblent pas se cantonner au seul tractus gastro-intestinal. Une étude clinique a testé les bénéfices de la consommation à long terme de probiotiques sur l'incidence, la durée et la sévérité du rhume et de la grippe (14).

479 adultes en bonne santé ont été recrutés et suivis de janvier à mai 2001 ou de décembre 2001 à juin 2002. Les volontaires du groupe testé ont été invités à prendre au quotidien un comprimé contenant 5×10^7 UFC du mélange de probiotiques lyophilisés *Bifidobacterium longum* SP07/3, *B. bifidum* MF 20/5 et *Lactobacillus gasseri* PA 16/8 et des vitamines et minéraux; ceux du groupe témoin recevaient le même comprimé, mais ne contenant que les vitamines et minéraux. Les deux types de comprimés étaient distribués en double insu.

Les résultats de l'essai étaient mesurés selon des critères cliniques et immunitaires. Les symptômes cliniques ont été évalués au niveau du nez, du pharynx et des bronches et la survenue de maux de tête, de myalgie, de fièvre ou de conjonctivite a été notée (évaluation via un questionnaire). La réponse immunitaire cellulaire a été appréciée d'après la quantification de sous-populations de lymphocytes T. En cas d'infection, l'agent viral en cause a été identifié.

En comparaison au témoin, l'incidence des infections n'a pas été modifiée par la prise de probiotiques. En revanche, chez les sujets bénéficiant du probiotique, la durée moyenne d'un épisode infectieux est significativement diminuée de 2 jours (réduction relative de 21,5%, $p < 0,05$) et les symptômes sont moins sévères ($p < 0,05$). Après 14 jours de consommation de probiotiques,

une augmentation significative du nombre de lymphocytes cytotoxiques et suppresseurs (CD8+) est observée.

Ces résultats permettent de conclure que le mélange de probiotiques semble induire des effets positifs sur la sévérité et la durée des infections virales du tractus respiratoire chez des adultes en bonne santé par ailleurs. Selon les auteurs, l'impact sur les paramètres pris en compte est faible car il est probablement masqué par l'action immunostimulante des vitamines et des minéraux reçus par les sujets contrôlés.

14• de Vrese M, Winkler P, Rautenberg P, Harder T, Noah C, Laue C, Ott S, Hampe J, Schreiber S, Heller K, Schrezenmeir J. (2006). Probiotic bacteria reduced duration and severity but not the incidence of common cold episodes in a double blind, randomized, controlled trial. *Vaccine*. 24:6670-6674.

Exploration de l'effet anti-obésité

d'un probiotique producteur d'acides linoléiques conjugués

Les acides linoléiques conjugués (CLA) mobilisent activement la recherche scientifique car à leur consommation serait associée à de nombreux bénéfices sur la santé tels que les effets anti-carcinogènes et anti-athérogènes ou encore la réduction de la masse grasse corporelle. C'est cette dernière compétence qui a permis à une équipe coréenne de formuler l'hypothèse selon laquelle des probiotiques producteurs de CLA pourraient aider à contrôler le poids (15).

Leur expérience a été conduite chez la souris. Le probiotique utilisé est *Lactobacillus rhamnosus* PL60, une souche d'origine humaine sélectionnée pour sa capacité à produire *in vitro* les CLA c9, t11 et t10, c12. Trois groupes de souris ont été soumis à un régime alimentaire riche en graisse et censé les engraisser; 2 groupes ont reçu en plus le probiotique à raison de 1×10^7 ou de 1×10^9 UFC/j pendant 8 semaines, le troisième groupe est le témoin (régime sans probiotiques). Un quatrième groupe de souris a reçu un régime alimentaire standard (autre témoin).

Le régime riche en lipides a clairement induit une augmentation significative de la masse corporelle au cours des 8 semaines. Les différences entre les groupes sont mesurables dès la 3^e semaine et significa-

tifs dès la 5^e. Les souris témoins soumises au régime riche en lipides sont nettement obèses à partir de la 5^e semaine et leur poids est significativement supérieur à celui des souris ayant reçu les probiotiques. Chez les souris soumises au régime riche en lipides, une accumulation de tissu adipeux est constatée au niveau de l'épididyme, du mésentère et autour des reins.

Le régime riche en lipides a entraîné chez les souris des 3 groupes une augmentation du cholestérol total, des LDL et des HDL par rapport aux souris ayant un régime standard. Le taux de leptine sérique est augmenté chez toutes les souris recevant le régime riche en lipides mais de manière significativement moindre chez celles recevant les probiotiques.

La consommation des probiotiques a entraîné une augmentation du taux d'ARNm de la protéine UCP-2* dans l'épididyme environ deux fois plus par rapport aux deux témoins; mais le probiotique n'affecte pas les niveaux d'ARNm des récepteurs PPAR**.

Les résultats de cette étude montrent que la consommation orale d'un probiotique producteur d'acides linoléiques conjugués peut contrôler la prise de poids générée par une alimentation riche en lipides. Il s'agirait en quelque sorte d'un effet anti-

obésité qui reposerait au moins partiellement sur la modulation par le probiotique de la production de la protéine UCP-2 dans le tissu adipeux.

Cette étude chez la souris est la première à explorer le rôle des probiotiques dans la gestion du poids. D'autres travaux (16) montrent cependant que la réduction de la masse grasseuse via les CLA peut conduire chez la souris à une lipodystrophie associée à de sérieux effets secondaires (hyperinsulinémie sévère, insulino-résistance, stéatose hépatique). Il n'est donc pas question pour l'instant d'envisager une quelconque extrapolation à l'homme.

*Le gène UCP-2 (uncoupling protein 2) code pour une protéine qui permettrait de brûler une partie des calories alimentaires en excès et de les dissiper sous forme de chaleur. Ce gène existe chez la souris et chez l'homme.

**PPAR (peroxisome proliferator activated receptors): récepteurs de la membrane nucléaire des cellules activés par la liaison de certains acides gras ou lipides impliqués dans la lipogenèse.

15• Lee HY, Park JH, Seok SH, Baek MW, Kim DJ, Lee KE, Paek KS, Lee Y, Park JH. (2006). Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochim Biophys Acta*. 1761:736-744.

16• Poirier H, Niot I, Clement L, Guerre-Millo M, Besnard P. (2005). Development of conjugated linoleic acid (CLA)-mediated lipotrophic syndrome in the mouse. *Biochimie*. 87:73-79.

Evaluation des effets des probiotiques sur le tractus intestinal de l'homme

Une étude financée par la Food Standards Agency (FSA), agence gouvernementale britannique chargée de la sécurité alimentaire de la nutrition et de l'alimentation vient d'être publiée. L'objectif de ce projet était de fournir à la FSA une information indépendante sur les effets des probiotiques dans l'intestin humain.

L'étude a été déclinée en 3 problématiques : comparer les probiotiques commercialisés au Royaume-Uni, évaluer la survie de ces probiotiques dans le milieu gastro-intestinal et évaluer dans quelle mesure ces probiotiques peuvent induire des modifications de la composition de la flore intestinale. Les conclusions

détaillées peuvent être consultées en ligne.

17• Gibson GR, Rouzard G, Brostoff J, Rayment N (2006). An evaluation of probiotic effects in the human gut: microbial aspects. Final Technical report for FSA project ref. G01022. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/probioticreport.pdf>

Un probiotique réduit les lésions pulmonaires chez la souris

La consommation de *Lactobacillus casei* CRL431 a induit, chez la souris infectée par *Streptococcus pneumoniae* (bactérie pathogène responsables des pneumonies, septicémies, otites et méningites), une clairance plus rapide de la bactérie pathogène, un nombre moindre de pathogènes dans les poumons et une

période plus brève de septicémie, comparaison faite avec des souris n'ayant pas bénéficié du probiotique. Le probiotique a induit plus efficacement que le témoin l'activation des phagocytes et la production d'IgA et d'IgG spécifiques du pathogène. Le probiotique a en conséquence généré une réponse immunitaire

efficace à mettre en parallèle avec une réduction des lésions pulmonaires.

18• Racedo S, Villena J, Medina M, Aguero G, Rodriguez V, Alvarez S. (2006). *Lactobacillus casei* administration reduces lung injuries in a *Streptococcus pneumoniae* infection in mice. *Microbes Infect* 8:2359-2366.

Un probiotique pour la mère sans effet pour son nouveau-né

L'objectif de cet essai clinique était de déterminer si l'administration postnatale de probiotiques à la mère pouvait moduler les symptômes gastro-intestinaux, les pleurs et le développement de la microflore intestinale du nouveau-né. Des femmes ont reçu, pendant leur grossesse et durant les 6 mois suivant l'ac-

couchement, le probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG. Il s'avère qu'il n'y a aucune différence entre les nouveau-nés de ces femmes et ceux de femmes ayant consommé un placebo. Ainsi, l'administration de *L. rhamnosus* GG durant les premiers mois de la vie, tout en étant bien tolérée par les bébés, n'affecte en

rien la composition de leur microflore intestinale.

19• Rinne M, Kalliomaki M, Salminen S, Isolauri E. (2006). Probiotic intervention in the first months of life: short-term effects on gastrointestinal symptoms and long-term effects on gut microbiota. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 43:200-205.

Une bifidobactérie régulant la production de TGF-β via la protéine Smad7

Le TGF-β1 a de nombreuses actions au niveau de la muqueuse intestinale : tolérance, action anti-inflammatoire, stimulation de l'expression des IgA ainsi que de la prolifération et de la différenciation des cellules épithéliales. Les auteurs ont montré que la supplémentation de l'alimentation de prématurés par

Bifidobacterium breve augmentait d'une part, le taux sanguin de TGF-β1 et l'expression d'une molécule signal du TGF-β (smad3) et, d'autre part, réduisait l'expression d'une molécule signal antagoniste (smad7). Ces résultats montrent que l'administration de *B. breve* chez des prématurés pourrait atténuer les

réactions inflammatoires et allergiques en modulant la signalisation du TGF-β.

20• Fujii T, Ohtsuka Y, Lee T, Kudo T, Shoji H, Sato H, Nagata S, Shimizu T, Yamashiro Y. (2006). *Bifidobacterium breve* enhances transforming growth factor beta1 signaling by regulating Smad7 expression in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 43:83-88.

Rôle des bactéries commensales dans l'immunité intestinale

Des chercheurs ont analysé les réponses immunitaires induites *in vitro* dans des cellules épithéliales intestinales humaines, par des bactéries endogènes (*Bifidobacterium infantis* et *Lactobacillus salivarius*) et par une bactérie pathogène (*Salmonella typhimurium*). *S. typhimurium* augmente l'expression de 36 des 847 gènes impliqués dans l'immunité dont NF-

κB et IL-8 alors que les deux bactéries commensales n'altèrent l'expression d'aucun de ces gènes. Cependant, *L. salivarius* et *B. infantis* atténuent la sécrétion d'IL-8 et la réponse pro-inflammatoire générée par la bactérie pathogène et stimulent la production d'IL-10 et de TNF-α par les cellules dendritiques. Il apparaît donc que même si l'épithélium intestinal demeure

quiescent au contact de *L. salivarius* et *B. infantis*, ces bactéries exercent un effet sur les cellules intestinales de l'immunité.

21• O'Hara AM, O'Regan P, Fanning A, O'Mahony C, Macsharry J, Lyons A, Bienenstock J, O'Mahony L, Shanahan F. (2006). Functional modulation of human intestinal epithelial cell responses by *Bifidobacterium infantis* and *Lactobacillus salivarius*. *Immunology* 118:202-215.

22. Angulo S, Llopis M, Antolin M, Girolla M, Sans M, Malagelada JR, Pique JM, Guarner F, Panes J (2006). *Lactobacillus casei* prevents the upregulation of ICAM-1 expression and leukocyte recruitment in experimental colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291:G1155-G1162.
23. Aoi W, Naito Y, Nakamura T, Akagiri S, Masuyama A, Takano T, Mizushima K, Yoshikawa T (2006). Inhibitory effect of fermented milk on delayed-onset muscle damage after exercise. *J Nutr Biochem*. 15 juin 2006; [Epub ahead of print].
24. Baken KA, Ezendam J, Gremmer ER, de Klerk A, Pennings JL, Matthee B, Peijnenburg AA, van Loveren H (2006). Evaluation of immunomodulation by *Lactobacillus casei* Shirota: Immune function, autoimmunity and gene expression. *Int J Food Microbiol* 112:8-18.
25. Bernardeau M, Guguen M, Vernoux JP (2006). Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiol Rev* 30:487-513.
26. Billoo AG, Memon MA, Khaskheli SA, Murtaza G, Iqbal K, Saeed Shekhani M, Siddiqi AQ (2006). Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhoea. *World J Gastroenterol* 12:4557-4560.
27. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML (2006). Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr* 83:1256-1264.
28. Brunser O, Figueroa G, Gotteland M, Haschke-Becher E, Magliola C, Rochat F, Cruchet S, Palframan R, Gibson G, Chauffard F, Haschke F (2006). Effects of probiotic or prebiotic supplemented milk formulas on fecal microbiota composition of infants. *Asia Pac J Clin Nutr* 15:368-376.
29. Caglar E, Kavaloglu Cildir S, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S (2006). Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand* 64:314-318.
30. Daniel C, Repa A, Wild C, Pollak A, Pot B, Breiteneder H, Wiedermann U, Mercenier A (2006). Modulation of allergic immune responses by mucosal application of recombinant lactic acid bacteria producing the major birch pollen allergen Bet v 1. *Allergy*. 61:812-819.
31. Dogi CA, Perdigon G (2006). Importance of the host specificity in the selection of probiotic bacteria. *J Dairy Res* 73:357-366.
32. Fabian E, Elmadafa I (2006). Influence of daily consumption of probiotic and conventional yoghurt on the plasma lipid profile in young healthy women. *Ann Nutr Metab* 50:387-393.
33. Heyman MB (2006). Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* 118:1279-1286.
34. Johnston BC, Supina AL, Vohra S (2006). Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *CMAJ* 175:377-383.
35. Kendler M, Uter W, Rueffer A, Shimshoni R, Jecht E (2006). Comparison of fecal microflora in children with atopic eczema/dermatitis syndrome according to IgE sensitization to food. *Pediatr Allergy Immunol* 17:141-147.
36. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G (2006). Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 30:55-60.
37. Kukkonen K, Nieminen T, Poussa T, Savilahti E, Kuitunen M (2006). Effect of probiotics on vaccine antibody responses in infancy - a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Pediatr Allergy Immunol* 17:416-421.
38. Mangell P, Lennernas P, Wang M, Olsson C, Ahrne S, Molin G, Thorlacius H, Jeppsson B (2006). Adhesive capability of *Lactobacillus plantarum* 299v is important for preventing bacterial translocation in endotoxemic rats. *APMIS* 114:611-618.
39. Martin FP, Verdu EF, Wang Y, Dumas ME, Yap IK, Cloarec O, Bergonzelli GE, Cortesy-Theulaz I, Kochhar S, Holmes E, Lindon JC, Collins SM, Nicholson JK (2006). Transgenomic metabolic interactions in a mouse disease model: interactions of *Trichinella spiralis* infection with dietary *Lactobacillus paracasei* supplementation. *J Proteome Res* 5:2185-2193.
40. Marzotto M, Maffei C, Paternoster T, Ferrario R, Rizzotti L, Pellegrino M, Dellaglio F, Torriani S (2006). *Lactobacillus paracasei* A survives gastrointestinal passage and affects the fecal microbiota of healthy infants. *Res Microbiol* 157:857-866.
41. Matsumoto M, Benno Y (2006). Anti-inflammatory metabolite production in the gut from the consumption of probiotic yogurt containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* LKM512. *Biosci Biotechnol Biochem* 70:1287-1292.
42. Nova E, Toro O, Varela P, Lopez-Vidriero I, Morande G, Marcos A (2006). Effects of a nutritional intervention with yogurt on lymphocyte subsets and cytokine production capacity in anorexia nervosa patients. *Eur J Nutr* 45:225-233.
43. Rachid M, Matar C, Duarte J, Perdigon G (2006). Effect of milk fermented with a *Lactobacillus helveticus* R389(+) proteolytic strain on the immune system and on the growth of 4T1 breast cancer cells in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol* 47:242-253.
44. Rautava S, Arvilommi H, Isolauri E (2006). Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatr Res* 60:221-224.
45. Reid G (2006). Safe and efficacious probiotics: what are they? *Trends Microbiol* 14:348-352.
46. Riedel CU, Foata F, Philippe D, Adolfsen O, Eikmanns BJ, Blum S (2006). Anti-inflammatory effects of bifidobacteria by inhibition of LPS-induced NF-kappaB activation. *World J Gastroenterol* 12:3729-3735.
47. Rochat T, Gratadoux JJ, Gruss A, Corthier G, Maguin E, Langella P, van de Guchte M (2006). Production of a heterologous nonheme catalase by *Lactobacillus casei*: an efficient tool for removal of H₂O₂ and protection of *Lactobacillus bulgaricus* from oxidative stress in milk. *Appl Environ Microbiol* 72:5143-5149.
48. Roselli M, Finamore A, Britti MS, Mengheri E (2006). Probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* MB5 and *Lactobacillus rhamnosus* GG protect intestinal Caco-2 cells from the inflammation-associated response induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Br J Nutr* 95:1177-1184.
49. Ruas-Madiedo P, Gueimonde M, Margolles A, de los Reyes-Gavilan CG, Salminen S (2006). Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of probiotics and enteropathogens to human intestinal mucus. *J Food Prot* 69:2011-2015.
50. Salminen S, Isolauri E (2006). Intestinal colonization, microbiota, and probiotics. *J Pediatr* 149:S115-120.
51. Sashihara T, Sueki N, Ikegami S (2006). An analysis of the effectiveness of heat-killed lactic acid bacteria in alleviating allergic diseases. *J Dairy Sci* 89:2846-2855.
52. Sydora BC, Martin SM, Lupicki M, Dieleman LA, Doyle J, Walker JW, Fedorak RN (2006). Bacterial antigens alone can influence intestinal barrier integrity, but live bacteria are required for initiation of intestinal inflammation and injury. *Inflamm Bowel Dis* 12:429-436.
53. Szajewska H, Ruszczynski M, Radzikowski A (2006). Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* 149:367-372.
54. Tamura A, Kumai H, Nakamichi N, Sugiyama T, Deguchi R, Takagi A, Koga Y (2006). Suppression of *Helicobacter pylori*-induced interleukin-8 production in vitro and within the gastric mucosa by a live *Lactobacillus* strain. *J Gastroenterol Hepatol* 21:1399-1406.
55. Weng M, Walker WA (2006). Bacterial colonization, probiotics, and clinical disease. *J Pediatr* 149:S107-114.
56. Yamano T, Tanida M, Niiijima A, Maeda K, Okumura N, Fukushima Y, Nagai K (2006). Effects of the probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* strain La1 on autonomic nerves and blood glucose in rats. *Life Sci* 79:1963-1967.

Si vous souhaitez vous abonner, adressez vos coordonnées (Nom, Société, Fonction, Adresse postale, E-mail et Téléphone) à :

SYNDIFRAIS

42 rue de Châteaudun • 75314 Paris Cedex 9
Tél. : 01 49 70 72 30 • Fax : 01 42 80 63 90
e.mail : syndifrais@syndifrais-syndilait.org