



**HAL**  
open science

# Place des probiotiques dans la prise en charge de pathologies humaines

Charlotte Malbezin

► **To cite this version:**

Charlotte Malbezin. Place des probiotiques dans la prise en charge de pathologies humaines. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01997103

**HAL Id: dumas-01997103**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01997103>**

Submitted on 28 Jan 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

---

**Soutenue publiquement le 26 Septembre 2017  
Par Charlotte Malbezin**

**Place des probiotiques dans la prise en charge  
de pathologies humaines**

**JURY**

**Président : Docteur Catherine DEMAILLY, Docteur en Pharmacie**

**Membres : Docteur Delphine CAUVEZ, Docteur en Pharmacie**

**Docteur Juliette LECLERC, Docteur en Pharmacie**

## **Remerciements**

A Madame Catherine Demailly,

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de juger mon travail de thèse, et ce, malgré votre emploi du temps rempli et les nombreuses charges que vous avez à assumer.

A Madame Delphine Cauvez, pharmacien,

Je te remercie de l'honneur que tu me fais de juger ce travail. Merci pour toutes ces années passées ensemble.

A Madame Juliette Leclerc, pharmacien,

Je suis honorée que tu aies accepté de juger cette thèse, malgré ton emploi du temps chargé, entre travail et famille.

# SOMMAIRE

Liste des figures.....	4
Liste des tableaux.....	5
Liste des abréviations.....	6
Introduction.....	7
1. Qu'est ce qu'un probiotique ?.....	8
1.1. Définition.....	8
1.2. Critères de sélection des souches probiotiques.....	11
1.2.1. Innocuité totale.....	11
a) Les infections	
b) La résistance aux antibiotiques	
c) Les effets immunologiques	
1.2.2. Survie au cours du transit digestif.....	13
1.2.3. Adhésion à la muqueuse intestinale.....	14
1.2.4. Origine humaine.....	14
1.2.5. Activité antimicrobienne.....	15
1.2.6. Résistance des souches probiotiques : viabilité et stabilité	
dans le produit fini.....	15
1.3. Principales souches microbiennes à potentiel probiotique.....	16
1.3.1. Les lactobacilles.....	16
1.3.2. Les bifidobactéries.....	18
1.3.3. <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	20
1.3.4. <i>Lactococcus lactis</i> .....	20
1.3.5. <i>Saccharomyces cerevisiae var boulardii</i> .....	21
2. Ecosystème gastro-intestinal : description générale.....	23
2.1. Le microbiote intestinal : composition et évolution au cours de la vie.....	23
2.2. Rôles du tube digestif et de son microbiote.....	27
2.2.1. Le microbiote naturel de l'Homme.....	28
2.2.2. La muqueuse intestinale.....	28
2.2.3. Le système immunitaire intestinal.....	29
a) L'immunité innée	
b) L'immunité acquise	
2.3. Effets des probiotiques sur les systèmes de défense de l'intestin.....	31
2.3.1. Sur le microbiote intestinal.....	32
2.3.2. Sur l'épithélium intestinal.....	32
2.3.3. Sur le système immunitaire intestinal.....	33
a) Effets sur l'immunité innée	
b) Effets sur l'immunité adaptative	
3. Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé de l'Homme.....	37
3.1. Effets bénéfiques des probiotiques sur les fonctions intestinales.....	38
3.1.1. Probiotiques et diarrhée.....	38
3.1.1.1. Les diarrhées infectieuses.....	38

a) Utilisation des probiotiques dans le traitement curatif de la diarrhée aiguë	
b) Utilisation des probiotiques dans le traitement préventif de la diarrhée aiguë	
3.1.1.2.La diarrhée du voyageur.....	45
3.1.1.3.La diarrhée due aux antibiotiques.....	46
a) Les diarrhées dites simples	
b) La colite pseudomembraneuse	
3.1.2. Les coliques du nourrisson.....	51
3.1.3. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.....	53
3.1.3.1.Le mélange VSL#3.....	53
3.1.3.2. <i>Saccharomyces cerevisiae boulardii</i> .....	54
3.1.3.3. <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917.....	55
3.1.3.4. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG.....	56
3.1.3.5.Mécanismes d'action des probiotiques.....	56
3.1.4. Le syndrome du côlon irritable.....	57
3.1.5. Les infections de l'estomac à <i>Helicobacter pylori</i> .....	61
3.1.6. Le cancer du côlon.....	64
3.1.7. L'intolérance au lactose.....	66
3.1.7.1.Les recherches.....	66
3.1.7.2.Les mécanismes de l'amélioration de la digestion du lactose	
par les probiotiques.....	67
3.2. Effets bénéfiques des probiotiques sur les fonctions extra-digestives.....	68
3.2.1. Les allergies.....	68
3.2.1.1.La dermatite atopique.....	69
a) Traitement curatif de la dermatite atopique	
b) Traitement préventif de la dermatite atopique	
c) Mécanismes d'action des probiotiques dans la dermatite atopique	
3.2.1.2.Autres manifestations allergiques.....	72
3.2.2. Les infections du système respiratoire supérieur.....	75
3.2.3. Les infections vaginales.....	77
3.2.4. La réduction du taux de cholestérol.....	79
3.2.5. Futures approches des probiotiques.....	81
3.2.5.1.Probiotiques et pathologies dentaires.....	81
3.2.5.2.Probiotiques et maladies mentales.....	81
3.2.5.3.Probiotiques et obésité.....	83
3.2.5.4.Probiotiques et diabète.....	83
Conclusion.....	84
Glossaire.....	85
Bibliographie.....	86

## Liste des figures

<u>Figure 1</u> : <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	16
<u>Figure 2</u> : <i>Bifidobacterium longum</i> .....	18
<u>Figure 3</u> : <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	20
<u>Figure 4</u> : <i>Lactococcus lactis</i> .....	21
<u>Figure 5</u> : <i>Saccharomyces cerevisiae var. boulardii</i> .....	22
<u>Figure 6</u> : Microbiote intestinal humain d'après T. Mitsuoka.....	25
<u>Figure 7</u> : Microflore du côlon humain d'après Gibson et Roberfroid.....	26
<u>Figure 8</u> : Le système immunitaire intestinal.....	30

## Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> : distribution des différentes espèces de <i>Bifidobacterium</i> dans le tractus digestif de l'homme en fonction de l'âge.....	19
<u>Tableau 2</u> : microbiote du côlon humain.....	27
<u>Tableau 3</u> : principaux effets du microbiote intestinal et des probiotiques sur la réponse immune.....	34
<u>Tableau 4</u> : résultats de la méta-analyse réalisée par Van Niel.....	40
<u>Tableau 5</u> : probiotiques et prévention de la diarrhée du voyageur d'après Marteau.....	45
<u>Tableau 6</u> : comparatif des résultats de la méta-analyse de D'Souza.....	48
<u>Tableau 7</u> : <i>Saccharomyces boulardii</i> dans la prévention des diarrhées dues à l'antibiothérapie.....	49

## Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique  
**Ag** : antigène  
**AMM** : autorisation de mise sur le marché  
**ARNr** : acide ribonucléique ribosomique  
**CPA** : cellule présentatrice de l'antigène  
**EFSA** : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments  
**FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)  
**FOS** : Fructo-oligosaccharides  
**GALT** : Gut-Associated Lymphoid Tissue (Tissus lymphoïdes associés aux intestins)  
**IFN $\gamma$**  : Interféron gamma  
**IgA** : Immunoglobuline de type A  
**IgM** : Immunoglobuline de type M  
**IL** : Interleukine  
**L Th1** : Lymphocyte T helper de type 1  
**L Th2** : Lymphocyte T helper de type 2  
**L Th17** : Lymphocytes T helper produisant des interleukines 17  
**Lymphocyte Trec** : Lymphocyte de type T régulateur induit  
**Lymphocyte Tr1** : Lymphocyte de type T régulateur 1  
**MALT** : Mucosa Associated Lymphoid Tissue (Tissus lymphoïdes associés aux muqueuses)  
**MICI** : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin  
**MUD** : Mucus-binding Domain  
**SCORAD** : SCORing Atopic Dermatitis  
**SCID** : severe combined immunodeficiency  
**TGF $\beta$**  : Transforming Growth Factor bêta  
**TNF $\beta$**  : Tumor Necrosis Factor bêta  
**Ufc/mL** : unité formant colonie par millilitre



# INTRODUCTION

L'homme vit en permanence en association étroite avec une population complexe de micro-organismes se trouvant dans son tractus digestif et formant le microbiote intestinal. En effet, nous ingérons chaque jour une quantité importante de bactéries vivantes, présentes de manière fortuite dans notre alimentation ou au contraire ajoutée volontairement par l'homme.

L'idée d'incorporer des micro-organismes dans l'alimentation humaine ou du moins d'utiliser les effets bénéfiques potentiels de la présence de ces micro-organismes remonte à la plus haute Antiquité. Différents laits fermentés par des bactéries, parfois découverts de manière accidentelle, sont ainsi utilisés dans le monde depuis plusieurs centaines d'années. En effet, le lait fermenté, découvert de façon fortuite d'après certaines légendes, proviendrait des peuples nomades d'Asie Centrale qui l'utilisaient pour la conservation de leurs denrées périssables.

Près de quatre cents noms différents de laits fermentés traditionnels et industriels sont recensés à travers le monde. Le plus connu est le yaourt, ou yogourt, mot d'origine bulgare provenant de l'association de deux mots : « yog » voulant dire épais et « urt » pour lait. Ces spécialités laitières portent des noms différents mais leur composition est souvent la même.

Il semble que le yogourt ait été introduit en France à la Renaissance. On raconte que, au XVI<sup>ème</sup> siècle, le roi de France François I<sup>er</sup>, souffrant de diarrhée persistante, avait essayé plusieurs traitements sans succès quand un médecin turc lui fut envoyé. Il avait avec lui des brebis et une recette secrète : celle du yogourt, lait fermenté par *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans des conditions de température et de durée définies. Le roi fut rapidement guéri de son infection intestinale.

Depuis plusieurs siècles, diverses populations ont consommé des produits fermentés par des micro-organismes. Ils utilisaient cette fermentation pour la conservation des aliments et ont peu à peu découvert de nouveaux effets bénéfiques de ces produits sur la santé. Des essais réalisés ces dernières décennies ont rapporté que les micro-organismes contenus dans ces produits fermentés possèdent des propriétés prophylactiques et thérapeutiques. Ces micro-organismes bénéfiques pour la santé ont été appelés « probiotiques ».

Des études ont alors été réalisées en grand nombre afin de comprendre les mécanismes d'action de ces micro-organismes sur l'organisme de l'homme, mais également afin de démontrer tous leurs effets. Parmi ceux-ci, des investigations ont découvert leur intervention dans le bon fonctionnement du transit intestinal, le rétablissement de l'équilibre du microbiote intestinal, l'amélioration de certaines affections intestinales et plus récemment dans la régulation du système immunitaire à l'origine de l'amélioration des pathologies allergiques ou hivernales.

# **1. Qu'est-ce qu'un probiotique ?**

## **1.1. Définition**

Le terme de probiotique est dérivé de deux mots grecs, « pro » et « bios », signifiant littéralement « pour la vie », en opposition au terme antibiotique, signifiant « contre la vie ». Il fit son apparition au début du siècle dernier suite à l'observation de l'influence de certains micro-organismes sur le microbiote intestinal.

Dès le milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle, Pasteur a fait des travaux sur la fermentation. Il a alors prouvé que des organismes spécifiques étaient responsables de la fermentation. En 1902, deux médecins français, Khoury et Rist, ont isolé pour la première fois les bactéries présentes dans le laban égyptien, lait fermenté traditionnel.

C'est le Prix Nobel russe Elie Metchnikoff, biologiste de l'Institut Pasteur de Paris, qui, au début du XX<sup>ème</sup> siècle, attribua au lait fermenté des bienfaits, en l'occurrence sur la longévité de certains peuples nomades bulgares, grands consommateurs de yogourt (il a été démontré plus tard que ces notions de longévité étaient basées sur l'absence d'état civil dans ces contrées, permettant aux anciens de s'autoproclamer centenaires). Il proposa alors l'ingestion de bactéries vivantes, particulièrement des bactéries lactiques, pour réduire les désordres intestinaux et améliorer l'hygiène digestive, afin de prolonger l'espérance de vie.

Au même moment, Henry Tissier, un pédiatre français, a observé les selles d'enfants souffrant de diarrhée aiguë. Elles renfermaient un petit nombre de bactéries bifides en comparaison à celles d'enfants sains, qui en contenaient en abondance. Il pensa alors que ces bactéries pourraient être administrées aux patients souffrant de diarrhée aiguë pour aider à rétablir un microbiote intestinal sain.

Les observations de ces deux chercheurs étant très attractives, des produits ont rapidement été commercialisés. Mais les résultats n'ont pas toujours été à la hauteur des espérances. Le concept de probiotique a alors été jugé comme scientifiquement non prouvé et ces produits n'ont plus eu d'intérêt durant plusieurs décennies, excepté dans la recherche en alimentation animale. C'est ainsi que la consommation de produits laitiers fermentés augmenta en Europe et en Amérique du Nord jusque dans les années 1920, pour ensuite diminuer.

Dans les années 1960, des chercheurs se sont de nouveau intéressés au microbiote intestinal et ont étudié les effets des bactéries la constituant sur diverses pathologies.

C'est sans doute Ferdinand Vergin qui a introduit en 1954 le terme de probiotique, comparant dans l'écrit « Anti- und Probiotika » les effets délétères des antibiotiques sur le microbiote intestinal avec les effets favorables des bactéries bénéfiques.

En 1965, Lilly et Stillwell parlent des probiotiques comme des micro-organismes sécrétant une substance stimulant la croissance d'autres micro-organismes.

Puis le terme de probiotique a été proposé en 1974 par Parker pour désigner les souches microbiennes utilisées en alimentation animale pour contrer les effets négatifs des antibiotiques et renforcer leur efficacité.

En 1989, Fuller, trouvant la définition de Parker trop vague, redéfinit les probiotiques comme des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additif alimentaire et ayant une action bénéfique sur l'animal hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale.

Tout au long des années 90, de nombreuses définitions ont été proposées. En 1992, Havenaar redéfinit les probiotiques comme étant une mono- ou polyculture de micro-organismes vivants qui, sur l'homme ou l'animal, a une influence bénéfique en améliorant les propriétés de la microflore endogène.

En 1996, plusieurs définitions ont été proposées. Pour Salminen, il s'agit d'une culture microbienne vivante ou d'un produit laitierensemencé qui exerce un effet positif sur la santé et la nutrition de l'hôte. De Vrese les présente comme des suppléments alimentaires constitués de micro-organismes vivants exerçant un effet positif sur l'hôte. Schaafsma les décrit comme des micro-organismes vivants qui, à partir d'une certaine quantité ingérée, exercent un effet positif sur la santé au-delà d'un simple bénéfice nutritionnel.

L'allemand Schrezenmeier les décrit, en 1997, comme étant des micro-organismes vivants qui exercent un effet positif sur la santé de l'hôte (animal ou humain) via un meilleur équilibre du microbiote intestinal. Il modifia cette définition en 1998, pour des micro-organismes exerçant un effet positif sur la santé de l'hôte en augmentant la flore endogène. La même année, Zoppi propose une variante de cette définition ; il s'agit pour lui d'un aliment microbien vivant qui exerce un effet positif sur l'équilibre microbien intestinal. Quant à Diplock, il parle d'ingrédient alimentaire microbien vivant bénéfique pour la santé.

Le mot probiotique a donc connu de nombreuses définitions toutes très proches les unes des autres.

Celle retenue a été proposée en 2002 par la F.A.O. (Food and Agricultural Organization) et adoptée par d'autres organisations comme l'O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé) :

***« Un probiotique est un micro-organisme vivant (appelé aussi bactérie ou ferment) qui, ingéré en quantité suffisante, procure un bénéfice sur la santé de l'hôte, au-delà des effets nutritionnels traditionnels ».***

L'histoire souligne donc que la définition actuelle pourrait encore évoluer, car les champs de recherche pour mieux connaître et comprendre l'action des probiotiques, sont encore nombreux : rôle en terme de régulation et d'interaction avec le microbiote intestinal, rôles bénéfiques sur la santé...

La définition aujourd'hui adoptée souligne que le concept de probiotique fait appel à 4 notions importantes:

a. Un probiotique est un micro-organisme vivant.

Les micro-organismes tués par la chaleur ne répondent donc pas à la définition des probiotiques.

b. Un probiotique est ingéré par voie orale.

Il s'agit, dans un grand nombre de cas, de bactéries ou de levures ajoutées aux aliments, notamment les produits laitiers fermentés, mais aussi de médicaments ou de compléments alimentaires.

c. Un probiotique exerce un effet bénéfique pour la santé de l'hôte.

d. Un probiotique exerce son action en améliorant l'équilibre du microbiote intestinal.

Une bactérie, pour être qualifiée de probiotique, doit donc survivre au transit gastro-intestinal, pouvoir s'établir dans la microflore intestinale et être retrouvée dans les selles.

Les probiotiques sont donc des micro-organismes bénéfiques pour la santé, mais sont à différencier des autres agents pouvant être utilisés pour leur action favorable pour la santé:

- **les prébiotiques** (substances non digestibles qui induisent un effet physiologique bénéfique à l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le côlon);
- **les symbiotiques** (produits contenant au moins un probiotique et un prébiotique);
- **les bactéries non vivantes** (pouvant également induire un effet physiologique bénéfique. Ces bactéries sont également appelées abiotiques ou agents biothérapeutiques).

Actuellement, quelques genres bactériens et un genre de levure sont utilisés comme probiotiques:

- *Bifidobacterium*,
- *Lactobacillus*,
- Des coques: *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*,
- Des souches de *Saccharomyces cerevisiae*, parfois dénommées *Saccharomyces boulardii*.

Certains de ces micro-organismes servent à la production des produits laitiers fermentés, de légumes lactofermentés (la choucroute), du salami (*Lactobacillus plantarum*, extrait du levain à pain classique)... Ils sont présents également dans des compléments alimentaires et des médicaments et dans ce cas le plus souvent sous forme lyophilisée.

## **1.2. Critères de sélection des souches probiotiques**

Du fait de leur utilisation en alimentation humaine, les micro-organismes probiotiques doivent répondre à un certain nombre de critères rigoureux de sélection inclus dans la définition du probiotique. En effet, ces micro-organismes sont choisis pour leur effet bénéfique sur la santé de l'homme, ils doivent donc être dénués de toute pathogénicité. Pour exercer leur activité au niveau intestinal, ils doivent parvenir à leur site d'action sous forme viable et pouvoir adhérer à la muqueuse intestinale. Enfin, les probiotiques étant administrés par voie orale, ils sont généralement inclus dans une forme galénique leur permettant de conserver leurs caractéristiques.

### **1.2.1. Innocuité totale**

La première étape réside dans le choix du micro-organisme pouvant être utilisé comme probiotique. Celui-ci doit être exempt de toute pathogénicité. Ce critère paraît évident, mais il convient de le vérifier, surtout si la bactérie administrée n'appartient pas à la flore normale de l'hôte. En théorie, des effets secondaires peuvent être associés à la consommation de produits contenant des probiotiques.

Jusqu'à ce jour, la sécurité d'emploi des probiotiques est excellente. Leur utilisation de longue date en alimentation humaine, notamment dans les produits laitiers, atteste leur innocuité. Mais quelques effets secondaires à l'administration de probiotiques ont été rapportés ces dernières années dans la littérature internationale : de rares cas d'infections, des transferts possibles de gènes et une immunostimulation excessive.

#### a) Les infections

Le risque d'infection liée à l'ingestion de probiotiques par des adultes en bonne santé est considéré comme négligeable, puisque, par définition, les probiotiques ne sont pas sélectionnés parmi des micro-organismes pathogènes.

Par exemple, le risque de bactériémie à *Lactobacillus rhamnosus* GG a été évalué à 0,3 cas pour 100.000 personnes par an en Finlande, pays grand consommateur de ce probiotique (1).

Mais quelques cas ont été rapportés, notamment des infections locales et systémiques dues à des lactobacilles et des bifidobactéries. *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* sont, quant à eux, plus souvent retrouvés dans des infections. Dans la plupart des cas décrits, l'agent responsable de l'infection provenait de la flore du sujet ; mais, parfois, une consommation récente de probiotiques était rapportée dans l'historique.

La levure *Saccharomyces boulardii* a été responsable d'une trentaine de cas de fongémies. Mais il s'est avéré que tous les patients étaient porteurs d'un cathéter veineux central. Après investigations, la contamination serait due à un portage manuel suite à la manipulation de sachets ou de gélules contenant *Saccharomyces boulardii*. La fongémie régressait spontanément à l'arrêt du portage manuel ou après un traitement antifongique. Dans certains cas, l'ablation du cathéter était nécessaire.

Un autre mécanisme d'action a été envisagé : la translocation (passage du micro-organisme du tractus digestif à travers la barrière intestinale) de la levure, mais aucun cas n'a été observé à ce jour.

Suite à ces observations, l'utilisation de la levure *Saccharomyces boulardii* est contre-indiquée chez tout patient porteur d'un cathéter veineux central.

Quelques cas d'infection à *Lactobacillus rhamnosus* ont été imputés à une translocation bactérienne.

Une femme âgée de 74 ans souffrant de diabète non insulino-dépendant et consommant régulièrement ce probiotique a présenté un abcès du foie à *Lactobacillus*. Mais il n'a pas été possible de distinguer la souche responsable de cet abcès de la souche utilisée comme probiotique (2).

Un autre cas est survenu chez un homme de 67 ans porteur d'une insuffisance mitrale minime et consommant régulièrement un mélange de probiotiques contenant *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* et *Enterococcus faecalis*. Cet homme a subi une extraction dentaire associée à un traitement antibiotique par amoxicilline. Il a développé une endocardite à *Lactobacillus rhamnosus* dont la souche isolée dans son sang était similaire en tous points à la souche présente dans le mélange (3).

Une revue rétrospective de 200 cas d'infections à *Lactobacillus* publiés de 1950 à 2003 a montré que 30% des infections mortelles étaient associées à la présence de *Lactobacillus*, mais la mortalité n'était pas attribuée directement aux infections opportunistes.

Seul un très faible pourcentage des cas d'infections recensés (1,7%) était associé à une forte consommation de produits laitiers (4).

Le risque d'infection due à la consommation de probiotiques est donc très bas et il n'a pas été mis en évidence, à ce jour, que ces micro-organismes présentent un risque d'infection plus élevé que les bactéries de la flore commensale. Des cas de septicémies ont été rapportés chez des personnes immunodéprimées suite à la translocation de bactéries intestinales normales. Devant ce risque important d'infection, il est aujourd'hui déconseillé d'utiliser des probiotiques dans cette population.

Chez le nouveau-né et l'enfant en bas âge en bonne santé, aucune donnée n'est actuellement disponible. Chez les prématurés, aucun cas d'infection n'a été rapporté, mais cette population présente une immaturité immunologique.

Il n'est donc pas recommandé aujourd'hui d'utiliser les probiotiques chez les prématurés avant d'effectuer des recherches spécifiques sur le risque d'infection lié à leur administration.

#### b) La résistance aux antibiotiques

La sensibilité aux antibiotiques est un critère prérequis auquel les probiotiques doivent se conformer pour assurer leur innocuité.

Dans le tractus digestif, des gènes microbiens, notamment de résistance aux antibiotiques, peuvent être transférés des probiotiques au microbiote intestinal, mais aussi de ce microbiote aux probiotiques. Ces transferts peuvent se faire à partir des éléments mobiles que le microbiote renferme mais aussi après libération de l'ADN cellulaire suite à la lyse cellulaire de ces micro-organismes. Il est donc nécessaire de contrôler les souches de probiotiques pour être sûr qu'elles ne contiennent pas de gènes de résistance.

Une équipe française a testé la résistance aux antibiotiques de 50 souches de bifidobactéries isolées chez l'homme, les animaux et dans l'alimentation. Toutes ont montré une faible résistance à un ensemble de 30 antibiotiques. Ces bactéries n'étant pas porteuses de gènes de résistance aux antibiotiques, cette étude confirme que le risque lié à l'utilisation de ces bactéries en alimentation humaine est négligeable (5).

Une autre équipe a testé la résistance aux antibiotiques de quatre souches de probiotiques : *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus rhamnosus* HN067, *Lactobacillus acidophilus* HN017 et *Bifidobacterium lactis* HN019. Les auteurs ont conclu que ces quatre souches montrent peu de résistance aux 18 antibiotiques testés, que ce soit des résistances portées par des plasmides ou par des gènes bactériens (6).

L'hypothèse que les probiotiques pourraient être receveurs de ces gènes de résistance est peu probable, puisque leur durée de vie dans l'intestin est courte et que la prolifération dans le tube digestif est faible. Néanmoins, il convient de vérifier cette hypothèse, notamment s'il existe un risque de transfert de gène d'un probiotique à un pathogène chez lequel la résistance pourrait avoir des conséquences graves. C'est pour cela que la présence possible de gènes d'antibiorésistance acquise et potentiellement transférable est aujourd'hui à l'étude. Il ne faut pas oublier que, depuis une vingtaine d'années, des articles scientifiques ont démontré l'existence de plasmides codant pour la résistance aux médicaments et que plusieurs publications ont attesté la présence de gènes de résistance aux antibiotiques chez les lactobacilles et certaines bifidobactéries, mais dans une moindre proportion.

Un groupe d'experts sur les probiotiques, mandaté par la F.A.O. et l'O.M.S., indique « qu'il est recommandé que les bactéries probiotiques ne portent pas de gènes transmissibles de résistance à des médicaments utilisés en médecine humaine ».

### c) Les effets immunologiques

Un cas d'effet indésirable d'ordre immunologique a été répertorié chez l'homme. Il s'agissait d'une hépatite auto-immune aggravée par l'ingestion massive de yaourt. Mais cet effet doit être détaillé avant de conclure quant à un risque réel de la modulation de maladies auto-immune par des probiotiques (7).

Jusqu'à aujourd'hui, très peu d'effets indésirables dus à la consommation de probiotiques ont été répertoriés dans la littérature scientifique. Néanmoins, devant les quelques effets néfastes graves listés, il est nécessaire de donner quelques directives d'utilisation des probiotiques.

Les préparations contenant des probiotiques ne devront pas être utilisées chez les enfants ayant un déficit immunitaire congénital ou acquis (traitement par corticothérapie, immunosuppresseurs...). Il en sera de même chez les sujets atteints de valvulopathie, présentant un déficit immunitaire ou porteurs d'un cathéter veineux central. Le risque d'infection chez les nouveau-nés et les prématurés étant inconnu, il est préférable de ne pas les utiliser dans cette catégorie de population avant d'avoir réalisé des études scientifiques chez des enfants.

Concernant le risque de transfert de gènes, notamment de résistance aux antibiotiques, la documentation étant peu importante, il n'y a pour l'instant aucune restriction à l'utilisation des probiotiques.

L'utilisation des probiotiques dans le domaine alimentaire étant relativement récente, il est nécessaire de mettre en place une vigilance afin de mieux mettre en évidence les effets indésirables. Cette vigilance existe déjà pour les médicaments: la pharmacovigilance.

### **1.2.2. Survie au cours du transit digestif**

Les aliments ingérés sont transformés durant leur transit intestinal dans le tube digestif et une grande quantité des micro-organismes ingérés y est détruite. Pour être efficaces, les probiotiques doivent parvenir vivants au site de leur action, l'intestin, et donc résister aux divers mécanismes de défense de l'hôte.

Etant administrés par voie orale, il est nécessaire que ces micro-organismes franchissent les obstacles majeurs du transit intestinal: les enzymes de la cavité buccale (exemple: le lysozyme), le pH acide de l'estomac, les sucs pancréatiques, les concentrations de bile et de mucus présents dans l'intestin grêle, la motricité intestinale (son ralentissement favorisant la colonisation bactérienne chronique)... Leur survie dépend aussi de facteurs alimentaires ou galéniques avec ou dans lesquels ils sont ingérés.

La pérennité de ces micro-organismes varie selon les genres microbiens, les espèces et parfois même selon les souches.

La meilleure façon d'étudier la pharmacocinétique des probiotiques dans le tractus digestif est la mesure *in vivo*. Certains chercheurs ont suivi le devenir des probiotiques ingérés et ont mesuré leur survie jusque dans les selles. Deux principales mesures sont utilisées pour obtenir des échantillons du contenu intestinal : la collecte des selles ou des effluents de stomie et la perfusion intestinale. Afin de déterminer une possible colonisation durable de l'intestin par un micro-organisme, les chercheurs utilisent un marqueur inerte ingéré en même temps. Il s'agit le plus souvent de *Bacillus stearothermophilus*, dont les spores ne se multiplient pas et ne sont pas détruites dans le tractus gastro-intestinal. Son élimination se fait selon une courbe exponentielle et ses spores deviennent indétectables dans les selles au bout de 5 à 9 jours.

L'expression des résultats est aussi un point important. Ils sont exprimés en ufc/mL (Unité Formant Colonie par millilitre de contenu). Un critère d'importance est la concentration du probiotique et de ses principes actifs au niveau du site supposé de ses effets. Selon des affirmations, fondées sur des bases fragiles, la concentration en probiotiques doit dépasser  $10^6$  ufc/mL dans l'intestin grêle et  $10^8$  ufc/g au niveau du côlon pour observer leurs effets sur la santé.

La survie des micro-organismes étudiés est exprimée en pourcentage de l'ingesta permettant une comparaison de différents probiotiques.

La survie des micro-organismes dans le tube digestif et utilisés comme probiotiques chez l'homme sera détaillée dans le chapitre 1.3.

### **1.2.3. Adhésion à la muqueuse intestinale**

Il semble intéressant que les souches probiotiques puissent adhérer aux cellules de la paroi intestinale, afin de faciliter la colonisation du tube digestif par le probiotique et d'obtenir un effet « barrière » optimal contre l'invasion par des bactéries pathogènes. Mais les tests *in vitro* proposés pour étudier l'adhésion des bactéries à des cellules sont controversés: dans certains cas il n'existe aucun lien entre l'adhésion *in vitro* de souches et leur adhésion *in vivo* à l'épithélium intestinal.

Des études ont montré que les probiotiques sont nichés dans le mucus intestinal. Ces bactéries possèdent un chimiotactisme pour ce mucus où elles trouvent les sucres qui constituent leur source d'énergie. Elles se développent donc à proximité de la muqueuse intestinale, puisque la quantité de sucre y est importante. Cette position favorise donc les interactions avec la paroi intestinale. Il ne s'agit donc pas d'adhésion au sens strict.

### **1.2.4. Origine humaine**

Ce critère fait l'objet de nombreuses discussions parmi les scientifiques. Les bactéries, comme n'importe quel autre être vivant, sont bien adaptées à leur environnement spécifique. Par exemple, les cultures lactiques connaissent une croissance optimale à une température comprise entre 40 et 42°C, ne résistent pas au passage dans l'estomac, sont tuées par les sels biliaires et sont incapables de s'établir dans le tube digestif. A l'opposé, les souches retrouvées dans le tube digestif poussent à 37°C, sont résistantes aux acides et sels biliaires et, en général, peuvent s'établir au moins transitoirement dans l'intestin humain.



De plus, la muqueuse intestinale et sa flore partagent des épitopes antigéniques communs, sans doute responsables de la tolérance immunologique de l'hôte vis-à-vis de ses bactéries résidentes.

Ces raisons parlent donc en faveur d'une origine humaine comme facteur favorable pour une souche probiotique. A noter toutefois que l'origine humaine d'une souche peut être difficile à établir en toute certitude.

Deux éléments contredisent l'idée qu'un probiotique doit être d'origine humaine. Tout d'abord le fait que les bactéries étaient présentes sur Terre des millions d'années avant l'homme. D'autre part, le tractus digestif est stérile à la naissance, mais représente une niche écologique excellente, pauvre en oxygène et riche en nutriments, rapidement colonisée.

Les probiotiques ne peuvent donc être d'«origine humaine» au sens strict. Cependant, certaines bactéries probiotiques ont une capacité à survivre chez l'homme plus que d'autres et donc à s'y implanter.

### **1.2.5. Activité antimicrobienne**

Un probiotique devant améliorer l'hygiène intestinale, il est important qu'il soit capable d'inhiber le développement des germes indésirables:

- soit par la production de substances antagonistes de type bactériocines, acides organiques, peroxyde d'hydrogène...

- soit en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale.

Ce point important sera développé dans le chapitre 2.2.

### **1.2.6. Résistance des souches probiotiques: viabilité et stabilité dans le produit fini**

Il s'agit d'un des critères de sélection les plus importants, car les caractéristiques des souches ne doivent pas disparaître durant les procédés de production, de conservation et d'utilisation des probiotiques.

Les produits probiotiques sont pour la plupart utilisés sous forme de poudres, de comprimés ou de produits laitiers frais. Mais leur fabrication nécessite l'utilisation de procédés pouvant altérer les caractéristiques des micro-organismes, voire même d'avoir un effet néfaste sur leur survie (lyophilisation, centrifugation, variations de température...). Il faut aussi mettre en place un système de contrôle-qualité tout au long de la fabrication de ces produits: ils peuvent être facilement contaminés par des micro-organismes indésirables. Des études sur la viabilité des souches sont donc nécessaires tout au long de la chaîne de fabrication.

De plus, la stabilité des produits probiotiques dépend des conditions de stockage (température, humidité...), du conditionnement et de la durée de stockage. Il est également nécessaire de déterminer la date limite d'utilisation sans diminution ou perte des propriétés.

La notion de viabilité est un critère retrouvé dans les différentes définitions établies au cours du temps. Cependant, ce critère semble controversé, puisque des études récentes ont démontré que les souches non viables de certains probiotiques sont capables d'exercer

certains effets bénéfiques sur la santé de l'homme. Ceci pourrait encore modifier la définition du probiotique, où la notion de viabilité serait alors à reconsidérer.

### **1.3. Principales souches microbiennes à potentiel probiotique**

Les probiotiques les plus traditionnellement utilisés sont des bactéries lactiques, c'est à dire des bactéries pouvant transformer le sucre du lait (le lactose) en acide lactique : les lactobacilles et streptocoques, ainsi que les bifidobactéries, qui ne sont pas à proprement parlé des bactéries lactiques. D'autres genres bactériens sont utilisés, ainsi qu'une levure, *Saccharomyces boulardii*.

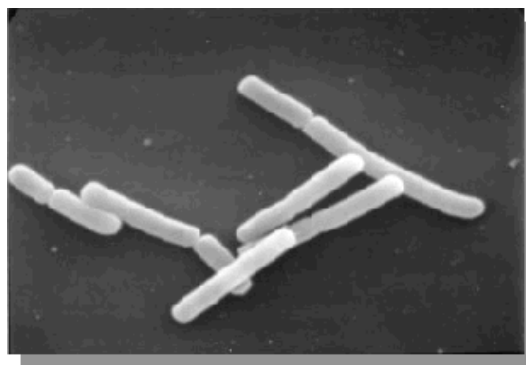
Les micro-organismes sont répertoriés dans des collections officielles nationales (comme l'Institut Pasteur en France) ou internationales. Elles se définissent par un nom de genre (*Lactobacillus*), un nom d'espèce (*plantarum*), voire un nom de sous-espèce et un nom de souche (299v) caractérisé par un code ou un nom de marque.

#### **1.3.1. Les lactobacilles** (Figure 1)

Les lactobacilles sont des bactéries à Gram positif, anaérobies facultatives, pléomorphes (capable de revêtir des formes différentes dans certaines conditions ou sous des influences déterminées), asporogènes et immobiles (sauf *Lactobacillus agilis*). Ce sont des bacilles plus ou moins allongés et même parfois de formes longues.

Il s'agit de bactéries lactiques capables de transformer le lactose en acide lactique. Cette réaction chimique leur permet de produire de l'énergie, à défaut d'une chaîne respiratoire. Leur sensibilité à l'oxydation est variable et elles ne possèdent pas de catalase. En culture, elles se développent lentement et la présence de divers facteurs de croissance est nécessaire.

Les lactobacilles existent naturellement dans le tractus gastro-intestinal, la bouche et le vagin de l'espèce humaine. Rarement pathogènes, ils ont néanmoins été mis en cause dans des endocardites et des suppurations buccales ou pulmonaires.



**Figure 1: *Lactobacillus acidophilus***

De nombreuses espèces sont utilisées comme probiotiques, dont les plus courantes sont:

- *Lactobacillus acidophilus*, nom provenant du latin acidus (acide) et philus (aimer). C'est une bactérie à métabolisme homofermentaire (fermentation sans gaz du glucose avec production exclusive d'acide lactique), naturellement présente dans le tractus digestif de l'homme et dans certains laits fermentés traditionnels tels que le yaourt et le kéfir.

Sa classification a été difficile et regroupe six espèces principales faisant partie du groupe *Lactobacillus acidophilus*:

- *Lactobacillus acidophilus*, utilisé dans de nombreuses études et dans la recherche des rôles potentiels des probiotiques,

- *Lactobacillus crispatus*,

- *Lactobacillus amylovorus*,

- *Lactobacillus gallinarum*,

- *Lactobacillus gasseri*,

- *Lactobacillus johnsonii*.

- Le groupe *Lactobacillus casei*, composé de plusieurs bactéries lactiques mésophiles (croissance optimale à une température entre 34 et 40°C), anaérobies facultatives et hétérofermentaires. Leur métabolisme attribue des qualités organoleptiques à de nombreux laits fermentés. *Lactobacillus casei* a été détecté dans les selles de nourrissons et d'adultes. Sa capacité à survivre au transit intestinal en nombre suffisant pour avoir un effet physiologique associée à ses possibles effets bénéfiques pour la santé, font de *Lactobacillus casei* un candidat probiotique idéal. Cette souche est d'ailleurs retrouvée dans la composition du produit probiotique bien connu Actimel® de Danone.

- D'autres lactobacilles moins connus sont utilisés:

- *Lactobacillus helveticus*,

- *Lactobacillus lactis*,

- *Lactobacillus plantarum*,

- *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* utilisé dans la fabrication du yaourt,

- *Lactobacillus reuteri*,

- *Lactobacillus rhamnosus* GG isolé en 1985 à partir d'un intestin sain et largement étudié dans la littérature.

Plusieurs espèces de *Lactobacillus* ont fait l'objet d'études de survie dans le tube intestinal. Il a été démontré que ces bactéries survivent bien pendant le transit pour arriver en grande quantité dans les fèces.

*Lactobacillus rhamnosus* GG fait partie des bactéries les plus étudiées. Sa persistance a été suivie chez des volontaires sains en consommant  $10^{11}$  ufc par jour. Chez 33% des individus, la bactérie persistait 7 jours après l'arrêt de sa consommation (8).

Le suivi de sa persistance dans les fèces a été mené par Alander et son équipe(9). Quatorze jours après l'arrêt de sa consommation, la bactérie n'était plus détectable dans les fèces mais persistait au niveau de la muqueuse jusqu'à 21 jours. Cette persistance pourrait être le résultat d'une colonisation, mais il s'agit d'une supposition non vérifiée.

Cette souche a été utilisée pour montrer qu'il existe une dose nécessaire pour avoir un effet. Saxelin et son équipe ont découvert que la consommation quotidienne de  $10^8$  ufc de *Lactobacillus rhamnosus* GG était insuffisante pour détecter la souche dans les selles alors qu'une dose plus élevée de  $10^{10,1}$  ufc le permettait (10).

Chaque souche de *Lactobacillus* possède sa propre cinétique d'élimination. Les souches de *Lactobacillus acidophilus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. casei* et *L. johnsonii* présentent une survie meilleure en milieu acide que *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Les lactobacilles sont sans doute les probiotiques les plus intéressants du fait de leur longue utilisation dans la fermentation des aliments et des données anciennes concernant leur sécurité d'emploi. Ils font l'objet d'un intérêt croissant depuis quelques années, notamment dans l'industrie alimentaire.

Les lactobacilles ayant des effets bénéfiques sur la santé humaine sont *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus johnsonii* La1, *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* 299v et *Lactobacillus casei* DN-114 001. De nombreuses autres souches ont montré des effets intéressants *in vitro*, mais aucune étude clinique n'a encore validé leurs effets chez l'homme.

### 1.3.2. Les bifidobactéries (Figure 2)

Les bactéries du genre *Bifidobacterium* sont des bacilles à Gram positif, anaérobies strictes (sauf quelques espèces pouvant tolérer l'oxygène), non sporulées, non acido-résistantes, très polymorphes, immobiles et non capsulées. Elles sont capables de fermenter de nombreux sucres comme le lactose, le galactose, le fructose, le raffinose, l'amylopectine, l'amylose (...) et de générer un degré d'acidification inhibant le développement d'une flore de putréfaction. Elles peuvent d'autre part avoir un rôle immunomodulateur. Elles se différencient des bactéries lactiques car produisent de l'acide acétique en plus de l'acide lactique à partir du lactose. Elles représentent 95% du microbiote de l'enfant et 3% de l'adulte.

La classification des bifidobactéries a changé plusieurs fois depuis leur découverte par Tissier en 1899 dans les selles de nourrissons allaités et ce genre contient aujourd'hui 32 espèces.

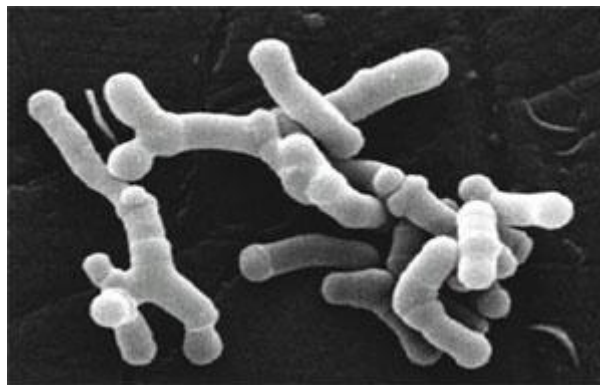


Figure 2: *Bifidobacterium longum*

Les bifidobactéries sont des habitants naturels du tractus digestif de l'homme tout au long de sa vie. La variation de la distribution des bifidobactéries dans le tractus gastro-intestinal de l'homme selon l'âge est indiquée dans le tableau suivant.

**Tableau 1: Distribution des différentes espèces de *Bifidobacterium* dans le tractus digestif de l'homme en fonction de l'âge (11).**

Population	Espèces mineures	Espèces majeures
Jeunes enfants nourris au sein		<i>B. longum</i> <i>B. infantis</i> <i>B. breve</i>
Jeunes enfants nourris au biberon	<i>B. bifidum</i>	<i>B. adolescentis</i>
Enfants et adolescents		<i>B. longum</i> <i>B. breve</i> <i>B. bifidum</i>
Adultes	<i>B. bifidum</i>	<i>B. adolescentis</i>
Personnes âgées		<i>B. adolescentis</i> <i>B. longum</i>

L'utilisation des bifidobactéries dans la composition de laits fermentés a commencé il y a plus de 50 ans et est en pleine expansion depuis les années 1970. Ces bactéries sont utilisées comme probiotiques dans plusieurs régions du monde, comme l'Amérique du nord, l'Europe et l'Asie. Les différentes espèces utilisées sont:

- *Bifidobacterium animalis* (avec, entre autres, la souche *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 que nous appellerons par la suite *Bifidobacterium lactis* Bb12 pour plus de commodité),
- *Bifidobacterium bifidum*,
- *Bifidobacterium breve*,
- *Bifidobacterium longum*.

Plusieurs études menées ces dix dernières années ont montré que certaines bifidobactéries survivent bien au transit intestinal et peuvent être retrouvées à une concentration non négligeable dans l'iléon.

La consommation quotidienne de  $10^{10}$  *Bifidobacterium lactis* Bb 12 par des volontaires sains a permis de montrer qu'une grande quantité est retrouvée au niveau de l'iléon ( $10^{6.4}$  ufc/mL au lieu de  $10^{2.2}$  ufc/mL) et que le taux de survie dans les fèces de la bactérie est de 23,5% de la quantité ingérée (12).

Le devenir de la souche *Bifidobacterium*, contenue dans le produit fermenté Ofilus® (yaourt mis sur le marché dans les années 80), a été suivi chez huit volontaires sains (13). Ils ont consommé quotidiennement  $10^{11.5}$  ufc de ces bactéries pendant 8 jours. Il a été observé une augmentation de la concentration fécale en *Bifidobacterium*, suivie d'une diminution progressive à l'arrêt de la consommation et d'une disparition complète après 8 jours.

Après l'arrêt de sa consommation, la cinétique d'élimination de *Bifidobacterium sp.* est parallèle à celle des marqueurs inertes. Ceci montre qu'il n'y a pas de colonisation durable du tractus digestif dans les conditions habituelles.

Certaines bifidobactéries survivent donc lors du transit intestinal et peuvent être retrouvées à une concentration de plus de  $10^6$  ucf/mL au niveau de l'iléon.

### 1.3.3. *Streptococcus thermophilus* (Figure 3)

Le genre *Streptococcus* est constitué d'un vaste ensemble de micro-organismes ubiquitaires contenant des espèces pathogènes, commensales et saprophytes. Parmi ce dernier groupe, se trouve *Streptococcus thermophilus*, encore appelé *Streptococcus salivarius thermophilus*, retrouvé dans la composition du yaourt.

Il s'agit de coques à Gram positif, de diamètre allant de 0,5 à 1 micromètre. Ces bactéries sont regroupées typiquement en chaînettes, immobiles et dépourvues de spores. Elles sont anaérobies facultatives, se développent donc aussi bien avec que sans oxygène. Les streptocoques sont neutrophiles et mésophiles, à l'exception de *Streptococcus thermophilus* qui prolifère à une température proche de 45° C.

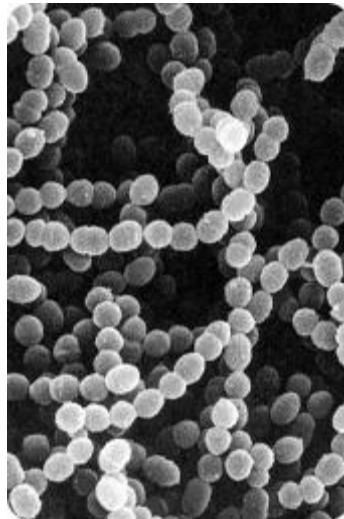
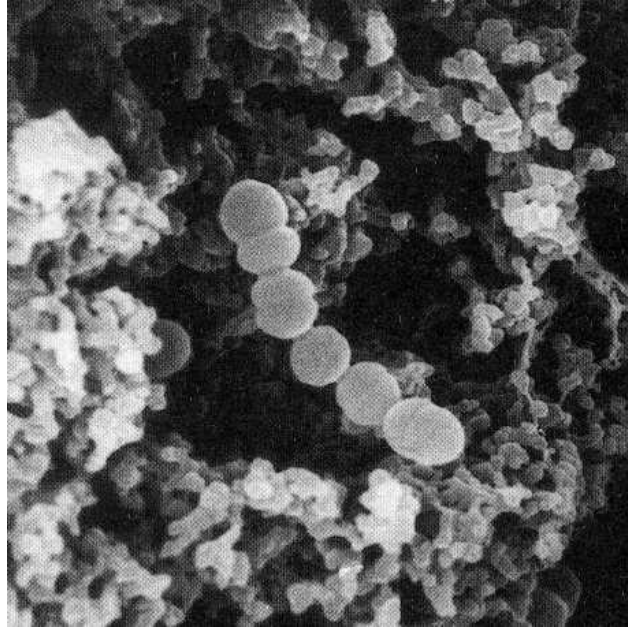


Figure 3: *Streptococcus thermophilus*

La bactérie *Streptococcus thermophilus*, retrouvée dans les yaourts, survit plus difficilement au transit digestif et est peu retrouvée dans les fèces (14-16). Ceci est dû à sa faible résistance en milieu acide. Il a été néanmoins observé par certains auteurs une survie de quelques bactéries jusqu'à la fin de l'iléon terminal, mais sans survie significative dans les selles.

### 1.3.4. *Lactococcus lactis* (Figure 4)

*Lactococcus lactis* est une bactérie de la famille des *Streptococcaceae*. Il s'agit de cocci à Gram positif regroupés par paire ou en petite chaînette. Ces bactéries non sporulées et immobiles sont homofermentaires, anaérobies facultatives, hétérotrophes et ont une température de croissance optimale d'environ 30°C.



**Figure 4:** *Lactococcus lactis*

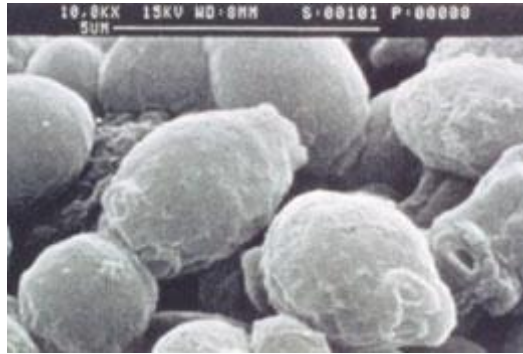
*Lactococcus lactis* fait partie des organismes les plus importants dans l'industrie agro-alimentaire, puisqu'elle entre dans la composition des levains utilisés dans la plupart des fabrications fromagères. Elle est aussi retrouvée dans les produits végétaux (haricots, pommes de terre, pois...) et les céréales.

*Lactococcus lactis* est largement utilisée comme bactérie modèle et est retrouvée dans la composition de nombreux produits laitiers (17-20). Il a été démontré que cette bactérie était détruite dans l'intestin du fait de sa sensibilité à la bile et à l'acide, mais des cellules non viables ou de l'ADN nu pouvait persister dans le tube digestif.

#### **1.3.5. Saccharomyces cerevisiae var boulardii** (Figure 5)

*Saccharomyces cerevisiae var boulardii* est une levure d'origine naturelle, isolée à partir de l'écorce de lichées en Indochine dans les années 1920 par un microbiologiste français, Henri Boulard.

Sous forme lyophilisée, *Saccharomyces boulardii* est le principe actif d'un médicament commercialisé dans près de 200 pays dans le monde sous divers noms de marque, formes et dosages, le plus fréquemment des gélules dosées à 50 mg. Cette levure est utilisée comme médicament pour le traitement et la prévention de diverses affections digestives, notamment le traitement d'appoint de la diarrhée en complément d'une réhydratation orale.



**Figure 5:** *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*

*Saccharomyces boulardii* est résistant à l'acidité gastrique, à la protéolyse et peut atteindre rapidement des concentrations élevées dans le tractus gastro-intestinal puis s'y maintenir à des niveaux constants sous une forme viable et ce, malgré son absence de la flore normale de l'intestin humain. Comme toutes les levures, *Saccharomyces boulardii* est naturellement résistante aux antibiotiques.

Des travaux chez des animaux axéniques (c'est-à-dire ne possédant pas de flore), ont montré qu'une administration unique de *Saccharomyces boulardii* lui permet de s'établir et de persister dans le tube digestif. Par contre, chez l'animal holoxénique (c'est à dire porteur de la flore commune à son espèce), *Saccharomyces boulardii* est rapidement éliminé dans les fèces. La levure ne s'implante donc pas dans le tube digestif en présence de la flore commensale.

La cinétique de son élimination fécale a été analysée chez des adultes sains. Après une consommation par voie orale réitérée d'environ  $4.10^{10}$  cellules de *Saccharomyces boulardii* sous forme lyophilisée, un état d'équilibre est apparu dès le troisième jour. La disparition de *Saccharomyces boulardii* des selles se fait en 2 à 4 jours après l'arrêt de la consommation (21).

Une étude clinique a été réalisée chez des adultes présentant une infection multirécidivante à *Clostridium difficile* et consommant *Saccharomyces boulardii* à la dose d'un gramme par jour. La concentration fécale en cellules viables chez les patients sans rechute ultérieure est significativement supérieure à celle observée chez les patients présentant une rechute. Il y aurait donc un lien entre le niveau de concentration de *Saccharomyces boulardii* dans les fèces et l'activité thérapeutique de la levure (22).



## **2. Ecosystème gastro-intestinal: description générale**

Pour comprendre l'intérêt des probiotiques, il est nécessaire de se reporter aux différents rôles joués par l'intestin et son microbiote sur les nombreuses fonctions de l'organisme. La microflore gastro-intestinale normale est, d'après Isolauri (23), une « collection complexe et en équilibre de micro-organismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal et qui remplissent un rôle dans la nutrition, la physiologie et le contrôle du système immunitaire de l'hôte ».

### **2.1. Le microbiote intestinal: composition et évolution au cours de la vie**

Le tube digestif, stérile *in utero*, est rapidement colonisé après la naissance, devenant un ensemble de niches écologiques offrant ainsi un environnement propice à la colonisation par les bactéries qui les atteignent lors de la naissance et les jours qui suivent.

Dans des conditions normales, les premières bactéries à s'implanter dans le tube digestif du nouveau-né sont des bactéries aérobies et anaérobies facultatives (staphylocoques, entérocoques et entérobactéries). Consommant l'oxygène, elles génèrent peu à peu un environnement anaérobie. Arrivent alors les bactéries anaérobies strictes (bifidobactéries, *Clostridium spp.* et *Bacteroides spp.* et des streptocoques anaérobies). Cette colonisation dépend du mode d'accouchement (par voie naturelle basse ou par césarienne), de la composition des flores vaginale, buccale et fécale de la mère, de l'environnement (bactéries véhiculées par le personnel soignant, l'entourage...) et du type d'alimentation reçue.

En effet, le microbiote intestinal des enfants allaités est presque exclusivement composée de bifidobactéries, bactéries anaérobies strictes, alors que celui des enfants nourris par des préparations lactées contient plus de *Bacteroides spp.*, de *Clostridium spp.* et d'entérocoques. Néanmoins, l'utilisation de laits infantiles enrichis en ferments lactiques, de plus en plus fréquente dans les pays développés, tend à faire diminuer cette différence de composition du microbiote intestinal. En effet, ces laits sont acidifiés sous l'action de bactéries, permettant ainsi de rapprocher le microbiote intestinal des enfants recevant un lait maternisé au plus près de la composition du microbiote intestinal d'un enfant allaité.

Dès que l'alimentation commence à être diversifiée, la différence entre la flore des enfants allaités et celle des enfants nourris par du lait infantile s'estompe. Entre l'âge d'un et deux ans, l'enfant acquiert un microbiote intestinal du même type que celui de l'adulte.

Le tube digestif de l'adulte est colonisé par un microbiote très important composé d'environ  $10^{14}$  bactéries, soit près de dix fois le nombre total de cellules du corps humain, essentiellement implantées au niveau colique. Ce microbiote possède une grande diversité, puisqu'il est estimé à environ 400 espèces différentes. La composition de cette flore saprophyte chez un individu sain est relativement stable mais très variable d'un individu à l'autre en fonction des habitudes alimentaires, de l'âge, des traitements médicamenteux (en particulier les antibiotiques), de l'état de santé, du stress...

De nombreux facteurs peuvent modifier cet équilibre et favoriser certaines espèces bactériennes par rapport à d'autres. Ce déséquilibre peut être favorable au développement de

micro-organismes opportunistes et pathogènes compromettant la santé et le bien-être de l'hôte. Il semble alors intéressant de trouver des solutions permettant de restaurer l'équilibre de l'écosystème digestif. L'utilisation des probiotiques pourrait dès lors s'avérer prometteuse.

La flore résidente intestinale est composée de deux types distincts de bactéries en fonction de leur concentration :

- une flore dominante (nombre de bactéries supérieur à  $10^6$  bactéries par gramme de contenu) composée à plus de 90% de bactéries anaérobies strictes avec une prédominance de bactéries à Gram négatif ;
- une flore sous-dominante (nombre inférieur à  $10^6$  bactéries par gramme de contenu) constituée de bactéries aéro-anaérobies facultatives.

Certains de ces micro-organismes sont potentiellement pathogènes, d'autres ont un effet bénéfique pour la santé de l'hôte et font partie de la flore dominante réprimant la croissance de ceux pouvant être pathogènes.

A ce microbiote, il faut ajouter une microflore en transit dans l'écosystème digestif, apportée par l'alimentation et qui ne s'implante pas dans le tube digestif.

Pendant longtemps, l'étude des micro-organismes n'était possible que par la culture microbienne. Malheureusement, de nombreux composants du microbiote intestinal ne sont pas cultivables, ce qui rendait l'étude de sa composition difficile.

Depuis, de nouvelles technologies ont permis l'étude du microbiote intestinal :

- l'étude de l'ARNr 16S : séquençage à haut débit de l'ARN ribosomal 16S. Mais cette méthode ne donne pas d'informations sur le rôle des espèces bactériennes retrouvées ;
- la métagénomique : séquençage direct de l'ADN microbien ;
- la métatranscriptomique : détermination de l'activité microbienne par analyse de l'expression des gènes.

Il a ainsi été montré que le microbiote intestinal est divisé en plusieurs phyla dont les trois principaux sont :

- les firmicutes : regroupant environ 200 genres différents dont les genres *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Ruminococcus* et *Mycoplasma*. Ce groupe est constitué principalement de bactéries à Gram positif anaérobies pouvant former des spores ;
- les bacteroidetes : représentés par les genres *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*. Il est constitué en majorité de bactéries à Gram négatif anaérobies et ne formant pas de spores ;
- les actinobactéries : représentées par les bifidobactéries et le groupe *Collinsella* – *Atopobium*.

Les deux premiers phyla regroupent près de 90% des bactéries intestinales, le phyla actinobactérie regroupe, quant à lui, moins de 10% des bactéries totales.

Les conditions environnementales évoluant le long du tube digestif, on observe des populations bactériennes spécifiques d'un segment à un autre. La figure 6 montre les principaux compartiments constituant le tractus gastro-intestinal de l'homme.

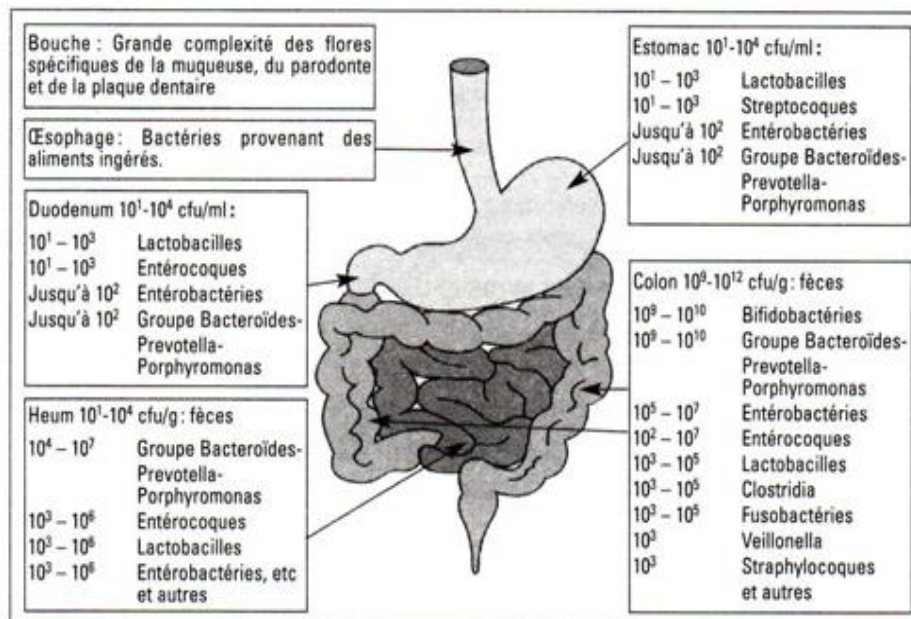


Figure 6: Microbiote intestinal humain d'après T. Mitsuoka (24).

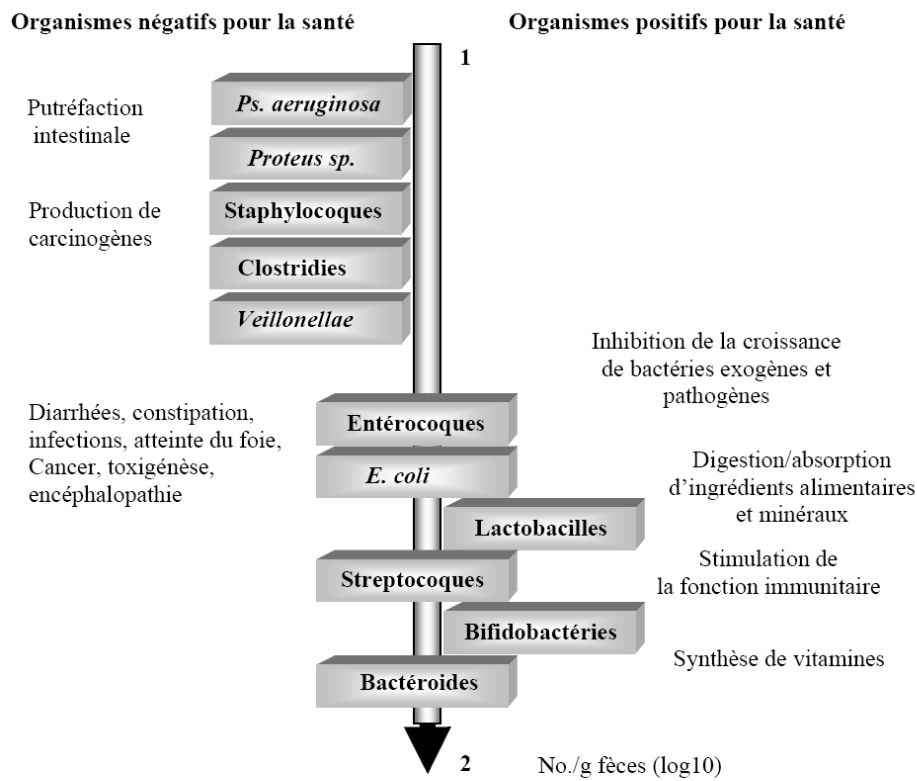
Chez le sujet sain, l'estomac et le duodénum sont peu colonisés ( $10^3$  à  $10^4$  ufc/mL), les conditions et les variations de pH étant peu favorables, de même que le transit ne laissant que peu de temps aux bactéries pour s'accrocher.

L'estomac, de par son acidité, contient peu de bactéries, principalement des micro-organismes acidotolérants et anaérobies facultatifs comme les lactobacilles, les streptocoques, les levures...

L'intestin grêle comprend une microflore constituée de bactéries anaérobies facultatives comme les lactobacilles, streptocoques, entérocoques et des bactéries anaérobies strictes comme les bifidobactéries, bactéroïdes et clostridies.

La population bactérienne augmente dans les portions plus éloignées de l'intestin grêle ( $10^4$  à  $10^5$  ufc/mL) et encore d'avantage au niveau du côlon avec des concentrations maximales pouvant atteindre  $10^{12}$  ufc/g, essentiellement au niveau du caecum, lieu de fermentation intense.

Le côlon, dépourvu d'oxygène, contient une flore beaucoup plus importante que les compartiments précédents et dominée par les bactéries anaérobies strictes (*Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Atopobium spp.*). Les bactéries anaérobies facultatives sont moins nombreuses et représentées par les lactobacilles, les entérocoques, les streptocoques et les *Enterobacteriaceae*. Les levures (ex. *Candida albicans*) sont relativement faiblement représentées. Les bifidobactéries, les lactobacilles, certains entérocoques, *Escherichia coli*, les streptocoques et les bactéroïdes se distinguent par leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Les principaux composants de la flore du côlon et leurs effets sur la santé sont représentés dans la figure 7.



**Figure 7: Microbiote du côlon humain. D'après Gibson et Roberfroid (25).**

S'il a été montré que la flore se stabilise assez tôt dans la vie, il a été admis que sa composition se modifie chez les personnes âgées (26) avec :

- une diminution des bifidobactéries devenant sous-dominantes (27) ;
- une augmentation des entérobactéries et des bactéries lactiques qui deviennent dominantes ;
- une augmentation des clostridies.

**Tableau 2: évolution de la composition du microbiote intestinal en fonction de l'âge (28).**

Genres bactériens	Nouveau-né	Enfant	Adulte
<b>Aérobies ou Anaérobies facultatifs</b>			
Corynébactéries	Faible	Faible	Faible
Entérobactéries	Modéré	Modéré	Modéré
Entérocoques	Modéré	Modéré	Modéré
Lactobacilles	Faible	Modéré	Modéré
Propionobactéries	Modéré	Modéré	Modéré
Staphylocoques	Faible	Faible	Faible
Streptocoques	Modéré	Modéré	Modéré
Quantité totale* (log <sub>10</sub> ufc/g de fèces)	8,2 – 9,1	8,0 – 8,7	6,0 – 8,8
<b>Anaérobies</b>			
Bactéroïdes	Elevé	Elevé	Elevé
Bifidobactéries	Elevé	Elevé	Elevé
Clostridies	Faible	Modéré	Modéré
Eubactéries	Modéré	Elevé	Elevé
Fusobactéries	Modéré	Elevé	Elevé
Quantité totale* (log <sub>10</sub> ufc/g de fèces)	7,8 – 9,3	9,8 – 11,3	10,5 – 11,5

Faible :  $\leq 10^5$  ufc/g de fèces

Modéré :  $10^6$ - $10^8$  ufc/g de fèces

Elevé :  $\geq 10^9$  ufc/g de fèces

\*Quantité totale : Somme des populations bactériennes listée

## **2.2. Rôles du tube digestif et de son microbiote**

L'intestin, organe complexe et d'une grande superficie, est tout d'abord connu pour son rôle de digestion et d'assimilation des aliments, mais il est plus difficile de mettre en évidence le rôle de son microbiote. Néanmoins, il est établi que le microbiote intestinal équilibré d'un adulte intervient dans la dégradation des polysides, la fermentation des oses, la production d'hydrogène fermentaire et sa réutilisation, le métabolisme des acides biliaires, la production de mutagènes.

L'épithélium intestinal est en contact permanent avec une grande quantité de micro-organismes commensaux et pathogènes. De par sa grande superficie, estimée entre 200 et 300 m<sup>2</sup>, il représente la plus grande surface du corps humain en contact avec l'environnement. La composition complexe du bol intestinal requiert la présence d'un système de défense dynamique contre les bactéries pathogènes dans la lumière intestinale, sans empêcher l'absorption des nutriments ni déséquilibrer la flore saprophyte normale.

L'équilibre de l'écosystème gastro-intestinal est maintenu grâce à une alliance stable entre l'épithélium, le système immunitaire et la flore locale. Ces trois composants sont liés

entre eux et évoluent de façon à assurer une fonction et une activité normales de l'écosystème digestif. Si un de ces paramètres est défaillant, cette alliance est altérée et diverses pathologies peuvent s'installer.

### **2.2.1. Le microbiote intestinal naturel de l'Homme**

Certains chercheurs ont émis l'hypothèse que la flore commensale du tube digestif est capable de protéger l'hôte des micro-organismes pathogènes. Plusieurs explications ont été proposées:

- Compétition pour les sites récepteurs.

Certaines bactéries sont capables d'inhiber l'adhérence des pathogènes aux sites récepteurs soit par encombrement stérique, soit par blocage spécifique du récepteur.

- Epuisement des substrats et compétition pour les substrats.

Certains probiotiques consomment les nutriments nécessaires au développement des souches pathogènes, empêchant leur croissance et leur multiplication.

- Production de substances antimicrobiennes comme les bactériocines.

Ces composés microbiens sont des molécules protéiques synthétisées par voie ribosomale et présentant une activité antimicrobienne. De nombreuses bactéries lactiques sont capables de produire ces composés répartis en trois classes : les lantibiotiques, les bactériocines non modifiées thermostables et les bactériocines de grande taille sensibles à la chaleur.

Certaines espèces de bactéries sont capables d'en fabriquer jusqu'à trois différentes. Leur classification est comparable à celle des enzymes : le suffixe -cine est accolé au nom de l'espèce ou du genre qui produit la bactériocine. Par exemple, la colicine est produite par *Escherichia coli*, la subtiline par *Bacillus subtilis*, la staphylocine par *Staphylococcus aureus*...

- Génération d'un environnement physiologique inhibant les micro-organismes exogènes.

Pour cela, les bactéries commensales sont capables de produire des acides gras volatils modifiant le pH luminal, du sulfure d'hydrogène et de modifier le potentiel d'oxydo-réduction.

- Déconjugaison des sels biliaires.

Les formes déconjuguées des sels biliaires ont un pouvoir inhibiteur plus important sur le développement des bactéries.

La flore locale participe donc à l'élaboration d'une barrière qui protège l'intestin contre les éventuelles agressions pouvant entraîner un déséquilibre du tractus digestif et de nombreuses pathologies.

### **2.2.2. La muqueuse intestinale**

Une des fonctions principales de la muqueuse intestinale est la formation d'une barrière physique séparant le milieu extérieur (lumière intestinale) du milieu intérieur

(compartiment systémique). La muqueuse intestinale est en contact permanent avec le microbiote intestinal résident et des quantités massives d'antigènes d'origine alimentaire (plus d'une tonne d'aliments par année pour un adulte).

La muqueuse intestinale est couverte de mucus, milieu complexe comprenant de nombreuses macromolécules secrétées par les cellules épithéliales. Le mucus forme un filet de protection en interagissant avec les pathogènes et en diminuant leur capacité d'adhérence. Les jonctions serrées des cellules épithéliales limitent la pénétration des pathogènes, ce qui diminue leur progression dans l'organisme. Enfin, les cellules de Paneth, cellules spécialisées et regroupées dans les cryptes entre les villosités de l'intestin, secrètent des substances bactéricides capables de dissoudre la membrane cellulaire des bactéries. Ceci permet de réduire le nombre de pathogènes présents dans la lumière intestinale.

La muqueuse intestinale est un point central immunologique du corps humain puisqu'elle héberge 80% de la population des leucocytes du corps. Ces leucocytes sont indispensables à l'homéostasie du corps en raison de cette immense population bactérienne intestinale. En cas de dérégulation de cette homéostasie, de nombreux désordres peuvent apparaître, notamment les maladies inflammatoires de l'intestin comme la colite ulcéreuse ou la maladie de Crohn.

Le maintien de l'intégrité intestinale dépend de la capacité du système immunitaire de la muqueuse à faire la distinction entre antigènes inoffensifs et offensifs et de produire une réponse appropriée : une tolérance ou une immunité active.

### **2.2.3. Le système immunitaire intestinal**

Le système immunitaire intestinal, également appelé GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue), combine à la fois les processus de l'immunité innée, non spécifiques, et ceux de l'immunité acquise, plus complexes et spécifiques de l'agent responsable de la réponse immunitaire.

L'immunité innée, non spécifique, vise à éliminer de façon rapide l'agent pathogène par phagocytose ou les molécules reconnues comme du non-soi par stimulation des cellules natural-killer. Les phagocytes vont reconnaître, neutraliser et détruire les micro-organismes pathogènes.

L'immunité acquise est spécifique d'un antigène donné et est portée par les lymphocytes B sécrétant des anticorps et les lymphocytes T produisant des cytokines.

Dès qu'il est stimulé, le système immunitaire intestinal peut réagir très rapidement par la réponse innée et déclenche ensuite la production d'anticorps spécifiques de l'antigène reconnu. La circulation sanguine permet ensuite de transmettre à l'organisme la réponse des cellules immunitaires face à l'agression et de la stocker dans la mémoire immunitaire.

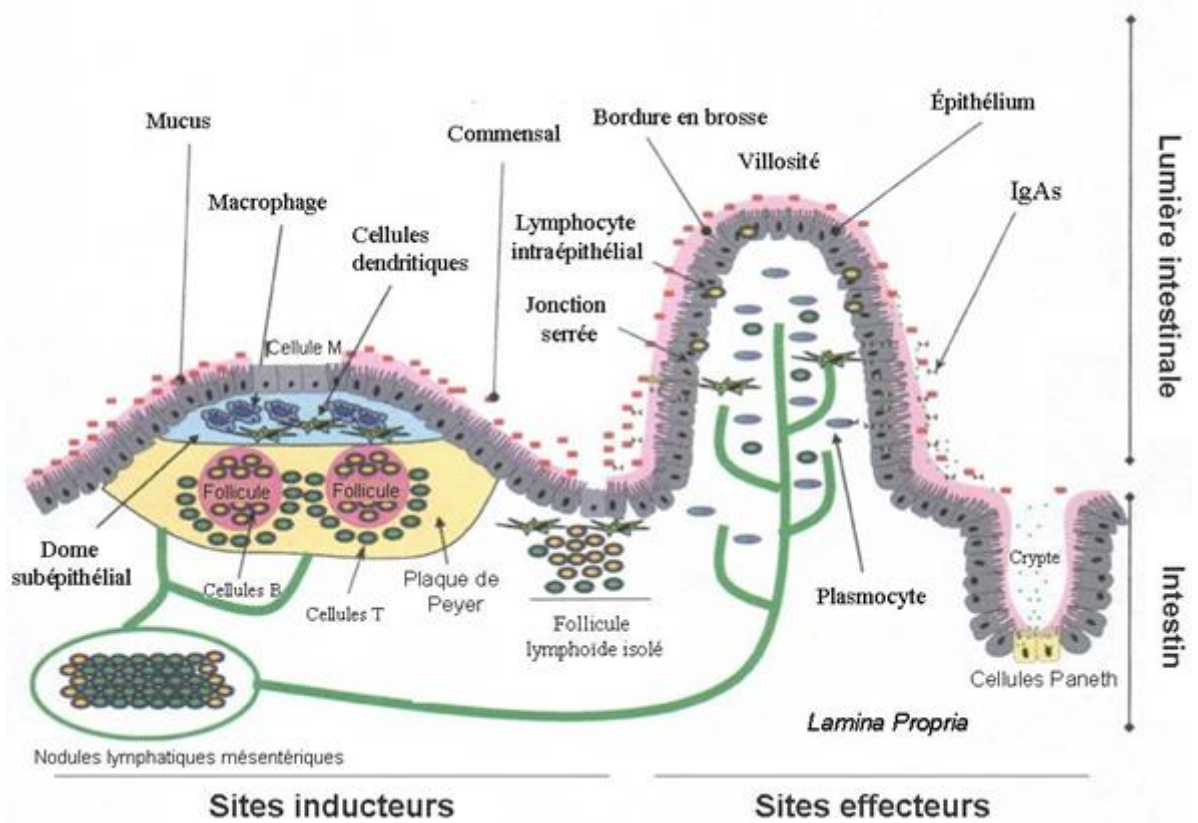


Figure 8 : le système immunitaire intestinal (29).

a) L'immunité innée : première ligne de défense de l'hôte.

Elle identifie le pathogène grâce à des récepteurs non spécifiques capables de reconnaître un motif antigénique microbien précis ou appartenant à un groupe de micro-organismes. Elle utilise la phagocytose ou la stimulation des cellules NK (cellules Natural-Killer). Les phagocytes vont reconnaître, neutraliser et détruire les micro-organismes pathogènes.

Elle fait également intervenir des substances antimicrobiennes détruisant ou inhibant la croissance des pathogènes, synthétisées notamment par les cellules de Paneth, situées au fond des cryptes intestinales.

b) L'immunité acquise (ou adaptative).

Les antigènes (Ag) de la lumière intestinale peuvent être capturés par les plaques de Peyer, les cellules dendritiques ou les cellules épithéliales.

Les plaques de Peyer sont les principaux acteurs de l'immunité adaptative intestinale. Elles comprennent des cellules M, cellules épithéliales capables d'entrer en contact étroit avec les cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes. Elles captent de façon sélective les microparticules antigéniques et les microbes. Le pôle basal de ces cellules M constitue des poches contenant des lymphocytes T et des lymphocytes B naïfs, des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) et des macrophages.



Les lymphocytes induits après contact avec l'Ag regagnent la lamina propria, après être passés via le système lymphatique dans la circulation systémique. Ils se différencient alors en plasmocytes produisant des IgA spécifiques de l'Ag.

Après présentation des Ag par les CPA aux lymphocytes T résidents de la lamina propria, les lymphocytes T sont activés. Les lymphocytes T naïfs, en fonction de l'environnement prendront un phénotype effecteur ou régulateur.

Il existe 3 types de lymphocytes effecteurs (ou pro-inflammatoires) :

- Les Th1, impliqués dans la réponse inflammatoire et l'élimination des pathogènes intracellulaires (virus) et des cellules cancéreuses. Ils interviennent dans la prévention des réactions d'hypersensibilité. Ils secrètent principalement l'IFN $\gamma$ , l'IL-2 et le TNF  $\beta$  (Tumor necrosis factor) ;
- Les Th2, impliqués dans la réponse aux infections parasitaires. Ils produisent principalement l'IL-3, l'IL-4, l'IL-5, l'IL-10 et l'IL-13. Ils aident les lymphocytes B à se différencier en plasmocytes, notamment par libération d'IL-4.
- Les Th17, impliqués dans la réponse aux infections bactériennes extracellulaires et fongiques. Ils secrètent l'IL-17, des facteurs de croissance et des chémokines. Ils participent au recrutement des neutrophiles, à l'hématopoïèse et aux processus de l'inflammation.

Parmi les lymphocytes T régulateurs (ou anti-inflammatoires), il y a principalement les lymphocytes régulateurs induits (Treg), dépendant de l'IL-10 et les lymphocytes T régulateurs 1 (Tr1), synthétisant le TGF  $\beta$ .

Un équilibre est nécessaire pour permettre une homéostasie fonctionnelle générant une réponse immunitaire appropriée. S'il est détruit, les cellules Th produiront selon leur prédominance des réponses immunitaires anormales se traduisant par des maladies auto-immunes (Th1) ou des allergies (Th2).

Il est connu que les fonctions immunitaires évoluent au cours de la vie. Chez le jeune enfant, la période de la naissance à deux ans est critique. C'est à ce moment qu'il est sensible aux infections et où le risque de développer des réactions d'hypersensibilité aux protéines alimentaires est le plus élevé. Pendant cette période, le système immunitaire n'est pas complet car il doit être stimulé par les bactéries de la flore commensale.

Chez l'adulte, le système immunitaire est mature mais de nombreux facteurs peuvent modifier la composition de la flore commensale responsable alors de diverses pathologies, ce qui sera vu dans les pages suivantes.

Les fonctions immunitaires diminuant avec l'âge, la personne âgée est plus sujette aux infections. De plus, il a été vu plus haut que la composition du microbiote commensal est modifiée. Quelques essais ont de fait étudié l'effet des bactéries lactiques sur les défenses immunitaires chez la personne âgée.

### **2.3. Effets des probiotiques sur les systèmes de défense de l'intestin**

Parmi les allégations santé attribuées aux probiotiques, la modulation du système immunitaire suscite actuellement une attention particulière en raison du lien entre l'altération de la flore, les maladies auto-immunes, l'émergence des maladies atopiques et les allergies, tout particulièrement dans les populations occidentales. Il semblerait que les probiotiques

jouent un rôle crucial dans la prévention et la thérapie de ces maladies en assurant, d'une part la maturation du système immunitaire chez l'enfant, et d'autre part sa modulation chez l'adulte.

Selon la littérature, les probiotiques, grâce à leurs composants intra-ou extracellulaires actifs, sont capables d'influencer le système immunitaire par contact avec les cellules immunocompétentes, en transmettant des signaux qui modifient la réponse immunitaire de l'organisme-hôte.

### **2.3.1. Sur le microbiote intestinal**

Des essais chez l'animal et des études *in vitro* ont démontré que des souches probiotiques ont une action protectrice contre l'adhérence, la colonisation, la reproduction et/ou l'action pathogène de bactéries.

Par exemple, les probiotiques, en modifiant le pH du milieu intestinal, peuvent interférer avec l'activité enzymatique de la flore, mais cela n'a été démontré qu'*in vitro*. C'est ainsi que certaines souches de probiotiques sont capables de diminuer l'activité des enzymes procarcinogènes produites par le microbiote intestinal.

Certains probiotiques ont encore une capacité d'adhérence à l'épithélium digestif empêchant la colonisation de la muqueuse intestinale par des bactéries pathogènes. Par exemple, les lactobacilles adhèrent aux villosités intestinales, inhibant la fixation d'*Escherichia coli* entéropathogène. Différentes souches de *Lactobacillus* sont capables d'adhérer à des cellules en culture et d'inhiber l'adhérence d'*Escherichia coli* ou *Salmonella typhimurium*, probablement par encombrement stérique des récepteurs entérocytaires des pathogènes (30).

Des analyses moléculaires ont pu mettre en évidence la capacité de certains probiotiques à inhiber de façon compétitive l'adhésion à la muqueuse intestinale des pathogènes. Ceci est possible grâce à l'expression à la surface des probiotiques de protéines portant des domaines spécifiques d'adhésion au mucus intestinal appelés domaines MUD (Mucus-binding Domain). Ces capacités d'adhésion au mucus intestinal varient d'une souche probiotique à l'autre (31).

La stimulation des fonctions des macrophages par les probiotiques entraîne une augmentation des phénomènes de phagocytose de particules inertes ou, dans certains cas, d'organismes vivants comme cela a pu être démontré pour les salmonelles.

D'autres études ont confirmé que certains probiotiques peuvent inhiber et parfois éliminer des toxines (toxine A de *Clostridium difficile* par *Saccharomyces boulardii*, aflatoxine B par les bifidobactéries).

Les probiotiques sont donc capables de moduler la composition du microbiote intestinal, mais aussi de modifier l'activité métabolique de ce dernier.

### **2.3.2. Sur l'épithélium intestinal**

Des études *in vitro* et *in vivo* réalisées sur des animaux ont démontré que des probiotiques bien spécifiques sont capables de modifier la couche de mucus. Ceci est possible grâce à divers procédés:

- Stimulation de la sécrétion de mucus, indispensable à la fonction de barrière de l'épithélium intestinal ;
- Production de glycosidases extracellulaires qui dégradent les glycoprotéines ou les mucines intestinales;
- Induction de l'expression d'un gène de mucine intestinale dans les cellules épithéliales par un probiotique;
- Modification biochimique pouvant inhiber l'adhésion des bactéries pathogènes à des cellules cultivées *in vitro*;
- Intervention directe ou indirecte via les cellules M actives responsables du transfert de l'antigène aux cellules présentatrices de l'antigène (CPA);
- Restauration de la perméabilité épithéliale déficiente, renforçant l'intégrité de la barrière et protégeant l'hôte contre la migration de pathogènes dans la circulation sanguine (32).

Toutes ces données expérimentales confirment l'hypothèse que la consommation de probiotiques peut améliorer les fonctions de barrière de l'intestin. Mais ces données expérimentales obtenues *in vitro* ne suffisent pas pour conclure quant aux mécanismes d'action des probiotiques.

### **2.3.3. Sur le système immunitaire intestinal**

Bien que peu d'études aient été conduites chez l'homme, il est aujourd'hui reconnu que les bactéries lactiques agissent sur l'immunité, mais leurs propriétés immunomodulatrices ne sont pas encore très claires. De nombreuses revues regroupent les données concernant les effets démontrés des probiotiques chez l'homme. Cependant, ces études présentent des restrictions non négligeables:

- seuls certains micro-organismes ont été étudiés, ce qui ne signifie pas que les autres sont sans effet. Mais une extrapolation des effets de certains probiotiques aux autres est impossible;
- les études réalisées chez l'homme sain n'ayant pas montré d'effet ne sont pas publiées, même en l'absence d'effet délétère pour l'organisme;
- de nombreuses études à la recherche d'effets curatifs sont réalisées chez l'homme mais très peu s'intéressent à un effet préventif.

L'effet du microbiote intestinal sur le système immunitaire a principalement été étudié à l'aide d'animaux axéniques. L'utilisation de ces différents modèles animaux a permis de mettre en avant le rôle important du microbiote intestinal sur la maturation et la stimulation de la réponse immune (innée et acquise), aux niveaux intestinal et systémique. Les principaux effets de la microflore sont présentés dans le tableau 3. Contrairement au microbiote intestinal, l'effet *in vivo* des probiotiques sur la réponse immune est peu documenté. Toutefois, quelques bonnes études *in vitro* et *in vivo* rapportent certains effets. Cependant, les effets observés dépendent des souches utilisées et les études réalisées *in vitro* demandent à être confirmées *in vivo*.

**Tableau 3 : Principaux effets de la flore intestinale et des probiotiques sur la réponse immune.**

	Principaux effets rapportés sur le système immunitaire	Références
Microflore intestinale	Stimulation du nombre de plasmocytes à IgA	Moreau et al., 1982
	Stimulation de l'activité phagocytaire	Nicaise et al., 1993
	Stimulation de la sécrétion de cytokines par les macrophages	Nicaise et al., 1999
	Stimulation de l'expression des molécules du CMH <sub>II</sub>	Matsumoto et al., 1992
	Stimulation des lymphocytes intra-épithéliaux	Bandeira et al., 1990
	Augmentation du nombre de plaques de Peyer	Ducluzeau et Raibaud, 1979 Maeda et al., 2001
	Augmentation de la taille des plaques de Peyer	Ducluzeau et Raibaud, 1979 Maeda et al., 2001
	Développement de centres germinatifs	Ducluzeau et Raibaud, 1979
	Modulation de la différenciation des lymphocytes T	Manickasingham et al., 2003
Probiotiques	Stimulation de la prolifération des cellules épithéliales	Banasaz et al., 2002
	Modulation de la maturation des cellules dendritiques	Christensen et al., 2002
	Stimulation des cellules tueuses NK	Nagao et al., 2000
	Stimulation de la production d'IgA	Fukushima et al., 1998
	Stimulation de la prolifération lymphocytaire	Kirjavainen et al., 1999

Chez l'homme sain, les essais indiquent que la consommation régulière de probiotiques ne modifie pas les paramètres immunitaires systémiques, constatation importante, notamment si l'hôte est en bonne santé. Mais d'autres essais dévoilent que l'administration de ces micro-organismes module l'immunité intestinale de l'hôte. En effet, grâce à des études réalisées chez l'homme, il a été prouvé que la consommation de yaourt augmente la production de cytokines anti-inflammatoires (IL-10, TGF- $\beta$ ) (33), accroît l'activité phagocytaire, la production d'anticorps et la population des cellules Natural Killer (34). Les probiotiques sont également capables de moduler la prolifération des lymphocytes *in vitro* et la production d'anticorps spécifiques et non spécifiques chez la souris et l'homme.

Il est admis que la microflore gastro-intestinale provoque et commande la réponse inflammatoire de la muqueuse afin de protéger l'organisme lors d'épisodes infectieux. La modification de cet environnement par des probiotiques pourrait induire des réponses immunitaires protectrices de l'hôte contre la production de cytokines inflammatoires. Cependant, le rôle exact de la modulation de la réponse immunitaire dans la réponse clinique aux probiotiques reste encore mal connu.

#### a) Effets sur l'immunité innée

De nombreux travaux montrent une stimulation des macrophages chez l'animal suite à l'administration orale de probiotiques.

Dans un essai réalisé par Peltto en 1998, *Lactobacillus rhamnosus* GG présentait un effet immunostimulant chez des adultes sains (35).

Des essais *in vitro* indiquent que certaines souches probiotiques stimulent la sécrétion de cytokines de type Th1 (IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ ) par les cellules immunitaires, mais de façon variable selon les souches. C'est le cas de *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium sp.* et *L. helveticus* (36). Ces résultats ont été

confirmés lors d'études réalisées *in vivo* chez des adultes sains. La consommation de *Bifidobacterium lactis* à la dose quotidienne de  $1,5 \cdot 10^{11}$  ufc entraînait une sécrétion accrue d'IFN $\gamma$ , une activité phagocytaire des polynucléaires plus importante et une activité bactéricide augmentée trois, six et douze semaines après la consommation du probiotique (37). Les mêmes conclusions ont été données dans les études utilisant *Lactobacillus rhamnosus* ( $5 \cdot 10^{10}$  ufc/jour) et *Bifidobacterium lactis* HN019 (38).

Chez l'adulte sain, la consommation de certaines souches de lactobacilles et/ou de bifidobactéries stimule la phagocytose par les cellules mononuclées du sang (39). Ces mêmes souches peuvent augmenter l'activité des cellules Natural Killer.

Ces essais indiquent donc un renforcement de l'immunité innée suite à l'administration orale de certains probiotiques mais peu de publications ont analysé leur impact sur les épisodes infectieux.

#### b) Effets sur l'immunité adaptative

Le système immunitaire du nouveau-né n'est pas totalement mature et continue son développement pendant les premières années de vie. Des modèles animaux et des études chez le nouveau-né et l'enfant en bas âge rapportent une implication de la colonisation intestinale par les bactéries dans le développement de l'immunité. En effet, des expérimentations menées sur des modèles animaux axéniques ont montré que ces animaux n'ont pas de lymphocytes T et d'IgA sécrétoires au niveau intestinal après exposition aux antigènes alimentaires. Par contre, lorsqu'ils sont colonisés par une flore intestinale humaine, le tissu lymphoïde s'étend et les IgA sécrétoires sont produites en grande quantité. De plus, des recherches sur les allergies et les infections chez l'homme suggèrent que certains probiotiques influencent le système immunitaire.

C'est le cas de *Lactobacillus rhamnosus* GG. Son administration à des enfants âgés d'environ 21 mois ayant une diarrhée à rotavirus a augmenté le nombre de cellules sécrétrices d'IgA anti-rotavirus (40). De plus, l'administration du probiotique entraîne une amélioration de la réponse immunitaire par rapport au *Lactobacillus rhamnosus* GG tué. Ce même micro-organisme a également entraîné une augmentation des cellules sécrétoires d'IgM spécifiques du rotavirus 8 jours après une vaccination orale chez des nourrissons par rapport à des témoins non supplémentés (41).

Des travaux ont aussi mis en évidence que les probiotiques *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* Bb-12 sont capables d'accroître la réponse post-vaccinale d'IgA sécrétoires.

Chez l'adulte sain, l'ingestion de lait fermenté par *Lactobacillus johnsonii* et des bifidobactéries pendant 28 jours a permis une augmentation de la concentration en IgA sériques spécifiques de *Salmonella typhi* après exposition à une souche de *Salmonella typhi* atténuée, par rapport à celle observée chez les sujets ne recevant pas ce lait (42).

Des modèles animaux ont confirmé l'existence d'une augmentation des IgA vis-à-vis de pathogènes cibles après consommation de probiotiques. Cependant, devant le faible nombre d'études, il n'est pas possible de confirmer une réelle corrélation entre le taux élevé d'IgA et la prévention des infections.

Grâce à ce système complexe faisant intervenir de multiples stratégies de défense, l'intestin humain n'est pas qu'un simple tube servant à absorber les nutriments. Il est

également le premier système de défense contre les agressions auxquelles le corps est soumis. Il existe de nombreuses et étroites relations entre les défenses immunes, les défenses naturelles et le microbiote intestinal permettant de maintenir l'homéostasie intestinale. En effet, le microbiote intestinal active, module et optimise le fonctionnement du système immunitaire de l'homme. Notre santé pourrait donc être en grande partie dépendante de l'équilibre microbien de notre microbiote intestinal.

Devant l'importance de ces diverses fonctions, il paraît indispensable de développer nos connaissances sur les relations entre la flore commensale et l'immunité et, plus exactement, entre l'intestin et l'ensemble de ses fonctions.

Les mécanismes d'action des probiotiques seront développés dans les pages suivantes, lorsqu'ils sont connus ou hypothétiques, suivant les pathologies dans lesquelles ils sont impliqués : diarrhées infectieuses, allergies alimentaires se traduisant par un eczéma atopique, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et certains cancers...

### **3. Les probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé de l'Homme**

Plusieurs effets bénéfiques pour la santé ont été associés à la consommation des probiotiques. Ils consistent à réduire un ou plusieurs facteurs de risque de maladie ou à améliorer des fonctions de l'organisme de l'hôte. Ces effets se retrouvent tout d'abord sur les fonctions intestinales, mais les probiotiques ont également une répercussion sur des fonctions non intestinales.

Depuis ces vingt dernières années, de nombreuses études ont cherché à confirmer certains effets des probiotiques sur la santé de l'homme. Elles peuvent être regroupées en deux types : d'une part, des études visant à déterminer l'effet des probiotiques sur le microbiote intestinal et les produits de celui-ci; et d'autre part, des études visant à évaluer l'effet sur le système immunitaire de l'hôte.

Il est à noter que la validité scientifique de ces bienfaits est variable. Pour certains d'entre eux, des preuves appuyées par des études cliniques existent et permettent d'attribuer des allégations santé aux produits probiotiques. Mais pour d'autres, les allégations ne sont pas détaillées et restent à ce jour hypothétiques.

Les compléments alimentaires et aliments probiotiques disponibles sur le marché français, contrairement aux médicaments, ne possèdent pas d'AMM. D'après l'EFSA (European Food Safety Authority), on entend par allégation santé « toute mention utilisée sur les étiquettes à des fins de publicité, ou sur des produits de marketing, selon laquelle la consommation d'un aliment donné peut avoir des bienfaits pour la santé, par exemple qu'un aliment peut contribuer au renforcement des défenses naturelles de l'organisme ou améliorer les capacités d'apprentissage ». En 2012, l'EFSA a publié la liste des allégations santé autorisées. Les allégations concernant les probiotiques ont été rejetées, sauf celle des « cultures vivantes des yaourts ou des laits fermentés améliorant la digestion du lactose de ces produits chez les individus ayant des difficultés à le digérer » (règlement de l'UE n° 432/2012 de la commission du 16 mai 2012).

En Europe, la majorité des probiotiques utilisés en alimentation se retrouve sous forme de produits laitiers fermentés. Par définition, un lait fermenté peut contenir des probiotiques, mais un lait fermenté ne veut pas dire probiotique car il n'a pas forcément d'effet bénéfique pour la santé. Il faut le démontrer.

Les probiotiques sont aussi commercialisés sous forme de médicaments, de compléments alimentaires et de dispositifs médicaux renfermant des souches présentes sous forme lyophilisée. Elles sont séchées à basse température, donnant des bactéries dormantes sous forme lyophilisée mais actives au contact de l'organisme.

Enfin, les probiotiques entrent dans la composition de nombreux laits infantiles pour les nourrissons présentant certaines pathologies ou encore pour améliorer leurs fonctions digestives.

### **3.1. Effets bénéfiques des probiotiques sur les fonctions intestinales**

#### **3.1.1. Probiotiques et diarrhée**

L'utilisation des probiotiques au cours des gastro-entérites est une pratique répandue et ancestrale. Les preuves scientifiques de leur intérêt sont pourtant récentes et ne concernent que certaines souches de probiotiques.

La diarrhée est définie par l'O.M.S. comme l'émission d'au moins trois selles molles à liquides par 24 heures. Les infections sont les causes les plus importantes des diarrhées aiguës. En France, le réseau Sentinelle montre qu'il existe un pic hivernal regroupant 500.000 cas de diarrhée et une recrudescence en été. Cette distribution, ainsi que d'autres arguments, plaident en faveur d'une origine virale en hiver et bactérienne en été.

Par contre, dans les pays en voie de développement, la fréquence et la gravité des diarrhées infectieuses aiguës est beaucoup plus importante. Cela est notamment dû au climat, au manque d'hygiène, à la malnutrition et au manque d'infrastructures sanitaires.

##### **3.1.1.1. Les diarrhées infectieuses**

Les diarrhées infectieuses sont un problème de santé publique au niveau mondial, puisqu'elles sont responsables d'une grande part de la mortalité néonatale et infantile dans les pays en voie de développement.

En France et dans les pays industrialisés, elles touchent chaque année un grand nombre de personnes. Le risque pour un Français est d'un épisode de gastro-entérite par an. Elles guérissent spontanément en quelques jours mais sont source d'arrêt du travail chez les adultes. Les formes les plus sévères sont responsables d'un risque de déshydratation pouvant mener à la mort dans les cas les plus graves. Les agents microbiens mis en causes sont principalement des virus (surtout le rotavirus) et des bactéries.

Elles touchent également le voyageur d'un pays au niveau d'hygiène élevée allant dans un pays où le niveau d'hygiène est plus bas, on parle alors de «tourista».

Il a été démontré qu'au cours des diarrhées infectieuses la microflore saprophyte est modifiée.

La flore fécale de 17 adultes indiens a été analysée pendant la phase de diarrhée aiguë et la phase de rémission. Pendant la période de diarrhée aiguë, une augmentation du nombre de bactéries aérobies et une diminution du taux de bactéries anaérobies ont pu être mises en évidence. Pendant la phase de rémission, le niveau de coliformes diminuait et les taux de *Bacteroides*, *Lactobacillus* et *Clostridium* augmentaient (43).

Ces résultats ont été confirmés par plusieurs auteurs.

Fujita et son équipe ont, quant à eux, étudié la flore fécale de 14 enfants du Kenya atteints de diarrhée aiguë due à divers pathogènes (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Campylobacter*, rotavirus). La microflore a également été étudiée pendant la phase de diarrhée aiguë et la période de rémission. Il en est ressorti que le taux de *Bacteroides* et de bifidobactéries (bactéries anaérobies) est moins important pendant la phase de diarrhée que lors de la phase de guérison. La même conclusion a été établie concernant *Lactobacillus*. Ces résultats étaient indépendants de l'agent pathogène (44).

La flore microbienne de 29 enfants sains et celle de 49 enfants présentant une diarrhée infectieuse aiguë a été analysée. Il a été mis en évidence une diminution du taux de bactéries



anaérobies au niveau de la microflore digestive des enfants atteints de diarrhée. Le rapport bactéries anaérobies/bactéries aérobies est inversé dans ce groupe par rapport à celui des enfants sains (45).

Lors d'un épisode de diarrhée infectieuse, le profil bactérien de la flore saprophyte se modifie donc avec une augmentation des bactéries aérobies et une diminution des bactéries anaérobies strictes. Ces constatations et le rôle de barrière du microbiote intestinal ont conduit à penser qu'une biothérapie préventive et curative de ces périodes de diarrhée infectieuse par des probiotiques pourrait être intéressante.

#### a) Utilisation des probiotiques dans le traitement curatif de la diarrhée aiguë

Gaon et son équipe ont étudié l'évolution d'une diarrhée infectieuse persistante chez des enfants âgés de 6 à 24 mois ayant reçu un lait supplémenté en *Lactobacillus casei* et *Lactobacillus acidophilus* ou un lait supplémenté en *Saccharomyces boulardii* (micro-organisme lyophilisé et administré à la dose de  $10^{11}$  ufc/jour pendant 5 jours) lors d'un essai contrôlé en double aveugle. Les enfants ayant reçu les probiotiques ont un nombre de selles moins élevé que les témoins. De même, la durée de la diarrhée ainsi que celle des symptômes associés (douleurs abdominales, vomissements...) sont raccourcies dans le groupe ayant reçu des probiotiques. Les agents infectieux ont pu être isolés chez un certain nombre d'enfants, il s'agissait du rotavirus, d'*Escherichia coli*, de *Salmonella spp.* ou de *Shigella spp.* Les lactobacilles et la levure présentaient le même niveau d'efficacité, quel que soit l'agent infectieux (46).

En 2001, Szajewska et son équipe ont fait un travail de compilation des études concernant l'utilisation de probiotiques en prévention et en traitement des diarrhées aiguës chez des enfants. Dix études randomisées, contrôlées par placebo, en double aveugle concernaient le traitement et trois concernaient la prévention des gastro-entérites. Les probiotiques étudiés en curatif étaient : *Lactobacillus rhamnosus GG*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *Saccharomyces boulardii*, *Streptococcus thermophilus* en association avec *L. acidophilus* et *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. Ceux utilisés en préventif étaient : *Lactobacillus rhamnosus GG* et *Bifidobacterium bifidum* en association avec *Streptococcus thermophilus*. Ce travail a montré l'intérêt thérapeutique de l'utilisation de ces probiotiques pour diminuer de façon significative la durée de 18,2 heures en moyenne de l'épisode de diarrhée aiguë. L'utilisation de *Lactobacillus rhamnosus GG* s'accompagne d'un moindre risque de prolongation de la diarrhée au-delà de 3 jours. Cet effet était plus marqué dans les infections à rotavirus. Par contre, la méta-analyse concernant le caractère préventif n'a pas pu être faite compte tenu de l'hétérogénéité clinique et des résultats statistiques (47).

Une autre méta-analyse (tableau 4) regroupant 9 études randomisées, contrôlées et en double aveugle, concernant *Lactobacillus rhamnosus GG* dans le traitement des diarrhées infectieuses a été publiée. Ces études ont suivi des enfants de 1 à 37 mois hospitalisés pour une diarrhée aiguë, à l'exclusion de ceux ayant eu un traitement antibiotique dans les jours précédents. L'analyse a montré une diminution significative de la durée de la diarrhée de 0,7 jour et une réduction de la fréquence des selles au deuxième jour de traitement d'un facteur de 1,6 selles dans les groupes ayant reçu la souche probiotique. De plus, l'effet thérapeutique obtenu semblait dose-dépendant et indifférent du germe pathogène mais avec un effet plus

prononcé lorsqu'il s'agissait d'une diarrhée due au rotavirus. Enfin, l'administration précoce du probiotique donnait les meilleurs résultats (48).

**Tableau 4: Résultats de la méta-analyse réalisée par Van Niel (48).**

Espèce étudiée	Dose	Pathogènes responsables de la diarrhée	Age des patients (mois)	Pays	Durée de la diarrhée témoin/placebo
<i>Lactobacillus acidophilus</i> tué	10 <sup>10</sup> ufc 2 fois/j	48% rotavirus 1% bactéries 51% non identifié	3-24	Thaïlande	1,81/2 ,38
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> ufc/250ml	35% rotavirus 18% bactéries 47 % non identifié	1-36	10 pays	2,43/3
<i>Lactobacillus reuteri</i>	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc/ j 5 jours	75% rotavirus 25 % non identifié	6-36	Finlande	1,7/2,9
<i>Lactobacillus reuteri</i>	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc/j 5 jours	Rotavirus exclusivement	6-36	Finlande	1,5/2,5
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	5.10 <sup>9</sup> ufc 2 fois/j 5 jours	28% rotavirus 21% bactéries 51 % non identifié	1-36	Russie	2,7/3,8
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc 2fois/j 2 jours	22% rotavirus 78% non identifié	1-24	Pakistan	NC
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	10 <sup>10</sup> -10 <sup>11</sup> ufc 2fois/j 5 jours	Rotavirus exclusivement	7-37	Finlande	1,1/2,5
<i>L.acidophilus</i> et <i>L. bulgaricus</i>	10 <sup>8</sup> ufc/dose 4-8 doses/j jusqu'à guérison	Non identifiés	<36	Canada	2,7/2,1
<i>L acidophilus</i> et <i>L. bulgaricus</i>	10 <sup>9</sup> ufc toutes 8 à 12h	Pas de bactéries	2-36	Canada	2,5/2,8

La même année, une autre méta-analyse a été réalisée et regroupait dix-huit études randomisées, contrôlées, en double aveugle réalisées entre 1974 et 2001. Elles ont inclus des enfants âgés de moins de cinq ans présentant une diarrhée infectieuse de moins d'une semaine. Les probiotiques testés étaient : *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium infantis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *Saccharomyces boulardii* et *Streptococcus thermophilus*. Ces études avaient pour but d'étudier la réduction de la durée de l'épisode diarrhéique. Celle-ci était réduite de 0,8 jour en moyenne (49).

En 2010, Allen et son équipe ont regroupé 63 études incluant au total 8014 patients, adultes, enfants et nourrissons, comparant l'action d'un probiotique à un placebo sur la durée et la gravité de la diarrhée aiguë infectieuse. Les résultats ont montré une diminution significative de la durée moyenne de la diarrhée. Les auteurs en ont conclu que les probiotiques, associés à une thérapeutique de réhydratation, sont bénéfiques pour réduire la durée et la fréquence des selles dans la diarrhée aiguë infectieuse (50).

Concernant *Saccharomyces boulardii*, plusieurs études ont testé son efficacité dans le traitement de la diarrhée infectieuse en complément d'une réhydratation orale. Dans un essai en double aveugle contre placebo regroupant 130 enfants âgés de trois mois à trois ans souffrant d'une gastro-entérite infectieuse, l'administration de *Saccharomyces boulardii* à la dose quotidienne de 300 mg par jour a diminué significativement la fréquence

des selles dès 48 heures. Au bout de 96 heures, le nombre de guérisons cliniques était significativement plus élevé dans le groupe recevant la levure que dans le groupe témoin (85% versus 40%) (51).

Une autre étude menée en double aveugle contre placebo chez 92 adultes souffrant d'une diarrhée infectieuse a montré une diminution significative du score de la diarrhée (prenant en compte le nombre et la consistance des selles) au bout de 48 heures de traitement. Ils ont consommé les deux premiers jours quatre gélules trois fois par jour, puis du 3<sup>ème</sup> au 7<sup>ème</sup> jour deux gélules trois fois par jour ; ces gélules contenaient soit un placebo soit la levure à la dose de 50 mg (52).

Une méta-analyse publiée en 2007 par Szajewska a compilé 5 essais randomisés réalisés dans plusieurs pays (regroupant au total 619 enfants présentant une diarrhée). Quatre de ces études ont montré que *Saccharomyces boulardii* a significativement réduit la période de diarrhée et le risque de récurrence. Cependant, l'auteur note certaines limites dans la méthodologie des études incluses (53).

De nombreuses études randomisées, contrôlées et en double aveugle, ayant donc un niveau de preuve élevé, ont été réalisées dans le but d'établir un rôle des probiotiques dans le traitement de la diarrhée aiguë. Malgré leurs limites, ces essais montrent que l'administration de certains probiotiques lors d'une diarrhée infectieuse chez les jeunes enfants améliore les symptômes cliniques et raccourcit la durée de la diarrhée. L'effet obtenu est modéré mais significatif et spécifique de la souche probiotique utilisée. Ceci est surtout mis en évidence avec les lactobacilles et les bifidobactéries qui ont montré un résultat plus marqué sur les diarrhées à rotavirus.

Il est néanmoins important de rappeler qu'une réhydratation par voie orale doit toujours être associée à un traitement antidiarrhéique.

Les principaux produits probiotiques disponibles en pharmacie pouvant être utilisés dans le traitement de la diarrhée aiguë infectieuse sont :

- **Lactibiane enfant**<sup>®</sup> (laboratoire Pileje), complément alimentaire à base de 5 souches microbiotiques dosées à 4 milliards par sachet et de vitamine D : *Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactococcus lactis* LA 103, *Lactobacillus helveticus* LA 102, *Streptococcus thermophilus* LA 104 et *Lactobacillus rhamnosus* LA 801. La posologie est d'un sachet par jour pendant 10 à 30 jours ;
- **Lactibiane imédia**<sup>®</sup> (laboratoire Pileje), composé de 4 souches microbiotiques dosées à 30 milliards par stick orodispersible (*Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactobacillus helveticus* LA 102, *Lactococcus lactis* LA 103 et *Streptococcus thermophilus* LA 104). La posologie est d'un stick par jour pendant 4 à 12 jours ;
- **BioGaia ProTectis**<sup>®</sup> (laboratoire PediAct), complément alimentaire sous forme de gouttes pour les enfants et nourrissons, de comprimés à croquer pour les enfants et de comprimés à avaler pour les adultes. Il est composé de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, à la dose de 100 millions de ferments actifs par dose. La posologie est de 5 gouttes ou un comprimé 1 à 2 fois par jour ;
- **Ultralevure**<sup>®</sup> 50mg, 100mg et 200mg (laboratoire Biocodex), médicament composé de *Saccharomyces boulardii*. La posologie chez l'enfant à partir de 2 ans est de 200mg par jour et chez l'adulte de 400mg par jour ;
- **Arkolevure**<sup>®</sup> (laboratoire Arkopharma), complément alimentaire sous forme de gélules composées de 250mg de *Saccharomyces boulardii* associé à l'inuline. La posologie recommandée est d'1 gélule à diluer chez l'enfant de plus de 4 ans ou de 1 à 4 gélules par jour chez l'adulte. La forme sachet contient 120mg de *Saccharomyces boulardii* associé à de l'inuline et sa posologie est de 2 sachets par jour chez l'enfant de plus de 4 ans ;

- **Bioprotus 4000®** (laboratoire Carrare), composé de 4 milliards de ferments lactiques par gélule, provenant de 7 souches : *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactococcus lactis ssp lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium bifidum*, associées à des FOS et des fibres de pomme. La posologie recommandée est de 1 à 6 gélules par jour ;
- **Probiolog®** (laboratoire Mayoly Spindler), complément alimentaire sous forme de gélules composées d'1 milliard de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis*. La posologie recommandée est de 1 gélule par jour chez l'enfant et 2 gélules par jour chez l'adulte;
- **Probiolog fort®** (laboratoire Mayoly Spindler), complément alimentaire sous forme de gélules composées de 2 milliards de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis*, recommandé à la dose d'1 gélule quotidienne ;
- **Probiolog enfant et nourrisson®** (laboratoire Mayoly Spindler), poudre orale sous forme de sachets renfermant 1 milliard de *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103). La posologie recommandée est de 2 sticks de poudre orale par jour;
- **Ergyphilus confort®** (laboratoire Nutergia), complément alimentaire composé de 5 ferments lactiques revivifiables dosés à 6 milliards par gélules (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*). La posologie recommandée est de 2 à 4 gélules par jour ;
- **Ergyphilus plus®** (laboratoire Nutergia), gélules composées de 6 milliards de ferments lactiques revivifiables (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus paracasei*). La posologie recommandée est de 2 à 4 gélules par jour ;
- **Ergyphilus enfant®** (laboratoire Nutergia), sachets dosés à 3 milliards de ferments lactiques (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus fermentum* et *Bifidobacterium infantis*) associés à la vitamine D, à la vitamine C et à des FOS. La posologie recommandée est d'1 sachet quotidien ;
- **Bacilac Bifido®** (laboratoire Crinex), complément alimentaire sous forme de sachets composés de 5 souches (*Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus rhamnosus* GG). La posologie recommandée est d'1 à 2 sachets par jour ;
- **Pédiakid Probiotiques-10M®** (laboratoire Ineldea), complément alimentaire composé de 4 souches de probiotiques (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* et *Streptococcus thermophilus*) associées à de l'inuline de chicorée et à du zinc. La posologie est d'1 sachet par jour pendant 10 jours;
- **Bacilor®** (laboratoire Probionov), médicament contenant la souche probiotique *Lactobacillus casei* var *rhamnosus* à raison de 250mg par dose. La posologie chez l'adulte est de 2 à 8 gélules par jour ; chez l'enfant de plus de 2 ans, il est recommandé de donner la forme sachet à la dose d'1 à 4 sachets par jour.

Chez le nourrisson, en cas de diarrhée aiguë, il est recommandé d'utiliser un lait spécifique, sans lactose ou à teneur réduite en lactose mais toujours de façon transitoire, car ils ne correspondent pas aux recommandations en terme d'apports en minéraux et vitamines. Certains de ces laits sont enrichis en probiotiques :

- **Guigoz lait expert AD®**, enrichi en *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 ;
- **Picot SL®**, enrichi en *Lactobacillus fermentum*...

## b) Utilisation des probiotiques dans le traitement préventif de la diarrhée aiguë

D'autres essais ont cherché un effet préventif des probiotiques sur le risque de diarrhée. Certains ont été faits chez des enfants en bonne santé, d'autres chez des enfants hospitalisés pour de longues périodes et pour diverses raisons.

Dans un essai, l'incidence de diarrhée chez des nourrissons âgés de 1 à 36 mois hospitalisés pour diverses raisons a été réduite grâce à l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG. Le risque de diarrhée nosocomiale était de 6,7% versus 33,3% dans le groupe contrôle. De plus, le risque de diarrhée à rotavirus diminuait de manière significative (1/45 versus 6/36) (54).

Les mêmes résultats ont été obtenus dans d'autres études, alors que certaines n'ont pas montré de réelle efficacité pour ces mêmes probiotiques. C'est le cas de l'essai italien réalisé chez 220 nourrissons hospitalisés recevant *Lactobacillus rhamnosus* GG (55).

Deux essais cliniques, réalisés en France chez des enfants en bonne santé, ont testé l'efficacité de *Lactobacillus casei* souche DN 114-001. Pendant six semaines, 287 enfants âgés de 6 à 36 mois ont reçu soit un lait fermenté par ce probiotique (à la dose de  $10^8$  ufc/mL), soit un produit de contrôle (yaourt standard). Le nombre de gastro-entérites n'a pas diminué de façon significative (23,4% versus 26,4%), mais la sévérité de la diarrhée a réduit significativement (56).

Par contre, un autre essai réalisé un an plus tard a montré une diminution significative de la fréquence des gastro-entérites (15,9% dans le groupe probiotique versus 22% dans le groupe placebo). Il regroupait 928 enfants âgés de 6 à 24 mois en bonne santé et consommant pendant 4 mois soit un yaourt standard, soit un lait fermenté contenant le probiotique (à la dose de  $10^8$  ufc/mL) (57).

Une étude française réalisée en double aveugle contre placebo a comparé l'effet sur la diarrhée de la consommation d'un lait infantile standard (Gallia<sup>®</sup>) et d'un lait infantile fermenté par *Bifidobacterium breve* C50 et *Streptococcus thermophilus* 065 (Gallia Calisma<sup>®</sup>). Cet essai regroupait 913 nourrissons en bonne santé consommant l'une des deux préparations pendant au moins trois mois. La composition nutritionnelle des deux laits était identique. Les auteurs ont étudié la fréquence des épisodes de diarrhée, leur durée et leur sévérité (évaluée par les nombres d'hospitalisation, de déshydratation, de consultation médicale et de prescription de réhydratation par voie orale). La fréquence et la durée des épisodes diarrhéiques étaient identiques dans les deux groupes. Par contre, leur sévérité était significativement diminuée chez les enfants nourris par le lait infantile enrichi en ferments lactiques.

L'administration de ce lait fermenté a donc permis de diminuer la sévérité des épisodes de diarrhées chez les nourrissons par rapport à un lait standard (58).

Une équipe israélienne a testé l'impact de l'administration de deux probiotiques sur la survenue des infections gastro-intestinales chez des enfants placés en crèche. Cet essai mené en double aveugle et randomisé regroupait 189 enfants âgés de 4 à 10 mois et recevant quotidiennement soit un lait infantile standard (groupe témoin), soit ce même lait supplémenté en *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ou en *Lactobacillus reuteri* 55730. L'étude a duré douze semaines. Les épisodes fébriles et diarrhéiques ont été significativement moins nombreux chez les enfants recevant les probiotiques par rapport aux enfants du groupe témoin. De plus, la durée de la diarrhée est réduite dans les deux groupes probiotiques. *Lactobacillus reuteri* 55730 a montré un bénéfice supplémentaire par rapport au témoin et à *Bifidobacterium lactis*

Bb-12 : une réduction significative du nombre de consultations médicales, de prescription d'antibiotiques, d'absences de la crèche pour maladie et de jours de fièvre. L'efficacité est cependant faible et il s'agit d'une petite étude avec un suivi fort court. Les auteurs en ont conclu qu'à l'heure actuelle, les arguments sont insuffisants pour préférer une alimentation pour nourrissons enrichie en probiotiques plutôt qu'une alimentation adaptée pour nourrissons sans cette adjonction (59).

La levure *Saccharomyces boulardii* a fait l'objet de plusieurs essais dans la prévention de la diarrhée nosocomiale chez des adultes recevant une nutrition entérale. Trois études randomisées en double aveugle contre placebo ont montré une efficacité de *Saccharomyces boulardii* dans ce cas précis.

Chez des patients hospitalisés en service de réanimation, la levure administrée à la dose quotidienne de 500 mg par litre de solution nutritive a réduit significativement le nombre de jours de diarrhée (16,9% à 8,7%) (60).

L'administration de *Saccharomyces boulardii* à des patients hospitalisés dans un service de grands brûlés à la dose quotidienne de 2 grammes a amélioré la tolérance digestive de la nutrition entérale et a diminué le nombre de jours de diarrhée de 9,1% à 1,5% (61).

Enfin, une dernière étude multicentrique regroupant 128 patients hospitalisés en réanimation a confirmé l'efficacité de la levure dans la prévention de la diarrhée chez des adultes nourris par voie entérale. L'administration quotidienne de *Saccharomyces boulardii* à la dose de 2 grammes a contribué à réduire de manière significative le nombre de jours de diarrhée (62).

Certains travaux ont cherché à mettre en évidence les mécanismes d'action sous-tendant ces effets cliniques.

Des souris axéniques adultes ont été colonisées par la flore fécale dominante d'enfants nourris au sein ou par celle d'enfants nourris par un lait infantile afin de rechercher un éventuel effet du lait maternel sur l'établissement de la flore commensale. La flore du bébé nourri au sein était composée de streptocoques, *Escherichia coli* et *Bifidobacterium bifidum* ; celle du bébé nourri avec un lait infantile comprenait *Escherichia coli* et *Bacteroides*. Une souche de rotavirus a été inoculée à ces deux modèles. La cinétique d'apparition des IgA dans les fèces était la même dans les deux groupes mais l'intensité de la réponse était quatre fois plus importante dans les fèces des souris dont la flore correspond à celle d'un enfant nourri au sein. D'autres travaux ont montré que la souche *Bifidobacterium bifidum* stimule la réponse IgA anti-rotavirus alors qu'*Escherichia coli* la réprime (63).

Cet essai montre l'importance de l'équilibre bactérien dans la modulation de la réponse immune vis-à-vis d'une infection virale intestinale.

L'administration de certaines souches de probiotiques en prévention des gastro-entérites s'est révélée positive chez des enfants et chez des adultes. Les mécanismes d'action ne sont pas encore déterminés avec précision, mais ces travaux ont un grand intérêt pour la santé publique du fait de la fréquence de cette pathologie.

Les principaux produits commercialisés disponibles en pharmacie dans cette indication sont :

- **Lactibiane enfant<sup>®</sup>, Lactibiane imédia<sup>®</sup>** ;
- **BioGaia ProTectis<sup>®</sup>** ;
- **Ergyphilus plus<sup>®</sup>, Ergyphilus confort<sup>®</sup>, Ergyphilus enfant<sup>®</sup>** ;

- **Probiotus 4000<sup>®</sup>** ;
- **Bacilac Bifido<sup>®</sup>** ;
- **Ultralevure<sup>®</sup>** ;
- **Bacilor<sup>®</sup>**...

### **3.1.1.2. La diarrhée du voyageur**

Près de la moitié des voyageurs visitant un pays où le niveau d'hygiène est inférieur et dont le climat est chaud est victime de diarrhée infectieuse aiguë. La clinique est souvent bénigne, de courte durée mais les troubles digestifs peuvent parfois nécessiter un alitement de quelques jours et, plus rarement, une hospitalisation. Son origine infectieuse ne fait aucun doute et ce sont principalement les bactéries (comme *Escherichia coli*) qui sont retrouvées. Elles adhèrent à la paroi intestinale qu'elles détruisent ou secrètent des toxines responsables de diarrhées sécrétoires. Les mesures d'hygiène rigoureuses et une sélection des aliments et de leur consommation ne suffisent pas toujours. La notion de renfort du microbiote intestinal par des probiotiques semble alors intéressante.

Les diverses études faites sur le sujet ont été rassemblées par le Professeur Marteau dans une méta-analyse. Elle regroupe huit essais contrôlés en double aveugle contre placebo. La moitié des résultats a montré un niveau de preuve insuffisant quant à l'efficacité des probiotiques dans la prévention de la diarrhée du voyageur (Tableau 5) (64).

**Tableau 5: Probiotiques et prévention de la diarrhée du voyageur d'après Marteau (64).**

Probiotiques	Effet thérapeutique (% diarrhée)	Nombre de patients
<i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	35% versus 29% (NS)	50
Lactobacilles	55% versus 51% (NS)	212
<i>Lactobacillus fermentum</i> KLD	23,8% versus 23,8% (NS)	282
<i>L. acidophilus</i>	25,7% versus 23,8% (NS)	282
Lactobacilles + bifidobactéries + streptocoques	43% versus 71% ( $P = 0,02$ )	81
<i>Saccharomyces boulardii</i>	28,7% versus 39,1% ( $P < 0,05$ )	1016
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	41,0% versus 46,5% ( $P = 0,065$ )	756
<i>L. rhamnosus</i> GG	3,9% versus 7,4% ( $P = 0,05$ )	245

Dans l'étude utilisant *Saccharomyces boulardii*, un questionnaire a été soumis aux voyageurs se rendant dans différentes parties du monde. Le traitement a débuté cinq jours avant le départ et continué pendant toute la durée du voyage. Ces personnes étaient séparées en trois groupes: le premier recevait un placebo, le deuxième recevait *Saccharomyces boulardii* à la dose de 250 mg/jour et le troisième à la dose de 1000 mg/jour. L'incidence des diarrhées a été respectivement de 39,1%, 34,4% et 28,7%. Des différences ont été observées selon les destinations avec un effet plus marqué pour les voyageurs séjournant en Afrique du nord (65).

Au total, le niveau de preuve suffisant pour recommander la consommation de probiotiques en prévention de la diarrhée du voyageur n'est pas atteint. En effet, le tableau 5 ne présente que trop peu d'études positives et leurs conditions d'exécution étaient également discutables.

Néanmoins, des spécialités contenant des probiotiques ont été mises sur le marché avec pour indication de maintenir le confort digestif du voyageur :

- **Lactibiane voyage**<sup>®</sup> (laboratoire PiLeJe), composé de 3 souches microbiotiques dosées à 20 milliards par gélule : *Lactobacillus acidophilus* LA 201, *Lactobacillus casei* LA 205 et *Lactobacillus plantarum* LA 301. La posologie est d'1 gélule par jour à prendre avant un repas pendant toute la période du séjour et à débiter la veille du départ ;
- **Bioprotus voyage**<sup>®</sup> (laboratoire Carrare), composé de *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis*. Il est recommandé de débiter le traitement une semaine avant le départ (pour préparer la flore) à la dose d'1 gélule par jour à poursuivre pendant toute la durée du voyage et 1 semaine au retour, pour réhabiliter la flore. Pendant le voyage, en cas d'urgence, la posologie peut être augmentée à 2 à 6 gélules par jour ;
- **Actyfilus**<sup>®</sup> (laboratoire Codifra), gélules composées de 3 milliards de ferments lactiques (*Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* ATCC SD 5212 et *Bifidobacterium lactis*). La posologie recommandée est d'1 à 3 gélules quotidiennes ;
- **BioGaia ProTectis**<sup>®</sup>. La posologie chez l'enfant et l'adulte est d'1 comprimé par jour pendant toute la durée du séjour.

### **3.1.1.3. La diarrhée due aux antibiotiques**

Les antibiotiques entraînent fréquemment un déséquilibre de l'écosystème intestinal responsable de diarrhée (survenant chez 5 à 20% des sujets sous traitement antibiotique).

La prise d'une antibiothérapie est responsable d'une modification de la microflore avec prolifération d'une flore pathogène entraînant une diminution voire une annulation de l'effet de barrière. Celle-ci est due aux bactéries anaérobies commensales dominantes qui s'opposent par leur équilibre à la prolifération de germes pathogènes endogènes et exogènes favorisant l'émergence secondaire de pathogènes comme *Clostridium difficile*, responsable de 95% des colites pseudomembraneuses. La prise d'antibiotique est également responsable d'une modification du métabolisme bactérien et de fermentation de la flore colique, responsable d'une « diarrhée métabolique » (perte d'eau, d'ions, de nutriments...).



a) Les diarrhées dites simples

Les diarrhées dites simples, les plus fréquentes, apparaissent quelques jours après le début de la prise d'antibiotiques, mais peuvent parfois survenir jusqu'à six semaines après l'arrêt de l'antibiothérapie. Ces diarrhées sont le plus souvent aqueuses, modérées, parfois accompagnées de douleurs abdominales et de fièvre. Elles régressent à l'arrêt de l'antibiothérapie ou même parfois dès la réduction des doses d'antibiotiques administrées.

On distingue diverses causes:

- Des causes infectieuses.

Lors de ces diarrhées, le tube digestif est colonisé par *Clostridium difficile* dans 10 à 20% des cas. On retrouve également en proportions importantes d'autres germes pathogènes comme *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* de type A, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

- Des causes métaboliques.

Il est établi que les antibiotiques peuvent :

- diminuer la concentration en bactéries anaérobies saprophytes du côlon, ce qui entraîne une réduction de l'activité fermentaire normale;
- augmenter la quantité de glucides non absorbés, responsable d'une diarrhée osmotique;
- réduire la production des acides gras à chaîne courte favorisant l'absorption des électrolytes et diminuant l'absorption colique du sodium, du potassium et de l'eau;
- diminuer la conversion des acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires, responsables d'une diarrhée sécrétoire cholérique.

- Autres causes.

La prise d'antibiotique a des effets multiples sur le tractus digestif comme ceux de l'érythromycine, responsable d'une action « motiline-like » accélérant le transit, ou de l'acide clavulanique stimulant la motilité de l'intestin grêle.

Enfin, la prise d'antibiotique est souvent accompagnée d'autres médicaments pouvant jouer un rôle dans la survenue de la diarrhée (laxatifs, cholinergiques, anti-inflammatoires non stéroïdiens, antiacides...)

Le traitement de ces diarrhées repose sur la réduction des doses de l'antibiotique voire son arrêt.

Plusieurs méta-analyses ont évalué l'effet préventif des probiotiques sur la diarrhée infectieuse associée aux antibiotiques.

Celle réalisée par D'Souza (66) regroupait neuf études randomisées de la prévention de la diarrhée liée à la prise d'antibiotiques par l'ingestion de probiotiques : quatre utilisaient des lactobacilles (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Lactobacillus casei*), quatre *Saccharomyces boulardii* et une *Enterococcus faecium* produisant de l'acide lactique. Dans tous ces essais, les patients recevaient le probiotique avec un antibiotique ou un placebo associé à l'antibiothérapie. Dans 8 études, l'administration d'un probiotique améliorait significativement la diarrhée associée à l'antibiothérapie par rapport au placebo (Tableau 6).

**Tableau 6: Comparatif des résultats de la méta-analyse de D'Souza (66).**

Probiotique	Dose	Durée du traitement	Antibiotique	% de patients sans diarrhées Gpe témoin/ gpe placebo
<i>S. boulardii</i>	4 capsules/j	Variable	Divers	96/83
<i>L. acidophilus</i> et <i>L. bulgaricus</i>	1 sachet Lactinex® 4 fois/j	5 jours	Ampicilline	100/86
<i>S. boulardii</i>	1g/j	Variable	Divers	91/78
<i>E. faecium</i> SF68	1 capsule 2 fois/j	7 jours	Divers	91/73
<i>L. acidophilus</i> et <i>L. bulgaricus</i>	1g Lactinex® 4 fois/j	10 jours	amoxicilline	34/31
<i>L. acidophilus</i> et <i>Bifidobacterium longum</i>	Lait fermenté 250 mL 2 fois/j	21 jours	clindamycine	80/30
<i>S. boulardii</i>	1 g/j	49 jours	Divers	93/85
<i>S. boulardii</i>	113 mg 2 fois/j	14 jours	Divers	79/83
<i>Lactobacillus</i> GG	1 à 2 capsules/j (10 <sup>10</sup> colonies /caps)	10 jours	Divers	93/74

L'autre méta-analyse regroupant 22 études contrôlées en double aveugle contre placebo a abouti aux mêmes conclusions. Mais ces études ont des limites reconnues par les auteurs, car les types d'antibiotiques, de probiotiques, la durée du traitement et les dosages varient d'un essai à l'autre, rendant difficiles les comparaisons (67).

En 2010 et 2012, plusieurs méta-analyses ont montré que certaines souches probiotiques réduisent significativement le risque de développer une diarrhée suite à la prise d'un traitement antibiotique chez des patients ne présentant auparavant aucune pathologie intestinale. Les probiotiques efficaces sont *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, mais aussi des mélanges de probiotiques (*Lactobacillus casei* + *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus bulgaricus*).

La levure *Saccharomyces boulardii* a fait l'objet de nombreuses recherches quant à son efficacité dans la prévention des diarrhées dues à l'antibiothérapie. Cette levure a la particularité d'être non pathogène et génétiquement résistante aux antibiotiques, alors que la résistance des autres souches probiotiques n'est pas définie et constitue une variable importante. Ces essais ont montré une réelle efficacité de la levure dans la prévention de la diarrhée due à une antibiothérapie. Les principaux résultats sont présentés dans le tableau 7.

**Tableau 7: *Saccharomyces boulardii* dans la prévention des diarrhées dues à l'antibiothérapie (68-70).**

Antibiotique	Dose administrée	Nbre de patients	% de diarrhée témoin/placebo
Divers	1g/jour	180	9,5% vs 21,8%
$\beta$ lactamines	1g/jour	193	7,2% vs 14,6%
$\beta$ lactamines Cyclines	200 mg/jour	388	4,5% vs 17,5%

Il y a plus de quarante ans, la règle était d'associer à l'antibiothérapie un « protecteur » de la flore intestinale mais il est devenu peu à peu anachronique de l'utiliser. L'ensemble de ces résultats est en faveur d'une protection possible par les probiotiques. Il semble donc pertinent de le proposer chez les malades ayant un risque accru de diarrhée dû à la prise d'antibiotiques. Les médecins qui prescrivaient en systématique une protection par un probiotique, notamment *Saccharomyces boulardii* (Ultralevure®), n'étaient donc pas déraisonnables.

Forts de tous ces résultats, de nombreux compléments alimentaires disponibles en pharmacie ont vu le jour :

- **Lactibiane ATB®** (laboratoire Nutergia), gélules composées de 6 milliards de *Lactobacillus rhamnosus* LA 801. La posologie est de 2 gélules par jour ;
- **Actyfilus®** ;
- **BioGaia ProTectis®**. La posologie est de 5 gouttes ou 1 comprimé 1 à 2 fois par jour pendant le traitement antibiotique à poursuivre pendant 5 jours après l'arrêt à la dose de 5 gouttes ou 1 comprimé par jour ;
- **Bioprotus 4000®** ;
- **Ergyphilus enfant®**, **Ergyphilus plus®**, **Ergyphilus confort®** ;
- **Probiolog®**, **Probiolog fort®**, **Probiolog enfant®**.

#### b) La colite pseudomembraneuse

La colite pseudomembraneuse est due à la colonisation post-antibiothérapie du tube digestif par *Clostridium difficile*, bacille non invasif. Cette bactérie secrète deux exotoxines (A et B) responsables de la diarrhée. Sa principale complication est la rechute, possible dans 20% des cas et souvent itérative.

Au cours des dernières décennies, il a été observé une augmentation importante de cette infection avec une émergence de souches résistantes. Cette bactérie est de nos jours responsable de la plus grande partie des diarrhées acquises à l'hôpital en Europe et en Amérique du nord. L'infection à *Clostridium difficile* peut varier de la forme de portage asymptomatique à une colite mortelle en passant par la diarrhée. La colite pseudomembraneuse à *Clostridium difficile* présente des lésions typiques en plaque jaune dispersées sur la muqueuse colorectale. La forme la plus grave est la colite fulminante survenant dans 3 à 8% des patients infestés par *Clostridium difficile*.

En plus du traitement conventionnel, il a été proposé par Mac Farland (71) d'administrer *Saccharomyces boulardii* à la dose d'un gramme par jour pendant 28 jours. Cet essai contre placebo regroupant 124 malades a montré que:

- lorsqu'il s'agissait du premier épisode de diarrhée associée à *Clostridium difficile*, *Saccharomyces boulardii* n'apportait pas de bénéfice significatif;
  - lorsqu'il s'agissait d'une récurrence, *Saccharomyces boulardii* entraînait une diminution significative du risque de nouvelle récurrence (35% contre 65%).
- Saccharomyces boulardii* ne diminue donc pas le taux de colonisation mais réduit la détection de la toxine A (peut-être par protéolyse et/ou inhibition de la fixation de la toxine A sur son récepteur).

Un autre essai contrôlé en double aveugle contre placebo, mené auprès de 170 patients avec une infection multi-résistante à *Clostridium difficile*, a montré l'intérêt de l'association de *Saccharomyces boulardii* à une forte dose de vancomycine (72).

L'utilisation de cette levure dans le traitement de diarrhée à *Clostridium difficile* chez l'enfant a été réalisée dans une étude ouverte regroupant 19 nourrissons et enfants. L'administration à des doses allant de 500 à 1000 mg/jour selon le poids du patient a conduit à une diminution rapide de la symptomatologie clinique chez 18 d'entre eux et à une non détection de la toxine B chez 16 des enfants (73).

Dans une expérience menée par Gorbach, l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG a permis une diminution des rechutes chez 4 des 5 malades suivis sur une période de deux mois minimum (74).

Bennet et son équipe n'ont pas observé de rechute chez 84% des sujets souffrant d'une forme récidivante d'infection à *Clostridium difficile* après une administration unique de *Lactobacillus rhamnosus* GG avec un suivi allant de un à quatre ans (75).

L'administration par voie rectale d'une solution concentrée en bactéries anaérobies (bactéroïdes, bifidobactéries et lactobacilles) à 6 adultes a permis une éradication de *Clostridium difficile* chez 5 de ces patients (76).

Une étude chinoise publiée en 2010 a été menée chez 255 patients hospitalisés sous antibiotiques et prenant en traitement préventif de la diarrhée à *Clostridium difficile* des probiotiques ou un placebo. Trois groupes ont été formés : le premier prenait 2 capsules de Bio-k® (produit québécois renfermant *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*), le deuxième une capsule de Bio-k® avec une capsule de placebo, le troisième deux capsules placebo. Le traitement a débuté 36 heures suivant l'administration du traitement antibiotique et a été poursuivi 5 jours après son arrêt. L'incidence des infections à *Clostridium difficile* était de 24% dans le groupe placebo, de 9,5% dans le groupe n°2 et 1,2% dans le groupe n°1. De plus, 44% des patients du groupe placebo ont eu une diarrhée à *Clostridium difficile*, contre 28% dans le groupe n°2 et 15% dans le groupe n°1 (77).

Deux publications évaluant l'effet de l'association *Bifidobacterium lactis* et *Lactobacillus acidophilus* chez des personnes présentant une diarrhée associée à *Clostridium difficile* ont été publiées.

La première a démontré dans une étude en double aveugle que l'administration de *Bifidobacterium lactis* et *Lactobacillus acidophilus* pendant sept jours était associée à une recolonisation plus rapide du microbiote intestinal lors de l'administration d'un traitement antibiotique par Ampicilline (78).

La seconde a montré dans un essai en double aveugle contre placebo que l'administration de ces deux probiotiques à des personnes âgées entraînait une diminution significative de l'incidence des toxines de *Clostridium difficile* en cas de survenue, voire d'absence de diarrhée (79).

Ces deux essais ont permis la distribution du produit **Probiolog®**, association de *Bifidobacterium lactis* et *Lactobacillus acidophilus*, indiquée en accompagnement de l'antibiothérapie à la dose d'une gélule après chaque prise d'antibiotique et à poursuivre pendant deux semaines après l'arrêt de l'antibiothérapie.

Une méta analyse, menée en 2013 par Goldenberg et son équipe, centralisant 23 essais contrôlés et randomisés, incluant 4213 patients a suivi l'utilisation de probiotiques dans la prévention de la diarrhée à *Clostridium difficile*. Ils en ont conclu que les résultats de qualité modérée suggèrent que les probiotiques sont sûrs mais aussi efficaces dans cette indication (80).

L'association de probiotiques au traitement antibiotique conventionnel de la colite pseudomembraneuse présente un intérêt dans la prévention des rechutes. Parmi les souches étudiées, *Saccharomyces boulardii* occupe une place de choix, mais des études ont montré une efficacité intéressante de la souche *Lactobacillus rhamnosus GG*. D'autres associations de probiotiques ont également montré un intérêt dans le traitement des infections à *Clostridium difficile* en association à un traitement antibiotique.

Néanmoins, il semble aujourd'hui prématuré de donner des probiotiques à tous les patients hospitalisés sous antibiothérapie dans le but de prévenir l'apparition d'une éventuelle diarrhée aiguë à *Clostridium difficile*.

### **3.1.2. Les coliques du nourrisson**

Les coliques du nourrisson se définissent par l'apparition chez le bébé en bonne santé, de crises de pleurs intenses, fréquentes, au moins 3 heures par jour et 3 fois par semaine, généralement aux mêmes moments de la journée. Elles peuvent apparaître 3 semaines après la naissance et disparaissent généralement graduellement vers le quatrième mois. Elles touchent environ 20% des nourrissons et sont sources d'angoisse des parents, impuissants devant ces pleurs inconsolables.

Les causes des coliques ne sont pas encore bien établies. Plusieurs hypothèses sont avancées :

- une immaturité du système digestif et du système nerveux entraînant une mauvaise absorption des nutriments, ce qui influencerait le développement et la composition du microbiote intestinal ;
- une mauvaise évacuation de l'air qui entre dans l'estomac pendant les pleurs ou le repas, causant des inconforts une fois passé dans l'intestin;
- une allergie alimentaire, notamment aux protéines du lait de vache. Néanmoins, ce type d'allergie touche 2 à 3% des bébés et se caractérise par d'autres symptômes (diarrhées, vomissements, rougeurs cutanées) ;
- un bébé plus sensible à son environnement ;
- le tabagisme des parents.

Il a été mis en évidence une différence de composition du microbiote intestinal chez ces bébés souffrant de coliques.

Une équipe de chercheurs italiens a évalué l'effet de l'administration du probiotique *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 par voie orale à des enfants souffrant de coliques.

Quarante et un nourrissons exclusivement allaités ont reçu 5 gouttes de ce probiotique par jour durant 28 jours, 30 minutes après l'allaitement. Pour des fins de comparaison, des gouttes de siméticone (60 mg/jour) ont été données à 42 autres nourrissons allaités souffrant de coliques. Les mères suivaient toutes une diète exempte de produits laitiers. Chaque jour, tous les parents notaient la durée des pleurs de leur nourrisson. Il en est ressorti que la durée des pleurs des enfants recevant le probiotique *L. reuteri* ATCC 55730 est passée de 197 minutes par jour à 51 minutes par jour en 28 jours, alors que la durée des pleurs des autres enfants n'a diminué qu'à 145 minutes par jour durant la même période (80).

D'autres études ont suivi l'effet de la souche *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, auprès de bébés âgés d'environ 1 mois (allaités exclusivement ou majoritairement) souffrant de coliques. Le protocole était similaire pour les 2 études en double aveugle: les bébés ont reçu 5 gouttes (probiotiques ou placebo) une fois par jour pendant 21 jours. Les parents devaient noter dans un journal de bord la durée des coliques, leur perception de la sévérité des coliques de leur enfant, la qualité de vie de la famille et les effets secondaires. Les deux études ont montré une diminution significative des pleurs des bébés recevant le probiotique (81-82).

Ces études ont permis notamment la mise sur le marché de **BioGaia proTectis®** (laboratoire PédiAct), composé de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 à la dose de 100 millions de ferments lactiques par dose administrée et indiqué dans le traitement des coliques et des diarrhées du nourrisson et de l'enfant à la posologie quotidienne de 5 gouttes par jour pendant un minimum de 21 jours.

De nombreux laits infantiles enrichis en probiotiques ont été produits ces dernières années, modifiant le microbiote intestinal du bébé dans le but de diminuer les gaz et de ramollir les selles, symptômes retrouvés dans la coliques du nourrisson :

- **Guigoz Expert AC®**, enrichi en *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 ;
- **Galliagest Premium®**, enrichi en *Bifidobacterium breve* et *Streptococcus thermophilus* ;
- **Guigoz Pélargon®**, enrichi en *Bifidobacterium lactis* et *Streptococcus thermophilus* ;
- **Picot Picogest®**, enrichi en *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 ;
- **Modilac Oéba®**, enrichi en *Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium infantis*...

En conclusion, certaines souches de *Lactobacillus* réduisent la diarrhée infectieuse et améliorent ses symptômes chez l'enfant. Ces résultats sont modérés mais significatifs. Cet effet dépend bien entendu de la souche utilisée mais aussi de la dose et du type de pathogène, avec une efficacité plus marquée lorsqu'il s'agit de diarrhée à rotavirus.

Des probiotiques, notamment *Bifidobacterium lactis* Bb-12 et les lactobacilles, ont un effet préventif sur la diarrhée de l'enfant. Cet effet est également dépendant de la dose administrée et du pathogène.

La levure *Saccharomyces boulardii*, utilisée déjà depuis de nombreuses années par les médecins en association à un traitement antibiotique, a de nouveau démontré un réel intérêt dans les diarrhées dues à la prise d'antibiotiques, tant dans la prévention de la diarrhée que

dans son traitement. Les lactobacilles ont également prouvé un intérêt dans la prévention de la diarrhée associée à une antibiothérapie.

Enfin, dans le cas de la colite pseudomembraneuse, des essais positifs ont abouti après administration de probiotiques. Néanmoins, devant le petit nombre de cas étudiés et leurs conclusions, il n'est pas possible aujourd'hui d'utiliser les probiotiques de façon systématique dans cette indication.

### **3.1.3. Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin**

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) regroupent des maladies évoluant par poussées entrecoupées de phases de rémission. Elles incluent la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique et la pouchite. Cette dernière est une inflammation du réservoir survenant après exérèse de l'ensemble du côlon et du rectum et constitution d'une anastomose iléoanale dans le cadre d'une rectocolite hémorragique. Elle peut être aiguë ou chronique, récidivante ou unique. Son étiologie n'est pas encore expliquée mais semble multifactorielle, avec un rôle probable du microbiote intestinal puisqu'une réponse immédiate au traitement antibiotique est observée. De plus, la pouchite est associée à une réduction du ratio bactéries anaérobies/bactéries aérobies et à une réduction des « concentrations » en lactobacilles et en bifidobactéries.

L'origine des MICI est encore inconnue mais est certainement multifactorielle. De nombreux arguments sont en faveur de facteurs infectieux : perturbation de l'écosystème bactérien digestif, rôle de la flore intraluminaire, topographie élective des lésions des segments digestifs où les concentrations bactériennes sont les plus élevées (iléon, côlon) en plus des facteurs liés à l'environnement, des facteurs génétiques et immunitaires. En effet, de nombreux éléments mettent en évidence une dysrégulation de la réponse immunitaire au niveau de la muqueuse, dirigée contre les éléments du microbiote intestinal, chez des personnes génétiquement prédisposées.

Ces pathologies se caractérisent par un syndrome dysentérique hémorragique avec des diarrhées et des douleurs importantes. La maladie de Crohn peut toucher tous les segments du tube digestif mais atteint préférentiellement l'iléon terminal, le côlon et le rectum. La rectocolite hémorragique touche quant à elle constamment le rectum et remonte sur le côlon.

Ces pathologies touchent l'enfant et l'adulte, mais la majorité des études cliniques concernant le rôle protecteur des probiotiques ont été réalisées chez l'adulte. En parallèle, des études sur des modèles animaux donnent une orientation quant aux mécanismes d'action des probiotiques.

Plusieurs produits probiotiques ont été étudiés : le mélange VSL#3, *Escherichia coli* Nissle 1917, *Saccharomyces boulardii* et *Lactobacillus rhamnosus* GG.

#### **3.1.3.1. Le mélange VSL#3**

Un mélange de probiotiques, appelé VSL#3 et composé de quatre souches de *Lactobacillus* (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus* et *L. acidophilus*), trois souches de

*Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve* et *B. infantis*) et *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, a été utilisé dans plusieurs travaux.

Une étude randomisée en double aveugle a été menée chez 40 malades souffrant de pouchite récidivante traitée par l'association de ciprofloxacine et rifamicine. Pendant neuf mois, 20 malades ont ingéré le mélange VSL#3. Seuls 15% des malades recevant ce mélange ont eu une rechute alors que 100% des malades sous placebo récidivaient. Les concentrations fécales de lactobacilles, bifidobactéries et de streptocoques ont significativement été augmentées dans le groupe VSL#3 (84).

La même conclusion a été établie par Mimura et son équipe lors d'une étude regroupant 36 malades (85).

Ce mélange a été utilisé dans la recherche d'un effet préventif. Pendant douze mois, 40 patients avec une anastomose iléoanale pour rectocolite hémorragique ont été suivis. Parmi ces malades, 10% recevant le mélange ont présenté une pouchite aiguë contre 40% dans le groupe placebo (86).

Une étude internationale a montré que 86% des 30 patients souffrant de rectocolite hémorragique et traités pendant six semaines par ce mélange ont été soulagés de leurs douleurs associées.

Une étude a été réalisée chez 40 personnes souffrant de la maladie de Crohn récemment opérées (87). Le premier groupe a reçu quatre grammes de mésalazine par jour, le deuxième de la rifamicine pendant trois mois puis le mélange VSL#3 les neuf mois suivants. Le taux de rechute était significativement plus élevé dans le groupe mésalazine que dans le groupe associant l'antibiotique et le mélange de probiotiques (40% vs. 20%).

En 2010, les effets du mélange VSL#3 sur l'amélioration des symptômes de la rectocolite hémorragique ont été démontrés par Tursi et son équipe. Une amélioration de 50% des symptômes (fréquence des selles, saignements rectaux, apparence de la muqueuse et appréciation globale médicale) a été observée chez 63% des patients atteints contre 41% de ceux recevant le placebo. De plus, 48% des patients ayant reçu le mélange probiotique est entré en phase de rémission, contre 32% dans le groupe placebo. Cette différence pourtant non significative, est encourageante quant à l'effet du mélange VSL#3 sur la rectocolite hémorragique (88).

### **3.1.3.2. *Saccharomyces boulardii***

Des essais contrôlés ont été réalisés au cours de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique afin de tester l'efficacité de *Saccharomyces boulardii*.

Dans la maladie de Crohn, une seule étude clinique randomisée a montré un effet bénéfique de la levure dans la prévention de la rechute en comparaison au traitement de référence, la mésalazine. Trente-deux malades ont été suivis pendant six mois. Ils ont reçu soit la mésalazine (3 g/jour) soit l'association mésalazine (2 g/j) et *Saccharomyces boulardii* (1 g/jour). Le taux de rechute observé dans le groupe témoin était de 6/16 contre 1/16 dans l'autre groupe au bout de six mois (89).

Copaci et son équipe (90) ont recherché un effet bénéfique de *Saccharomyces boulardii* dans les poussées de rectocolite hémorragique. Trente et un malades souffrant de rectocolite hémorragique ont été suivis : ils recevaient pendant douze mois soit la mésalazine



seule, soit la mésalazine associée à la levure. Au bout des douze mois, les auteurs ont observé un taux de rechute similaire dans les deux groupes (35% vs. 30%).

Une autre étude a mis en évidence un nouveau mode d'action de *Saccharomyces boulardii* dans un modèle expérimental de maladie de Crohn. Des souris Scid ont été gavées quotidiennement par la levure à des doses allant de 1 à 1000µg par souris. A la dose de 100µg, *Saccharomyces boulardii* prévient significativement la perte de poids, induit une diminution du grade clinique de l'inflammation, ainsi qu'une réduction massive de l'infiltrat des lymphocytes T CD4+ (responsables de réactions inflammatoires) dans le côlon. De plus, *Saccharomyces boulardii* diminue l'activation du facteur NF kappa B (médiateur pro-inflammatoire) dans la muqueuse et réduit la production de cytokines pro-inflammatoires (91). Ces résultats suggèrent que l'administration de *S. Boulardii* peut avoir un effet bénéfique dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

### **3.1.3.3. *Escherichia coli* Nissle 1917**

Une souche d'*Escherichia coli* a été utilisée pour comparer son efficacité à la mésalazine dans la prévention de la rechute de la rectocolite hémorragique. Il s'agit d'une souche d'*Escherichia coli* O6, K5, H1 non pathogène, appelée *Escherichia coli* Nissle 1917. Ce probiotique est commercialisé en Allemagne sous le nom de Mutaflor®. Trois essais comparatifs ont été réalisés chez des patients atteints de rectocolite hémorragique.

En 1997, Kruis et son équipe ont suivi 120 malades souffrant d'une rectocolite hémorragique pendant douze semaines. Dans le groupe mésalazine (1,2 g/j), ils ont observé 11,3% de rechute contre 16% dans le groupe consommant uniquement le probiotique (différence non significative). Mais, la brève durée de cette étude associée au faible taux de rechute observé dans les deux groupes limitent la capacité de mettre en évidence une différence entre la mésalazine et le probiotique (92).

Cette étude a été réitérée en 1999 sur 116 patients. Au bout de douze mois, le taux de rechute était de 73% dans le groupe recevant la mésalazine (1,2 g/j) contre 67% dans le groupe consommant *Escherichia coli* Nissle 1917 (différence non significative). Le taux de rechute étant très important dans les deux groupes, voire surprenant dans le groupe mésalazine, l'efficacité du probiotique reste douteuse (93).

Une troisième étude a suivi 122 malades pendant un an. Dans le groupe témoin (mésalazine 1,5 g/j), le taux de récurrence était de 36,4% contre 33% dans l'autre groupe. Le pourcentage de rechute ne diffère pas entre les deux groupes, mais le résultat du groupe témoin est conforme à ce que l'on attend de ce traitement de référence (94).

Une étude pilote a testé l'efficacité d'*Escherichia coli* Nissle 1917 dans la prévention des récurrences de la maladie de Crohn. Vingt-huit malades ont été suivis pendant un an. Le groupe ayant reçu *E. coli* a montré un taux de rechute moindre (30% vs. 70% dans le groupe placebo) (96).

L'administration d'une souche non pathogène d'*Escherichia coli* a une efficacité équivalente à la mésalazine dans le traitement des poussées de rectocolite hémorragique et dans le maintien des rémissions. Cet effet bénéfique est en faveur d'une composante

infectieuse de cette maladie. Cependant, le nombre de patients inclus dans ces études étant peu élevé, il n'est pas possible de poser de conclusions.

#### **3.1.3.4. *Lactobacillus rhamnosus* GG**

L'administration de *Lactobacillus rhamnosus* GG à 14 enfants souffrant de la maladie de Crohn augmentait le nombre de cellules productrices d'IgA dans la muqueuse intestinale. Ceci suppose une interaction entre le probiotique et le système immunitaire intestinal (96).

Cette souche a été utilisée dans la recherche d'un éventuel effet préventif dans la rechute de la maladie de Crohn. Les patients ayant reçu le probiotique ont montré un taux de rechute clinique de 16,6% contre 10,5% patients du groupe placebo. Pour les patients en rémission clinique, le taux de rechute endoscopique était de 60% chez ceux ayant reçu *Lactobacillus rhamnosus* GG contre 35,2% dans le groupe placebo. Cette souche semble donc inefficace dans la prévention des rechutes cliniques et/ou endoscopiques au cours de la maladie de Crohn (97).

#### **3.1.3.5. Mécanismes d'action des probiotiques**

L'étiologie de ces maladies inflammatoires étant multifactorielle, la compréhension des mécanismes d'action des probiotiques leur permettant de diminuer l'inflammation digestive est compliquée.

Plusieurs causes expliquant la rupture de tolérance du système immunitaire intestinal envers sa flore et l'état inflammatoire ainsi créé ont été proposées:

- certaines souches pathogènes peuvent dérégler le système immunitaire intestinal lors de leur passage dans le tractus digestif;
- le mucus peut perdre son rôle protecteur entraînant une augmentation de l'adhésion bactérienne à la muqueuse;
- une prolifération anormale de bactéries dans la partie haute de l'intestin grêle.

Toutes ces hypothèses sont en faveur d'un rôle du microbiote dans le développement des inflammations digestives caractéristiques de ces pathologies. Mais, dans tous les cas, est signalé un état inflammatoire avec un déséquilibre de la balance Th1/Th2 avec une prédominance Th1 pour la maladie de Crohn et Th2 pour la rectocolite hémorragique.

Des chercheurs ont analysé les paramètres immunitaires des 16 patients n'ayant pas développé de pouchite dans l'étude de Gionchetti (86) utilisant le mélange VSL#3 vu plus haut. Chez les patients recevant les probiotiques, l'expression des gènes de l'IL-1 $\beta$ , de l'IL-8 et de l'IFN $\gamma$  dans la muqueuse intestinale est significativement inférieure par rapport au groupe témoin. Chez les patients n'ayant pas souffert de pouchite et ayant reçu les probiotiques, le nombre de polynucléaires dans la muqueuse était significativement inférieur à celui observé, d'une part, chez les sujets n'ayant pas souffert de pouchite et ayant reçu le placebo et, d'autre part, chez les sujets traités ayant souffert de pouchite. Le mélange VSL#3 pourrait donc avoir un effet préventif dans l'apparition de pouchite en régulant l'afflux dans la muqueuse de polynucléaires via une inhibition de la production d'IL-8. Il interviendrait aussi au niveau de l'IL-1 $\beta$  et de l'IFN $\gamma$  (98).

Une étude a été réalisée sur des souris déficientes en IL-10 développant spontanément des ulcérations coliques identiques à celles de la maladie de Crohn. Une modification de la flore colique quelques semaines avant l'apparition de la colite a été observée, mettant en évidence une diminution du taux de lactobacilles et une augmentation de l'adhérence et des translocations bactériennes (99).

Une autre étude sur souris déficientes en IL-10 et développant une maladie de Crohn a montré que l'administration du mélange VSL#3 améliorerait la balance Th1/Th2 par stimulation de la synthèse des cytokines anti-inflammatoires IL-10 et par diminution de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires TNF $\alpha$  et IFN $\gamma$  (100).

Les probiotiques pourraient donc améliorer la balance Th1/Th2, s'exprimant par une stimulation de la synthèse de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et permettant une diminution de la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF $\alpha$  et IFN $\gamma$ ). Mais ces hypothèses sont encore à prouver.

Un modèle de souris atteintes de rectocolite hémorragique a été utilisé par une équipe italienne. Après un premier épisode inflammatoire, les souris ont reçu soit le mélange de probiotiques VSL#3 (total de  $6.10^8$  ufc/j) soit un placebo, puis un second épisode colitique était provoqué. Par rapport au placebo, la consommation des probiotiques pendant la phase de rémission a significativement diminué la sévérité du second épisode inflammatoire et la mortalité associée. L'effet protecteur induit par les probiotiques semble impliquer les lymphocytes de la lamina propria. Ces lymphocytes, prélevés juste avant le second épisode inflammatoire sur des souris traitées par les probiotiques, ont été injectés à des souris naïves, c'est-à-dire n'ayant pas reçu de probiotiques, chez lesquelles la colite a été induite. L'injection de ces lymphocytes a exercé un effet protecteur chez les souris naïves. De plus, par rapport au témoin, l'administration du probiotique était associée à une augmentation de la sécrétion d'IL-10 (101). Outre la preuve d'un effet préventif du VSL#3 sur la colite récurrente chez la souris, ces expériences permettent de proposer un mode d'action probable de ce mélange de probiotiques. Le rôle des lymphocytes de la lamina propria et l'IL-10 semblent être au cœur des mécanismes sous-tendant l'effet protecteur des probiotiques contre la colite.

Une étude indique que la consommation de lait fermenté par l'association de trois probiotiques (*Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus acidophilus*) améliore l'état clinique de patients souffrant d'une rectocolite hémorragique en phase active et augmente les acides gras à chaîne courte fécaux. Cette modification pourrait être impliquée dans le mécanisme d'action des laits fermentés (102).

Dans la maladie de Crohn, des bactéries entéro-invasives colonisent les lésions du tube digestif. Un essai *in vitro* a montré que la souche de *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibe significativement l'invasion et l'adhésion des cellules humaines par *Escherichia coli* prélevé chez des patients atteints de la maladie de Crohn. *Lactobacillus casei* DN-114 001 produirait donc un facteur actif contre l'adhésion de souches pathogènes dans la maladie de Crohn (103).

Au cours de la maladie de Crohn, des essais ont suggéré que l'administration de probiotiques diminuait le risque de survenue de poussées. Quant à la rectocolite hémorragique, les essais sont aussi en faveur d'un effet bénéfique des probiotiques dans la prévention de la rechute, cet effet étant comparable à celui de la mésalazine.

Enfin, le mélange VSL#3 a montré un effet important chez des patients souffrant d'une pouchite, car sa consommation quotidienne a permis de maintenir en rémission 85% des patients contre 15% dans le groupe placebo (90).

Toutes ces données chiffrées semblent être en faveur des probiotiques, mais le niveau de preuve est insuffisant, surtout en raison du faible nombre de patients étudiés. Il ne faut toutefois pas négliger que ces effets cliniques sont associés à une amélioration de la qualité de vie et une satisfaction des malades.

Mais aujourd'hui, aucun probiotique commercialisé en France n'a fait l'objet d'études cliniques. Il n'est donc pas possible de proposer l'utilisation des probiotiques dans les maladies intestinales chroniques inflammatoires.

#### **3.1.4. Le syndrome du côlon irritable**

Le syndrome du côlon irritable touche 15 à 20% de la population adulte, dont une grande majorité de femmes (une femme pour deux hommes). Il débute la plupart du temps vers l'âge de 20 à 30 ans, mais le diagnostic est souvent posé plus tard. Sur le plan clinique, il se définit par des douleurs abdominales chroniques ou récurrentes, présentes au moins douze semaines au cours des douze derniers mois. Les symptômes sont divers et regroupent des douleurs abdominales diffuses ou localisées associées à des troubles du transit (alternance de diarrhée et de constipation), des ballonnements et des flatulences. Ces troubles se caractérisent par leur chronicité. Plusieurs facteurs déclenchants ont été rapportés : infections, alimentation, facteurs d'ordre psychologique... Le diagnostic est généralement posé devant la persistance des troubles plus de douze semaines sans altération de l'état général. Il n'existe pas de traitement curatif, mais les patients peuvent suivre un traitement symptomatique associant règles hygiéno-diététiques et médicaments mais dont l'efficacité n'est que partielle.

Chez les malades atteints de ce syndrome, il a été mis en évidence une modification de la flore fécale avec une augmentation du nombre des bactéries anaérobies facultatives et une diminution du nombre de lactobacilles et de bifidobactéries. Quelques essais randomisés ont donc tenté de démontrer une efficacité des probiotiques dans cette pathologie.

L'administration de *Bifidobacterium animalis* souche DN 173-010 à des femmes en bonne santé a diminué le temps de transit du côlon, principalement sigmoïde. Cette souche entre dans la composition du yaourt Activia® de Danone. Les 36 femmes intégrées dans l'étude ont été suivies pendant quatre périodes consécutives de dix jours : une période de stabilisation et deux périodes de consommation (une avec le probiotique, une autre avec le placebo) entrecoupées par un intervalle de dix jours. La consommation de *Bifidobacterium animalis* souche DN 173-010 a généré un temps de transit total et sigmoïde significativement plus court que lors de la prise du placebo. Ceci encourage la recherche d'effets des probiotiques sur des sujets constipés (104).

Le mélange VSL#3 a été utilisé chez 25 patients souffrant d'une diarrhée prédominante. Ils n'ont pas observé d'amélioration du caractère diarrhée mais le gonflement du ventre a significativement diminué (105).

Le niveau de preuve de l'efficacité des probiotiques est encore bas. Mais trois études randomisées et contrôlées, ont rapporté une amélioration des symptômes chez des patients traités par une boisson contenant *Lactobacillus plantarum* 299V ou *Bifidobacterium infantis* 35624. Dans la première, 40 patients présentant un syndrome du côlon irritable ont reçu quotidiennement soit *Lactobacillus plantarum* 299V soit un placebo pendant quatre semaines.

Les résultats sont encourageants : 95% des patients ayant reçu le probiotique ont été totalement ou partiellement améliorés contre 15% dans le groupe placebo (106).

Cette même souche a montré un intérêt dans la restauration durable des fonctions digestives. Dans une étude réalisée en double aveugle contre placebo auprès de 60 patients, les flatulences sont significativement et rapidement réduites dans le groupe *Lactobacillus plantarum* 299V par rapport au groupe placebo. Cet effet a continué jusqu'à douze mois après la fin du traitement de quatre semaines (107).

Le troisième essai regroupait 77 malades buvant chaque jour soit un lait simple, soit un lait additionné de *Bifidobacterium infantis* 35624, soit un lait contenant *Lactobacillus salivarius* UCC4331 pendant huit semaines. Il est apparu une amélioration des symptômes cliniques, à l'exception de la fréquence et de la consistance des selles chez les patients traités par *Bifidobacterium infantis* 35624. De plus, les taux d'IL-10 et d'IL-12, marqueurs de l'inflammation intestinale, sont revenus à des valeurs similaires à celles retrouvées chez des sujets sains. Les auteurs de l'étude concluent qu'un traitement par *Bifidobacterium infantis* 35624 améliore les symptômes du syndrome du côlon irritable et que cette réponse symptomatique est associée à une normalisation du rapport de cytokines anti/pro-inflammatoires, suggérant un rôle immunomodulateur pour ce probiotique dans cette pathologie (108).

Un essai contrôlé en double aveugle, portant sur 34 patients souffrant d'un côlon irritable avec prédominance de diarrhée a montré un effet significatif de *Saccharomyces boulardii* sur le nombre et la consistance des selles après un mois de traitement (109).

Certains probiotiques ont montré un réel intérêt dans la prise en charge des symptômes du côlon irritable, qu'il s'agisse des flatulences, des ballonnements, des douleurs ou de la diarrhée. A défaut d'un traitement médicamenteux curatif fiable, la consommation de probiotiques est un réel espoir pour améliorer le confort de vie des patients en diminuant leurs symptômes. Néanmoins, il est primordial de préciser que l'action de ces produits est dose-dépendante, fonction de la souche probiotique consommée et cesse à l'arrêt de leur consommation.

Suite à ces essais positifs, de nombreux compléments alimentaires sont commercialisés dans le but d'améliorer le confort digestif du consommateur sain. Chaque laboratoire a développé une souche probiotique ou une association de probiotiques souvent couplés à des minéraux et/ou des vitamines ayant une action sur le confort digestif et le transit :

- **Lactibiane enfant**<sup>®</sup> ;
- **Lactibiane référence**<sup>®</sup> (laboratoire Pileje), à base de 4 souches microbiotiques dosées à 10 milliards par gélule et sachet de 2,5 g (*Bifidobacterium longum* LA 101, *Lactobacillus helveticus* LA 102, *Lactococcus lactis* LA 103 et *Streptococcus thermophilus* LA 104) préférentiellement dans les cas de troubles digestifs accompagnés de constipation. La posologie recommandée est d'1 gélule ou 1 sachet par jour ;
- **Lactibiane IKI**<sup>®</sup> (laboratoire Pileje), composé de 3 souches microbiotiques dosées à 40 milliards par sachet (*Bifidobacterium lactis* LA 304, *Lactobacillus acidophilus* LA 201, *Lactobacillus salivarius* LA 302). La posologie est d'1 sachet par jour ;
- **Lactibiane tolérance**<sup>®</sup> (laboratoire Pileje), gélules ou sachets composés de 10 milliards de ferments lactiques (*Bifidobacterium lactis* LA 303, *Lactobacillus acidophilus* LA 201, *Lactobacillus plantarum* LA 301, *Lactobacillus salivarius* LA

302 et *Bifidobacterium lactis* LA 304). La posologie recommandée est d'1 gélule ou 1 sachet quotidien ;

- **Probiolog<sup>®</sup>, Probiolog fort<sup>®</sup>** ;
- **Arkobiotic supraflore<sup>®</sup>** (laboratoire Arkopharma), association de 6 souches de ferments lactiques (*Bifidobacterium longum* Rosell-175, *Lactobacillus rhamnosus* Rosell-11, *Lactobacillus helveticus* Rosell-52, *Lactococcus lactis ssp. lactis* Rosell-1058, *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* LAFTI B94 et *Lactobacillus acidophilus* Rosell-418). La posologie recommandée est d'1 sachet par jour chez l'enfant de 1 à 5 ans et d'1 gélule ou 2 sachets chez l'enfant de plus de 6 ans et l'adulte. Il est recommandé de faire des cures de 3 à 4 mois ;
- **Bioprotus sénior<sup>®</sup>** (laboratoire Carrare), composé de 4 souches probiotiques (*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus acidophilus*) associé à une gomme douce. La posologie recommandée est d'1 gélule par jour pendant 1 mois ;
- **Bioprotus 7000<sup>®</sup>** (laboratoire Carrare), complément alimentaire composé de 7 milliards de ferments lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus rhamnosus*) préconisé dans les troubles digestifs avec transit lent à la dose d'1 sachet par jour pendant 10 jours ;
- **Bioprotus 4000<sup>®</sup>**, préconisé dans les troubles digestifs avec transit rapide ;
- **Ergyphilus confort<sup>®</sup>, Ergyphilus plus<sup>®</sup>** ;
- **BioGaia ProTectis<sup>®</sup>**, conseillé à la dose d'un comprimé par jour pendant 30 jours ;
- **Kijimea côlon irritable<sup>®</sup>** (laboratoire Synformulas GmbH), dispositif médical composé de *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75, dont la posologie recommandée est 2 gélules par jour en 1 prise.

L'industrie alimentaire a également développé des produits lactés contenant des probiotiques qui « activent le transit ». C'est le cas du produit Activia<sup>®</sup> de Danone, lait fermenté contenant la souche *Bifidobacterium animalis* DN 173-010 ; ou le produit Yakult<sup>®</sup>, lait fermenté contenant la souche *Lactobacillus casei* Shirota (boisson japonaise retrouvée dans de nombreux pays).

Le développement d'Activia<sup>®</sup> est en relation avec un essai réalisé en 2001 chez des adultes sains âgés de 60 à 75 ans. La consommation du produit laitier fermenté par *Bifidobacterium animalis* DN-173-010 accélère significativement le transit oro-anal (110). Cet effet a été confirmé dans une autre étude randomisée chez des volontaires sains âgés de 50 à 75 ans avec une prolongation de cet effet jusqu'à six semaines après l'arrêt de la consommation du probiotique (111). L'effet de cette souche est plus prononcé chez la femme que chez l'homme dans un autre essai contrôlé en double aveugle (112). Enfin, la réduction du temps de transit intestinal est obtenue dès la consommation d'un pot (125g) par jour et est plus marquée si la consommation est supérieure (deux et trois pots par jour). En effet, la consommation du produit Activia<sup>®</sup> permettrait de diminuer le temps de transit colique de 30 heures avec deux pots par jour chez des sujets au transit très ralenti!

Néanmoins, en 2010, la société Danone a retiré les demandes d'allégation santé de ses produits Actimel<sup>®</sup> et Activia<sup>®</sup> auprès de l'autorité européenne compétente. Depuis, ces produits laitiers supplémentés en probiotiques n'évoquent plus de bénéfices pour la santé, notamment pour le confort digestif, mais s'orientent vers une notion de plaisir.

### **3.1.5. Les infections de l'estomac à *Helicobacter pylori***

L'infection de l'estomac à *Helicobacter pylori* est une des infections chroniques les plus répandues dans le monde (20 à 90 % d'adultes infectés selon les pays). Cette pathologie est surtout présente dans les pays en voie de développement (80 à 90 %), mais se trouve aussi chez 20 à 30 % des adultes vivants dans les pays industrialisés.

Cette infection est due à une bactérie aérobie spiralee strictement humaine retrouvée dans le tube digestif. Sa transmission se fait de façon directe par voie orale le plus souvent mais aussi par voie fécalo-orale dans les pays en développement. L'infection est acquise le plus souvent dans la petite enfance, essentiellement dans le milieu familial.

La lésion de base de l'infection à *Helicobacter pylori* est la gastrite et n'est pas forcément symptomatique. Par contre, elle peut évoluer vers d'autres maladies : un ulcère, un cancer gastrique, un lymphome du MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) assez rare et d'autres pathologies et syndromes idiopathiques (mais pour lesquels les niveaux de preuve de l'implication d'*Helicobacter pylori* sont variables). La recherche et le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* en France sont préconisés uniquement quand l'ulcère est prouvé et en cas de lymphome du MALT.

Le traitement de l'infection utilise une trithérapie associant un inhibiteur de la pompe à protons et deux antibiotiques.

De nombreux travaux concernent l'étude de l'efficacité des probiotiques dans la gestion de l'infection à *Helicobacter pylori*. Plusieurs tests *in vitro* et *in vivo* sur animaux ont montré que des probiotiques sont capables d'inhiber l'adhérence de la bactérie pathogène aux cellules épithéliales gastriques et sa prolifération. C'est notamment le cas de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (113).

Une méta-analyse parue en 2003 a passé en revue treize essais cliniques au cours desquels des probiotiques ont été utilisés pour traiter l'infection à *Helicobacter pylori*. Six de ces travaux regroupant une cohorte de 180 sujets étudiaient l'effet de probiotiques administrés seuls dont cinq ont présenté des résultats encourageants. Les sept autres essais (682 patients) utilisaient un probiotique et le traitement antibiotique recommandé pour éradiquer le pathogène. Parmi ces sept études, deux ont montré que les probiotiques augmentaient l'efficacité du traitement habituel et dans les cinq autres, l'administration des probiotiques a diminué la diarrhée, effet indésirable dû à la prise orale des antibiotiques. L'auteur a donc conclu que les probiotiques pourraient être un traitement adjuvant intéressant. Mais il ajoute que tous les patients étudiés étaient porteurs sains et que les essais cliniques n'étaient pas tous réalisés en double aveugle contre placebo (114).

Certains probiotiques ont montré une efficacité dans l'amélioration des taux d'éradication d'*Helicobacter pylori* par la trithérapie. C'est notamment le cas de *Lactobacillus acidophilus*. Cet effet a été recherché dans une étude randomisée en double aveugle contre placebo chez 120 adultes asymptomatiques infectés par *Helicobacter pylori*. Soixante d'entre eux ont suivi la trithérapie de 7 jours associant rabéprazole, clarithromycine et amoxicilline, les soixante autres ont reçu cette même trithérapie associée à *Lactobacillus acidophilus* lyophilisé. Dans le groupe témoin, le taux d'éradication d'*Helicobacter pylori* était de 72% et dans l'autre groupe, une augmentation significative du taux d'éradication a été observée, puisqu'il était de 88%. Ces résultats semblent confirmer les résultats *in vitro* concernant la capacité de *Lactobacillus acidophilus* à améliorer l'efficacité du traitement standard de l'élimination d'*Helicobacter pylori* (115).

Un essai randomisé réalisé en double aveugle contre placebo a regroupé 53 adultes porteurs d'*Helicobacter pylori*. Deux groupes ont été constitués : un groupe témoin recevant un placebo pendant trois semaines et un groupe recevant *Lactobacillus johnsonii* La1 trois fois par jour pendant trois semaines. Tous ont reçu de la clarithromycine à la dose de 50 mg/jour les deux dernières semaines. Avant et après (à quatre et huit semaines) le traitement par voie orale, une biopsie et une endoscopie œsogastrique ont été réalisées. Ces examens ont montré une diminution de la présence d'*Helicobacter pylori* après consommation du probiotique et une diminution de l'inflammation gastrique dans le groupe *Lactobacillus johnsonii*. Mais l'administration de ce probiotique n'a pas amélioré l'effet de l'antibiotique. Cet essai permet d'envisager un effet de *Lactobacillus johnsonii* sur l'amélioration des symptômes très fréquemment retrouvés dans cette pathologie (116).

En 2003, un essai randomisé réalisé en double aveugle chez 20 adultes porteurs d'une infection gastrique à *Helicobacter pylori* a recherché un effet de *Lactobacillus johnsonii* La1 sur une potentielle éradication du pathogène. Ils ont ingérés 80 mL d'un produit lacté contenant  $10^7$  ufc/mL de *Lactobacillus johnsonii* La1 pendant deux semaines. Des tests respiratoires à l'urée marquée au  $^{13}\text{C}$  ont été réalisés à une et deux semaines de traitement. Après deux semaines de traitement, une diminution de 40% du  $^{13}\text{C}$  expiré a été retrouvée. Il semble donc possible de moduler la colonisation de l'intestin par *Helicobacter pylori* chez une population porteuse saine grâce à la consommation quotidienne de produit contenant *Lactobacillus johnsonii* La1. Toutefois, le nombre de sujets intégrés dans l'étude étant faible, de nouvelles investigations incluant un plus grand nombre de sujets sont nécessaires, avant toute conclusion (117).

En 2004, un essai randomisé réalisé sur 22 adultes sains avec un test respiratoire à l'urée positif a recherché un effet de *Lactobacillus brevis* sur l'éradication d'*Helicobacter pylori*. Ils ont reçu une dose unique de *Lactobacillus brevis* ou un placebo. Des tests à l'urée ont été réalisés avant et après la consommation du probiotique. L'administration de *Lactobacillus brevis* n'a pas permis l'éradication d'*Helicobacter pylori* mais une réduction du  $^{13}\text{C}$  expiré suggérant une diminution de la colonisation gastrique par le pathogène (118).

Un essai randomisé en double aveugle contre placebo a regroupé 30 patients infectés par *Helicobacter pylori* pour étudier l'effet d'une supplémentation orale en *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* sur la réponse au traitement antibiotique. Un premier groupe a reçu le placebo pendant les quinze jours, le deuxième groupe a reçu un placebo du premier au septième jour et un mélange de probiotiques du huitième au quinzième jour, le troisième groupe a consommé les probiotiques pendant les quinze jours. Le mélange de probiotiques était composé de *Lactobacillus acidophilus* CTL60, *Lactobacillus acidophilus* CUL21, *Bifidobacterium bifidum* CUL17 et *Bifidobacterium bifidum* Rhodia. Il a été administré à la même dose à tous les patients. La composition de la flore fécale était déterminée plusieurs fois jusqu'à 27 jours. Dans le groupe recevant le placebo pendant toute la durée de l'étude, une augmentation de la flore anaérobie de façon continue jusqu'à vingt-sept jours est notée ; alors que dans le deuxième groupe la population anaérobie croît puis diminue significativement entre les septième et vingt-septième jours. Dans le troisième groupe, la population anaérobie reste stable pendant toute la durée d'observation. La consommation de probiotiques conjointement à une antibiothérapie engendre donc des modifications de la flore saprophyte et permet de la restaurer (119).

Un essai randomisé, réalisé en double aveugle a montré que l'adjonction de *Bifidobacterium lactis* et de *Lactobacillus acidophilus* à la trithérapie anti-*Helicobacter pylori* augmentait significativement son taux d'éradication. Il regroupait une cohorte de 160 patients présentant une infection de l'estomac par *Helicobacter pylori* et divisée en deux groupes. Le



premier a reçu la trithérapie pendant une semaine avec interdiction de consommer des yaourts ; le second a reçu le même traitement associé à un lait fermenté contenant les deux probiotiques ( $5.10^9$  ufc/200mL 3 fois par jour) la première semaine puis le lait fermenté seul pendant quatre semaines. L'éradication d'*Helicobacter pylori* a été significativement plus importante dans le groupe consommant le lait fermenté par rapport au groupe témoin (91% vs 78%). De plus, la consommation de ce mélange de probiotiques a permis une meilleure restauration du microbiote intestinal en bifidobactéries par rapport au groupe témoin (120). Ce mélange de *Bifidobacterium lactis* et de *Lactobacillus acidophilus* entre dans la composition d'un complément alimentaire, **Probiolog**<sup>®</sup>, indiqué en accompagnement de la trithérapie anti-*Helicobacter pylori*. La dose recommandée est d'une gélule après chaque prise d'antibiotique et à poursuivre quatre semaines après l'arrêt.

Une étude a recherché un effet de deux probiotiques, *Lactobacillus acidophilus* La5 et *Bifidobacterium lactis* Bb12 sur la colonisation d'*Helicobacter pylori* *in vitro* et *in vivo*. La partie réalisée *in vivo* regroupait 70 adultes volontaires porteurs d'*Helicobacter pylori* ; 59 patients ont consommés un yaourt supplémenté en *Lactobacillus acidophilus* La5 et *Bifidobacterium lactis* Bb12 pendant six semaines et 11 ont reçu un placebo. La présence d'*Helicobacter pylori* a été déterminée grâce au test à l'urée marquée réalisé avant le début de l'administration des probiotiques puis à quatre et à huit semaines après le début de la supplémentation en probiotiques. Les tests *in vitro* ont utilisé ces mêmes probiotiques afin de rechercher une éventuelle inhibition de la croissance des colonies d'*Helicobacter pylori*. Les résultats ont montré que *Bifidobacterium lactis* Bb12 possède un effet inhibiteur *in vitro* contre *Helicobacter pylori*, alors que *Lactobacillus acidophilus* La5 ne le possède pas. Les tests réalisés chez l'homme ont exposé que l'administration de ce yaourt supplémenté diminue l'activité de l'uréase d'*Helicobacter pylori* après six semaines de traitement, mais sans une éradication complète. Ce résultat a été confirmé par des biopsies de la muqueuse gastrique (121).

En 2005, une étude a apprécié l'efficacité d'un mélange de probiotiques, composé de *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium breve* Bb99 et *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* JS, sur l'éradication d'*Helicobacter pylori* et son rôle dans la tolérance gastro-intestinale du traitement antibiotique chez 47 adultes porteurs sains. Le taux d'éradication d'*Helicobacter pylori* était supérieur dans le groupe recevant les probiotiques par rapport au groupe témoin mais cette différence était non significative. La sévérité globale des symptômes et son évolution pendant le traitement antibiotique étaient par contre significativement améliorées (122).

Enfin, ce même effet des probiotiques sur l'infection gastrique à *Helicobacter pylori* a été recherché chez des enfants. Une étude randomisée en double aveugle contre placebo regroupait 362 enfants porteurs sains divisés en cinq groupes : un recevait *Lactobacillus johnsonii* La1, un autre *Lactobacillus paracasei* ST11, deux groupes recevaient ces mêmes probiotiques mais tués, un dernier consommait un placebo pendant quatre semaines. Des tests respiratoires à l'urée marquée ont été réalisés avant et pendant le traitement. Une diminution significative du taux du <sup>13</sup>C expiré a été retrouvée dans le seul groupe consommant *Lactobacillus johnsonii* vivant. Cela confirme qu'il est nécessaire d'utiliser des micro-organismes vivants pour avoir un effet probiotique (123). La consommation quotidienne de *Lactobacillus johnsonii* La1 pourrait être une alternative intéressante pour modifier la colonisation gastrique par *Helicobacter pylori* chez les enfants.

Une étude randomisée contre placebo indique une efficacité accrue du traitement médicamenteux lorsqu'il est associé à un probiotique chez des enfants symptomatiques (124). Elle regroupe 80 enfants avec une dyspepsie invalidante recevant la trithérapie de sept jours dont une partie a reçu en plus du lait pasteurisé et l'autre un lait supplémenté en *Lactobacillus casei* DN-114 001 pendant quatorze jours à la dose de  $10^{10}$  ufc/jour. Le taux d'éradication d'*Helicobacter pylori* dans le groupe consommant le probiotique était significativement supérieur à celui du groupe témoin (91,6% contre 61,3%).

Le laboratoire Pileje a développé un complément alimentaire, **Lactibiane H-Py**<sup>®</sup>, indiqué dans le traitement complémentaire de l'infection à *Helicobacter pylori*. Il est composé de 2 souches microbiotiques (*Lactobacillus plantarum* LA 301 et *Lactobacillus salivarius* LA 302) dosées à 10 milliards par gélule, de réglisse et d'OPC de cannelle.

Toutes ces études montrent un réel effet des probiotiques sur le portage d'*Helicobacter pylori* dans les populations à risque. Ceci a été démontré chez des adultes avec *Lactobacillus johnsonii* La1, *Bifidobacterium bifidum* associé à *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis* associé à *Lactobacillus acidophilus*. Cependant, aucun probiotique n'est à ce jour capable d'entraîner une éradication complète d'*Helicobacter pylori*. L'ingestion de certains probiotiques en combinaison avec le traitement médicamenteux habituel pour éradiquer *Helicobacter pylori* améliore également les symptômes de la gastrite et les effets indésirables des antibiotiques.

D'autres probiotiques pourraient apporter une aide dans l'éradication d'*Helicobacter pylori*, mais des preuves de leur efficacité sont nécessaires.

### **3.1.6. Le cancer du côlon**

Le cancer du côlon est la deuxième cause de décès par cancer en France et dans de nombreux pays industrialisés. Il résulte d'un dérèglement progressif de la prolifération des cellules épithéliales au niveau des cryptes du côlon et du rectum, entraînant une accumulation de ces cellules sous forme de polypes qui se transforment en tumeurs cancéreuses. Il est admis que plus les cellules se divisent, plus le risque d'apparition de mutation génétique est élevé. La transformation des cellules saines en cellules malignes est donc due à cette accumulation de mutations génétiques de gènes bien spécifiques.

Quelques études ont été menées chez l'homme pour chercher une corrélation entre la consommation de produits laitiers fermentés et le risque de cancer colique. Certaines n'ont pas démontré de relation, mais d'autres ont suggéré une diminution du risque de cancer colique en cas de consommation importante de produits laitiers fermentés. Plusieurs hypothèses concernant l'effet des probiotiques, principalement les bactéries lactiques, sur l'incidence du cancer du côlon ont été proposées mais restent à étayer.

Le microbiote intestinal peut influencer la carcinogenèse en produisant des enzymes (glycosidases,  $\beta$ -glucuronidases, azoréductases et nitroréductases) qui transforment les procarcinogènes en carcinogènes actifs. Un rôle protecteur des bactéries lactiques est évoqué par Kubota et son équipe dès 1990. Ils ont remarqué une augmentation de l'incidence du cancer colique quand la microflore est anormalement pauvre en bactéries lactiques et riche en anaérobies (comme *Clostridium perfringens*). D'autre part, l'ingestion de bactéries lactiques telles *Lactobacillus acidophilus* par l'homme diminue la concentration des enzymes responsables de la libération des agents mutagènes dans le côlon (125). Mais cet effet est

réversible à l'arrêt de la consommation. Il semble donc qu'un apport continu de bactéries lactiques est nécessaire.

*In vitro*, des bactéries lactiques sont capables d'absorber certains mutagènes présents dans le régime occidental (notamment les viandes grillées) et de les emmener avec elles lors de leur excrétion. Les amines hétérocycliques formées à partir des acides aminés de la viande au cours de la cuisson sont impliquées dans le processus de cancérisation des cellules du côlon. Chez le rat, les dommages causés par les amines hétérocycliques provenant de la viande de bœuf sur l'ADN des cellules du côlon et du foie sont prévenus par le mélange *Streptococcus thermophilus* F4, *Streptococcus thermophilus* V3, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 291 et *Bifidobacterium longum* BB536. Cet effet n'a pas été retrouvé lors de la consommation des amines hétérocycliques du poulet (126).

Des essais réalisés *in vitro* et *in vivo* sur des modèles animaux ont montré un rôle bénéfique des bactéries lactiques sur l'incidence du cancer du côlon. *In vitro*, des bifidobactéries ont diminué la croissance des lignées cancéreuses. Chez le rat, elles ont réduit le taux de tumeurs coliques, l'apparition de cryptes aberrantes et la prolifération cellulaire.

Chez la souris, l'acide butyrique prévient la prolifération des cellules cancéreuses du côlon et inhibe le développement de tumeurs du côlon. Or, il a été montré, *in vitro* et *in vivo*, que les bactéries lactiques sont capables de moduler la production d'acide butyrique par la flore colique.

Chez l'homme ayant un risque élevé de cancer colorectal, l'administration de *Lactobacillus acidophilus* et de *Bifidobacterium bifidum* a diminué l'activité prolifératrice dans la partie supérieure des cryptes (127).

Un rôle des acides biliaires a également été proposé. Chez des patients atteints de cancer du côlon et consommant un yaourt supplémenté en *Lactobacillus acidophilus*, il a été mis en évidence une diminution de la concentration fécale en acides biliaires (128). Cette diminution a été imputée aux bactéries lactiques. Ceci pose l'hypothèse d'un changement des conditions environnementales du contenu du côlon par les bactéries lactiques dans le développement du cancer.

Enfin, d'autres hypothèses ont été proposées, comme une stimulation par les bactéries lactiques de divers composants du système immunitaire impliqué dans la réponse tumorale, ou encore un effet anti-tumoral des substances libérées lors de la fermentation lactique.

Tous ces résultats encourageants ouvrent des perspectives pour les probiotiques, mais le niveau de preuve de leur efficacité est encore insuffisant pour les recommander en pratique clinique. Néanmoins, la consommation de produits laitiers fermentés dans lesquels les bactéries lactiques agiraient en synergie avec les autres composants réduirait les risques de cancer du côlon à tous les stades de développement. En effet, le calcium, un composant important des produits laitiers fermentés, a déjà montré un rôle crucial dans la diminution du risque de cancer colorectal et dans l'inhibition de la récurrence des polypes adénomateux. Des essais cliniques incluant des probiotiques chez des malades et des sujets à risque sont en cours.

### **3.1.7. L'intolérance au lactose**

Le lactose est un disaccharide composé d'un glucose et d'un galactose liés par une liaison  $\beta$ . Il est le principal sucre du lait et est présent en grande quantité dans tous ses dérivés. Sa digestion nécessite une enzyme : la lactase qui coupe cette liaison  $\beta$ , le transformant en oses simples pour qu'il puisse être absorbé dans l'intestin grêle. L'absence de la lactase ou sa présence en trop faible quantité empêche sa dégradation et est responsable de la maldigestion du lactose, se traduisant par une difficulté à hydrolyser ce sucre. Le lactose non digéré ne passe pas dans la circulation sanguine et n'est pas transporté vers le foie. Il passe dans le côlon, lieu de fermentation par la flore locale produisant divers gaz responsables de flatulences, de crampes, de douleurs abdominales, de ballonnements et de diarrhées osmotiques. Ces troubles surviennent dans la demi-heure voire dans les heures qui suivent l'absorption de lactose.

Dans le monde, les 3/4 de la population souffrent de ce problème, principalement des adultes, l'activité de la lactase se réduisant avec l'âge, mais seulement 20% présentent une intolérance au lactose. La fréquence de la perte d'activité lactasique varie selon la population : elle est peu fréquente en Europe du nord mais très répandue en Afrique et en Orient. Les personnes souffrant de maldigestion du lactose supportent bien le yaourt, qui contient pourtant du lactose.

Plusieurs causes peuvent être responsables de la diminution de la digestibilité du lactose:

- Une diminution de la physio-activité lactasique entérocytaire qui persiste au-delà de la petite enfance, souvent d'origine génétique (malabsorption primaire). Il s'agit très rarement d'une cause congénitale. Le plus souvent on parle d'hypolactasie primaire due à une réduction progressive de l'activité lactasique à l'âge adulte. Dans ce cas, l'intolérance au lactose est permanente.
- Diverses maladies sont responsables d'une diminution de la surface de digestion/absorption intestinale et accélèrent le transit intestinal : gastro-entérites, maladies coéliquales, résections intestinales, irradiation intestinale (malabsorptions secondaires). Les symptômes dépendent alors de la quantité de lactose absorbée et sont temporaires.

#### **3.1.7.1. Les recherches**

En 1970, Baer émet l'hypothèse que le yaourt réduit la symptomatologie de l'intolérance au lactose. En effet, des études ont montré que les sujets intolérants au lactose présentaient une amélioration de la malabsorption de ce sucre grâce aux bactéries lactiques (*Lactobacillus delbrueckii subsp acidophilus* et *Streptococcus thermophilus*) présentes dans des yaourts contenant pourtant du lactose.

Des investigations plus poussées ont permis de montrer que ces personnes tolèrent mieux le yaourt que le lait et que la digestion du lactose était meilleure lors de la consommation d'un yaourt par rapport à celle d'un yaourt pasteurisé (dans lequel les bactéries sont détruites par la chaleur). Ceci a été observé chez des personnes souffrant de malabsorption primaire ou secondaire.

En 1990, Marteau et son équipe ont étudié la digestion du lactose contenu dans 400 grammes de yaourt consommés par des sujets présentant une intolérance au lactose. Ce

dernier était digéré à 90% et, après un repas, environ 1/5 de la quantité de lactase contenue dans le yaourt était toujours active jusqu'à la fin de l'intestin grêle (129).

Chez le nourrisson né à terme, l'activité lactasique est élevée au niveau de l'intestin grêle, permettant une digestion du lactose presque totale. La diminution de la dégradation du lactose survient plus tard avec apparition de coliques, manifestation clinique très souvent répertoriée dans l'intolérance au lactose. Chez le nouveau-né avec une intolérance au lactose, l'addition de probiotiques à l'alimentation pourrait être bénéfique. Mais ce point est discutable en raison du peu d'études réalisées à ce jour.

### **3.1.7.2. Les mécanismes de l'amélioration de la digestion du lactose par les probiotiques**

Plusieurs explications aux effets de certains probiotiques sur l'amélioration de la digestion du lactose sont possibles:

- Les probiotiques présents dans le yaourt sont véhiculés dans l'intestin où ils libèrent leur propre lactase. Cette libération peut être due à la lyse des parois cellulaires des bactéries sous l'action de l'acidité gastrique et des sels biliaires, favorisant la libération de lactase dans l'intestin et entraînant une activité lactasique accrue.
- La bactérie *Streptococcus thermophilus* du yaourt est capable de synthétiser *de novo* une  $\beta$ -galactosidase active sous l'influence du lactose présent dans le yaourt. Ceci a également été confirmé pour *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (130).
- Les probiotiques, grâce à la perméase de leur paroi cellulaire, internalisent le lactose qui est ensuite hydrolysé.
- Les probiotiques apportés par voie orale en transit dans l'intestin stimulent la lactase intestinale humaine.
- La viscosité du yaourt ralentit le transit intestinal et réduit la vidange gastrique, laissant une durée plus importante à la lactase résiduelle et aux bactéries lactiques du yaourt pour agir.

Le yaourt, produit contenant des probiotiques, présente une alternative intéressante dans le traitement de l'intolérance au lactose de l'adulte. L'effet des probiotiques dans la digestion du lactose sous une forme autre que le yaourt est encore à définir.

## **3.2. Effets bénéfiques des probiotiques sur les fonctions extradigestives**

### **3.2.1. Les allergies**

Les allergies se définissent comme étant des réponses immunes exagérées ou inappropriées vis-à-vis de substances étrangères, normalement bien tolérées, appelées allergènes. Les réactions d'hypersensibilité face aux denrées alimentaires ont été classées en quatre catégories (I, II, III et IV) suivant leurs effets cliniques et leurs mécanismes d'action. Les réactions allergiques qui surviennent rapidement sont appelées réactions d'hypersensibilité immédiate de type I à médiation IgE. La plupart des allergies alimentaires chez l'homme sont de ce type et provoquées par l'ingestion de faibles quantités d'allergènes de nature protéique (131).

Depuis une quarantaine d'années, une augmentation de la prévalence des allergies alimentaires du nourrisson est observée dans les pays occidentaux. À l'échelle mondiale, environ 6 à 8% des enfants de moins de trois ans et 2% de la population adulte souffrent d'allergies alimentaires. Il s'agit de la maladie chronique la plus courante de la petite enfance, surtout dans les deux premières années de vie. Elle se traduit très souvent par un eczéma atopique ou des troubles digestifs.

Les principaux aliments incriminés sont les arachides, le lait, les poissons et crustacés, les œufs et les céréales. L'allergie au lait de vache est l'une des plus importantes et touche 2 à 3% de la population infantile dans les pays industrialisés. Toutefois, l'allergie au lait est une maladie infantile transitoire, car les symptômes de l'allergie disparaissent avant l'âge de trois ans dans 80% des cas.

Il est aujourd'hui admis qu'un ensemble de facteurs est responsable de cette pathologie : des facteurs génétiques, environnementaux (pollution, tabagisme...), le dérèglement de la fonction de barrière de l'intestin, le dérèglement des réactions immunitaires aux antigènes. Ceci a été mis en avant dans la théorie de l'hygiène : une augmentation des allergies peut être liée à la réduction de l'exposition aux infections pendant les premières années de vie, période d'éducation du système immunitaire. En effet, les règles d'hygiène de plus en plus strictes permettant d'éviter la contamination des nourrissons par des germes dangereux sont également responsables d'un appauvrissement de la flore intestinale commensale. Or, il est maintenant prouvé que pendant les deux premières années de vie, le risque de développer une réaction d'hypersensibilité comme l'allergie est accrue, car le fonctionnement du système immunitaire intestinal n'est pas optimal.

Le microbiote intestinal d'enfants en bonne santé a été comparé à celui d'enfants allergiques chez lesquels un taux réduit de lactobacilles et de bifidobactéries et un nombre de bactéries coliformes et de *Clostridium* supérieur ont été retrouvés. Un déséquilibre du microbiote commensal en cours d'établissement pourrait donc être responsable du mauvais fonctionnement du système immunitaire intestinal (132).

Les premières bactéries commensales colonisant le tube digestif influencent la mise en place des mécanismes impliqués dans le système immunitaire mais aussi dans la non réponse aux antigènes alimentaires (regroupant la balance Th1/Th2 et la tolérance orale). Le lait maternel constitue une protection naturelle les premiers jours de vie du nourrisson contre les réactions d'hypersensibilité grâce aux cytokines anti-inflammatoires IL-10 et TGF-

$\beta$  qu'il contient. Mais, si la mère est elle-même allergique, le profil cytokinique du lait est modifié et pourrait orienter la réponse immunitaire de l'enfant vers une réaction allergique (133).

### **3.2.1.1. La dermatite atopique**

La dermatite atopique est une maladie cutanée inflammatoire chronique survenant sur un terrain atopique, caractérisée par des poussées prurigineuses d'eczéma aigu sur fond de xérose cutanée permanente. Elle débute souvent chez le nourrisson, atteint préférentiellement les enfants, mais persiste parfois à l'âge adulte. Sa fréquence est importante et augmente régulièrement, particulièrement dans les pays industrialisés.

Les mécanismes physiopathologiques à l'origine de la dermatite atopique ne sont pas totalement élucidés, mais ils comportent trois aspects:

- des facteurs génétiques ;
- des facteurs immunologiques. L'eczéma au cours de la dermatite atopique représente une forme de réaction d'hypersensibilité retardée mettant en jeu des lymphocytes et des cellules présentatrices d'antigènes. Le développement d'une réponse immunitaire inflammatoire de type Th2, spécifique d'antigènes protéiques, est à l'origine des lésions d'eczéma ;
- des anomalies de la barrière cutanée.

#### **a) Traitement curatif de la dermatite atopique par les probiotiques**

Se basant sur ces données, une équipe finlandaise a recherché un effet bénéfique du probiotique *Lactobacillus rhamnosus GG* dans le traitement curatif de la dermatite atopique chez le nourrisson et le jeune enfant. En 1997, une première étude a recherché l'effet curatif du probiotique. La prise orale quotidienne de *Lactobacillus rhamnosus GG* à la dose de  $5.10^8$  ufc/mg d'aliment pendant un mois par des nourrissons allergiques aux protéines de lait de vache a amélioré les symptômes cliniques de l'eczéma et a diminué l'inflammation intestinale (135).

Ce résultat a été confirmé par la même équipe. Chez 27 nourrissons nourris au sein et présentant un eczéma atopique, un sevrage par un lait infantile hypoallergénique a été réalisé. L'association à ce lait de *Lactobacillus rhamnosus GG* ( $3.10^8$  ufc/g) ou de *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ( $10^9$  ufc/g) permettait une amélioration plus rapide de l'état atopique que chez les enfants ne recevant pas de probiotique. L'évaluation a été réalisée par l'index SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis) prenant en compte un test cutané envers l'antigène, un test de provocation, la mesure du taux d'IgE totales et spécifiques de l'allergène testé. (135).

Des enfants, chez lesquels une allergie au lait de vache était suspectée, ont reçu soit un lait hypoallergénique seul, soit ce même lait additionné de *Lactobacillus rhamnosus GG* vivant, soit associé au même probiotique inactivé. Les symptômes cliniques de l'allergie étaient améliorés dans les trois groupes mais le SCORAD n'était significativement réduit que dans le groupe consommant *Lactobacillus rhamnosus GG* vivant sans modification du microbiote intestinal (136).

En revanche, la consommation de *Bifidobacterium lactis* Bb-12 par des enfants suspectés d'être allergiques au lait de vache a modifié la flore digestive avec une diminution des entérobactéries et de *Bacteroides*. Les résultats concernant l'amélioration des symptômes cliniques sont, quant à eux, flous (137).

Une autre étude a été effectuée en double aveugle chez des enfants âgés de un à treize ans présentant un eczéma atopique et utilisant un mélange de deux souches de lactobacilles

lyophilisés (*Lactobacillus rhamnosus* 19070-2 et *Lactobacillus reuteri* DSM 122460). Une amélioration des signes subjectifs est rapportée dans 56% des cas après consommation pendant deux semaines, contre 15% dans le groupe placebo. Mais l'index SCORAD est resté le même dans les deux groupes. Une analyse plus fine de cet indice montre une diminution du SCORAD chez les enfants ayant une dermatite atopique de type allergique avec une diminution de la surface atteinte. L'absence de corrélation entre les effets bénéfiques des lactobacilles sur la dermatite atopique et la diminution de la réponse IgE mérite des investigations afin de comprendre les mécanismes impliqués dans l'effet protecteur de ces probiotiques (138).

En 2005, une étude finlandaise a suivi la sévérité des symptômes de dermatite atopique chez 230 enfants suspectés d'allergie aux protéines du lait de vache. Ils ont reçu pendant quatre semaines soit du *Lactobacillus rhamnosus* GG seul, soit le lactobacille associé à 3 autres probiotiques (*L. rhamnosus* LC705, *Bifidobacterium breve* Bbi99 et *Propionibacterium freudenreichii* JS), soit un placebo. Au bout des quatre semaines, une allergie aux protéines de lait de vache a été diagnostiquée chez 120 enfants. Dans l'ensemble du groupe, une diminution de 65% des symptômes de l'allergie a été observée sans différence entre les deux traitements utilisés (139).

En 2012, un article publié au *Pharmaceuticals* a rassemblé les études utilisant les probiotiques dans la prise en charge de la dermatite atopique. Les essais rassemblés ont étudié principalement 2 souches, *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* Bb-12, seuls ou en association, mais également des mélanges de souches probiotiques. Les résultats sont contradictoires, puisque certains étaient en faveur d'une amélioration significative du SCORAD et une atténuation significative des symptômes, tandis que d'autres ne montraient aucun intérêt de la supplémentation en probiotiques dans le traitement de la dermatite atopique. Il faut également noter que les résultats ont montré une efficacité plus importante des mélanges de probiotiques plutôt qu'une souche seule (140).

Ces différents travaux semblent conforter l'hypothèse d'un effet bénéfique de certains probiotiques dans l'allergie de l'enfant. Mais de nombreuses prospections sont encore nécessaires avant de recommander l'utilisation de probiotiques dans le traitement de la dermatite atopique.

#### b) Traitement préventif de la dermatite atopique

Un effet préventif de *Lactobacillus rhamnosus* GG dans les manifestations de l'atopie a également été recherché par la même équipe finlandaise chez des enfants à risque, dont un des parents proches présente une allergie.

Dans un essai randomisé en double aveugle, *Lactobacillus rhamnosus* GG a été administré à 134 femmes enceintes pendant quatre semaines avant le terme. L'administration du probiotique a été poursuivie chez le nouveau-né ou la mère allaitante pendant six mois. La fréquence de l'eczéma atopique au cours des deux premières années de vie était de 23% dans le groupe ayant reçu le probiotique, contre 46% dans le groupe témoin (141). Les auteurs ont montré que la protection était maintenue à quatre ans (142).

Mais les enfants ne souffrant pas d'eczéma atopique ne sont pas protégés contre les autres manifestations allergiques puisqu'à quatre ans, les pourcentages de rhinite et d'asthme allergiques sont les mêmes dans les deux groupes. Cependant, les concentrations en IgE totales et spécifiques n'ont pas été significativement différentes dans les deux groupes, ce qui



confirme que l'élévation du taux des IgE n'est pas le facteur univoque de la réponse atopique. De plus, le taux d'atopie (présence d'IgE spécifiques aux allergènes courants) n'est pas modifié.

Une seconde étude a recherché cet effet préventif de *Lactobacillus rhamnosus GG* dans la manifestation de l'eczéma atopique en l'administrant à des femmes enceintes pendant quatre semaines avant le terme et pendant l'allaitement : 15% des enfants dont les mères consommaient quotidiennement *Lactobacillus rhamnosus GG* ont développé un eczéma atopique contre 47% dans le groupe placebo (143).

Ces résultats semblent prometteurs, mais il faut signaler qu'une même équipe a fait ces recherches et d'autres essais doivent être réalisés. De plus, il faut souligner l'existence de points de faiblesse dans ces études : pas de comparaison des profils bactériens, pas de différence d'IgE et SCORAD dans l'étude de Kalliomaki (141).

### c) Mécanismes d'action des probiotiques dans la dermatite atopique

Si l'effet bénéfique des probiotiques sur les allergies infantiles est aujourd'hui reconnu, le ou les mécanismes responsables de ces bénéfices cliniques sont encore à élucider. Plusieurs hypothèses sont développées :

- D'après Isolauri et son équipe (144), la perméabilité intestinale est modifiée en période de réaction allergique. En effet, la barrière intestinale assure moins bien son rôle. Ils ont observé que les bactéries lactiques diminuaient cette perméabilité, réduisant ainsi le passage systémique des protéines alimentaires et permettant la mise en place des processus immuns de la tolérance orale.

- D'après Prioult (145), des souches de bactéries lactiques colonisant le tube digestif de souris gnotoxéniques ont modulé l'induction et le maintien de la tolérance orale envers la  $\beta$ -lactoglobuline de façon souche-dépendante.

- **Importance de la balance Th1/Th2.**

En théorie, la réponse de type Th1 est protectrice contre les maladies allergiques. Le système immunitaire ne présente une réponse de type Th1 dominante que lorsqu'il est mature. A la naissance, l'enfant naît avec une réponse de type Th2 dominante, nécessaire au non-rejet du fœtus durant la grossesse. Le nouveau-né doit donc recevoir au plus vite les stimuli pour rétablir la réponse de type Th1, nécessaire au développement des réponses protectrices. De nombreuses études ont montré que le switch Th2/Th1 ne se réalise pas chez l'enfant atopique, laissant la balance en faveur d'une réponse de type Th2, favorisant le développement des réponses IgE. La période néo-natale serait ainsi importante pour permettre à la balance Th1/Th2 d'être opérante et le microbiote intestinal y jouerait un rôle de poids.

Une étude menée en double aveugle contre placebo a recherché un effet des probiotiques sur la maturation du système immunitaire des enfants. Pendant quatre semaines, des enfants suspectés allergiques aux protéines du lait de vache avec une dermatite atopique avec IgE ont reçu soit *Lactobacillus rhamnosus GG*, soit un mélange de quatre probiotiques appelé MIX et contenant *Lactobacillus rhamnosus GG*, soit un placebo. Les taux d'IFN- $\gamma$ , d'IL-4 et d'IL-5 ont été mesurés. La sécrétion d'IFN- $\gamma$  avant traitement était inférieure chez les enfants ayant une allergie aux protéines du lait de vache par rapport aux enfants sans

allergie. Parmi les enfants ayant reçu *Lactobacillus rhamnosus* GG, les taux de sécrétion d'IFN- $\gamma$  augmentent chez ceux ayant une allergie au lait de vache et chez ceux présentant une dermatite avec IgE associée, par rapport au groupe placebo. La sécrétion d'IL-4 (cytokine anti-inflammatoire) était significativement accrue chez les enfants allergiques recevant le mélange MIX, mais pas dans le groupe recevant *Lactobacillus rhamnosus* GG seul. Il existe donc un lien entre le déficit en IFN- $\gamma$  et l'allergie aux protéines du lait de vache. *Lactobacillus rhamnosus* GG pourrait stimuler positivement les lymphocytes de type Th1. Mais le mélange de probiotiques MIX, qui contient aussi *Lactobacillus rhamnosus* GG, semble moduler les réponses immunologiques de manière différente, puisque l'apport de ce mélange à des enfants allergiques augmente la production d'IL-4, ce qui a un effet contraire à la production d'IFN- $\gamma$  (146). L'effet des probiotiques est donc plus complexe qu'il n'y paraît à première vue avec des effets antagonistes selon le mélange proposé.

*In vitro*, *Lactobacillus rhamnosus* GG est capable d'induire la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-12, IFN $\gamma$ ) et anti-inflammatoires, comme l'IL-10. L'administration de lactobacilles pendant un mois à 9 enfants âgés de 7 à 42 mois ayant une dermatite atopique et une allergie aux protéines de lait de vache a montré une augmentation provisoire du taux d'IL-10. L'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire présentant un effet immunosuppresseur intéressant, passant notamment par une diminution de la production d'IgE. Les lactobacilles entraîneraient une modification immunologique dans le sens anti-inflammatoire et antiallergique (147).

Dans l'étude réalisée par Vilijanen (139), la consommation de *Lactobacillus rhamnosus* GG a apporté à des enfants atteints d'eczéma atopique un bénéfice additionnel au traitement médicamenteux cutané. Entre le début de l'étude et quatre semaines après la fin du traitement, chez les enfants IgE positifs (c'est-à-dire produisant des IgE spécifiques de l'allergène testé), une meilleure amélioration des symptômes (évalués par le SCORAD) a été observée dans le groupe recevant *Lactobacillus rhamnosus* GG par rapport aux sujets recevant le placebo. Aucune différence n'a été relevée chez les enfants non IgE positifs ni chez les sujets recevant le mélange de probiotiques. Le fait que cela se produit uniquement pour les enfants chez lesquels une allergie a été détectée par la présence d'IgE est, selon les auteurs, en accord avec les études préliminaires démontrant que les lactobacilles favorisent l'expression des cytokines de type Th1 au détriment de celles de type Th2.

- Production de TGF- $\beta$  qui s'oppose à la réponse de type Th2. Dans une étude menée en double aveugle, contrôlée contre placebo, 62 femmes enceintes ou allaitantes ont reçu le probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG en complément de l'alimentation. Le lait de ces femmes a été analysé : le taux du facteur de croissance transformant anti-inflammatoire (TGF- $\beta$ 2) était significativement supérieur dans le lait maternel des femmes ayant reçu le probiotique par rapport à celles ayant consommé le placebo. De plus, le risque de développer un eczéma était significativement diminué les deux premières années de vie chez les enfants dont la mère recevait le probiotique. Enfin, les chercheurs ont remarqué que les enfants bénéficiant le plus de la supplémentation maternelle en probiotique étaient ceux dont la concentration sanguine ombilicale en IgE était la plus importante. Tous ces résultats supposent que l'administration de probiotiques favorise le potentiel immuno-protecteur de l'allaitement maternel (143).

- Stimulation de la production d'IgA sécrétoires. Des modèles animaux ont montré une augmentation des cellules productrices d'IgA dans la muqueuse intestinale par des probiotiques avec des variations selon les souches étudiées.

L'action de *Lactobacillus rhamnosus* GG sur l'immunité humorale de 39 nouveau-nés atteints de dermatite atopique a été suivie sur une période de 3 mois en 2010, en double aveugle contre placebo. Dans le groupe recevant *Lactobacillus rhamnosus* GG, une élévation significative de la sécrétion d'IgA et d'IgM a été trouvée. Cette souche aurait donc un effet dans le développement des réponses immunitaires (148).

### **3.2.1.2. Autres manifestations allergiques**

De nombreux travaux de recherches sont actuellement focalisés sur les maladies allergiques en raison de l'augmentation de la prévalence des allergies observée particulièrement dans les pays occidentaux. Toutefois, très peu d'études ont été publiées à ce jour sur les effets des probiotiques sur d'autres maladies allergiques.

Une étude regroupant des enfants et de jeunes adolescents souffrant d'une allergie au pollen de bouleau et à la pomme a recherché un effet de *Lactobacillus rhamnosus* GG. La consommation quotidienne de *Lactobacillus rhamnosus* GG à la dose de  $5.10^9$  ufc pendant cinq mois n'a pas amélioré les symptômes de l'allergie (149).

La consommation de yaourt pendant un an par des adultes présentant un asthme modéré n'a pas eu d'effet d'après une étude contrôlée (150).

Un essai a rapporté que l'ingestion de lait fermenté contenant *Lactobacillus paracasei-33* ( $2.10^9$  ufc/pot) pendant 30 jours, permet d'améliorer la qualité de vie chez des patients souffrant d'une rhinite allergique (151).

Une méta-analyse synthétisant 23 essais avec 1919 patients a étudié les effets de probiotiques dans le traitement de la rhinite allergique. Les probiotiques utilisés étaient des lactobacilles et des bifidobactéries en grande majorité, *Escherichia coli* Nissle 1907 et *Bacillus clausii*. Sur les 23 essais, 17 ont montré une amélioration significative des symptômes et de la qualité de vie des patients. Les auteurs en ont néanmoins conclu que des études de plus grande ampleur sont nécessaires afin d'affiner les effets des probiotiques sur la rhinite allergique (152).

La consommation de yaourt non thermisé pendant un an par des adultes a diminué la symptomatologie nasale de l'allergie et réduit le taux d'IgE (153).

De nombreuses études ont donc montré une efficacité des probiotiques, notamment *Lactobacillus rhamnosus* GG, sur l'allergie atopique de l'enfant. Chez l'adulte, l'utilisation des probiotiques dans l'allergie est un champ de recherche en pleine expansion.

Quelques études ont mis en évidence un rôle bénéfique des probiotiques sur l'allergie de l'adulte. C'est le cas d'un essai randomisé en double aveugle portant sur 49 adultes souffrant de rhinite allergique chronique. Pendant huit semaines ils ont consommé soit un lait fermenté avec *Lactobacillus acidophilus* L-92 à la dose de  $3.10^{10}$  ufc/jour soit un placebo. Deux paramètres ont été relevés : les symptômes cliniques (nez et yeux) et les marqueurs immunitaires sanguins (taux d'IgE circulants et le ratio Th1/Th2). La consommation du probiotique a diminué de manière significative les symptômes au niveau nasal. Une diminution des troubles allergiques oculaires a également été observée par les patients mais de façon statistiquement non significative. Enfin, il n'y a pas eu de modulation des marqueurs sanguins de l'allergie comme cela a pu être observé chez le jeune enfant. Un autre mécanisme que la modulation de la balance Th1/Th2 pourrait être impliqué (154).

Une étude clinique (155) effectuée sur des sujets humains (6 à 48 ans) présentant des symptômes cliniques d'asthme et/ou conjonctivite, rhinite, urticaire, dermatite atopique, allergie alimentaire et le syndrome de l'intestin irritable, a montré les effets positifs des probiotiques dans le traitement des maladies allergiques. Selon cette étude, une administration quotidienne d'un mélange ( $10^9$  bactéries vivantes) de *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii* et *Streptococcus thermophilus* permet de réduire significativement le taux de précurseurs circulants de lymphocytes CD4<sup>+</sup> impliqués dans l'inflammation allergique systémique.

Une publication propose un protocole de vaccination contre l'allergie par des bactéries recombinantes. L'allergie peut être soignée par l'injection régulière d'anticorps anti-IgE neutralisant les IgE responsables de l'initiation de la réaction allergique. Une équipe suisse a proposé l'utilisation des lactobacilles recombinants porteurs d'épitopes spécifiques des IgE induisant ainsi la production par l'organisme d'anticorps anti-IgE. Trois souches recombinantes ont été créées à partir de *Lactobacillus johnsonii* NCC2754, deux exprimant des épitopes des IgE et un témoin exprimant une protéine différente. Des tests *in vivo* ont été réalisés chez des souris afin de mesurer l'intensité de la réponse immunitaire. Les bactéries recombinantes porteuses de l'épitope spécifique des IgE ont entraîné une augmentation significative de la production d'anticorps anti-IgE par rapport à la réponse obtenue par les bactéries témoins. Il est donc possible chez la souris d'induire une réponse anti-IgE par administration de *Lactobacillus johnsonii* NCC2754 recombinant exprimant un épitope d'IgE. Ceci ouvre une voie d'investigation intéressante permettant un traitement de l'allergie (156).

Une réduction des symptômes de l'eczéma atopique a été montrée après administration de certains probiotiques par voie orale, principalement *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* chez des enfants à risque. Le risque d'eczéma atopique chez les enfants en bas âge semble être diminué après la consommation de certains probiotiques par la mère pendant la grossesse et l'allaitement.

La microflore commensale dispose de mécanismes protecteurs contre l'allergie : la réponse préférentielle de type Th1, la possibilité d'induire la production des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, le TGF- $\beta$  qui s'oppose à la réponse inflammatoire de type Th2 dominante au cours de l'allergie) et la production d'IgA.

Certaines souches probiotiques ont donc montré un réel intérêt dans la prévention et le traitement de la dermatite atopique de l'enfant. La conférence de consensus d'octobre 2004 de la société française de dermatologie sur le sujet « prise en charge de la dermatite atopique de l'enfant » concluait néanmoins qu'il est prématuré de recommander l'administration des probiotiques en préventif chez la femme enceinte et allaitante ainsi qu'en curatif chez le jeune enfant. Mais cette conférence ne tenait compte que de quelques études et de nombreux essais ont été publiés depuis avec des résultats encourageants.

La gamme Lactibiane<sup>®</sup> des Laboratoires PiLeJe constitue une nouvelle approche chez le tout jeune enfant à risque d'atopie. Parmi ces derniers, nous pouvons citer :

- **Lactibiane enfant<sup>®</sup>**;
- **Lactibiane référence<sup>®</sup>**;
- **Lactibiane ALR<sup>®</sup>** (laboratoire Pileje), composé de romarin (contribue au fonctionnement normal du système immunitaire), d'extrait d'oignon et

de *Lactobacillus salivarius* LA 302 dosée à 4 milliards par gélule. La posologie recommandée est d'1 gélule probiotique par jour.

### **3.2.2. Les infections du système respiratoire supérieur**

Le nez est un réservoir pour les micro-organismes contenant des bactéries potentiellement pathogènes, comme le staphylocoque doré, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*...

La recherche d'un effet des probiotiques ingérés par voie orale sur la flore nasale a été réalisée en 2003. Deux cent neuf adultes ont consommé soit un lait fermenté contenant *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium* sp. B420, *Lactobacillus acidophilus* 145 et *Streptococcus thermophilus*, soit un yaourt ordinaire. L'analyse de la flore nasale a été effectuée à J1, J21 et J28. Les résultats de ces analyses ont dévoilé une diminution significative de 19% de l'apparition des bactéries potentiellement pathogènes au niveau nasal dans le groupe consommant la préparation de probiotiques. Cette réduction était particulièrement marquée pour les bactéries à Gram positif. Ces résultats suggèrent de plus qu'il existe un lien entre le tissu lymphoïde de l'intestin et le système respiratoire supérieur (157).

Des recherches ont évalué l'utilisation de probiotiques dans la prévention et le traitement des infections hivernales.

Une étude clinique contrôlée randomisée en double aveugle, parue en 2005, regroupant 479 adultes sains consommant une association de multivitamines et d'oligo-éléments associée soit à des probiotiques (*Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/ 3 et *Bifidobacterium bifidum* MF 20/5), soit à un placebo, a étudié le rôle de ces bactéries sur la rhinite virale aiguë. Le produit probiotique est un complément alimentaire commercialisé en France sous le nom Bion 3®.

Ils ont consommé quotidiennement ce produit pendant une période d'au moins trois mois chevauchant l'hiver et le printemps, moment de l'année où le rhume frappe fréquemment. Les participants ont répondu à un questionnaire concernant les symptômes respiratoires. La réponse immunitaire a été évaluée dans un sous-groupe formé de 122 personnes.

Après 3 mois de consommation, les résultats ont montré une réduction de la durée du rhume de 2 jours et une diminution de la durée de la fièvre de 76% (6 heures dans le groupe probiotique contre 24 heures dans le groupe placebo). De plus, une réduction de 30% du score de sévérité des symptômes totaux, notamment locaux (nasaux, pharyngés et bronchiques), a été observée dans le groupe Bion 3®. Dans le sous-groupe de 122 personnes, la réponse immunitaire était meilleure dans le groupe Bion 3® par rapport au groupe placebo. En effet, une augmentation de la population lymphocytaire CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> après 14 jours de supplémentation a été mise en évidence. L'action des probiotiques sur le rhume pourrait être due à un renforcement de l'immunité cellulaire. Le nombre élevé de patients inclus dans l'étude est un critère de robustesse des résultats mais les symptômes n'étant appréciés que par les patients, il est difficile de conclure quant à la justesse des résultats obtenus (158).

Un essai randomisé réalisé en double aveugle contre placebo a étudié l'effet de probiotiques sur les infections respiratoires de l'enfant. L'ensemble des 571 enfants finlandais buvait chaque jour soit 260 mL de lait contenant la bactérie *Lactobacillus rhamnosus* GG, soit le lait seul pendant sept mois. Une diminution de 17% du nombre d'épisodes respiratoires et

de 19% de la consommation d'antibiotiques pour des infections respiratoires ont été mises en évidence dans le groupe consommant quotidiennement le probiotique par rapport au groupe placebo. Au total, une diminution de l'absentéisme pour des raisons de maladies infectieuses respiratoires a pu être clairement montrée. Il faut néanmoins déplorer l'absence de la mesure des paramètres immunitaires (159).

La bactérie *Lactobacillus casei* DN- 114 001 est surtout connue pour son intérêt dans la réduction des symptômes de la diarrhée aiguë de l'enfant. Un essai randomisé en double aveugle (160) a montré qu'elle possède un effet sur les infections hivernales (gastro-intestinales et respiratoires). Une cohorte de 360 personnes âgées de plus de 60 ans a consommé quotidiennement un lait fermenté contenant cette bactérie pendant trois semaines en hiver. Les auteurs ont montré qu'il n'y avait pas d'effet sur l'incidence des pathologies infectieuses hivernales mais que la consommation de ce probiotique entraînait une réduction significative de leur durée (7 jours contre 8,7 jours dans le groupe placebo).

L'essai mené par Weizman sur des enfants en crèche a également montré une diminution significative des absences pour maladie lors de la supplémentation du lait par *Bifidobacterium lactis* Bb-12 et *Lactobacillus reuteri* 55730 par rapport au lait seul. Ces maladies regroupaient des pathologies gastriques mais aussi des maladies avec symptômes respiratoires et fièvre (59).

En 2015, un article publié dans le *Cochrane* a recensé les essais étudiant l'efficacité des probiotiques dans la prévention des infections aiguës des voies respiratoires supérieures. Douze essais contrôlés randomisés regroupant 3720 participants ont été évalués. Les probiotiques étudiés (*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus bulgaricus* OLL 073R-1, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasei*, *Streptococcus thermophilus* OLS 3059, *Bifidobacterium lactis* Bb-12, *Bifidobacterium animalis* et *Bifidobacterium longum* SP07/3) sont ressortis plus efficaces que le placebo. La prise de probiotiques a permis de réduire le nombre de personnes présentant un épisode d'infection des voies respiratoires supérieures, la durée moyenne de l'épisode infectieux, l'utilisation d'un traitement antibiotique et les absences scolaires. Néanmoins, les auteurs ont souligné la faible qualité des preuves amenées (161).

Quelques études ont révélé l'effet positif de certains probiotiques sur l'amélioration des pathologies hivernales. Néanmoins, le nombre restreint d'essais réalisés à ce jour et la quantité insuffisante de patients inclus ne permettent pas de conclure quant à un réel bénéfice de la consommation des probiotiques en prévention des pathologies hivernales. Toutefois, la publication de De Vrese et de son équipe (158) a permis au laboratoire Merck Médication Familiale d'ajouter une indication thérapeutique aux compléments alimentaires **Bion 3 restore**<sup>®</sup> et **Bion 3 défenses**<sup>®</sup>, à savoir renforcer les défenses naturelles de l'organisme pour « aider à protéger contre les infections, pour mieux faire face aux rythmes de vie actuels : alimentation déséquilibrée, stress, surmenage, lors des régimes, chez les personnes âgées : moindre appétit, baisse de l'énergie, manque d'entrain » (RCP).

Ces dernières années, plusieurs compléments alimentaires ayant les mêmes revendications ont vu le jour. A titre d'exemple, nous pouvons citer :

- **Pédiakid Probiotiques-10M**<sup>®</sup>;
- **Lactibiane référence**<sup>®</sup>, **Lactibiane enfant**<sup>®</sup> ;
- **Lactibiane défenses**<sup>®</sup> (laboratoire Pileje), complément alimentaire composé d'1 milliard de probiotiques par gélules (*Bifidobacterium lactis* LA501, *Lactobacillus*

*acidophilus* LA102 et *Bifidobacterium longum* LA101). La posologie recommandée est d'1 gélule par jour pendant 10 jours par mois à renouveler sur plusieurs mois ;

- **Arkolevure gélules<sup>®</sup>, Arkolevures sachets<sup>®</sup>** ;
- **Azinc défenses naturelles<sup>®</sup>** solution buvable dès 6 ans (laboratoire Arkopharma), complément alimentaire renfermant 5 milliards de probiotiques (*Lactobacillus paracasei*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* et *Bifidobacterium lactis*). La posologie recommandée est d'1 dose quotidienne ;
- **Azinc vitalité immunoboost<sup>®</sup>** (laboratoire Arkopharma), complément alimentaire contenant 4 ferments lactiques (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* et *Bacillus coagulans*). La posologie recommandée est d'1 comprimé par jour ;
- **Prémunil<sup>®</sup>, Prémunil Junior<sup>®</sup>** (laboratoire Léro), complément alimentaire contenant 1 milliard de *Lactobacillus casei* ;
- **ImmunoStim<sup>®</sup>** (laboratoire Urgo), complément alimentaire renfermant 3 souches probiotiques (*Lactobacillus helveticus* R-52, *Bifidobacterium bifidum* R-71 et *Bifidobacterium infantis* R-33). La posologie recommandée est d'1 gélule ou un stick de poudre orale chez l'enfant chaque jour pendant 10 jours par mois, plusieurs mois consécutifs.

Mais tous ces compléments contiennent également des minéraux et vitamines.

Concernant les aliments fonctionnels, le plus connu est sans doute Actimel<sup>®</sup> de Danone, renfermant la souche *Lactobacillus casei* DN-114 001, présent sur le marché alimentaire depuis plusieurs années et dont l'ancienne allégation santé était « participe à renforcer les défenses naturelles de l'organisme ».

### **3.2.3. Les infections vaginales**

La flore vaginale d'une femme en bonne santé regroupe une cinquantaine d'espèces différentes de micro-organismes. Elle est dominée par diverses espèces de lactobacilles, composant la flore de Doderleïn et formant un film protecteur naturel sur la muqueuse. Ces bactéries ont la capacité d'inhiber la croissance, l'adhésion et l'expansion d'autres micro-organismes. L'équilibre fragile de cette flore est parfois perturbé, notamment par l'administration de médicaments par voie orale et vaginale ou de dispositifs à usage local. L'administration orale ou vaginale de lactobacilles entraîne une colonisation durable de l'écosystème vaginal par ces micro-organismes. L'hypothèse qu'une supplémentation en lactobacilles pourrait avoir un intérêt dans le traitement et dans la prévention d'infections vaginales a alors été émise.

Une synthèse a regroupé les différents essais réalisés ces dernières années dans le but de chercher un effet des lactobacilles dans les vaginites. Elle concluait que le niveau de preuve de l'efficacité des lactobacilles sur la prévention et le traitement des infections vaginales est à ce jour insuffisant, notamment en raison du nombre insuffisant des patientes incluses dans les études (162).

Il est néanmoins prouvé qu'en cas d'infection urovaginale, *Lactobacillus acidophilus* inhibe la croissance des bactéries uropathogènes dont *Escherichia coli*. La prise par voie vaginale du probiotique paraît sûre et efficace d'après les mêmes auteurs.

Une étude a recherché un rôle des probiotiques dans la prévention des vulvovaginites induites par un traitement antibiotique administré pour une infection non gynécologique. Deux cent soixante-dix-huit femmes ont reçu un lactobacille par voie orale deux fois par jour ou par voie vaginale au coucher ou les deux à la fois ou un placebo. L'administration a débuté six jours avant la fin du traitement antibiotique et ce pendant dix jours. Les résultats prenant en compte les symptômes et le prélèvement vaginal pour recherche de *Candida* n'ont pas montré l'efficacité d'une supplémentation de lactobacilles pour prévenir ou contrer une vaginite, que les probiotiques soient administrés par voie orale ou par voie vaginale (163).

Une publication de 2001 a étudié l'effet de probiotiques chez 10 femmes ayant pour antécédents de nombreuses récurrences de vaginoses ou de candidoses ou d'infections urinaires. Elles ont pris matin et soir un mélange de probiotiques (*Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus fermentum*) pendant quatorze jours. Des prélèvements vaginaux après une à quatre semaines et à deux et trois mois ont montré que la colonisation vaginale de ces 10 femmes par les souches ingérées était effective dès la première semaine et associée à une guérison (164).

Parmi les souches probiotiques connues, l'administration par voie orale de *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 et *Lactobacillus reuteri* RC-14 a montré un intérêt dans les vaginoses basses. En effet, des essais ont rapporté que ces souches bactériennes sont capables de coloniser la cavité vaginale, d'inhiber la croissance et le développement de germes pathogènes, d'améliorer les vaginoses bactériennes et de prévenir les vaginoses bactériennes suite à un traitement antibiotique. Deux études randomisées menées en double aveugle ont confirmé ces résultats.

La première regroupait 64 femmes dont 32 consommant quotidiennement ce mélange de probiotiques à la dose de  $10^9$  ufc et 32 femmes absorbant un placebo. Cet essai a duré 60 jours. Après un mois, dans le groupe probiotique, la population en lactobacilles de la flore vaginale a significativement augmenté et parallèlement, les levures et les coliformes ont diminué. Après deux mois, il y avait une amélioration des signes de la vaginose bactérienne et une restauration de la flore vaginale lactobacillaire (165).

La seconde étudiait le rôle de ces mêmes lactobacilles chez des femmes traitées par voie orale par un antibiotique pendant 10 jours pour une infection des voies aériennes supérieures. Vingt-quatre patientes ont été suivies pendant 21 jours, dont la moitié recevait le mélange de probiotiques à la dose journalière de  $10^9$  ufc, l'autre moitié consommant un placebo. Dans le groupe probiotique, aucune patiente n'a développé d'infection vaginale alors que 3 dans le groupe témoin ont présenté une vaginose bactérienne.

Ces deux études montrent que ces deux probiotiques pris quotidiennement par voie orale favorisent le développement d'une flore protectrice et restaurent la flore vaginale lorsqu'elle est perturbée.

De nombreux compléments alimentaires ou dispositifs médicaux ayant pour revendication de maintenir la flore vaginale équilibrée et saine et de la restaurer ont été mis sur le marché ces dernières années et sont disponibles en pharmacie :

- **Lactibiane Cnd 10M<sup>®</sup>** (laboratoire Pileje), complément alimentaire dosé à 10 milliards de *Lactobacillus helveticus* LA 401 candisis. La posologie recommandée est de 2 gélules par jour;
- **Physioflor<sup>®</sup>** et **Physioflor LP<sup>®</sup>** (laboratoire Iprad Pharma), dispositif médical sous forme de gélule vaginale contenant  $10^8$  ufc de *Lactobacillus crispatus* IP174178. La posologie recommandée est d'une gélule vaginale de Physioflor<sup>®</sup> le soir au coucher



pendant 7 jours à renouveler si besoin ou d'1 comprimé vaginal de Physioflore LP® le soir au coucher à renouveler 4 jour plus tard;

- **Florgynal**® (laboratoire Iprad Pharma), médicament sous forme de gélule vaginale, composée de *Lactobacillus casei* var *rhamnosus Doderleini*, d'estriol et de progesterone ;
- **Florgynal tampons probiotiques**® (laboratoire Iprad Pharma), dispositif médical composé de 3 souches de lactobacilles. Ce tampon périodique doit être utilisé à raison de 3 tampons par jour pendant 3 jours de suite sur 3 cycles d'affilée ;
- **Médigyn**® (laboratoire Iprad Pharma), dispositif médical sous forme de capsules vaginales composées de 10<sup>8</sup>ufc/gélule de *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus gasei*. La posologie recommandée est 1 capsule vaginale par jour le soir pendant 8 à 10 jours ;
- **Ergyphilus intima**® (laboratoire Nutercia), complément alimentaire composé de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus fermentum* et *Bifidobacterium bifidum*. La posologie recommandée est de 2 à 4 gélules par jour en une prise le matin ;
- **Hydralin flora**® (laboratoire Bayer), dispositif médical sous forme de capsule vaginale composée de 10 milliards de *Lactobacillus plantarum* P17630. La posologie recommandée pour restaurer la flore vaginale est d'1 capsule vaginale pendant 6 jours consécutifs puis en prévention des récurrences d' 1 capsule par semaine pendant 4 semaines ;
- **Gynophilus LP**® (laboratoire Besins Healthcare), dispositif médical sous forme de comprimé vaginal composé de *Lactobacillus casei rhamnosus Döderleini*. La posologie recommandée est d'1 comprimé vaginal le soir au coucher tous les 4 jours.

D'après certains auteurs, une « bactériothérapie » est envisageable pour traiter mais aussi pour prévenir les infections vaginales récurrentes. Les lactobacilles ont montré de nombreux effets sur la flore vaginale, notamment plusieurs « pouvoirs » d'inhibition de l'invasion par des micro-organismes exogènes. Cette thérapie associerait plusieurs lactobacilles viables en forte concentration et à propriétés complémentaires, comme c'est le cas dans le vagin (166).

### **3.2.4. La réduction du taux de cholestérol**

Des essais *in vitro* ont montré que certains probiotiques possèdent une capacité à métaboliser le cholestérol. De plus, il a été observé, il y a plus de vingt ans, que les guerriers Massaï, grands consommateurs de lait fermenté, présentent un taux de cholestérol sérique plus faible que d'autres populations.

Des essais *in vivo* ont démontré que le métabolisme du cholestérol est lié à celui des sels biliaires, produits de dégradation du cholestérol. Le microbiote intestinal, pendant le transit, hydrolyse les sels biliaires donnant des sels biliaires déconjugués, plus difficilement réabsorbés que les sels biliaires conjugués. Cette réduction des acides biliaires est alors compensée par le catabolisme du cholestérol afin de conserver l'équilibre nécessaire à l'organisme. Ce catabolisme augmenté du cholestérol entraîne donc une diminution de la concentration totale de cholestérol.

La capacité à diminuer le taux de cholestérol de *Lactobacillus acidophilus* a été étudiée par Lin et son équipe dans deux essais (167). Le premier regroupait 23 adultes consommant pendant seize semaines 3.10<sup>7</sup>ufc/jour de *Lactobacillus acidophilus* ATCC4962

et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ATCC33409 et 15 adultes ne recevant aucun probiotique ni placebo. Le taux de cholestérol était mesuré avant le début de l'étude, à sept et seize semaines. Dans le groupe contrôle, le taux de cholestérol était maintenu. Dans le groupe consommant les probiotiques, le taux de cholestérol a significativement diminué après sept et seize semaines de consommation. Dans la seconde étude randomisée en double aveugle contre placebo, aucun effet des lactobacilles sur le taux sérique de cholestérol n'a été trouvé.

Un essai randomisé en double aveugle contre placebo réalisé auprès d'adultes volontaires sains consommant soit un yaourt supplémenté en *Lactobacillus acidophilus* et un prébiotique (Fructo-oligosaccharides ou FOS), soit un yaourt ordinaire pendant trois semaines a obtenu des résultats intéressants. La consommation du yaourt supplémenté a permis une diminution du taux de cholestérol total, du cholestérol LDL et du ratio LDL/HDL par rapport au yaourt pasteurisé. Par contre, aucune modification des concentrations de triglycérides et du cholestérol HDL n'a été rapportée (168).

Deux études ont recherché un effet d'*Enterococcus faecium* dans la réduction du taux de cholestérol sérique. La première a rassemblé 29 adultes consommant un lait fermenté enrichi en *Enterococcus faecium* et deux souches de *Streptococcus thermophilus* et 28 consommant un placebo (lait pauvre en matières grasses). Tous ces adultes étaient de sexe masculin, sains, non obèses, dont le taux de cholestérol est normal et âgés de 44 ans. Après six semaines, le taux de cholestérol total a significativement diminué dans le groupe probiotique mais n'a pas changé dans le groupe témoin. De plus, cette réduction était accompagnée d'une diminution du cholestérol LDL de 10%, sans modification du HDL et des triglycérides. Cette étude de courte durée a montré un réel effet d'*Enterococcus faecium* sur la réduction du LDL cholestérol (169).

Les mêmes souches probiotiques ont été utilisées chez 87 hommes et femmes en bonne santé, non obèses, dont le taux de cholestérol était dans les normes et âgés de 50 à 70 ans. Cet essai randomisé en double aveugle contre placebo effectué sur une période de six mois a montré une diminution significative du taux du LDL cholestérol chez les sujets consommant les probiotiques après quatre et douze semaines par rapport au groupe placebo. Mais, à la fin des six mois, la réduction du taux du LDL cholestérol était similaire dans les deux groupes. Les taux de HDL cholestérol et de triglycérides n'étaient pas changés dans les deux groupes.

Le lait fermenté semble donc diminuer plus rapidement le taux sérique de LDL cholestérol mais, en cas de consommation sur une longue durée, la réduction de ce taux est identique quel que soit le produit consommé (170).

Une publication menée en double aveugle sur 80 adultes volontaires atteints d'hypercholestérolémie a montré l'absence d'effet hypocholestérolémiant de *Lactobacillus acidophilus*. Ils ont consommé quotidiennement  $3.10^{10}$  ufc de *Lactobacillus acidophilus* pendant six semaines. Malgré la capacité *in vitro* de *Lactobacillus acidophilus* à réduire le taux de cholestérol, aucun effet *in vivo* n'a été rapporté dans cette étude (171). Ceci confirme d'autres conclusions quant à l'inefficacité de *Lactobacillus acidophilus* à réduire le taux de cholestérol sérique *in vivo*.

Plusieurs publications ont montré des effets contradictoires sur l'effet possible des probiotiques sur la réduction du taux de cholestérol. D'autres investigations portant sur des souches probiotiques bien définies, des sujets sains et des sujets présentant un taux élevé de

cholestérol sont encore nécessaires avant d'affirmer que les probiotiques ont un réel effet sur la réduction du taux sérique de cholestérol.

### **3.2.5. Futures approches des probiotiques**

#### **3.2.5.1. Probiotiques et pathologies dentaires**

Une bouche en bonne santé a une composition neutre chimiquement et un pH neutre. La flore buccale d'un individu en bonne santé est composée d'environ 20% de lactobacilles (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus salivarius*).

Sachant que les probiotiques sont capables d'adhérer et de coloniser diverses surfaces de la cavité buccale, sans entraîner de pathologies, des chercheurs ont émis l'hypothèse d'une action bénéfique des probiotiques sur certaines pathologies buccales : les caries, les pathologies parodontales et les infections à *Candida*.

Les mécanismes d'action des probiotiques sur la santé buccale sont à ce jour non élucidés mais de nombreuses hypothèses ont été répertoriées par Meurman et son équipe (172).

Tout d'abord des actions directes des probiotiques :

- Liaisons directes entre probiotiques et bactéries entrant dans la composition du biofilm buccal ;
- Compétition directe avec les bactéries du biofilm buccal (utilisation des substrats nécessaires au métabolisme de ces bactéries) ;
- Action sur la formation de la plaque dentaire (compétition avec sa composition)
- Production d'acides organiques, de bactériocines et de peroxyde d'oxygène, luttant contre les pathogènes buccaux.

Mais aussi une action indirecte dans la cavité buccale :

- Réduction de la réponse inflammatoire induite par les pathogènes;
- Action sur l'immunité locale ;
- Modulation de la fonction immunitaire spécifique ;
- Expression de protéines cytoprotectives à la surface des cellules de l'hôte.

##### **a. Réduction du risque de caries.**

La carie est une maladie multifactorielle d'origine bactérienne caractérisée par la déminéralisation acide de l'émail dentaire. Il a été relevé que les sujets présentant peu ou pas de caries métabolisent mieux l'arginine, qui, avec l'urée, se dégrade en ammoniac, capable de neutraliser l'acidité buccale.

Les probiotiques, maintenant une flore équilibrée dans la cavité buccale, pourraient diminuer le risque carieux.

Une étude publiée en 2001 a examiné l'effet de *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC sur le risque de caries chez le jeune enfant. Cette étude randomisée en double aveugle contre placebo a duré 7 mois, pendant lesquels 594 enfants âgés de 1 à 6 ans ont pris quotidiennement le probiotique dans du lait ou du lait non supplémenté. Le groupe ayant reçu le probiotique a développé moins de caries que le groupe témoin, et ce plus particulièrement chez les enfants de 3-4 ans. Une diminution significative de *Streptococcus mutans*, responsable de la plaque dentaire, a également été relevée (173).

Il a été montré que le probiotique *Streptococcus* A12 est capable de mieux métaboliser l'arginine et de lutter contre *Streptococcus mutans*, qui métabolise le sucre en acide lactique et donc est un facteur responsable de la carie dentaire. Cette souche aurait donc une double action sur les pathologies buccales : diminution de la plaque dentaire par compétition avec *Streptococcus mutans* et lutte contre les caries (174).

b. Lutte contre les pathologies parodontales

Les probiotiques, grâce à leur action anti-inflammatoire, augmenteraient la capacité de la muqueuse gingivale à «s'auto-guérir ».

c. Effet sur les candidoses et l'halitose

Il est reconnu que les probiotiques adhèrent aux muqueuses de la cavité buccale, limitant ainsi la prolifération bactérienne, de levures, notamment du genre *Candida*. En 2007, une étude réalisée chez 276 personnes âgées, en double aveugle, randomisée et contre placebo pendant 16 semaines a recherché un effet de ferments lactiques sur les candidoses. Ils ont consommé quotidiennement 50g de probiotiques contenus dans du fromage, le groupe témoin n'ayant que le fromage. La mesure des levures salivaires a montré une prévalence diminuée de 30 à 21% dans le groupe probiotique et son augmentation de 28 à 34% dans le groupe témoin. Une réduction du risque hyposalivaire de 56% grâce aux probiotiques, réduisant le risque de carie a également été montrée (175).

De nombreuses études ont montré l'effet bénéfique des probiotiques dans la santé bucco-dentaire. Néanmoins, à l'heure actuelle, en l'absence d'autres études, il n'est pas possible de conclure quant à leur utilisation quotidienne.

Nous pouvons trouver en pharmacie, quelques compléments alimentaires indiqués dans le maintien de la flore buccale :

- **Bioprotus buccal**<sup>®</sup> (laboratoire Carrare), composé de 3 milliards de ferments lactiques (*Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium*) associés à du calcium. La posologie recommandée est d'1 stick par jour à déposer sur la langue ou à diluer dans un peu d'eau, à maintenir en bouche quelques instants, puis à avaler. Le traitement doit être poursuivi pendant 14 jours ;
- **Périobalance**<sup>®</sup> (laboratoire Gum), chewing gum composé de 200 millions de *Lactobacillus reuteri*.

### 3.2.5.2. Probiotiques et maladies mentales

L'intestin contient plus de 200 millions de neurones, ce qui lui permet d'être en relation étroite avec le cerveau, certains parlant même de « deuxième cerveau ».

Des chercheurs ont établi un lien entre le microbiote intestinal et certaines pathologies neurodégénératives. En effet, la composition du microbiote est altérée chez les personnes souffrant de dépression, de stress, d'anxiété, de la maladie de Parkinson et chez les enfants autistes.

Mais il n'est pas prouvé, pour le moment, que la modification de la composition du microbiote intestinal soit à l'origine de ces pathologies, mais pourrait être une conséquence de celles-ci.

### **3.2.5.3.Probiotiques et obésité**

La science a mis en évidence un lien entre microbiote intestinal et perte de poids. Des études ont permis d'établir que la composition du microbiote intestinal de personnes obèses est différente de celui de personnes non obèses. Ce déséquilibre toucherait principalement les bactéroïdes, minoritaires, et les firmicutes (dont les lactobacilles), en excès.

En 2013, Peter Turnbaugh et son équipe ont cherché l'effet d'un pontage gastrique sur le microbiote intestinal sur des souris. Pour cela, ils ont transféré le microbiote de souris ayant subi cette dérivation gastrique dans l'intestin d'autres souris n'en ayant pas subi. Ils ont pu observer une perte de poids rapide et non négligeable dans ce groupe de souris mais aussi un changement de la composition du microbiote intestinal des souris ayant subi le pontage gastrique. Ces résultats, pour Peter Turnbaugh, sont très encourageants pour les grands obèses, même s'ils ne sont à ce jour non reproduits chez l'homme (176).

Il faut néanmoins être vigilant, car de nombreux produits contenant, entre autres, des probiotiques sont disponibles en dehors du circuit officinal avec pour allégation « une perte de poids ». Ils pourraient principalement agir sur les ballonnements et les gaz intestinaux, diminuant ainsi la sensation de gonflement abdominal. Mais en l'absence de preuves chez l'homme, il n'est pas possible de leur donner cette allégation santé.

### **3.2.5.4.Probiotiques et diabète**

La composition du microbiote intestinal de sujets diabétiques a été étudiée. Il a été établi qu'il existe des bactéries prodiabétiques, capables de synthétiser des acides aminés associés à l'insulinorésistance.

Une étude américaine sur des rats diabétiques a recherché le rôle d'un probiotique sur la glycémie. Sous l'action d'une souche de lactobacille naturellement présent dans l'intestin et sécrétant du glucagon, la glycémie de ces rats a diminué de 30%. De plus, le fonctionnement pancréatique de ces rats semblait normal. Il s'est avéré que des cellules épithéliales de l'intestin grêle se sont transformées en cellules pancréatiques, sécrétant de l'insuline et régulant ainsi la glycémie (177).

Une étude a recherché le rôle du microbiote intestinal dans le développement de l'insulino-résistance chez des souris. Les sujets présentant cette insulino-résistance avaient un taux sanguin en acides aminés ramifiés ou branchés (acides aminés essentiels provenant de bactéries ou de l'alimentation) plus élevé. Les bactéries responsables de cette insulino-résistance ont pu être identifiées : *Bacteroides vulgatus* et *Prevotella Copri*. Le microbiote intestinal aurait donc la capacité à diminuer la résistance à l'insuline et donc les risques de développer un diabète de type 2 (178).

Ces résultats, pour le moment non applicables à l'homme, sont témoins de l'intérêt des recherches à réaliser sur l'effet des probiotiques dans la prise en charge du diabète de type 2.

## CONCLUSION

Des effets globaux des probiotiques ont donc été mis en évidence chez l'homme, qu'il s'agisse du confort digestif, avec une diminution de l'intolérance au lactose ou encore des défenses immunitaires, avec une réduction des diarrhées par exemple. Mais de nouveaux outils mis à la disposition des chercheurs permettent d'envisager la découverte d'autres effets bénéfiques des probiotiques pour la santé.

L'usage des probiotiques est recommandé en complément d'une alimentation équilibrée dans l'objectif de prévention, d'atténuation ou de modulation de certains troubles pour lesquels les probiotiques ont montré une efficacité. Les effets obtenus dans les études cliniques ont permis la commercialisation de nombreux produits probiotiques. Mais les effets obtenus avec une souche ou un mélange de souches probiotiques ne peuvent être extrapolés à d'autres souches. Il en est de même pour les quantités consommées quotidiennement recommandées.

De nombreux progrès ont été réalisés dans le domaine scientifique, notamment au niveau génétique. Ils ont permis l'insertion de gènes dans les probiotiques, principalement des bactéries lactiques, qui les véhiculent dans l'intestin. Ces probiotiques génétiquement modifiés pourront alors apporter des activités biologiques nouvelles dans l'intestin. Cette avancée suscite un grand intérêt pour les chercheurs mais en revanche, l'approbation du public et des autorités est incertaine.

Les micro-organismes génétiquement modifiés sont actuellement développés dans des conditions bien précises dans le but de posséder des organismes producteurs de molécules pouvant être utilisées en thérapeutique. C'est le cas des hormones (exemple : insuline, hormones de croissance...), de vaccins (*Saccharomyces cerevisiae* utilisé pour la fabrication d'un vaccin contre l'hépatite B). Ils sont aussi utilisés pour la production d'enzymes et d'arômes en alimentation animale et humaine.

Les probiotiques ont montré une capacité à renforcer la barrière intestinale chez des individus affaiblis. A partir de cette constatation, des scientifiques ont cherché un éventuel effet des probiotiques en cas de brûlures cutanées chez des rats ébouillantés sur 30% de la surface corporelle. La consommation d'un mélange de probiotiques a permis une diminution de l'atrophie intestinale et une réduction de la translocation bactérienne. Ces résultats mettent en évidence une potentielle application des probiotiques : le traitement des grands brûlés.

La production par les probiotiques de facteurs fonctionnels est une des voies d'action supposées de ces micro-organismes. Parmi ces facteurs, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I a été découvert. Deux études réalisées chez l'homme ont montré un effet hypotenseur d'un lait fermenté enrichi en *Lactobacillus helveticus*. De plus, des études ont également démontré que la consommation de lactobacilles a un effet bénéfique sur le cœur, notamment dans la prévention et la thérapeutique de cardiopathies ischémiques (179).

Tout ceci montre qu'il existe encore de nombreuses applications des probiotiques à définir et peut-être même à découvrir.

## GLOSSAIRE

**Anaérobie** : organisme ne pouvant survivre ou se multiplier en présence d'oxygène.

**Anastomose iléo-anale** : abouchement, raccord chirurgical de 2 conduits lors de la résection du côlon et du rectum.

**Axénique** : organisme ne possédant pas de flore.

**Epitope** : partie d'antigène reconnu par un récepteur sur la surface d'un lymphocyte.

**F.A.O.**: Food and Agricultural Organization. Il s'agit d'une organisation des Etats-Unis d'Amérique pour l'alimentation et l'agriculture.

**FOS** (Fructo-oligosaccharides) ou **oligofructosides**: chaînes de fructose terminées (ou pas systématiquement, dans le cas des oligofructosides dérivés de l'inuline) par une unité glucose.

**Gnotoxénique**: un système gnotoxénique est un environnement biologique entièrement fermé au sein duquel tous les organismes sont identifiés. A titre d'exemple, une souris gnotoxénique possède un intestin ne comportant qu'une seule souche de bactérie bien connue.

**Holoxénique** : porteur de la flore commune à son espèce, aussi appelé conventionnel.

**O.M.S.** : Organisation Mondiale de la Santé.

**Prébiotique** : «substance non-digestible qui induit un effet physiologique bénéfique à l'hôte, en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le côlon» (Gibson & Roberfroid, 1995). Les prébiotiques les plus connus sont les fructo-oligosaccharides, les galacto-oligosaccharides, les trans-oligosaccharides, l'oligofructose et l'inuline.

**SCORAD** (SCORing Atopic Dermatitis) : score global de gravité de la dermatite atopique mis au point par des experts internationaux. Il prend en compte l'intensité des symptômes, leur étendue, ainsi que l'importance du prurit et de l'insomnie.

**Saprophyte** : un organisme est saprophyte s'il est capable de coloniser des tissus sains après avoir utilisé une base nutritive constituée par des éléments morts ou des substances nutritives libres.

**Symbiotique** : Un symbiotique est défini comme un produit contenant au moins un probiotique et un prébiotique.

**U.F.C** : unité formant colonies (unité de mesure des bactéries par culture).

**Yaourt** : produit laitier coagulé par fermentation lactique grâce à l'action de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à partir du lait. Les bactéries dans le produit fini doivent être vivantes et présentes en grande quantité : au minimum dix millions de bactéries par gramme, d'après la législation française (décret n°88-1203, 30.12.98 article 2 et suivants).

## BIBLIOGRAPHIE

1. Salminen MK, Tynkkynen S, Rautelin H, et al (2002). *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clin Infect Dis*, 35: 1155-1160.
2. Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H et al (1999). Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis*, 28: 1159-1160.
3. MacKay A, Taylor M, Kibbler C, Hamilton Miller J (1999). *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic microorganism. *Clin Microbiol Infect*, 5: 290-292.
4. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danziger LH (2005). Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 24: 31-40.
5. Moubareck C, Gavini F, Vaugien L, Butel MJ, Doucet-Populaire F (2005). Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *J Antimicrob Chemother*, 55: 38-44.
6. Zhou JS, Pillidge CJ, Gopal PK, Gill HS (2005). Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Int J Food Microbiol*, 98(2):211-7.
7. Chaiken BH. Yogurt and autoimmune liver disease (1994). *Am J Gastroenterol*, 89:1916-1917.
8. Goldin BR, Gorbach SL, Saxelin M, Barakat S, Gualtieri L, Salminen S (1992). Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Dig Dis Sci*, 37: 121-128.
9. Alander M, Satokari R, Korpela R, Saxelin M, Vilpponen-Salmela T, Mattila-Sandholm T, von Wright A (1999). Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. *Appl Environ Microbiol*, 65: 351-354.
10. Saxelin M, Pessi T, Salminen S (1995). Fecal recovery following oral administration of *Lactobacillus* strain GG (ATCC 53103) in gelatine capsules to healthy volunteers. *Int J Food Microbiol*, 25: 199-203.
11. Ballongne J, (1993). Bifidobacteria and probiotic action in Lactic acid bacteria. Ed. Salminen A and Von Wright A, 357-428.
12. Pochart P, Marteau P, Bouhnik Y, Goderel I, Bourlioux P, Rambaud JC (1992). Survival of *Bifidobacteria* ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. *Am J Clin Nutr*, 55: 78-80.
13. Bouhnik Y, Pochart P, Marteau P, Arlet G, Goderel I, Rambaud JC (1992). Fecal recovery in humans of viable *Bifidobacterium sp* ingested in fermented milk. *Gastroenterology*, 102: 875-878.



14. Marteau P, Pochart P, Bouhnik Y, Rambaud JC (1993). The fate and effects of transiting, nonpathogenic microorganisms in the human intestine. *World Rev Nutr Diet*, 74: 1-21.
15. Pochart P, Dewit O, Desjeux JF, Bourlioux P (1989). Viable starter culture, beta-galactosidase activity, and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans. *Am J Clin Nutr*, 49: 828-831.
16. Petterson L, Graf W, Sevelin V (1985). Survival of *Lactobacillus acidophilus* NCDO 1748 in the human gastro-intestinal tract. Nutrition and Intestinal flora, 127-130. Symp. Swed. Nutr. Found. XV. Almqvist and Wiksell, Uppsala.
17. Mercenier A, Muller-Alouf H, Grangette C (2000). Lactic acid bacteria as live vaccines. *Curr Issues Mol Biol*, 2: 17-25.
18. Bermudez-Humaran LG, Langella P, Miyoshi A, Gruss A, Guerra RT, Montes de Oca-Luna R, Le Loir Y (2002). Production of human papillomavirus type 16 E7 protein in *Lactococcus lactis*. *Appl Environ Microbiol*, 68: 917-922.
19. Drouault S, Juste C, Marteau P, Renault P, Corthier G (2002). Oral treatment with *Lactococcus lactis* expressing *Staphylococcus hyicus* lipase enhances lipid digestion in pigs with induced pancreatic insufficiency. *Appl Environ Microbiol*, 68: 3166-3168.
20. Vesa T, Pochart P, Marteau P (2000). Pharmacokinetics of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826, *Lactobacillus fermentum* KLD, and *Lactococcus lactis* MG 1363 in the human gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther*, 14: 823-828.
21. Blehaut H, Massot J, Elmer GW, Levy RH (1989). Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharm Drug Dispo*, 10: 353-64.
22. Elmer GW, Mcfarland LV, Surawicz CM, Dankos L, Greenberg RN (1999). Behavior of *Saccharomyces boulardii* in recurrent healthy human volunteers. *Aliment Pharmacol Ther*, 13: 1663-8.
23. Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S (2002). Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation? *Gut*, 50: 54-59.
24. Site vivre avec le cancer consulté le 03.07.2017.
25. Gibson GR, Roberfroid MB (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-1412.
26. Mitsuoka T. Intestinal flora and aging (1992). *Nut Rev*, 50: 438-446.
27. Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT (2001). Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16S rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. *Gut*, 48: 198-205.
28. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR (1999). Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*, 69: 1035S-1045S.

29. Magalhaes JG, Tattoli I, Girardin SE. (2007). The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Semin Immunol.*, 19: 106-115.
30. Chauviere G, Coconnier MH, Kerneis S, Darfeuille-Michaud A, Joly B, Servin A L (1992). Competitive exclusion of diarrheagenic *Escherichia coli* (ETEC) from human enterocyte-like Caco-2 cells by heat killed *Lactobacillus*. *FEMS Microbial Lett*, 70: 213-217.
31. Boekhorst J, Helmer Q, Kleerebezem M, Siezen RJ (2006). Comparative analysis of proteins with a mucus-binding domain found exclusively in lactic acid bacteria. *Microbiology*, 152: 273-280.
32. Czerucka D, Dahan S, Mograbi B, Rossi B, Rampal P (2000). *Saccharomyces boulardii* preserves the barrier function and modulates the signal transduction pathway induced in enteropathogenic *Escherichia coli*-infected T84 cells. *Infect Immun*, 68 (10): 5998-6004.
33. Aatouri N, Lemonnier D (1997). Production of interferon induced by *Streptococcus thermophilus*: role of CD4+ and CD8+ lymphocytes. *Nutr Biochem*, 8: 25-31.
34. De Simone C, Bianchi-Salvadori B, Negri M, Ferrazzi M, Baldinelli L, Vesely R (1986). The adjuvant effect of yoghurt on production of gamma-interferon by Con A Stimulated human peripheral blood lymphocytes. *Nutr Rep Int*, 33: 419-433.
35. Pelto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S (1998). Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy*, 28: 1474-1479.
36. Solis Pereyra B, Lemonnier D (1993). Induction of human cytokines by bacteria used in dairy foods. *Nutr Res*, 13: 1127-1140.
37. Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK (2000). Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Eur J Clin Nutr*, 54: 263-267.
38. Sheih YH, Chiang BL, Wang LH, Liao CK, Gill HS (2001). Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium *Lactobacillus rhamnosus* HN001. *J Am Coll Nutr*, 20: 149-156.
39. Blum S, Haller D, Pfeifer A, Schiffrin EJ (2002). Probiotics and immune response. *Clin Rev Allergy Immunol*, 22: 287-309.
40. Kaila M, Isolauri E, Arvilommi H, Vesikari T (1995). Viable versus inactivated *Lactobacillus* strain GG in acute Rotavirus diarrhoea. *Arch Dis Child*, 72: 51-53.
41. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T (1995). Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant Rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine*, 13: 310-312.
42. Link-Amster H, Rochat F, Saudan KY, Mignot O, Aeschlimann JM (1994). Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 10: 55-63.

43. Gorbach SL, Banwell JG, Jacobs B (1970). Intestinal microflora in Asiatic cholera. I. "Rice-water" stools. *J infect Dis*, 121:32-37.
44. Fujita K, Kalu M, Yanagase Y et al (1990). Physicochemical characteristics and flora of diarrhoeal and recovery faeces in children with acute gastro-enteritis in Kenya. *Ann Trop Paediatr*, 10: 339-345.
45. Albert MJ, Bhat P, Rajan D, Maiya PP, Pereira SM, Baker SJ (1978). Faecal flora of South Indian infants and young children in health and with acute gastroenteritis. *J Med Microbiol*, 11: 137-143.
46. Gaon D, Garcia H, Winter L, Rodriguez N, Quintas R, Gonzalez SN, Oliver G (2003). Effect of *Lactobacillus* strains and *Saccharomyces boulardii* on persistent diarrhea in children. *Medicina (B Aires)*, 63 (4):293-298.
47. Szajewska H, Mrukowicz JZ (2001). Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 33 (Suppl 2): S17-25.
48. Van Niel CW, Feudtner C, Garrison MM, Christakis DA (2002). *Lactobacillus* therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. *Pediatrics.*, Apr; 109(4):678-684.
49. Huang et al (2002). Efficacy of probiotic uses in acute diarrhea in children a meta-analysis. *Digestive diseases and sciences*, 47: 2625-2634.
50. Allen SJ, Martinez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Nov 10.
51. Cetina-Sauri G, Sierra Basto G (1994). Evaluation thérapeutique de *Saccharomyces boulardii* chez des enfants souffrant de diarrhée aiguë. *Ann Pediatr*, 41:397-400.
52. Höchter W, Chase D, Hagenhoff G (2001). *Saccharomyces boulardii* in treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double blind, placebo-controlled trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 33: S17-25.
53. Szajewska H, Skórka A, Dylag M (2007). Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther.*, Feb 1;25(3):257-264.
54. Szajewska H, Kotowska M, Mrukowicz JZ, Armanska M, Mikolajczyk W (2001). Efficacy of *Lactobacillus GG* in prevention of nosocomial diarrhea in infants. *J Pediatr.*, Mar; 138(3): 361-365.
55. Mastretta E, Longo P, Laccisaglia A, Balbo L, Russo R, Mazzaccara A, Gianino P (2002). Effect of *Lactobacillus GG* and breast-feeding in the prevention of rotavirus nosocomial infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 35: 527-531.

56. Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P (1999). The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres. *Int J Clin Pract.*, Apr-May; 53 (3):179-184.
57. Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, Bouley CF, Reinert P (2000). Multicentric study of the effect of milk fermented by *Lactobacillus casei* on the incidence of diarrhoea. *Int J Clin Pract.*, Nov; 54(9):568-571.
58. Thibault H, Aubert-Jacquin C, Goulet O (2004). Effects of long-term consumption of a fermented infant formula (with *Bifidobacterium breve* C50 and *Streptococcus thermophilus* 065) on acute diarrhea in healthy infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* Aug, 39 (2): 147-152.
59. Weizman Z, Asli G, Alsheikh A. (2005). Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics*, 115: 5-9.
60. Tempe JD, Steidel AL, Blehaut H, Hasselmann M, Lutun P, Maurier F (1983). Prévention par *Saccharomyces boulardii* des diarrhées de l'alimentation entérale à débit continu. *Sem Hop (Paris)*, 59: 1409-1412.
61. Schlotterer M, Bernasconi P, Lbreton F, Wassermann D (1987). Intérêt de *Saccharomyces boulardii* dans la tolérance digestive de la nutrition entérale à débit continu chez le brûlé. *Nutr Clin Metabol*, 1: 31-34.
62. Bleichner G, Bléhaut H, Mentec H, Myse D (1997). *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. A multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Intensive Care Med*, 23: 517-523.
63. Moreau, Gaboriau-Routhiau V (2001). Influence of resident intestinal microflora on the development and functions of the Gut-Associated Lymphoid Tissue. *Microb Ecol Health Dis*, 13: 65-86.
64. Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeir J (2001). Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr.*, Feb; 73 (2 Suppl): 430S-436S.
65. Kollaritsch H, Holst H, Grobara P et al (1993). Prophylaxe der reisediarrhöe mit *Saccharomyces boulardii*. *Forst Chr Med*, 111: 152-156.
66. D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ (2002). Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ*, Jun 8; 324 (7350):1361.
67. Cremonini F, Di Caro S, Nista EC, Bartolozzi F, Capelli G, Gasbarrini G, Gasbarrini A (2002). Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.*, Aug; 16 (8): 1461-1467.
68. Swawicz CM, Elmer GW, Speelman P et al (1989). Prevention of beta lactam associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology*, 96: 981-988.
69. Mc Farland LV, Swawicz CM, Greenberg RN (1995). Prevention of beta lactam associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *Am J Gastroenterol*, 90: 439-448.

70. Adam J, Barret A, Barret-Bellet C (1977). Essais cliniques contrôlés en double insu de l'Ultralevure<sup>®</sup> lyophilisé : étude multicentrique de 388 cas par 25 médecins. *Gaz Med Fr*, 84: 2072-2078.
71. McFarland LV, Surawicz CM, Greenberg RN, Fekety R, Elmer GW, Moyer KA, Melcher SA, Bowen KE, Cox JL, Noorani Z (1994). A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA*, Jun 22-29; 271(24): 1913-1918.
72. Surawicz CM, McFarland LV, Greenberg RN, Rubin M, Fekety R, Mulligan ME, Garcia RJ, Brandmarker S, Bowen K, Borjal D, Elmer GW (2000). The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis.*, Oct; 31(4): 1012-1017.
73. Buisson JP, Corthier G, Delmée M (1993). *Saccharomyces boulardii* for *Clostridium difficile*-associated enterocolopathies in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 16: 419-425.
74. Gorbach SL, Chang TW, Goldin B (1987). Successful treatment of relapsing *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus GG*. *Lancet*, 2: 1519.
75. Bennet RG, Gorbach SL, Goldin BR (1996). Treatment of relapsing *Clostridium difficile* diarrhea with *Lactobacillus GG*. *Nutrition Today*, 31: 35S-38S.
76. Tvede M, Rask-Madsen J (1989). Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhoea in six patients. *Lancet*, May 27; 1(8648): 1156-1160.
77. Gao XW, Mubasher M, Fang CY, et al (2010). Dose-response efficacy of a proprietary probiotic formula of *Lactobacillus acidophilus* CL1285 and *Lactobacillus casei* LBC80R for antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile*-associated diarrhea prophylaxis in adult patients. *Am J Gastroenterol.*, Jul;105(7):1636-1641.
78. Monographie Probiolog<sup>®</sup>.
79. Joshua Z Goldenberg, Stephanie SY Ma, Jane D Saxton, Mark R Martzen, Per O Vandvik, Kristian Thorlund, Gordon H Guyatt, Bradley C Johnston (2013). Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Library*.
80. Savino F, Pelle E, Palumeri E, Oggero R, Miniero R (2007). *Lactobacillus reuteri* (American Type Culture Collection Strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic: a prospective randomized study. *Pediatrics* ; 119(1):e124-30.
81. Savino F, Cordisco L, Tarasco V, Palumeri E, calabrese R, Oggero R et al (2010). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic : a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics*; 126: e526-33.
82. Szajewska H, Gyrczuk E, Horvath A (2013). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 for the management of infantile colic in breastfed infants : a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Pediatr* ; 162 :257-62.

83. [biz.branchez-vous.com/communiqués/detail/communiqués\\_30805.html](http://biz.branchez-vous.com/communiqués/detail/communiqués_30805.html) le 22.12.09.
84. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, Brigidi P, Matteuzzi D, Bazzocchi G, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M (2000). Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*, Aug; 119(2):305-309.
85. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, Poggioli G, Schreiber S, Talbot IC, Nicholls RJ, Gionchetti P, Campieri M, Kamm MA (2004). Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut*, Jan; 53(1): 108-114.
86. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M (2003). Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*, May; 124(5): 1202-1209.
87. Campieri M, Rizzello F, Venturi A et al (2000). Combination of antibiotic and probiotic treatment is efficacious in prophylaxis of post-operative recurrence of Crohn's disease: a randomized controlled study vs mesalazine. *Gastroenterology*, 118: G4179.
88. Tursi A, Brandimarte G, Papa A, et al. (2010). Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol*. 105(10):2218-27.
89. Guslandi M, Mezzi G, Sorghi M, Testoni PA (2000). *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of crohn's disease. *Dig Dis Sci.*, 45: 1462-1464.
90. Copaci I, Micu L, Chira C, Rovinaru I (2000). Maintenance of remission of ulcerative colitis : mesalazine, dietary fiber, *S. boulardii*. *Gut*, 47 (suppl III): A240-P929.
91. G. Dalmaso, F. Cottrez, V. Imbert, P. Lagadec, J. Peyron, P. Rampal, D. Czerucka, H. Groux (2007). *Saccharomyces boulardii* inhibe l'inflammation du côlon par séquestration de lymphocytes T dans les ganglions mésentériques. SNFGE.
92. Kruis W, Schütz E et al (1997). Double blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 11: 853-858.
93. Rembacken B, Snelling A, Hawkey et al (1999). Non pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of olcerative colitis: a randomized trial. *Lancet*, 354: 635-639.
94. Kruis W, Fric P, Stolte M (2001). Maintenance of remission in ulcerative colitis is equally effective with *E. coli* N. 1917 and with standard mesalazine. *Gastroenterol*, 120: A139.
95. Malchow HA (1997). Crohn's disease and *Escherichia coli*. A new approach in the therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease ? *J Clin Gastroenterol*, 25: 653-658.
96. Malin M, Saxelin M (1996). Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with *Lactobacillus GG*. *Ann Nutr Metab.*, 40: 137-145.

97. Prantera C, Scribano ML, Sorghi M (2002). Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut*, 51: 405-409.
98. Lammers KM, Vergopoulos A, Babel N, Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, Caramelli E, Fiorentino M, D'errico A, Volk HD, Campieri M (2005). Probiotic therapy in the prevention of pouchitis onset: decreased Interleukin-1beta, Interleukin-8, and Interferon-gamma Gene Expression. *Inflamm Bowel Dis.*, 11(5): 447-454.
99. Madsen K, Doyle JS, Jewell LD, Tavernini M, Fedorak RN (1999). *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin-10 gene-deficient mice. *Gastroenterol*, 116: 1107-1114.
100. Madsen K, Cornish A, Soper P (2001). Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology*, 121: 580-591.
101. Di Giacinto C, Marinaro M, Sanchez M, Strober W, Boirivant M (2005). Probiotics ameliorate recurrent Th1-mediated murine colitis by inducing IL-10 and IL-10-dependent TGF-beta-bearing regulatory cells. *J Immunol.*, 174(6): 3237-3246.
102. Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, Ishii Y, Sugitani M, Imaoka A, Otsuka M, Hasunuma O, Kurihara R, Iwasaki A, Arakawa Y (2004). Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.*, 20: 1133-1141.
103. Ingrassia I, Leplingard A, Darfeuille-Michaud A (2005). *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibits the ability of adherent-invasive *Escherichia coli* isolated from Crohn's disease patients to adhere to and to invade intestinal epithelial cells. *Appl Environ Microbiol*, 71: 2880-2887.
104. Marteau P, Cuillerier E, Meance S, Gerhardt MF, Myara A, Bouvier M, Bouley C, Tondu F, Bommelaer G, Grimaud JC (2002). *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther.*, Mar; 16(3): 587-593.
105. Kim HJ, Camilleri M, McKinzie S, Lempke MB, Burton DD, Thomforde GM, Zinsmeister AR (2003). A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.*, Apr 1; 17(7):895-904.
106. Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B (2001). A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, Oct; 13(10):1135-1136.
107. Nobaek S, Johansson ML, Molin G, Ahrne S, Jeppsson B (2000). Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.*, May; 95(5):1231-1238.
108. O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K, O'Sullivan GC, Kiely B, Collins JK, Shanahan F, Quigley EM (2005). *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable

bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*, Mar; 128(3): 541-51.

109. Maupas JL, Champemont P, Delforge M (1983). Traitement des colopathies fonctionnelles. Essai en double aveugle de l'Ultra-Levure. *Med Chir Dig*, 12: 77-79.
110. Meance S, Cayuela C, Turchet P, Raimondi A, Lucas C, Antoine JM (2001). A fermented milk with a *Bifidobacterium* probiotic strain DN-173 010 shortened oro-fecal gut transit time in elderly. *Microbial Ecol Health Dis*, 13: 217-222.
111. Meance S, Cayuela C, Turchet P, Raimondi A, Lucas C, Antoine JM (2003). Recent advances in the use of functional foods: effects of the commercial fermented milk with *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 and yogurt strains on gut transit time in the elderly. *Microbial Ecol Health Dis*, 15: 15-22.
112. Bouvier M, Meance S, Bouley C, Berta JL, Grimaud C (2001). Effects of consumption of a milk fermented by the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on colonic transit times in healthy humans. *Bioscience Microflora*, 20: 43-48.
113. Felley C, Michetti P (2003). Probiotics and *H. pylori*. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 17:785-791.
114. Hamilton-Miller J.M (2003). The role of probiotics in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Int. J. Antimicrob. Agents*, Oct, 22(4): 360-366.
115. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A (2000). A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther.*, Dec; 14(12):1625-1629.
116. Felley CP, Cortesy-Theulaz I, Rivero JL, Sipponen P, Kaufmann M, Bauerfeind P, Wiesel PH, Brassart D, Pfeifer A, Blum AL, Michetti P (2001). Favourable effect of an acidified milk (LC-1) on *Helicobacter pylori* gastritis in man. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, Jan; 13(1):25-29.
117. Gotteland M, Cruchet S (2003). Suppressive effect of frequent ingestion of *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in asymptomatic volunteers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51: 1317-1319.
118. Linsalata M, Russo F, Berloco P, Caruso ML, Matteo GD, Cifone MG, Simone CD, Ierardi E, Di Leo A (2004). The influence of *Lactobacillus brevis* on ornithine decarboxylase activity and polyamine profiles in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Helicobacter.*, Apr; 9(2): 165-172.
119. Madden JA, Plummer SF, Tang J, Garaiova I, Plummer NT, Herbison M, Hunter JO, Shimada T, Cheng L, Shirakawa T (2005). Effect of probiotics on preventing disruption of the intestinal microflora following antibiotic therapy: A double-blind, placebo-controlled pilot study. *Int Immunopharmacol*, 5: 1091-1097.



120. Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD (2002). Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16: 1669-1675.
121. Wang KY, Li SN, Liu CS, Perng DS, Su YC, Wu DC, Jan CM, Lai CH, Wang TN, Wang WM (2004). Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. *Am J Clin Nutr.*, Sep; 80(3): 737-741.
122. Myllyluoma E, Veijola L, Ahlroos T, Tynkkynen S, Kankuri E, Vapaatalo H, Rautelin H, Korpela R (2005). Probiotic supplementation improves tolerance to *Helicobacter pylori* eradication therapy, a placebo controlled, double-blind randomized pilot study. *Aliment Pharmacol Ther.*, 15: 1263-1272.
123. Cruchet S, Obregon MC, Salazar G, Diaz E, Gotteland M (2003). Effect of the ingestion of a dietary product containing *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in children. *Nutrition.*, Sept; 19(9): 716-21.
124. Sykora J, Valeckova K, Amlerova J, Siala K, Dedek P, Watkins S, Varvarovska J, Stozicky F, Pazdiora P, Schwarz J (2005). Effects of a specially designed fermented milk product containing probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 and the eradication of *H. pylori* in children: a prospective randomized double-blind study. *J Clin Gastroenterol.*, 39: 692-698.
125. Goldin BR, Gorbach SL (1984). Alterations of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics, and *Lactobacillus*: decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes, and glucuronides. *J Natl Cancer Inst.*, 73: 689-695.
126. Knasmuller S, Zsivkovits M, Fekadu K, Sontag G, Nabinger U, Huber WW, Kundi M, Chakraborty A, Foissy H (2003). Prevention of heterocyclic amine induced DNA-damage in colon and liver rats by different lactobacilli strains. *Carcinogenesis*, 24 (12): 1913-1918.
127. Biasco G, Paganelli GM, Brandi G and al (1991). Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on rectal cell kinetics and fecal pH. *Ital J Gastroenterol.*, 23: 142.
128. Lidbeck A, Nord CE (1991). *Lactobacilli* in relation to human ecology and antimicrobial therapy. *Int. J. Tissue React.*, 13: 115-122.
129. Marteau P, Flourie B, Pochart P, Chastang C, Desjeux J-F, Rambaud J-C (1990). Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans. *Brit. J. Nutrition.*, 64: 71-79.
130. Corthier G (2003). Probiotiques : adaptation à l'environnement digestif. *Cah. Nutr. Diét.*, 38: 355-362.
131. Coombs R, Gell P. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Gell PGH, Coombs RRA and Lachman PJ (Eds), *Clinical aspects of immunology*. Philadelphia: JB Lippincott, 761p.
132. Björksen B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M (2001). Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J Allergy Clin Immunol.*, 108: 516-520.

133. Rudloff S, Niehnes T, Rutsch M, Kunz C, Schroten H (1999). Inflammation markers and cytokines in breast-milk of atopic and non atopic women. *Allergy*, 54: 206-211.
134. Majamaa H, Isolauri E (1997). Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 99: 179-185.
135. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S (2000). Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy*, 30(11): 1604-1610.
136. Kirjavainen PV, Salminen S, Isolauri E (2003). Probiotic bacteria in the management of atopic disease: underscoring the importance of viability. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 36: 223-227.
137. Kirjavainen PV, Arvola T, Salminen S, Isolauri E (2002). Aberrant composition of gut microbiota of allergic infants: a target of bifidobacterial therapy at weaning? *Gut*, 51: 51-55.
138. 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.*, Feb; 111(2): 389-395.
139. Viljanen M, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M (2005). Probiotics in the treatment of atopic eczema/dermatitis syndrome in infants: a double-blind placebo-controlled trial. *Allergy*, 60(4): 494-500.
140. Fabio Meneghin, Valentina Fabiano, Chiara Mameli and Gian Vincenzo Zuccotti. Probiotics and Atopic Dermatitis in Children (2012). *Pharmaceuticals*, 5(7), 727-744.
141. 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*, Apr 7; 357(9262):1076-1079.
142. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E (2003). Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, May 31; 361(9372):1869-1871.
143. 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.*, Jan; 109(1):119-121.
144. Isolauri E, Majamaa IF, Arvola T, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H (1993). *Lactobacillus rhamnosus GG* reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterology*, 105:1643-1650.
145. Prioult G, Fliss I, Pecquet S (2003). Effect of probiotic bacteria on induction and maintenance of oral tolerance to beta-lactoglobulin in gnotobiotic mice. *Clin Diagn Lab Immunol*, 10: 787-792.
146. Pohjavuori E, Viljanen M, Korpela R, Kuitunen M, Tiittanen M, Vaarala O, Savilahti E (2004). *Lactobacillus GG* effect in increasing IFN-gamma production in infants with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol.*, Jul; 114(1): 131-136.

147. Pessi T, Sutas Y, Hurme M, Isolauri E (2000). Interleukin-10 generation in atopic children following oral *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Clin Exp Allergy*, Dec; 30(12): 1804-1808.
148. Nermes M, Kantele JM, Atosuo TJ, Salminen S, Isolauri E (2011). Interaction of orally administered *Lactobacillus rhamnosus* GG with skin and gut microbiota and humoral immunity in infants with atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*, Mar; 41(3):370-377.
149. Helin T, Haatela S, Haathtela T (2002). No effect of oral treatment with an intestinal bacterial strain, *Lactobacillus rhamnosus* (ATC 53103), on birch-pollen allergy: a placebo-controlled double-blind study. *Allergy*, 57: 243-246.
150. Wheeler JG, Bogle ML, Shema SJ, Shirrell MA, Stine KC, Pittler AJ, Burks AW, Helm RM (1997). Impact of dietary yogurt on immune function. *Am J Med Sci*, 313: 120-123.
151. Wang MF, Lin HC, Wang YY, Hsu CH (2004). Treatment of perennial allergic rhinitis with lactic acid bacteria. *Pediatric Allergy and Immunology*, 15: 152-158.
152. Zajac AE, Adams AS, Turner JH (2015). A systematic review and meta-analysis of probiotics for the treatment of allergic rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol* ; 5(6) :524-32.
153. Trapp CL, Chang CC, Halpern GM, Keen CL, Gershwin ME (1993). The influence of chronic yoghurt consumption on populations of young and elderly adults. *Int J Immunother*, 9: 53-64.
154. Ishida Y, Nakamura F, Kanzato H, Sawada D, Hirata H, Nishimura A, Kajimoto O, Fujiwara S (2005). Clinicaleffects of *Lactobacillus acidophilus* strain L-92 on perennialallergic rhinitis: a double-blind, placebo-controlledstudy. *J Dairy Sci*, 88:527-33.
155. Mastrandrea F, Coradduzza G, Serio G, Minardi A, Manelli M, Ardito S, Muratore L (2004). Probiotics reduce the CD34 + hemopoietic precursor cell increased traffic in allergic subjects. *Allergy and Immunology (Paris)*, 36: 118-122.
156. Kricek F, Ruf C, Rudolf MP, Effenberger F, Mayer P, Stadler BM (1999). IgE-related peptide mimotopes. Basicstructures for anti-allergy vaccine development. *Int ArchAllergy Immunol*; 118 : 222-223.
157. Gluck U, Gebbers J.O (2003). Ingested probiotics reduce nasal colonization with pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and beta-hemolytic streptococci). *American Journal of Clinical Nutrition*, 77: 517-20.
158. De Vrese M, Winkler P, Rautenberg P, Harder T, Noah C, Laue C, Ott S, Hampe J, Schreiber S, Heller K, Schrezenmeir J (2005). Effect of *Lactobacillus gasseri* PA 16/8, *Bifidobacterium longum* SP 07/3, *B. bifidum* MF 20/5 on common cold episodes: a double blind, randomized, controlled trial. *Clin Nutr.*, Aug; 24(4): 479-480.
159. Hatakka K et al (2001). Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ*, 322: 1327.

160. Turchet P, Laurenzano M, Auboiron S, Antoine JM (2007). Effect of fermented milk containing the probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 on winter infections in free-living elderly subjects: a randomised, controlled pilot study. *J Nutr Health Aging.*, 7(2): 75-77.
161. Hao Q, Dong BR, Wu T (2015). Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *The Cochrane Library.*
162. Jeavons HS (2003). Prevention and treatment of vulvovaginal candidiasis using exogenous *Lactobacillus*. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.*, May-Jun; 32(3) :287-296.
163. Pirotta M, Gunn J, Chondros P, Grover S, O'Malley P, Hurley S, Garland S (2004). Effect of *Lactobacillus* in preventing post-antibiotic vulvovaginal candidiasis: a randomised controlled trial. *BMJ*, Sep 4; 329(7465):548. Epub 2004 Aug 27.
164. Reid G, Bruce AW, Fraser N, Heineman C, Owen J, Henning B (2001). Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, Feb; 30 (1): 49-52.
165. Reid G, Charbonneau D, Erb J (2003). Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus fermentum* RC-14 significantly alters vaginal flora : randomized, placebo-controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, 35(2): 131-134.
166. Lepargneur JP, Rousseau V (2002). Rôle protecteur de la flore de Doderlein. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, Septembre, 31: 485-494.
167. Lin SY, Ayres JW, Winkler W, Sandine WE (1989). *Lactobacillus* effects on cholesterol: in vitro and in vivo results. *J Dairy Res.*, 72: 2885-2899.
168. Schaafsma G, Meuling WJA, Van Dokkum W, Bouley C (1998). Effects of a milk product, fermented by *Lactobacillus acidophilus* and with fructo-oligosaccharides added, on blood lipids in male volunteers. *Eur J Clin Nutr.*, 52: 436-440.
169. Agerbæk M, Gerdes LU, Richelsen B (1995). Hypocholesterolaemic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. *Eur J Clin Nutr.*, 49: 346-352.
170. Richelsen B, Kristensen K, Pedersen SB (1996). Long-term (6 months) effect of a new fermented milk product on the level of plasma lipoproteins -a placebo-controlled and double blind study. *Eur J Clin Nutr.*, 50: 811-815.
171. Lewis SJ, Burmeister S (2005). A double-blind placebo-controlled study of the effects of *Lactobacillus acidophilus* on plasma lipids. *Eur J Clin Nutr.*, 59(6): 776-780.
172. Meurman JH (2005). Probiotics : do they have a role in oral medicine and dentistry ? *European Journal of Oral Sciences*, Jun; 113(3) : 188-96.
173. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH (2001). Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res.* Nov-Dec; 35(6):412-20.
174. Xuelian Huang, Sara R. Palmer, Sang-Joon Ahn, Vincent P. Richards, Matthew L. Williams, Marcelle M. Nascimento and Robert A. Burn (2016). A highly

arginolytic *Streptococcus* Species that potently antagonizes *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol.*, Apr 1; 82(7): 2187–2201.

- 175.K.Hattakka, J.Aholla (2007). Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly : a randomized controlled trial. *J Dent Re*, 86(2):125 -130.
- 176.Alice P. Liou and al (2013). Conserved Shifts in the Gut Microbiota Due to Gastric Bypass Reduce Host Weight and Adiposity. *Science Translational Medicine*, 27; 5(178):178ra41.
- 177.John March et al. Engineered commensal bacteria reprogram intestinal cells into glucose-responsive insulin-secreting cells for the treatment of diabetes. *Diabetes*, May; 64(5):1794-803.
- 178.Helle Krogh Pedersen, Valborg Gudmundsdottir and al (2016). Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*, 535, 376–381.
- 179.Oxman T, Shapira M, Klein R, Avazov N, Rabinowitz B (2001): Oral administration of *Lactobacillus* induces cardioprotection. *J Altern Complement Med*, 7(4): 345-354.

MALBEZIN Charlotte

# Place des probiotiques dans la prise en charge de pathologies humaines

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE

2017

---

Mots clés : Probiotique, microbiote intestinal, diarrhée, allergies, immunité , traitement.

---

## RÉSUMÉ

Depuis quelques années, l'impact sur la santé humaine de la consommation de probiotiques suscite un grand intérêt. Bien qu'ils ne colonisent pas la muqueuse intestinale, ces micro-organismes vivants exercent des bienfaits sur la santé, aussi bien sur les pathologies digestives (diarrhées, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, syndrome du côlon irritable, intolérance au lactose, cancer du côlon) que sur les pathologies extra-digestives (allergies, affections du système respiratoire supérieur, infections vaginales). Les nombreuses études cliniques ont montré que ces effets bénéfiques sur la santé sont souche-dépendants et dose-dépendants.

## ABSTRACT

In recent years, the impact on human health of the consumption of probiotics has attracted great interest. Although they do not colonize the intestinal mucosa, these living microorganisms exert health benefits on both digestive pathologies (diarrhea, chronic inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, lactose intolerance, cancer of the colon) and on extra-digestive pathologies (allergies, upper respiratory tract infections, vaginal infections). The numerous clinical studies have shown that these beneficial effects on health are strain-dependent and dose-dependent.

JURY : Président : Docteur Catherine DEMAILLY, Docteur en Pharmacie

Membres : Docteur Delphine CAUVEZ, Docteur en Pharmacie

Docteur Juliette LECLERC, Docteur en Pharmacie