REVIEW / SYNTHÈSE

Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine

Sophie Coudeyras et Christiane Forestier

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Abstract: All accessible mucous membranes of the human body are colonized by an abundant and diversified microbial flora called microbiota. Recent studies have shown that these microorganisms, long regarded as purely commensal, have essential beneficial effects on human health. Thus, numerous human ailments are linked to dysbiosis; that is, imbalances in the microflora composition. The administration of probiotic microorganisms could, in some situations, provide substantial relief from such disorders. These live microorganisms, which, according to the definition, confer a health benefit to the host when administered in adequate amounts, are often derived from human flora and belong mostly to lactic acid bacteria, in particular to the genus *Lactobacillus*. The constant improvement of knowledge of the role of human microbiota and the growing popularity of probiotics are now opening the door to new prophylactic and therapeutic strategies in human health.

Key words: microbiota, microflora, probiotics, human health.

Résumé : L'ensemble des muqueuses accessibles de l'organisme humain est colonisé par une flore microbienne abondante et diversifiée, appelée microbiote. Des études récentes ont montré que ces micro-organismes, longtemps considérés comme purement commensaux, exercent des effets bénéfiques essentiels sur la santé humaine. Ainsi, de très nombreuses affections humaines seraient liées à des dysbioses, c'est-à-dire des déséquilibres de la composition de la flore microbienne. L'administration de micro-organismes probiotiques pourrait, dans certaines situations, apporter un soulagement conséquent de tels troubles. Ces micro-organismes vivants qui, selon la définition, administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice à la santé de l'hôte, sont souvent issus des flores humaines et appartiennent pour la plupart aux bactéries lactiques, en particulier au genre *Lactobacillus*. L'amélioration permanente des connaissances sur le rôle du microbiote humain, ainsi que la popularité croissante des probiotiques, ouvrent aujourd'hui la voie à de nouvelles stratégies prophylactiques et thérapeutiques en santé humaine.

Mots-clés : microbiote, flore microbienne, probiotiques, santé humaine.

La notion de micro-organismes bénéfiques est née de la découverte et de l'étude de la microflore indigène de l'humain, en particulier du microbiote intestinal, et de son rôle majeur dans la physiologie et la santé de l'hôte. Le concept de probiotique, bien que ce terme n'ait été introduit qu'une cinquantaine d'années plus tard, remonte ainsi au début du 20e siècle. Les probiotiques sont définis comme des micro-organismes vivants qui, administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice à la santé de l'hôte (FAO–WHO 2001). Ces micro-organismes appartiennent le plus souvent aux bactéries lactiques, notamment au genre *Lactobacillus*, ou aux bifidobactéries. Les effets exercés par chaque probiotique lui sont spécifiques et ne peuvent en aucun cas être extrapolés aux souches de la même (sous-)espèce ou à d'autres probiotiques. La plupart des probiotiques sont issus de la flore humaine.

La flore microbienne humaine

Bien avant d'avoir conscience de l'existence des micro-organismes, l'humanité entretenait déjà une relation intime avec ceux-ci puisque, comme toutes les autres niches écologiques de la planète, les zones accessibles du corps humain sont colonisées par une très nombreuse flore microbienne, principalement bactérienne, appelée microbiote. On estime que la flore bactérienne humaine est constituée de 400 à 1000 espèces différentes, et que la totalité de ce microbiote représente environ 10^{14} cellules pour un individu qui, lui, ne comporte que 10^{13} cellules. La flore colonise le tractus gastro-intestinal, la cavité orale, le nez, la gorge, les yeux, la peau et le tractus urogénital. La majorité du microbiote est localisée dans l'intestin, plus particulièrement au niveau du côlon où l'on dénombre jusqu'à 10^{12} micro-organismes·g^{-1} de contenu. Les notions de flore microbienne, et surtout de

Reçu le 21 janvier 2010. Révision reçue le 5 mai 2010. Accepté le 31 mai 2010. Publié sur le site Web des Presses scientifiques du CNRC, au rcm.cnrc.ca, le 17 juillet 2010.

S. Coudeyras et C. Forestier[1]. Université Clermont 1, UFR Pharmacie, Laboratoire de Bactériologie, Clermont Ferrand, France.

1. Auteur correspondant (courriel : christiane.forestier@u-clermont1.fr).

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

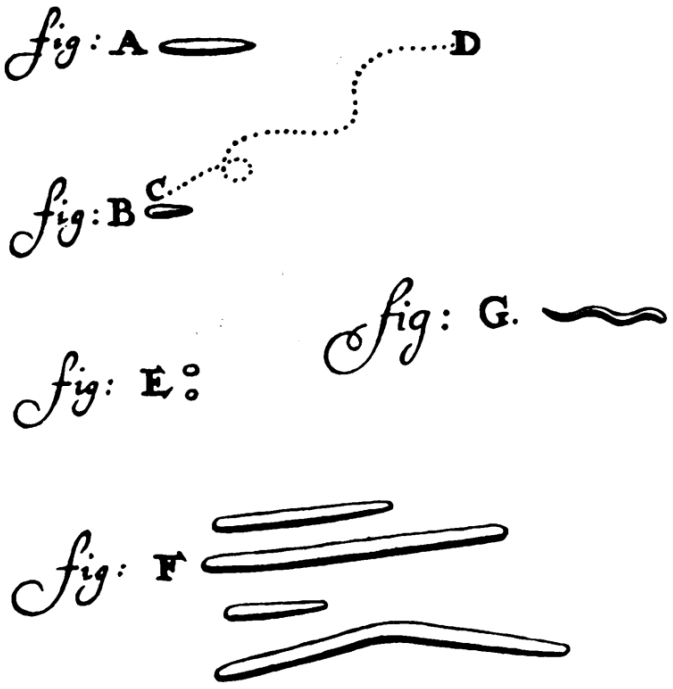
flore intestinale, ainsi que leurs bénéfices pour l'humanité, commencent à être familiers à tout un chacun, même si les microbes ont longtemps été synonymes de pathogènes dans l'inconscient collectif. Cependant, ces notions sont relativement anciennes pour la communauté scientifique, et l'étude du microbiote humain et animal a toujours suivi de très près l'histoire de la bactériologie, même si cette discipline a principalement évolué dans le but d'étudier les agents infectieux.

Les premières descriptions de bactéries de la flore humaine remontent quasiment à l'origine de la bactériologie elle-même. Dès le 17e siècle, Antonie van Leeuwenhoek développe une technique de fabrication des lentilles lui permettant de construire des microscopes suffisamment puissants pour observer de minuscules organismes vivants qu'il nomme « animalcules ». Ce terme regroupe des levures, des moisissures, des protozoaires et des bactéries. Il décrit ainsi des bactéries pour la première fois en 1676, dans une lettre adressée à Henry Oldenburg, Secrétaire de la *Royal Society of London for the Improvement of Natural Knowledge*, 2 ans après sa première description de protozoaires. Les premières observations du microbiote humain suivront peu après : Leeuwenhoek décrit la présence de bactéries et de protozoaires dans les fèces en 1681, puis de bactéries dans la bouche en 1683 (fig. 1), et ce indépendamment de toute pathologie (Dobell 1932; Porter 1976).

Si l'on considère souvent Leeuwenhoek comme le fondateur de la bactériologie, celle-ci dut attendre près de 2 siècles pour connaître un réel essor, faute de techniques permettant de cultiver et d'isoler les bactéries. Une avancée considérable est apportée par Louis Pasteur, notamment via ses travaux menés sur la fermentation de 1855 à 1876 (Pasteur Vallery-Radot 1939). Il décrit notamment les premières techniques de culture des micro-organismes, découvre l'aptitude de certains à vivre en anaérobiose et réfute la théorie de la génération spontanée. Par la suite, dans les années 1880, plusieurs avancées majeures sont apportées par l'équipe de Robert Koch, qui développe des méthodes permettant l'isolement et la culture pure des micro-organismes grâce à l'introduction des milieux de culture solides et des boîtes de Petri et, en parallèle, par Hans Christian Gram qui décrit une méthode de coloration toujours utilisée aujourd'hui.

Grâce à l'ensemble de ces techniques, Theodor Escherich est, en 1885, le premier à isoler des bactéries commensales de selles d'enfants, dont « *Bacterium coli commune* » et « *Bacterium lactis aerogenes* », connues aujourd'hui sous les noms d'*Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes* (Shulman et al. 2007). Le travail d'Escherich sur la relation entre flore intestinale et physiopathologie digestive est généralement considéré comme marquant la naissance de l'étude du microbiote humain, bien que des bactéries de la flore cutanée du genre *Staphylococcus* (« *Staphylococcus pyogenes aureus* » et « *Staphylococcus epidermidis albus* ») aient été isolées 1 an auparavant par Friedrich Julius Rosenbach. L'importance de la découverte d'*Escherichia coli* se traduit dans les dénominations qui lui sont données à l'époque : « le bacille du côlon », aussi appelé « le coli-bacille » ou « le bacille commun de l'intestin ». Il est décrit comme un hôte normal, constant et obligatoire du tractus digestif humain, représentant environ 80 % de sa flore. Escherich décrit également la stérilité du méconium et démontre que la colonisation intestinale dépend de l'environnement et l'alimentation durant les heures suivant la naissance. Le microbiote intestinal est largement étudié par la communauté scientifique dans les années qui suivent, avec par exemple la description du genre *Bacteroides* (« *Bacillus fragilis* » et « *Bacillus furcosus* ») par Veillon et Zuber en 1898, ou de *Bifidobacterium bifidum* (« *Bacillus bifidus* ») et *Lactobacillus acidophilus* (« *Bacillus acidophilus* ») isolés, respectivement par Henry Tissier et Ernst Moro, de la flore fécale de nourrissons en 1900. L'idée que la flore intestinale est bénéfique, voire indispensable, à son hôte, notamment en participant à la digestion et à la protection contre les pathogènes, est controversée mais déjà bien présente. De même, la notion de variations de sa composition en fonction de l'âge et du régime alimentaire est bien implantée, ce qui conduit naturellement à penser qu'il est possible d'améliorer l'état de santé en influant sur l'alimentation. En revanche, à cette époque, les germes anaérobies stricts sont quasi systématiquement considérés comme pathogènes ou « putréfiants », et la culture en anaérobiose est délicate. La détermination du rôle physiologique du microbiote intestinal se cantonne donc principalement à l'étude des bactéries aérobies et anaérobies facultatives durant les décennies suivantes.

Fig. 1. Dessins des bactéries de la bouche humaine observées par Antonie van Leeuwenhoek, issus de sa lettre n° 39, datée du 17 Septembre 1683. (A) *Bacillus* motile, (B) *Selenomonas sputigena*, (C–D) trajet de son mouvement, (E) microcoques, (F) *Leptotrichia buccalis*, (G) spirochète.



Il faut attendre la deuxième moitié du 20e siècle pour que la microbiologie intestinale connaisse une nouvelle avancée majeure, grâce au développement des techniques de culture en anaérobiose. Auparavant, les méthodes existantes étaient peu adaptées aux germes les plus sensibles et requéraient des équipements encombrants, voire dangereux (hydrogène).

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

L'introduction par John Brewer de jarres combinées au système GasPak permet de faciliter la culture en anaérobiose, mais ne convient cependant pas aux bactéries très sensibles à l'oxygène (Brewer et Allgeier 1966). La culture de ces anaérobies stricts est seulement initiée en 1950 par Robert Hungate, qui met au point une méthode de culture en tubes imperméables aux gaz, à l'abri de tout oxygène. De nombreuses améliorations sont apportées à cette technique au cours des années suivantes, notamment par Walter Edward Moore (Moore 1966), et permettent à celui-ci d'isoler, de cultiver, de caractériser et de dénombrer des anaérobies stricts issus de la flore fécale (Moore et Holdeman 1974). La manipulation de ces bactéries est encore facilitée lorsque Rolf Freter développe un système de chambre anaérobie (Arank et al. 1969). Enfin, les années 1970 voient l'étude du microbiote connaître un essor important grâce à la culture et à la caractérisation d'anaérobies, que l'on sait désormais largement majoritaires au sein de la flore intestinale.

Aujourd'hui, après plus d'un siècle de recherche, le microbiote humain reste encore mal connu. D'une part, le caractère non cultivable de la plupart de ses constituants restreint considérablement son analyse, même si l'utilisation de techniques de biologie moléculaire au cours des dernières années a permis de pallier en partie ce problème. De plus, en ce qui concerne la flore gastro-intestinale, elle est beaucoup plus complexe et moins facilement accessible que le reste du microbiote, et afin d'éviter l'utilisation de méthodes invasives, la plupart des études réalisées ont porté sur la flore fécale des sujets, peu représentative sauf peut-être des parties les plus distales du tractus digestif.

Composition du microbiote humain chez l'adulte

Voici quelques années, l'essentiel de nos connaissances concernant la composition qualitative et quantitative du microbiote reposaient essentiellement sur la culture de ses constituants. Cependant, grâce notamment à l'observation microscopique de la flore, il était avéré depuis longtemps que les micro-organismes cultivables étaient minoritaires au sein de celle-ci. L'essor que connaissent les techniques de biologie moléculaire depuis une vingtaine d'années a permis de révolutionner notre compréhension du microbiote. Ce sont en particulier les études basées sur l'analyse des séquences des gènes codant l'ARN ribosomique (ARNr) 16S qui ont apporté de nombreuses données concernant la partie non cultivable de la flore humaine. Malgré cela, notre compréhension de la flore reste fragmentaire : d'une part, la culture reste indispensable à la caractérisation exhaustive des micro-organismes et, d'autre part, toutes les méthodes actuellement disponibles ne fournissent que le reflet des groupes dominants du microbiote.

Flore extradigestive

On estime que la peau est colonisée par environ 10^{12} bactéries. La flore cutanée varie qualitativement et quantitativement en fonction du site de colonisation. En effet, la peau est constituée d'une grande variété de micro-écosystèmes différant par leur pH, leur humidité, leur température, la présence de glandes (sébacées et sudoripares) et celle de follicules pileux. Suivant les zones considérées, la densité bactérienne atteindrait jusqu'à 10^7 bactéries·cm^{-2}. On considère généralement que les principaux constituants du microbiote cutané sont les genres bactériens *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, et *Streptococcus*, *Acinetobacter* et *Pseudomonas*. Certaines levures sont également présentes dans la flore normale, en particulier celles du genre *Malassezia*, mais aussi des *Candida*. Les espèces *Propionibacterium acnes* et *Staphylococcus epidermidis* sont en général largement majoritaires. Les bactéries à gram négatif sont surtout retrouvées dans les zones humides telles que les plis axillaires, plus propices à leur croissance. Des études basées sur le gène codant l'ARNr 16S ont révélé que la diversité et la complexité du microbiote cutané étaient beaucoup plus grandes qu'on ne le supposait, avec en plus de grandes variations inter- et intra-individuelles (Fierer et al. 2008; Grice et al. 2009). L'étude la plus récente et la plus complète inclut 20 sites de prélèvement sur 10 individus sains et confirme la dominance des actinobactéries des genres *Propionibacterium* et *Corynebacterium* et des *Firmicutes* du genre *Staphylococcus* sur la flore cutanée (Grice et al. 2009). Les propionibactéries dominent très largement la flore des régions sébacées. Les régions humides sont surtout colonisées par des corynébactéries et des staphylocoques, mais aussi par une quantité importante de *Betaprotéobactéries*. Les régions sèches de la peau présentent un microbiote beaucoup plus hétérogène, mais avec elles aussi une prévalence importante de *Betaprotéobactéries* non décrites auparavant.

La flore colonisant la surface de l'œil est peu abondante, de l'ordre de 10^2 à 10^3 bactéries, la conjonctive étant constamment nettoyée et irriguée par les battements de paupières et les sécrétions des glandes lacrymales, qui contiennent des substances antimicrobiennes. Le microbiote oculaire est largement dominé par des staphylocoques coagulase négatifs, en particulier de l'espèce *Staphylococcus epidermidis*. Les bactéries corynéformes des genres *Propionibacterium* et *Corynebacterium* sont aussi souvent cultivées à partir de conjonctives normales. Quelques *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Moraxella* et *Neisseria* sont également présents occasionnellement. Le séquençage des gènes codant l'ARNr 16S de la flore oculaire normale a confirmé la prédominance des staphylocoques coagulase négatifs (Graham et al. 2007). Cette méthode a aussi mis en évidence la présence de souches de *Rhodococcus*, de *Klebsiella*, d'*Erwinia* et de bactéries encore non cultivables à l'heure actuelle.

Les narines et surtout le pharynx sont des sites abondamment colonisés, avec environ 10^8 bactéries·mL^{-1} de sécrétion pharyngée. Le larynx et le tractus respiratoire inférieur (trachée, bronches et alvéoles pulmonaires) sont au contraire quasiment indemnes de bactéries, grâce à la présence d'une épaisse couche protectrice de mucus et aux cils vibratiles de l'épithélium qui chassent les micro-organismes vers le pharynx. Les mêmes conditions défavorables à la colonisation bactérienne sont retrouvées au niveau des sinus et des fosses nasales, où peu de bactéries se développent dans les conditions physiologiques normales. Les espèces *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis* font exception à la règle : elles sécrètent des substances ciliostatiques et se développent dans le mucus. Ces espèces font partie de la flore normale des fosses nasales. La plupart des bactéries présentes au niveau des narines sont semblables à celles de la flore cutanée, avec principalement des staphylocoques, des corynébactéries et des propionibactéries,

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

des streptocoques α-hémolytiques (streptocoques *viridans*) et, dans une moindre mesure, des micrococques et des *Neisseria*. Ce sont les staphylocoques coagulase négatifs qui sont dominants, en particulier l'espèce *Staphylococcus epidermidis*. Des souches de *Staphylococcus aureus* sont aussi retrouvées en portage sain chez plus de 20 % des individus, et les narines sont d'ailleurs considérées comme un réservoir majeur de cette espèce. Les espèces *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis* peuvent aussi faire partie du microbiote nasal normal. Le pharynx, quant à lui, est abondamment colonisé par des streptocoques *viridans* et des *Neisseria* non pathogènes. On retrouve aussi dans une moindre proportion des corynébactéries, des *Moraxella catarrhalis* et des *Staphylococcus epidermidis*. *Candida albicans* est également décrit comme pouvant faire partie de la flore de la gorge. Le pharynx a la propriété d'héberger de façon asymptomatique des pathogènes potentiellement très dangereux, parfois en grand nombre. La flore pharyngée renferme ainsi fréquemment des souches de *Streptococcus pneumoniae*, d'*Haemophilus influenzae*, de *Neisseria meningitidis*, de *Streptococcus pyogenes* ou d'autres streptocoques β-hémolytiques.

La cavité buccale renferme environ 10^{10} bactéries réparties dans différentes niches écologiques (gencives, langue, dents, amygdales, etc.). La plupart de ces bactéries sont des *Firmicutes*, et surtout des streptocoques du groupe *viridans* tels que *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans* ou *Streptococcus sanguinis* qui sont largement majoritaires quelle que soit la niche étudiée. D'autres *Firmicutes*, notamment des genres *Gemella*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* ou *Veillonella* sont aussi présents, ainsi que des Actinobactéries des genres *Actinomyces*, *Atopobium*, *Rothia*, *Corynebacterium*, des Proteobactéries (principalement des *Neisseria* et *Moraxella*), des *Bacteroidetes* des genres *Porphyromonas*, *Prevotella* et *Capnocytophaga*, et des *Fusobactéries* des genres *Fusobacterium* et *Leptotrichia* (Aas et al. 2005). Des levures du genre *Candida* et des amibes de l'espèce *Entamoeba gingivalis* sont fréquemment retrouvées au sein de la flore buccale normale. Des spirochètes, en particulier du genre *Treponema*, et des Archaea appartenant pour la plupart à l'espèce *Methanobrevibacter smithii* peuvent aussi être présents.

Le tractus urogénital est normalement stérile chez l'homme, à l'exception de la partie terminale de l'urètre. Chez la femme, une flore résidente colonise aussi le vagin. La partie distale de l'urètre antérieur est colonisée chez les 2 sexes par une majorité de bactéries aérobies à gram positif. Les groupes dominants sont les staphylocoques coagulase négatifs, les streptocoques α-hémolytiques du groupe *viridans*, les corynébactéries et les entérocoques (Montagnini Spaine et al. 2000). Parmi les quelques anaérobies de cette flore, les plus fréquemment présents appartiennent au genre *Bacteroides*. Quelques entérobactéries (*Escherichia*, *Proteus*) sont parfois également retrouvées. Quant à la partie postérieure de l'urètre, elle serait stérile grâce au flux d'urine qui éliminerait régulièrement les bactéries et à la sécrétion de substances antimicrobiennes (mucus, immunoglobulines, défensines). La question de l'existence d'une flore prostatique a été soulevée par la détection de micro-organismes, notamment chez des patients atteints de prostatite, mais aucun microbiote n'a été identifié par biologie moléculaire dans cet organe chez le sujet sain (Hochreiter et al. 2000).

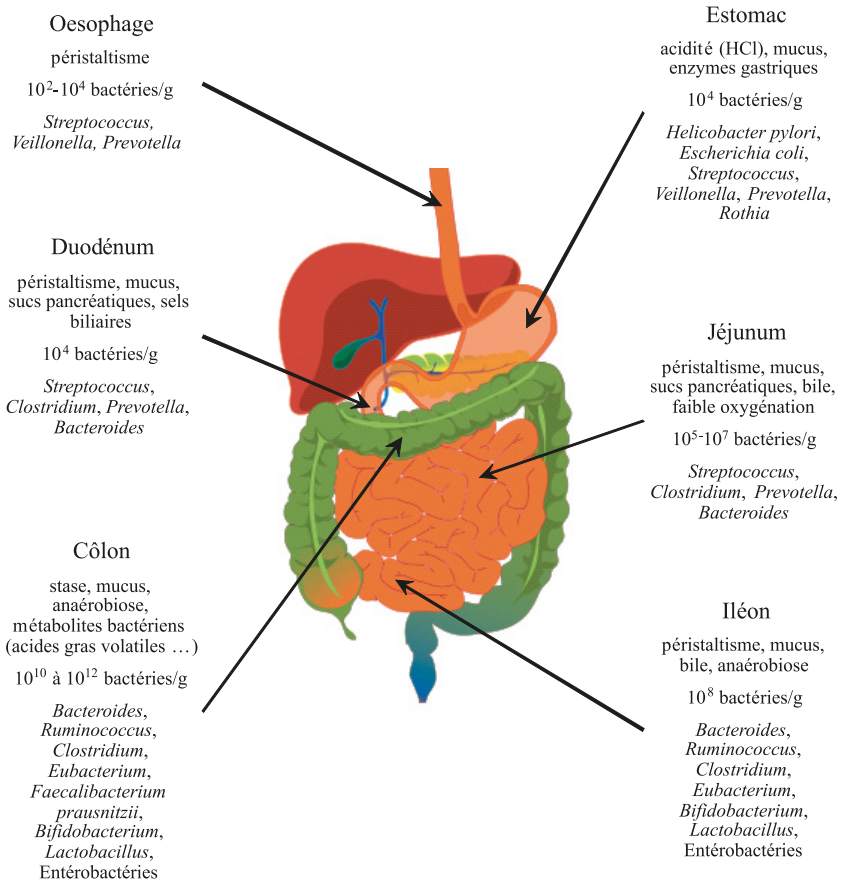
Le microbiote vaginal normal est composé d'environ 10^8 bactéries·g^{-1} de sécrétions vaginales. Le vagin est très largement colonisé par des lactobacilles constituant ce que l'on appelle historiquement « flore de Döderlein », du nom du gynécologue Albert Döderlein qui les a décrits en 1892. Les espèces prépondérantes les plus fréquemment identifiées sont *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri* et *Lactobacillus jensenii* (Zhou et al. 2007). Elles sont rarement toutes représentées chez un individu : en général, une seule de ces espèces domine et, de ce fait, exclut les autres. L'espèce dominante chez la plupart des femmes, *Lactobacillus iners*, n'est pas cultivable sur les milieux classiquement utilisés pour isoler les lactobacilles. Seules des méthodes de biologie moléculaire ont permis de la mettre en évidence. Ces mêmes techniques ont aussi montré la présence assez fréquente de bactéries des espèces *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* et des genres *Streptococcus* et *Megasphaera*, ainsi que divers *Firmicutes*, parfois en proportions importantes. Les levures du genre *Candida* et certains spirochètes peuvent également faire partie de la flore vaginale normale. De plus, comme au niveau buccal, la présence d'Archaea a été mise en évidence au niveau vaginal.

Flore digestive

Le microbiote gastro-intestinal a été le plus amplement étudié, peut-être parce que ce tractus représente la plus grande surface d'échange de notre corps et qu'il est aussi le plus colonisé, avec à lui seul une population de 10^{14} bactéries issues de plusieurs centaines d'espèces différentes. La fraction cultivable de la flore digestive est considérée comme représentant seulement 10 % à 50 % — selon les études — de la totalité des espèces présentes. La très grande complexité de cette flore et l'accès difficile à certaines parties du tractus digestif, requérant parfois des méthodes invasives, sont de plus des facteurs limitants à son analyse. C'est probablement pourquoi la flore la mieux décrite à l'heure actuelle reste la flore fécale. Il semble que les mêmes grands groupes taxonomiques soient représentés tout au long du tractus digestif, avec cependant des variations de leur abondance relative en fonction du site étudié. Ainsi, le microbiote gastro-intestinal est constitué de membres appartenant presque exclusivement à 6 phyla bactériens : *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* et TM7, ce dernier n'ayant pour l'instant aucun représentant cultivable. Quelques membres du phylum des *Verrucomicrobia* et quelques bactéries non classées mais apparentées aux cyanobactéries ont aussi été occasionnellement détectés. Le degré de colonisation augmente au fur et à mesure du tractus, de l'œsophage quasiment stérile au côlon distal pouvant renfermer jusqu'à 10^{12} bactéries·g^{-1} de contenu (fig. 2). La flore digestive comprend aussi des Archaea, l'espèce *Methanobrevibacter smithii* étant clairement la plus représentée, divers protozoaires (surtout des amibes, par exemple des espèces *Entamoeba dispar*, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba moshkovskii*, *Endolimax nana* ou *Iodamoeba butschlii*) et des levures, avec surtout des représentants du genre *Candida*.

On considère le plus souvent que l'œsophage ne contient pas de flore résidente mais seulement une flore transitoire

Fig. 2. Schéma du tractus gastro-intestinal et répartition de son microbiote. Pour chaque partie du tractus digestif, les principaux stress physico-chimiques, la concentration bactérienne et les genres (ou espèces) constituant la flore sont indiqués.



issue de la bouche et des aliments ingérés. Il apparaît pourtant à la lumière de quelques études récentes que l'œsophage, au moins dans sa partie distale, dispose d'une flore résidente. On retrouve des membres des 6 phyla classiquement présents dans le tractus digestif. La grande majorité des bactéries identifiées sont des *Firmicutes* appartenant aux genres *Streptococcus* et *Veillonella* et des *Bacteroidetes* du genre *Prevotella* (Pei et al. 2004).

En raison des conditions drastiques qui y règnent, et plus particulièrement de son pH très acide (pH $\sim$ 2), on a longtemps pensé que l'estomac était relativement stérile. Cette idée a été bouleversée avec la découverte d'*Helicobacter pylori*; on estime que plus d'un individu sur deux est porteur de cette bactérie. Il est maintenant connu qu'en réalité, la flore stomacale représente de l'ordre de 10^4 bactéries·g^{-1} de contenu. Elle est aussi beaucoup plus diversifiée qu'on ne l'avait imaginé originellement. Les constituants majoritaires sont les Proteobactéries, souvent très largement dominées par *Helicobacter pylori* mais aussi représentées par d'autres genres tels que *Escherichia*, *Haemophilus* ou *Acinetobacter* (Bik et al. 2006). Le groupe des *Firmicutes* est aussi largement représenté, en particulier par des *Veillonella* et surtout des streptocoques. Viennent ensuite les *Bacteroidetes*, avec le genre *Prevotella*, et les Actinobactéries, avec le genre *Rothia*, puis dans une moindre mesure les *Fusobactéries*.

L'intestin grêle est caractérisé par un péristaltisme important. Le contenu stomacal est neutralisé dans le duodénum notamment grâce aux sécrétions pancréatiques riches en bicarbonate. En progressant dans l'intestin grêle, la quantité d'oxygène présente diminue, si bien que l'anaérobiose est atteinte dans sa partie distale. La concentration en sels biliaires, maximale dans le duodénum, diminue elle aussi progressivement. Le degré de colonisation par les bactéries suit le chemin inverse, puisqu'il augmente le long de l'intestin grêle. On passe ainsi d'environ 10^4 bactéries·g^{-1} de contenu dans le duodénum à 10^8 bactéries·g^{-1} dans l'iléon. La région proximale de l'intestin grêle, constituée du duodénum et du jéjunum, contient une flore proche de celle de l'estomac avec une dominance des aérobies–anaérobies facultatifs. Le genre *Streptococcus* et notamment de l'espèce *Streptococcus mitis* sont très largement prédominants. On retrouve souvent des lactobacilles et des entérocoques, mais ceux-ci sont généralement présents dans le contenu luminal plutôt qu'associés à la muqueuse. Parmi les *Firmicutes* autres que les streptocoques, on rencontre surtout des Clostridiales. La muqueuse duodéno-jéjunale est aussi colonisée par des *Gammaprotéobactéries* (*Haemophilus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*) et quelques *Bacteroidetes* des genres *Prevotella* et *Bacteroides*. L'iléon, et notamment sa partie distale, renferme un microbiote distinct du segment duodéno-jéjunal. Ce microbiote est beaucoup plus riche aussi bien en quantité qu'en diversité, et une prédominance des anaérobies stricts apparaît. La flore de l'iléon distal est plus proche de celle du côlon que de celle de l'intestin grêle proximal. Elle est amplement dominée par les *Bacteroidetes* du genre *Bacteroides* et les Clostridiales du groupe *Clostri-*

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

dium coccoides – Eubacterium rectale (Wang et al. 2005). On trouve également d'autres types de Clostridiales, des bifidobactéries, des lactobacilles, des entérocoques et des Entérobactéries. L'utilisation de la « polymerase chain reaction » (PCR) en temps réel, une technique d'amplification génique sensible et quantitative, a montré que la population bactérienne mucosale de l'iléon terminal pourrait être plus importante que celle associée à la muqueuse colique (Ahmed et al. 2007). Cette différence n'étant pas retrouvée à des niveaux taxonomiques inférieurs avec des amorces spécifiques de genre ou d'espèces connus, elle pourrait indiquer l'existence d'un grand nombre de bactéries encore non identifiées au niveau iléal.

Le microbiote intestinal semble être assez constant tout au long du côlon, malgré des différences notables entre individus et par rapport à la flore fécale (Zoetendal et al. 2002; Eckburg et al. 2005). La majorité des bactéries associées à la muqueuse sont des anaérobies stricts. La flore colique est dominée par 3 groupes bactériens appartenant à 2 phyla et dont les abondances relatives peuvent varier selon les sujets. Le premier phylum dominant est celui des *Bacteroidetes*, le plus souvent représenté par les espèces du sous-groupe *Bacteroides fragilis* comme *Bacteroides thetaiotaomicron* et *Bacteroides vulgatus*. Le second phylum, celui des *Firmicutes*, est généralement prépondérant, car il englobe 2 des 3 groupes dominants, ainsi qu'une partie de la flore sous-dominante. Le groupe *Clostridium coccoides – Eubacterium rectale* est souvent celui qui prédomine, avec des bactéries appartenant aux genres *Clostridium*, *Eubacterium* et *Ruminococcus*. Le groupe *Clostridium leptum*, lui, inclut notamment l'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* et fait aussi partie de la flore dominante. Parmi les *Firmicutes*, outre les Clostridiales, on retrouve aussi au sein du microbiote colique des anaérobies facultatifs représentés en particulier par les genres *Lactobacillus* et *Enterococcus* et appartenant à la flore sous-dominante (Ahmed et al. 2007). Le groupe des Actinobactéries est aussi représenté dans la flore colique, notamment par les genres *Bifidobacterium* et *Atopobium*. D'autres groupes sont abondamment présents mais ils sont le plus souvent isolés du contenu colique, c'est-à-dire de la flore considérée comme allochtone ou en transit, bien qu'ils puissent persister sur de longues périodes ou être retrouvés associés à la muqueuse. La majorité de ces bactéries est constituée d'aérobies–anaérobies facultatifs. Les Entérobactéries, et spécialement l'espèce *Escherichia coli*, sont universellement présentes dans la flore colique.

Plusieurs études ont montré que la flore fécale était significativement différente de la flore colique chez un même individu (Marteau et al. 2001; Zoetendal et al. 2002; Eckburg et al. 2005). Cependant, le microbiote fécal a longtemps servi et sert encore souvent de modèle pour l'étude du microbiote intestinal, en raison de sa facilité d'échantillonnage. En comparaison, l'étude de la flore du tractus intestinal, sensu stricto, nécessite des actes invasifs tels que des coloscopies, voire des biopsies. Tout comme le contenu colique, on considère que les fèces contiennent en moyenne 10^{11} bactéries·g^{-1}, ce qui correspondrait à environ 40 % de leur poids. La principale différence de composition entre microbiote fécal et colique réside dans l'abondance relative des aérobies–anaérobies facultatifs, qui sont quasiment absents des fèces. Étonnamment, la flore fécale est très majoritairement constituée de bactéries anaérobies strictes. Les bactéries prépondérantes appartiennent au groupe *Clostridium coccoides – Eubacterium rectale*, au groupe *Clostridium leptum* (incluant *Faecalibacterium prausnitzii*) ou au groupe *Bacteroides–Prevotella* (dominé par le sous-groupe *Bacteroides fragilis*). À eux 3, ces groupes bactériens englobent près de 95 % des isolats fécaux identifiés et classés (Mueller et al. 2006). Les Actinobactéries, représentées par les bifidobactéries, les propionibactéries et la famille des *Coriobacteriaceae* (groupe *Collinsella–Atopobium*), font partie de la flore sous-dominante avec une abondance d'environ 3 % à 5 %. Les genres bactériens les plus représentés sont *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium* et *Propionibacterium*. Les *Lactobacillales* (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*) et les Entérobactéries (*Escherichia*, *Klebsiella*) sont généralement détectées dans les fèces, mais avec une abondance très faible, de l'ordre de 0,1 % à 1 % de la population microbienne.

Facteurs influençant le microbiote

Si l'on ne considère que les grands groupes microbiens et leur abondance relative, le microbiote est sensiblement le même au sein de l'ensemble de l'espèce humaine. Cependant, si l'on observe la diversité des espèces bactériennes, chaque individu a un microbiote qui lui est propre. Ce microbiote, au moins pour ses composantes majoritaires, est normalement très stable chez l'adulte. Certaines variations de l'équilibre microbien sont néanmoins observées au cours de la vie sous l'influence de différents facteurs physiologiques et pathologiques. Malgré cela, même après un stress majeur, le microbiote tend à retrouver son équilibre d'origine. Ce phénomène, appelé résilience, suggère une spécificité de la flore pour son organisme hôte et donc un « dialogue » hôte–microbiote.

Génotype de l'hôte

L'humain est dès la naissance exposé chaque jour à de nombreuses espèces bactériennes, que ce soit dans son environnement ou dans son alimentation, mais toutes ne colonisent pas ses muqueuses. En effet, des interactions bactérie–bactérie et bactérie–hôte interviennent dans l'établissement et le maintien de la composition de notre flore microbienne. L'existence d'un effet des caractères génétiques de l'hôte sur la composition de son microbiote a été très tôt suggérée par l'observation que des jumeaux avaient une flore cultivable très semblable (Hoeksma et Winkler 1963; Van de Merwe et al. 1983). La comparaison du microbiote de jeunes jumeaux monozygotes et dizygotes a de plus permis de s'affranchir autant que possible de l'influence de facteurs autres que le génotype. Ainsi, l'impact des caractéristiques génétiques semble plus important que celui de l'environnement ou de l'alimentation, la composition de la flore étant toujours plus similaire entre des jumeaux monozygotes qu'entre des personnes partageant le même style de vie mais non apparentées ou génétiquement moins proches (fratrie, parent et enfant, couple). Plus récemment, des études utilisant des techniques indépendantes de la culture ont confirmé que la similitude de la composition du microbiote était corrélée au degré de proximité génétique (Zoetendal et al. 2001; Stewart et al. 2005). Que le génotype participe à la détermination de

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

la composition du microbiote n'est pas un phénomène seulement visible au sein de l'espèce humaine. L'existence de l'influence des caractères génétiques de l'hôte a aussi été démontrée à une plus grande échelle, au niveau de différentes espèces de mammifères. Malgré les variations interindividuelles, la composition de la flore est presque toujours plus similaire entre les individus d'une même espèce qu'entre espèces différentes, et davantage corrélée à la phylogénie de l'hôte qu'à son alimentation ou son environnement (Ley et al. 2008*a*, 2008*b*). Il semble donc que le microbiote ait co-évolué avec ses hôtes au sein du règne animal. Le microbiote humain est spécifique de l'espèce *Homo sapiens* mais reste néanmoins très proche de celui des autres primates omnivores.

Thérapies et pathologies

Le rôle des antibiotiques est, par définition, d'empêcher la croissance ou de détruire des bactéries. Ces molécules ont donc intrinsèquement un impact sur le microbiote. Les antibiotiques ont 2 grands types d'effets sur la flore (Jernberg et al. 2007). D'une part, ils exercent une pression qui aboutit à la sélection et favorise l'émergence de bactéries hautement résistantes à ces molécules. D'autre part, ils éliminent les composants du microbiote qui leur sont sensibles et créent ainsi une dysbiose en modifiant les abondances relatives des populations microbiennes et en réduisant leur diversité. La modification engendrée dépend du spectre de l'antibiotique, pouvant affecter seulement quelques espèces s'il s'agit d'antibiotiques à spectre étroit ou au contraire altérant profondément de grands groupes bactériens pour ceux à large spectre. Le plus souvent, ces traitements ont tendance à altérer les populations anaérobies (*Bacteroidetes* et plus rarement *Clostridiales*), et leur effet est d'autant plus prononcé que l'antibiothérapie est longue. Malgré tout, des traitements courts ou l'utilisation de molécules considérées classiquement comme peu nocives pour la flore commensale se sont quelquefois avérés avoir des conséquences à long terme, parfois sur plusieurs années. Si les fonctions exercées par le microbiote affecté ne sont pas nécessaires au moment de la dysbiose ou si elles sont compensées par d'autres composants de la flore, les déséquilibres générés par l'administration d'antibiotiques peuvent être asymptomatiques. Mais ces déséquilibres peuvent aussi entraîner des conséquences fâcheuses. La manifestation la plus fréquemment rencontrée est probablement la diarrhée induite par les antibiotiques (Beaugerie 2008). Il peut s'agir soit d'une simple diarrhée osmotique, soit d'une diarrhée infectieuse. La diarrhée osmotique est liée à une diminution de la digestion du contenu intestinal par les bactéries de la flore et un accroissement consécutif de la pression osmotique dans la lumière intestinale dû à l'accumulation de polyosides non digérés. Lorsque la pression osmotique du contenu luminal est supérieure à celle du sérum, l'eau n'est plus absorbée et il se produit au contraire un appel d'eau et d'électrolytes dans l'intestin. La diarrhée infectieuse est quant à elle due à la rupture de l'effet de barrière du microbiote. L'antibiothérapie, en éliminant une partie du microbiote, rend ainsi disponibles des nutriments et des niches écologiques. D'autres bactéries ont alors toute liberté de coloniser les espaces laissés vacants par la flore. La diarrhée est conséquente à une telle colonisation par des pathogènes. Les agents impliqués sont rarement de vrais pathogènes mais plutôt des pathogènes opportunistes. Ces micro-organismes colonisent un site d'une façon que l'on peut qualifier d'aberrante, soit parce que cette niche écologique n'est habituellement pas la leur, soit parce que chez le sujet sain leur population est minoritaire et contenue par la flore dominante. C'est cette hypercolonisation inappropriée par des micro-organismes commensaux qui aboutit à la diarrhée infectieuse. Les composants de la flore incriminés dans ces pathologies sont variés (Entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Clostridium perfrigens*, etc.), mais le plus connu — et peut-être l'un des plus dangereux — est *Clostridium difficile*, à l'origine de colites pseudomembraneuses via la production de toxines. Outre la diarrhée induite par les antibiotiques, de nombreuses autres affections sont liées à un déséquilibre de la flore humaine normale. En fait, la plupart des constituants du microbiote humain ont à l'origine été considérés, et le sont parfois encore, comme des agents pathogènes, car ils sont retrouvés associés à certaines manifestations cliniques. L'exemple le plus récent est peut-être celui de *Methanobrevibacter smithii*, présent dans la bouche, le côlon et le vagin, dont le statut, commensal ou pathogène, est régulièrement discuté. Inversement, certains micro-organismes de la flore généralement qualifiés de normaux, voire de bénéfiques, sont parfois incriminés dans des pathologies infectieuses. L'étiologie des pathologies résultant d'une dysbiose n'est pas réellement liée à la présence de pathogènes mais à la prépondérance anormale de certains composants de la flore. En réalité, tout micro-organisme appartenant au microbiote est potentiellement un pathogène opportuniste. Par exemple, *Candida albicans* est un habitant normal du microbiote en faibles proportions, mais une dysbiose peut être à l'origine de sa multiplication et donc de candidoses orales, cutanées, intestinales ou vaginales, y compris chez des personnes immunocompétentes.

Les traitements antiacides tels que les inhibiteurs de la pompe à protons ont pour but de réduire l'acidité gastrique. Ils sont souvent utilisés ponctuellement pour soulager les aigreurs d'estomac mais peuvent dans certains cas faire l'objet d'un traitement chronique plus ou moins long, par exemple chez les personnes souffrant d'ulcère gastroduodénal ou de reflux gastro-oesophagien. L'estomac étant considéré comme stérile justement grâce à son pH très bas, il a longtemps été considéré que la prise prolongée d'antiacides rendait l'estomac permissif à la colonisation par les bactéries. Cette théorie est sujette à controverse, puisqu'on sait désormais qu'il existe une flore gastrique diversifiée, et que certaines études ont donné des résultats discordants. Globalement, une association entre traitements par antiacide et risque accru de développer certaines pathologies d'étiologies infectieuses a été mise en évidence par des études cliniques pour certaines infections comme la pneumonie et tout particulièrement les gastro-entérites d'origine bactérienne (Leonard et al. 2007). Pourtant, aucune de ces études ne semble avoir exploré le mécanisme aboutissant à cet accroissement du risque infectieux et, si on ne peut écarter l'hypothèse que les antiacides provoqueraient une dysbiose, on ne peut pas l'affirmer non plus. En effet, les antiacides ont potentiellement plusieurs effets délétères tels que survie de bactéries de l'alimentation dans l'estomac, vidange gastrique retardée, viscosité du mucus réduite, augmentation de la croissance d'*Helicobacter*, de streptocoques et de lactobacil-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

les ou altération de l'activité des neutrophiles. Des analyses plus poussées, notamment par des techniques culture-indépendantes, semblent nécessaires avant de pouvoir affirmer que ces molécules créent une dysbiose de l'ensemble du microbiote gastrique.

Outre les infections opportunistes, diverses pathologies ont été corrélées à des modifications caractéristiques de la composition du microbiote. La plupart de ces affections sont associées à des phénomènes allergiques ou inflammatoires et comportent donc vraisemblablement une composante immunitaire. Parmi les pathologies associées à une dysbiose, les plus fréquemment décrites sont l'obésité, les cancers colorectaux, les maladies atopiques (eczéma, dermatites atopiques, rhinites et conjonctivites allergiques, allergies alimentaires et asthme), les pouchites, le syndrome du côlon irritable et les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) comme la rectocolite hémorragique (colite ulcéreuse) et la maladie de Crohn. L'étiologie de ces manifestations est multifactorielle, impliquant des facteurs immunitaires, génétiques, environnementaux, alimentaires et microbiens interconnectés. Il est probable, notamment dans le cas des pathologies inflammatoires intestinales, qu'une « boucle d'amplification » se crée entre déséquilibre du microbiote et gravité des symptômes, la dysbiose observée étant alors à la fois cause et conséquence de l'affection. Toutefois, pour la majorité de ces maladies, la modification de la flore semble faire plutôt partie des causes de la pathologie. C'est pourquoi nous ne développerons pas davantage le rôle des maladies comme facteurs de modification du microbiote. Nous décrirons au contraire les dysbioses et leurs conséquences pathologiques au sein du chapitre consacré au rôle du microbiote dans la santé.

Age de l'hôte

La composition de la flore, si elle est constante à l'âge adulte, n'est pas la même aux âges extrêmes de la vie. Au cours des premières années, le microbiote s'implante de façon séquentielle avant d'atteindre un équilibre relativement définitif. L'âge auquel est acquise la flore de l'adulte varie selon le site de colonisation considéré. Cet équilibre sera à nouveau profondément modifié chez le sujet âgé. Il est généralement considéré que le nouveau-né est totalement dépourvu de flore au moment de la délivrance et va acquérir son microbiote au cours des heures qui suivent par contact avec celui de sa mère et avec son environnement. L'implantation du microbiote dépendrait donc très étroitement du mode de délivrance, une césarienne privant de la rencontre avec les flores vaginale et périnéale maternelles. Cette hypothèse semble être partiellement réfutée depuis quelques années. Diverses études ont en effet montré que des bactéries, en particulier *Enterococcus faecium* et *Staphylococcus epidermidis*, pouvaient être naturellement présentes dans le liquide amniotique, les membranes fœtales, le sang de cordon et le méconium (Jiménez et al. 2008). Il semblerait donc que l'implantation de la flore débute avant même la naissance. De plus, des expériences menées chez la souris ont montré qu'une souche d'entérocoque ingérée par la mère était détectée par la suite dans le liquide amniotique et dans le méconium des souriceaux nés par césarienne (Jiménez et al. 2005, 2008). Il y aurait donc probablement une translocation dans le sang de bactéries commensales du tractus digestif maternel puis passage transplacentaire vers le fœtus, suivi d'un début d'implantation de la flore in utero. La cavité orale et le tractus respiratoire supérieur sont colonisés par les streptocoques du groupe *viridans* dans les heures qui suivent la naissance. Puis apparaissent progressivement les staphylocoques, les diplocoques gram négatifs (*Neisseria* et *Moraxella*), les corynéformes et les lactobacilles. La flore buccale définitive s'établit après l'éruption dentaire. La flore cutanée se développe dès la naissance, mais l'abondance des propionibactéries augmente au cours de la puberté avant de se stabiliser à l'âge adulte (Leyden et al. 1975; Mourelatos et al. 2007). La flore vaginale est constituée de lactobacilles durant les premières semaines de la vie, puis une flore hétérogène issue du périnée (corynebactéries, staphylocoques, streptocoques, entérobactéries) s'installe jusqu'à la puberté où les lactobacilles redeviennent majoritaires. L'implantation du microbiote gastro-intestinal a été largement décrite via l'étude de la flore fécale. À la naissance, ce sont les aérobies–anaérobies facultatifs qui s'implantent les premiers. Dès la première journée, les entérobactéries (surtout *Escherichia coli*), les entérocoques et les streptocoques colonisent le tube digestif et en constituent la flore dominante. Des staphylocoques sont aussi généralement présents à ce stade. Les lactobacilles apparaissent vers le deuxième jour mais restent minoritaires. En se multipliant, la flore anaérobie facultative diminue le potentiel d'oxydoréduction du contenu colique en consommant tout l'oxygène présent. Cette étape dure environ 48 h. Les bactéries anaérobies strictes sont probablement présentes dès les premiers instants, car elles font partie des premières espèces rencontrées à la naissance, mais elles ne peuvent commencer à se multiplier qu'une fois le côlon en anaérobiose. Les bifidobactéries, les *Bacteroidetes* et les *Clostridiales* commencent donc à se développer 2 à 3 jours après la naissance, ainsi que les lactobacilles tolérant mal l'oxygène. On retrouve plus particulièrement le groupe *Bacteroides fragilis*, l'espèce *Clostridium perfringens* et plusieurs espèces du genre *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium* bifidum, *Bifidobacterium* infantis, *Bifidobacterium* adolescentis, *Bifidobacterium* longum, *Bifidobacterium* breve). Suivent également les *Eubacterium* (*Eubacterium lentum*, *Eubacterium rectale*, etc.), *Veillonella*, *Ruminococcus* et *Faecalibacterium*. La flore bactérienne atteint une concentration de l'ordre de 10^{10} bactéries·g^{-1} de fèces en 2 à 5 jours après la naissance. Des similarités entre la flore fécale de l'enfant et celle présente au niveau cutané, fécal, vaginal et dans le lait de la mère ont souvent été mises en évidence au cours des premiers jours, mais elles disparaissent rapidement, ce qui indique l'importance majeure des bactéries de l'environnement sur la composition de la flore. Sa composition se stabilise après 1 à 2 semaines, avec souvent une grande prédominance des *Gammaprotéobactéries*, probablement surtout des Entérobactéries (Palmer et al. 2007). Les *Bacteroidetes* (*Bacteroides* et *Veillonella*) sont également assez abondants. Les bifidobactéries en particulier, ainsi que les entérocoques, streptocoques et lactobacilles, ont généralement été décrits comme constituant la flore dominante à cet âge, mais la plupart de ces travaux étaient basés sur des méthodes culturales. Des études récentes utilisant des techniques de biologie moléculaire laissent penser au contraire que ces genres pourraient rester en sous-dominance (Palmer et al. 2007). Des variations apparaissent lorsque le régime de

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

l'enfant est modifié, d'abord lorsqu'on passe du seul allaitement au lait maternisé et à une alimentation diversifiée puis, plus tard, avec l'introduction des aliments solides. La flore se diversifie en réponse à chacun de ces changements du comportement alimentaire pour atteindre une composition proche de celle de l'adulte dès l'apport d'aliments solides, dominée par les *Bacteroidetes* et les *Firmicutes*. Les dernières variations surviennent au moment du sevrage où les anaérobies stricts, notamment les Clostridiales, finissent de prendre l'ascendant sur les autres groupes. On estime que la flore digestive définitive qui persistera pendant toute la vie d'adulte est acquise vers l'âge de 2 ans.

Tous les micro-organismes rencontrés par le nouveau-né ne s'implantent pas dans la flore; leur colonisation ou leur élimination dépend de différents facteurs endogènes tels que les conditions physico-chimiques du site (sucs digestifs et autres sécrétions par les muqueuses, métabolites et antimicrobiens produits par les autres micro-organismes présents), l'hôte (facteurs génétiques, état des cellules, taux d'hormones) et les caractéristiques des souches (adhésines, résistances aux conditions physico-chimiques, antagonisme). Les principaux facteurs exogènes pouvant également modifier la cinétique d'implantation et la composition de la flore chez le nouveau-né sont le mode de délivrance, l'âge gestationnel, l'administration d'antibiotiques per ou post partum, l'environnement et l'alimentation (Penders et al. 2006). Les enfants nés par césarienne montrent en général un retard de colonisation par les lactobacilles, les bifidobactéries et les *Bacteroides*, et en revanche une colonisation par *Clostridium* plus rapide et importante que les enfants nés par voie basse. Ce phénomène peut persister plusieurs mois. On considère souvent que ce retard est dû à la seule absence de contact avec la flore vaginale et périnéale maternelle, mais l'administration prophylactique d'antibiotiques à la mère avant et après la césarienne y contribue probablement beaucoup. Ces molécules peuvent passer dans le liquide amniotique et le lait maternel et atteindre ainsi la flore de l'enfant. Une antibiothérapie administrée directement au nouveau-né aura bien entendu elle aussi un impact sur l'implantation de sa flore; les traitements antibiotiques chez l'enfant sont connus pour affecter profondément les populations de bifidobactéries et de *Bacteroides* (Penders et al. 2006). Relativement peu d'études portent sur l'impact de la naissance avant terme. Les enfants prématurés présentent en général un retard de colonisation important et une diversité d'espèces bactériennes réduite comparés aux enfants nés à terme, et ce d'autant plus que l'âge gestationnel et le poids à la naissance sont faibles. On détecte souvent une diminution de la colonisation par les bifidobactéries au profit d'Entérobactéries et surtout de *Clostridium*. Ces faits résultent probablement de causes multiples. Ces enfants sont souvent nés par césarienne et font l'objet de soins spécifiques : hospitalisation, environnement aseptisé, traitement antibiotique, moins de contact avec la mère et plus avec le personnel soignant. L'environnement est apparemment fortement impliqué dans l'établissement de la flore, au moins au cours des premières semaines. Ainsi, l'hospitalisation du nouveau-né augmenterait la prévalence de la colonisation par *Clostridium*, et ce d'autant plus qu'elle est prolongée (Penders et al. 2006). L'existence d'une fratrie, quant à elle, serait responsable d'une augmentation des taux d'Entérobactéries et de bifidobactéries dans la flore fécale. La colonisation précoce par les Entérobactéries (*Klebsiella*, *Enterobacter* et surtout *Escherichia*) semble au contraire avoir diminué de façon drastique dans les pays industrialisés au cours des dernières décennies, et ce au profit des staphylocoques (Adlerberth et al. 2006). Ce sont les conditions beaucoup plus strictes d'hygiène mises en place dans les maternités qui auraient réduit l'exposition des enfants aux micro-organismes d'origine fécale, dont une partie était probablement manuportée, et favorisé l'acquisition de bactéries de la flore cutanée. Il a aussi été montré que la cinétique d'implantation et la composition du microbiote de jumeaux dizygotes étaient très similaires (Palmer et al. 2007); le déterminant majeur de ce phénomène ne serait pas le génotype mais bien l'environnement auquel ces jumeaux ont été exposés, aucune similarité de composition de la flore n'ayant été observée entre enfants et parents proches (père, mère, frère ou sœur non jumeaux).

La composition du microbiote évolue également au cours du vieillissement, qui est caractérisé par un certain nombre de modifications de la physiologie touchant entre autres le tractus gastro-intestinal. D'une part, on observe une diminution des sécrétions digestives en général et une hypochlorhydrie stomacale en particulier, ce qui réduit les processus de digestion chimiques et enzymatiques, donc l'absorption des nutriments. D'autre part, un ralentissement du transit est observé chez les personnes âgées, en relation avec une diminution du péristaltisme et de la motilité du tractus digestif. Enfin, un changement drastique des habitudes alimentaires accompagne le plus souvent le vieillissement. Cette modification du régime est due à un ensemble de facteurs survenant plus ou moins selon les individus : altération de l'odorat et du goût pouvant rendre les aliments insipides ou modifiant simplement leur goût, isolement social, fatigue accrue, régime adapté à certaines pathologies liées à l'âge (diabète, hypertension artérielle, hypercholestérolémie), difficultés à mâcher et à déglutir, etc. Ceci aboutit à une réduction globale des apports alimentaires conjointement à une modification des abondances relatives des aliments, avec le plus souvent une diminution importante des apports protéiques. L'ensemble de ces modifications du tractus digestif exerce un impact sur le microbiote intestinal. Les personnes âgées ont aussi un risque plus élevé d'hospitalisation et d'antibiothérapie par rapport aux jeunes adultes, 2 facteurs de modification de la flore bien connus. Un certain nombre d'études analysant les modifications de la flore intestinale conséquentes au vieillissement ont été réalisées, mais les résultats obtenus divergent parfois. Il semble en effet que les variations interindividuelles observées chez l'adulte soient encore plus prononcées chez le sujet âgé, et que la composition de la flore fécale varie beaucoup d'un pays à l'autre, ce qui traduit probablement des habitudes alimentaires différentes (Mueller et al. 2006). Globalement, la plupart des études ont décrit une réduction du nombre et de la diversité des bifidobactéries et une augmentation des anaérobies facultatifs, tout particulièrement les Entérobactéries. Des modifications surviennent fréquemment dans les groupes qui dominent la flore de l'adulte, c'est-à-dire les Clostridiales (groupes *Clostridium coccoides – Eubacterium rectale* et *Clostridium leptum*) et les Bacteroidetes, mais le sens de variation de ces populations diffère considérablement d'une étude à l'autre ainsi qu'entre différents pays. Ces données semblent indi-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

quer cependant que ces 2 groupes bactériens sont beaucoup plus sensibles au mode de vie des individus, notamment à leur alimentation, et peut-être plus sujets à des variations interindividuelles. Un enrichissement de la diversité bactérienne dans son ensemble a souvent été mis en évidence chez les personnes âgées. Cette diversité accrue semble surtout corrélée à l'apparition avec l'âge d'une flore importante, voire prédominante, correspondant à des phylotypes pour l'instant inconnus. Il paraît nécessaire d'étudier plus amplement les modifications du microbiote liées à l'âge au cours des années à venir, et en particulier d'étendre les recherches à la flore dans son ensemble sans se restreindre à la flore fécale. En effet, le vieillissement affecte probablement l'ensemble du microbiote tout au long du tractus digestif mais aussi au niveau des autres organes, également soumis à des modifications (altération des épithélia, diminution des sécrétions, etc.). Il est par exemple connu que le nombre de propionibactéries de la flore cutanée diminue lors du vieillissement et que ce phénomène est corrélé à la réduction des sécrétions sébacées (Leyden et al. 1975).

Influences hormonales

Les concentrations hormonales semblent avoir un impact sur l'abondance des propionibactéries dans la flore cutanée, ce qui se traduit notamment par l'augmentation de leur population au cours de l'adolescence et au contraire une diminution avec le vieillissement (Leyden et al. 1975; Mourelatos et al. 2007). Diverses hormones stéroïdes (cortisone, hormones sexuelles) interviennent dans la régulation de la sécrétion de sébum et sont ainsi impliquées dans le contrôle de la flore lipophile en fonction de l'âge, mais aussi au cours de la vie adulte (cycle menstruel).

L'influence des taux hormonaux sur le microbiote est principalement connue pour la sphère génitale. Chez la femme, c'est en grande partie le taux d'œstrogène qui conditionne la composition de la flore vaginale. Les concentrations élevées d'œstrogène agissent sur la muqueuse épithéliale cervico-vaginale et favorisent l'adhésion des lactobacilles à celle-ci. En conséquence, une augmentation du taux d'œstrogène se traduit par une augmentation de l'abondance en flore de Döderlein. Ainsi, la quantité de lactobacilles varie en fonction du cycle menstruel : elle augmente pendant les 2 premières semaines, correspondant à la phase folliculaire, puis diminue suite à l'ovulation, au cours de la phase lutéale (Schwebke et Weiss 2001). Ces variations se répercutent aussi sur la colonisation du vagin en fonction de l'âge. Ainsi, à la naissance, la persistance chez le nouveau-né d'œstrogène maternel circulant est à l'origine de la forte colonisation du vagin par les lactobacilles. Cette hormone est métabolisée progressivement, ce qui aboutit après environ 2 semaines à l'acquisition d'une flore hétérogène. À la puberté, la production d'œstrogène débute et la flore est à nouveau dominée par les lactobacilles. La diminution du taux d'œstrogène survenant à la ménopause entraîne la réduction du nombre de lactobacilles, qui a pour conséquence la colonisation du vagin par une flore mixte à nouveau. Il est également à noter que, en fin de la grossesse et durant la période d'allaitement, certaines bactéries de la flore digestive sont apparemment transloquées dans le liquide amniotique et dans le lait maternel, probablement par l'intermédiaire de cellules mononucléées circulantes (Perez et al. 2007). Ces translocations physiologiques pourraient être conséquentes aux modifications des taux d'hormones survenant au cours de la grossesse et de la lactation.

Mode de vie et alimentation

Le régime alimentaire et plus généralement le style de vie conditionnent la composition du microbiote. Ce phénomène se ressent chez l'adulte mais aussi surtout chez l'enfant au cours de l'implantation de la flore. Diverses études ont ainsi décrit l'existence de différences considérables dans la composition du microbiote entre les populations de différents pays. Il a par exemple été décrit que la flore fécale d'enfants âgés d'1 an vivant en Estonie et en Suède avaient des compositions significativement distinctes (Sepp et al. 1997). Les Estoniens présentaient à la fois un plus grand nombre et une prévalence plus élevée de lactobacilles et d'eubactéries que les Suédois, tandis que ceux-ci affichaient plus de clostridies, en particulier de l'espèce *Clostridium difficile*. Le microbiote des enfants estoniens était en fait proche de celui que l'on décrivait en Europe occidentale quelques décennies auparavant. Il semble donc que les changements de style de vie et les mesures d'hygiène prises dans les pays d'Europe de l'Ouest depuis une cinquantaine d'années aient modifié notre microbiote, au moins en ce qui concerne la flore intestinale de l'enfant. Ce phénomène n'est vraisemblablement pas limité à la sphère digestive. Une étude portant sur le microbiote pharyngé a ainsi montré que la prévalence et le nombre d'Entérobactéries au sein de la flore du nasopharynx étaient beaucoup plus élevés chez des enfants angolais et brésiliens âgés de 4 mois à 5 ans que chez leurs homologues hollandais (Wolf et al. 1999). Il reste cependant à élucider l'origine de telles variations : il est certain qu'elles viennent de différences entre les modes de vie d'un pays à l'autre ou d'une époque à l'autre, mais il faudrait analyser la part d'influence de chacune des diverses composantes (alimentation, hygiène, morbidité, conditions géographiques et climatiques, etc.).

Les modifications du microbiote induites par l'alimentation ont été particulièrement étudiées chez le nourrisson. Des différences notables ont souvent été observées entre les enfants allaités et ceux nourris avec du lait maternisé. La flore des enfants exclusivement nourris au sein semble enrichie en bifidobactéries et en staphylocoques, surtout de l'espèce *Staphylococcus epidermidis*, tandis que les nourrissons recevant du lait maternisé ont souvent une flore plus complexe et mixte avec davantage de clostridies (Bezirtzoglou 1997). L'allaitement favorise vraisemblablement le développement des bifidobactéries à la fois grâce à ses propriétés bifidogènes et à un apport direct de bactéries, et pourrait ainsi diminuer les risques d'infection et d'atopie chez l'enfant. Le lait maternel contient une quantité importante de micro-organismes, de l'ordre de $10^6 \cdot mL^{-1}$, issus de la flore digestive de la mère et pouvant s'implanter chez l'enfant allaité. Une très grande variété de bactéries a été identifiée dans le lait maternel, dont les genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Bifidobacterium*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Haemophilus* ou encore *Veillonella* (Martín et al. 2007*b*; Palmer et al. 2007; Collado et al. 2009). Cependant on ignore si les espèces transmises par la mère persistent réellement dans le microbiote de l'enfant. Par exemple, il a

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

été montré que le profil des lactobacilles colonisant le tractus digestif 1 semaine après la naissance était plus proche de celui du lait de la mère que de celui de sa flore vaginale, ce qui atteste de l'importance de l'allaitement dans l'établissement du microbiote intestinal précoce (Martín et al. 2007*a*). Mais il a aussi été mis en évidence qu'au-delà des premiers jours post partum, la flore du nourrisson se distinguait de celle de sa mère, au point d'en être finalement aussi différente que celle d'une personne non apparentée (Palmer et al. 2007). Cela ne signifie pas que les bactéries du lait maternel sont éliminées de la flore de l'enfant mais qu'elles n'y sont pas prédominantes, ce qui tend à prouver leur absence d'impact à long terme.

Les principaux changements survenant dans la composition du microbiote au cours des premières années de vie sont apparemment déclenchés par les changements de régime alimentaire (lait maternisé, diversification, aliments solides, sevrage), ce qui souligne l'effet important de l'alimentation sur la flore. Comme nous l'avons déjà décrit, la composition du microbiote de l'adulte a également tendance à différer d'un pays à l'autre. Ces dissemblances sont parfois observées dans des pays proches autant géographiquement qu'en termes de développement industriel et de normes d'hygiène appliquées, et semblent donc dans ces cas-là être consécutives à des différences d'habitudes alimentaires. Par exemple, une étude a montré que le microbiote fécal des adultes serait dominé par le groupe *Clostridium coccoides – Eubacterium rectale* en Italie, en France et en Allemagne, mais pas en Suède (Mueller et al. 2006). Le groupe *Faecalibacterium prausnitzii* est celui qui prédominait chez les Suédois, ce qui serait corrélé à une consommation plus importante de poisson et de viande. L'espèce *Faecalibacterium prausnitzii* semble d'ailleurs absente de la flore fécale chez les sujets végétariens, et le groupe *Clostridium leptum* auquel elle appartient y est majoritairement constitué de phylotypes inconnus (Hayashi et al. 2002). L'autre caractéristique du microbiote des végétariens est une abondance relative du groupe *Clostridium ramosum* très importante, alors qu'il n'est pas habituellement retrouvé dans la flore. Une étude récente s'est intéressée à l'impact d'un régime sans gluten, régime suivi à vie par les personnes souffrant de maladie coeliaque. Après 1 mois de régime, les sujets montraient un microbiote enrichi en Entérobactéries, notamment en *Escherichia coli*, mais avec une diminution singulière de l'abondance en lactobacilles, en bifidobactéries, en particulier *Bifidobacterium longum*, et en Clostridiales des groupes *Clostridium lituseburense* et *Faecalibacterium prausnitzii* (De Palma et al. 2009).

Un exemple particulièrement parlant de l'impact de l'alimentation sur le microbiote est né de la comparaison entre la flore de personnes minces et celle de personnes obèses ou en surpoids. Cette approche a montré que l'obésité et le surpoids (index de masse corporelle >25 $kg \cdot m^{-2}$) étaient caractérisés par une augmentation importante du ratio firmicutes/bacteroidetes, les 2 composants majoritaires de la flore (Ley et al. 2006; Santacruz et al. 2009). Il a aussi été mis en évidence sur cette même population que la réduction des apports caloriques avait pour conséquence la diminution de ce ratio jusqu'à atteindre une valeur proche de celle observée chez les sujets minces, en corrélation avec la perte de poids. Une autre étude a montré que la perte de poids de sujets obèses suite à une restriction calorique progressive s'accompagnait au fur et à mesure d'une réduction de l'abondance des bactéries appartenant au sous-groupe *Roseburia – Eubacterium rectale* sans que les autres populations de Clostridiales ou que le groupe des *Bacteroides* ne soient affectés (Duncan et al. 2007).

Au vu de ces diverses données montrant l'influence de l'alimentation sur la flore, on peut imaginer qu'il soit possible de moduler en partie la composition de notre microbiote selon notre bon vouloir, en adaptant simplement notre régime alimentaire. Cette idée a donné naissance au concept de prébiotique et ouvre de nouvelles perspectives quant au traitement des pathologies liées à des dysbioses telles que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

Rôle du microbiote humain dans la santé

Les membres du microbiote ont traditionnellement été considérés comme commensaux, puisque l'hôte humain leur fournissait le gîte et le couvert mais ne subissait aucun dommage lié à leur présence. Néanmoins il a été découvert que la flore jouait un rôle important, voire indispensable, sur la physiologie et la santé de son hôte. La plupart des fonctions exercées par ces symbiotes ont été mises en évidence grâce aux modèles animaux axéniques (sans microbiote) dans lesquels de nombreuses anomalies sont observées par rapport aux animaux conventionnels (normalement colonisés). L'ensemble des fonctions altérées chez les animaux axéniques est restauré après leur colonisation par la flore d'animaux conventionnels (conventionnalisation). Le rôle spécifique de certaines espèces peut aussi être exploré à l'aide d'animaux gnotoxéniques, dont la flore n'est constituée que d'une ou plusieurs souches connues. Le bénéfice mutuel né de l'association entre l'humain et son microbiote a conduit à réviser l'appellation de ces bactéries et à les considérer comme des symbiotes. L'avantage conféré par la flore à son hôte est souligné par le fait que les dysbioses se traduisent généralement par une situation pathologique. Cependant, les variations de la composition du microbiote peuvent être asymptomatiques grâce à l'existence d'une redondance fonctionnelle de certains symbiotes. Les rôles du microbiote ont surtout été étudiés au niveau intestinal, mais on peut imaginer qu'ils sont en partie conservés, quel que soit l'organe colonisé.

Apports nutritionnels

Les bactéries colonisant la cavité buccale et le tractus digestif sont bien nos commensales au sens étymologique du terme, puisqu'elles partagent notre table à tous les repas. Le bol alimentaire est une source de substrats exogènes, dont seule une partie peut être transformée en éléments assimilables par les sucs digestifs. Le microbiote s'associe au système digestif en consommant des éléments non digérés ou non digestibles par l'humain, et en restituant des nutriments absorbables. L'alimentation de l'hôte ne représente qu'une partie des sources de carbone et d'énergie de la flore. Le microbiote va aussi se nourrir de substrats endogènes constitués de sécrétions et de cellules desquamées provenant de l'organisme hôte. Le métabolisme bactérien le plus important est retrouvé au niveau du côlon, où la quantité et la diversité des bactéries est la plus importante mais aussi où le transit est très lent. Les glucides utilisés par le microbiote

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

sont essentiellement des polyosides, des oligosides et des oses exogènes issus de l'alimentation, notamment des végétaux (amidon, cellulose, xylanes, pectines, gommes, mucilages, raffinose, etc.), et des glycosaminoglycanes et glycoprotéines endogènes provenant du mucus. Les principales sources de protéines sont les protéines du bol alimentaire, les glycoprotéines du mucus (mucines) et les enzymes digestives. En outre, la flore est profondément impliquée dans le maintien de l'homéostasie gazeuse de l'intestin. Le microbiote est un écosystème complexe constitué d'espèces interdépendantes : certaines bactéries s'y établissent uniquement grâce aux métabolites produits par d'autres, et l'ensemble forme un véritable réseau trophique transformant des polymères complexes en nutriments assimilables et en molécules simples.

Une partie de la digestion des substrats par le microbiote a lieu à l'extérieur des cellules, grâce à des enzymes, surtout des hydrolases, excrétées dans la lumière ou liées à la paroi bactérienne. En dehors de monomères glucidiques ou protéiques absorbables, le métabolisme de la flore assure la production d'autres métabolites qui peuvent être bénéfiques ou délétères (Gérard et Bernalier-Donadille 2007). Les métabolites finaux issus de la dégradation des glucides sont des acides gras à chaîne courte (« short chain fatty acids », SCFA), du CO_2 et de l'H_2. Le CO_2 est d'une part absorbé au niveau de l'intestin et d'autre part utilisé par le microbiote in situ, notamment par les micro-organismes hydrogénotrophes qui vont éliminer l'H_2. Trois mécanismes permettent à différentes espèces d'utiliser l'H_2 : la sulfato-réduction, l'acétogénèse réductrice et la méthanogénèse. La méthanogénèse, surtout assurée par les Archaea de l'espèce *Methanobrevibacter smithii*, n'est présente que chez les individus méthano-excréteurs, qui constituent 30 % à 50 % de la population. Les produits de dégradation des protéines sont des SCFA, des acides gras ramifiés (isobutyrate, isovalérate et 2-méthylbutyrate), des dérivés phénoliques et indoliques, des polyamines, des amines et de l'ammoniac (NH_3). Les métabolites délétères (phénols, indoles, amines, NH_3) sont absorbés et détoxifiés au niveau de la muqueuse ou du foie, puis excrétés dans les urines. Une partie de ces composés est aussi utilisée par le microbiote, notamment l'ammoniac qui intervient dans la synthèse des acides aminés. Les principaux métabolites fournis par le métabolisme bactérien sont les SCFA, c'est-à-dire majoritairement le butyrate, l'acétate et le propionate. Ces molécules sont absorbées dans l'intestin et pourront être métabolisées par les cellules de l'hôte. Le butyrate en particulier est consommé en grande partie par les colonocytes. Les autres SCFA passent dans la circulation sanguine et vont alimenter d'autres organes comme le cœur, le cerveau et les muscles striés.

Outre l'apport de SCFA et le maintien de l'homéostasie des gaz, le microbiote apporte aussi d'autres éléments essentiels à l'hôte et participe à l'élimination de certains composés. Le microbiote métabolise par exemple les stérols, en particulier ceux contenus dans la bile et les hormones stéroïdiennes produites par l'hôte. Après avoir été déconjugués et métabolisés, les stérols sont pour la plupart excrétés dans les selles, mais une partie est absorbée et reconjuguée par le foie pour être excrétée dans la bile. Le microbiote fournit également des acides aminés essentiels à l'hôte. De plus, la flore constitue une source indispensable de vitamines en synthétisant notamment de la vitamine K et des vitamines du groupe B comme le folate, la biotine, la riboflavine et la cobalamine (Hill 1997). Enfin, diverses fonctions et enzymes bactériennes participent au maintien de la santé et à la détoxification du milieu : la dégradation de l'oxalate alimentaire, surtout assurée par *Oxalobacter formigenes*, réduit les risques de calculs rénaux, le métabolisme des molécules osmotiquement actives empêche les diarrhées fonctionnelles, les lactases bactériennes évitent les symptômes d'intolérance au lactose, certains cancérogènes alimentaires sont dégradés par le microbiote, etc.

Effets sur la muqueuse digestive

Le microbiote a un effet trophique sur les tissus de l'hôte, notamment en leur fournissant des éléments assimilables comme les SCFA. Mais les nutriments ne sont pas les seuls éléments échangés aux interfaces entre le microbiote et les muqueuses : de nombreux signaux constituent un véritable dialogue entre la flore et les cellules eucaryotes. La comparaison d'animaux axéniques avec des animaux conventionnels, conventionnalisés et gnotoxéniques a beaucoup contribué à l'étude de ce dialogue microbiote-hôte et de ses effets. Les rongeurs, rats et souris, ont été les principaux modèles utilisés mais, plus récemment, des études portant sur le poisson zèbre ont montré que le microbiote avait des effets très conservés sur le tractus digestif des vertébrés, malgré les grandes différences entre ces animaux (phylogénie, alimentation, environnement, composition de la flore).

L'épithélium forme la monocouche la plus externe de la muqueuse intestinale. Sous l'épithélium se trouve la lamina propria, un tissu conjonctif de soutien riche en cellules immunitaires et très vascularisé. Enfin, la dernière structure de la muqueuse, appelée muscularis mucosae, est constituée de muscles striés sous-jacents à la lamina propria. La muqueuse intestinale comporte des invaginations, les cryptes de Lieberkühn, près de la base desquelles se trouvent les cellules souches responsables du renouvellement de l'épithélium. La prolifération et la différenciation des cellules vers le fond des cryptes donnent naissance aux cellules de Paneth, particulièrement impliquées dans l'immunité innée via la sécrétion de substances antimicrobiennes (lysozyme, défensines). Lorsque les cellules souches prolifèrent en direction de l'épithélium de surface, elles donnent naissance à 3 lignées qui migrent vers l'extrémité de la villosité au fur et à mesure de leur différenciation. Les cellules caliciformes sécrètent le mucus, les cellules entéro-endocrines sécrètent diverses hormones (peptides, catécholamines) et les entérocytes absorbants, qui constituent la majorité des cellules épithéliales intestinales, absorbent les nutriments. Les cellules se divisent d'abord rapidement dans les cryptes puis cessent de se diviser et se différencient avant d'émerger à la surface épithéliale pour constituer les villosités. Au niveau du côlon, la surface de l'épithélium n'est pas agencée en villosités mais la prolifération et la différenciation des cellules au sein des cryptes sont similaires à celles présentes dans l'intestin grêle. Le microbiote module l'expression génique des cellules de l'hôte et stimule ainsi la prolifération des entérocytes, l'absorption et le métabolisme des nutriments, la captation de certains ions comme le fer, le magnésium ou le calcium, et améliore la fonction de barrière de l'épithélium (Hooper et al. 2001; Rawls et al. 2004). Ces effets diffèrent

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

selon les espèces bactériennes testées, et peuvent mettre en jeu seulement certains composants de la paroi ou nécessiter au contraire des bactéries vivantes. Le microbiote a aussi une influence sur le métabolisme énergétique, en particulier le métabolisme et le stockage lipidiques (Bäckhed et al. 2004). L'implantation de la flore résulte en une augmentation de la masse grasse corporelle de plus de 40 % conjointement à une diminution des prises alimentaires d'environ 30 %. Ce phénomène est lié à l'augmentation des taux de glucose et d'insuline sériques et de l'apport de SCFA qui stimulent la synthèse de triglycérides au niveau hépatique, ainsi qu'à la suppression de l'expression intestinale du gène *fiaf* qui code un inhibiteur de la lipoprotéine lipase. Le microbiote augmente donc à la fois la production hépatique de triglycérides et leur stockage par les adipocytes.

La maturation du système digestif est incomplète chez les animaux axéniques, ce qui indique que la flore joue un rôle important dans son développement. Outre une altération de l'activité enzymatique digestive, l'absence du microbiote engendre une moindre différenciation des cellules sécrétrices, c'est-à-dire des cellules caliciformes sécrétant le mucus et des cellules entéro-endocrines (Bates et al. 2006). Le profil de glycosylation des cellules est aussi modifié par le microbiote. Une activation de gènes codant des composants du mucus, notamment des mucines, a été observée au contact de diverses bactéries (Hooper et al. 2001; Mattar et al. 2002; Mack et al. 2003; Caballero-Franco et al. 2007). Ces glycoprotéines participent à la fonction de barrière de l'épithélium, mais servent également au microbiote de points d'ancrage et de substrats pour leur croissance. Par exemple *Bacteroides thetaiotaomicron*, l'une des espèces les plus représentées au niveau du côlon, stimule la synthèse par les entérocytes de glycanes fucosylés qu'elle est ensuite capable de métaboliser (Bry et al. 1996). Les métabolites issus de la dégradation des glycanes par le microbiote peuvent ainsi être absorbés par les entérocytes pour être utilisés par les cellules de l'hôte.

Le microbiote favorise par ailleurs le renouvellement de l'épithélium intestinal. Chez l'animal axénique, la prolifération des entérocytes est réduite et la durée du cycle cellulaire de ces cellules est augmentée (Alam et al. 1994). De plus, le microbiote stimule l'angiogénèse par l'intermédiaire des cellules de Paneth ce qui permet le développement de la microvascularisation des villosités intestinales (Stappenbeck et al. 2002). La vascularisation de la lamina propria au niveau des villosités et sous l'épithélium de surface est très importante, car ce sont ces capillaires sanguins qui prennent en charge les nutriments absorbés jusqu'à la circulation générale, et donc vers l'ensemble des organes de l'hôte. Le microbiote agit aussi sur la couche la plus profonde de la muqueuse puisqu'il a été montré qu'il jouait un rôle dans la régulation de la motilité digestive (Husebye et al. 2001; Bates et al. 2006). L'influence de la flore sur cette fonction s'est avérée très variable selon les espèces microbiennes testées et le modèle animal employé. Diverses origines à la modulation de l'activité des muscles striés de la muqueuse sont envisageables. Il pourrait s'agir d'un effet direct sur les myocytes ou d'une action via le système nerveux entérique, et les molécules responsables de ces effets pourraient être produites par les micro-organismes (NO, polyamines, mélatonine, H_2S, etc.), ou en réponse à la flore par les cellules entéro-endocrines, qui sécrètent notamment de la sérotonine (Bates et al. 2006; Bär et al. 2009; Forsythe et al. 2010).

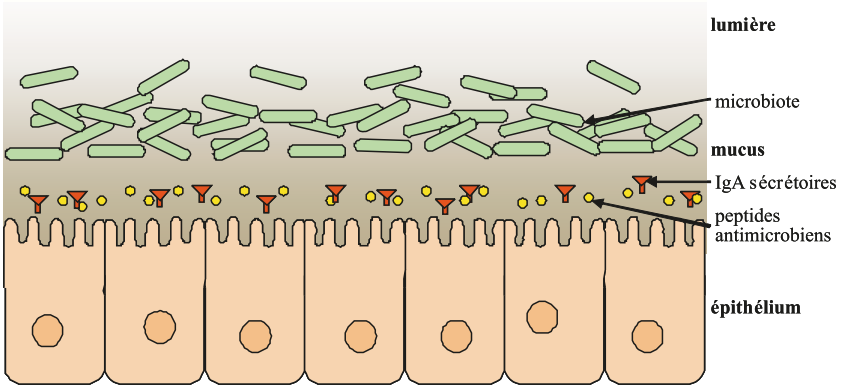
Protection et immunité

La simple couche de cellules épithéliales recouvrant l'organisme n'est séparée de l'environnement extérieur que par son microbiote et quelques sécrétions telles que le mucus (fig. 3). Ces 2 éléments participent à la protection de l'hôte contre les traumatismes, les acides, les enzymes, les substances irritantes ou nocives et les agents pathogènes. Le microbiote participe à la fonction de barrière de l'épithélium de plusieurs manières. Tout d'abord, il empêche la colonisation par les micro-organismes exogènes pathogènes par un phénomène d'exclusion compétitive. Les bactéries exogènes doivent en effet trouver un site d'adhésion propice et suffisamment approvisionné en sources de carbone et d'énergie pour s'implanter, ce qui est compromis en présence de la flore qui occupe déjà l'ensemble des niches écologiques. De plus, les membres du microbiote produisent un certain nombre de substances antimicrobiennes comme des bactériocines, des antibiotiques ou du peroxyde d'hydrogène. Le microbiote limite aussi la survie d'autres micro-organismes en modifiant les conditions physico-chimiques du milieu, par exemple en diminuant le potentiel redox et en éliminant l'oxygène au niveau iléo-caecal, ou en libérant du lactate maintenant un pH acide dans le vagin.

Le mucus est majoritairement constitué de mucines et de substances antimicrobiennes telles que le lysozyme, les immunoglobulines A (IgA) sécrétoires ou les défensines. Le mucus recouvre en particulier les muqueuses respiratoire, gastrique, intestinale et vaginale qu'il protège et lubrifie. Les mucines sont des glycoprotéines qui peuvent être sécrétées par les cellules ou rester liées à la face externe de leur membrane plasmique. Il existe plus de 20 gènes codant des mucines chez l'humain. Elles sont produites par une grande variété d'épithélia et participent à la formation non seulement de mucus mais aussi d'autres sécrétions des muqueuses. On trouve par exemple des mucines dans la salive et les larmes. Au niveau intestinal, elles entrent dans la composition du mucus et sont produites par les cellules caliciformes. La composition du mucus en mucines est régulée par le microbiote à la fois via la stimulation de la différenciation des cellules caliciformes qui les produisent et via la modification de leurs niveaux de synthèse et de sécrétion par ces mêmes cellules (Deplancke et Gaskins 2001). Les mucines servent de barrière physique entre l'épithélium et les bactéries (Swidsinski et al. 2007). Elles piègent les micro-organismes grâce à la viscosité du réseau qu'elles forment et à leurs résidus glycosylés sur lesquels les bactéries se fixent par l'intermédiaire d'adhésines. Une partie des micro-organismes fixés au mucus est d'ailleurs régulièrement éliminée avec le mucus flottant sous l'effet du passage du bol alimentaire dans le tube digestif ou sous l'action de l'épithélium cilié dans les voies respiratoires.

Le mucus possède également une activité antimicrobienne importante grâce à diverses molécules sécrétées par les cellules de la muqueuse, notamment les cellules épithéliales (Meyer-Hoffert et al. 2008). Au niveau intestinal, ce sont essentiellement les cellules de Paneth qui sécrètent ces antimicrobiens par le biais de leurs granules sécrétoires, dont les α-défensines sont les composants majoritaires. Ce sont des

Fig. 3. Schéma de la surface de l'épithélium intestinal. L'épithélium intestinal est constitué d'une monocouche de cellules épithéliales. Il est recouvert d'une couche de mucus qui le sépare du contenu intestinal présent dans la lumière. Le mucus protège les cellules des traumatismes, des substances nocives (acides, enzymes, sels biliaires) et des agents pathogènes. Il contient des peptides antimicrobiens (lysozyme, lactoferrine, défensines, Reg3γ, etc.) et des immunoglobulines A (IgA) sécrétoires produites par l'organisme qui empêchent les micro-organismes d'atteindre l'épithélium. Cette zone contenant des concentrations élevées d'antimicrobiens sépare l'épithélium du microbiote, qui est également associé au mucus. La flore participe à la fonction de barrière en occupant les niches écologiques et en libérant des substances antimicrobiennes (bactériocines, H_2O_2).



peptides antimicrobiens dont la production est constitutive, y compris chez le fœtus ou l'animal axénique. Celle-ci semble dépendre surtout de la maturation et du nombre de cellules de Paneth mais ne pas nécessiter la présence du microbiote. Cependant la flore, en particulier via certains composants des parois bactériennes, agirait en stimulant l'exocytose des granules sécrétoires contenant ces molécules antimicrobiennes dans la lumière (Ayabe et al. 2000). Une stimulation de la production de certaines autres substances bactéricides en réponse à la présence du microbiote a été mise en évidence notamment pour l'angiogénine Ang4, la lectine Reg3γ ou la phospholipase sécrétoire A2 (Hooper et al. 2003; Rawls et al. 2004; Cash et al. 2006; Karlsson et al. 2008).

Le microbiote participe aussi à la défense de l'organisme en favorisant le maintien de l'intégrité de la couche de cellules épithéliales recouvrant les muqueuses. Dans les conditions physiologiques, la flore régule la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales et leur apporte des substrats adaptés comme les SCFA. Mais le microbiote intervient en outre en limitant la sensibilité des épithélia aux lésions et en stimulant leur réparation lorsqu'elles ont subi un dommage (Rakoff-Nahoum et al. 2004; Shaykhiev et al. 2008). L'homéostasie épithéliale dépend de la reconnaissance du microbiote par les récepteurs Toll-like (« Toll-like receptors », TLRs) ou, à défaut, peut être restaurée par l'apport de composants bactériens reconnus par ces récepteurs comme le lipopolysaccharide (LPS), l'acide lipoteichoïque (LTA) ou la flagelline. Cette reconnaissance du microbiote par les TLRs est à l'origine d'une limitation de la prolifération des cellules épithéliales et de la production de molécules cytoprotectrices dans les conditions basales. Après une lésion des tissus, la prolifération des cellules et la synthèse des agents cytoprotecteurs sont stimulées par cette même voie des TLRs.

L'interaction avec le microbiote est complexe, car les muqueuses sont en contact permanent avec des milliards de micro-organismes : le système immunitaire doit éviter qu'ils ne pénètrent dans les tissus, tout en limitant son action pour ne pas provoquer d'inflammation excessive délétère. L'organisme hôte doit donc développer une tolérance au microbiote, de même qu'aux antigènes alimentaires. Les mécanismes permettant au système immunitaire de différencier les pathogènes des bactéries du microbiote et de réagir en conséquence sont encore mal connus. Le système immunitaire périphérique comporte des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses appelés MALT (« mucosa-associated lymphoid tissue »); dans le cas de la muqueuse intestinale, ces tissus sont dénommés GALT (« gut-associated lymphoid tissue »). Le GALT est constitué de plaques de Peyer, de follicules lymphoïdes isolés et de lymphocytes disséminés inclus dans la lamina propria. Les plaques de Peyer sont constituées d'un dôme sous-épithélial riche en cellules dendritiques, en lymphocytes B agencés en follicules B comportant des centres germinatifs, et en lymphocytes T dans les régions parafolliculaires. Ce dôme est surmonté au niveau de l'épithélium par des cellules épithéliales particulières, les cellules M, qui endocytent les antigènes de la lumière intestinale à leur pôle apical et les transfèrent intacts jusqu'aux cellules dendritiques situées au niveau de leur pôle basal. Les cellules dendritiques présentent ensuite les antigènes apprêtés aux lymphocytes B qui migrent alors dans la circulation générale en se différenciant, et gagnent la lamina propria pour devenir des plasmocytes matures sécrétant des IgA. Les cellules immunitaires disséminées dans la lamina propria sont surtout des plasmocytes produisant les IgA sécrétoires, ainsi que des lymphocytes B et T, des cellules NK, des macrophages et des cellules dendritiques. Certaines de ces cellules peuvent s'intercaler dans l'épithélium, en particulier les cellules dendritiques qui sont capables d'internaliser les bactéries dans la lumière en émettant des dendrites traversant l'épithélium (Rescigno et al. 2001). Les ganglions lymphatiques mésentériques qui drainent la muqueuse intestinale sont également considérés comme appartenant au GALT. Le microbiote participe au développement du GALT. Les animaux axéniques ont un nombre réduit de plaques de Peyer, et ces structures sont hypoplasiques : elles contiennent moins de cellules M et de lymphocytes, ont peu

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

de centres germinatifs, mais sont riches en cellules dendritiques immatures (Yamanaka et al. 2003). La lamina propria des animaux axéniques est également appauvrie en lymphocytes T CD4+ et surtout en plasmocytes sécréteurs d'IgA (Macpherson et Harris 2004). Le microbiote module aussi le développement des populations de lymphocytes intra-épithéliaux, comme en témoigne leur nombre réduit (TCRαβ) ou leur absence d'activité (TCRγδ) chez l'animal axénique (Lefrancois et Goodman 1989; Helgeland et al. 1997). Le microbiote est également nécessaire à la formation et la maturation des follicules lymphoïdes isolés (Bouskra et al. 2008). L'axénie se traduit par un défaut de structure des zones B et T et une réduction du nombre de cellules, notamment des lymphocytes T CD4+, dans la rate et les ganglions lymphatiques, ce qui montre que le microbiote participe au développement des organes et tissus lymphoïdes secondaires dans leur ensemble et pas uniquement du GALT (Macpherson et Harris 2004; Mazmanian et al. 2005; Hrncir et al. 2008). Ce rôle de la flore s'illustre en outre sur les réponses humorales systémiques chez les animaux axéniques, qui présentent en comparaison d'animaux conventionnels une forte diminution des niveaux sériques d'IgA et d'IgG et répondent à un challenge antigénique par une forte réponse IgG antigène spécifique mais une faible production d'IgG polyclonaux non spécifiques (Macpherson et Harris 2004).

Le microbiote n'exerce pas seulement une activité de stimulation vis-à-vis du système immunitaire des muqueuses et de son développement, il permet aussi d'éviter les réponses immunitaires excessives à l'environnement de l'hôte tout au long de sa vie. Cet effet vient en partie des propriétés particulières du GALT, qui empêche localement la pénétration des bactéries sans pour autant amplifier les réactions immunitaires ni faire intervenir de réponses au niveau systémique. Par exemple, les macrophages intestinaux subépithéliaux phagocytent les bactéries qui franchissent la barrière épithéliale mais ne produisent pas TREM-1, une protéine amplifiant la réponse inflammatoire pourtant synthétisée par la majorité des monocytes dans le reste de l'organisme (Schenk et al. 2005). Par ailleurs, les cellules dendritiques internalisant des bactéries commensales au niveau des plaques de Peyer ne migrent pas au-delà des ganglions mésentériques, et les lymphocytes B et T qu'elles activent se disséminent uniquement dans le GALT (Macpherson et al. 2005). Les cellules dendritiques de la lamina propria ou des follicules lymphoïdes isolés captant les bactéries dans la lumière grâce à l'émission de dendrites sont aussi confinées dans le GALT.

Les principaux mécanismes impliqués dans la régulation des réponses immunitaires par le microbiote sont probablement l'interaction avec les cellules épithéliales et la stimulation de la différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes T régulateurs (Treg). Les cellules épithéliales intestinales disposent d'une part de récepteurs reconnaissant des composants microbiens et peuvent d'autre part communiquer avec le système immunitaire par l'intermédiaire de chimiokines et de cytokines, voire lui présenter directement des antigènes. Les cellules épithéliales peuvent ainsi reconnaître différentes structures des micro-organismes par l'intermédiaire des TLRs et des récepteurs NOD (« nucleotide-binding oligomerization domain ») (tableau 1). L'interaction du microbiote avec le système immunitaire semble se faire essentiellement par l'intermédiaire des cellules épithéliales intestinales, et diverses études ont montré que l'impact des bactéries sur la réponse immunitaire était lié à leur reconnaissance par les cellules stromales plutôt que par les cellules myéloïdes (Bouskra et al. 2008; Fritz et al. 2008). Les cellules épithéliales sont en effet capables de produire diverses chimiokines en réponse aux bactéries et d'induire ou non une activation des cellules dendritiques sous-jacentes (Zoumpopoulou et al. 2009). Un des mécanismes participant probablement à la régulation de la réponse immunitaire par le microbiote via les cellules épithéliales est l'inhibition de la voie pro-inflammatoire NF-κB, activée par les TLRs, par une stimulation de TLR9 spécifiquement au pôle apical des cellules polarisées (Lee et al. 2006).

Les lymphocytes T régulateurs sont largement impliqués dans les phénomènes de tolérance immunitaire, et le microbiote est en partie responsable du développement de populations de Treg fonctionnels (Östman et al. 2006). Les Treg sont également appelés lymphocytes T suppresseurs, car ils sont capables d'atténuer la réponse immunitaire, notamment en supprimant la réponse adaptative cellulaire et son induction, mais aussi l'inflammation provoquée par les cellules phagocytaires. Les sous-populations principalement décrites agissent essentiellement en produisant des cytokines anti-inflammatoires TGFβ ou IL-10. La différenciation des lymphocytes en Treg peut être induite dans le GALT en présence d'antigènes et de ces mêmes cytokines (Izcue et al. 2006). Cette induction dépend également de la présence de différents autres facteurs, en particulier l'acide rétinoïque qui est produit par les cellules dendritiques intestinales (Sun et al. 2007). Il a été montré in vitro que des cellules dendritiques stimulées par un ligand TLR9 induisaient la formation de Treg, ce qui confirme l'importance probable de ce récepteur dans le rôle immunorégulateur joué par le microbiote (Moseman et al. 2004).

Microbiote et pathologies

L'influence considérable du microbiote sur la santé de l'hôte est soulignée par le nombre croissant de pathologies qui apparaissent comme liées à des modifications de sa composition, c'est-à-dire aux dysbioses. L'étude de l'étiologie de ces affections est complexe, car elles ont souvent une origine multifactorielle impliquant l'environnement, l'alimentation, le génotype, le système immunitaire en plus de la composition du microbiote.

Le rôle le plus évident du microbiote est de participer à la fonction de barrière des muqueuses, d'où une susceptibilité accrue de l'hôte aux infections lorsque sa composition est altérée, par exemple suite à une antibiothérapie. Ces infections sont dues à une permissivité accrue aux pathogènes ou à la prolifération excessive de micro-organismes de la flore suite au déséquilibre des autres populations microbiennes. Les plus fréquentes sont probablement les diarrhées infectieuses et les candidoses. Le degré de gravité et le site d'infection varient considérablement en fonction des pathogènes en cause, du niveau d'altération du microbiote et du statut immunitaire de l'hôte. Ces infections sont dans la plupart des cas aiguës et localisées, mais elles peuvent récidiver si la dysbiose persiste. La récurrence des infections urogénitales a par exemple été associée à des modifications durables de la flore vaginale avec une population de lactobacilles, en

Tableau 1. Principaux récepteurs cellulaires des substances microbiennes.

Récepteur	Principaux ligands connus	Principaux micro-organismes associés
TLR1	Triacyl des lipoprotéines	Bactéries, mycobactéries
TLR2	Lipoprotéines, lipopeptides	Nombreux pathogènes
	Peptidoglycane, acides lipoteichoïques	Bactéries gram positif
	Lipoarabinomannane	Mycobactéries
TLR3	ARN double brin	Virus
TLR4	Lipopolysaccharide	Bactéries gram positif
	Glycoprotéines (ex : RSV, MMTV)	Virus
TLR5	Flagelline	Bactéries
TLR6	Diacyl des lipoprotéines	Mycoplasmes
TLR7	ARN simple brin	Virus
TLR8	ARN simple brin	Virus
TLR9	ADN CpG non méthylés	Bactéries, virus
TLR10	Inconnu	?
NOD1	Acide meso-diaminopimélique	Bactéries gram négatif
NOD2	Muramyl dipeptide	Bactéries

Nota : TLR, « Toll-like receptors »; NOD, « nucleotide-binding oligomerization domain »; RSV, « *Respiratory syncitial virus* »; MMTV, « *Mouse mammary tumor virus* ».

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

particulier ceux produisant du H_2O_2, diminuée (Schwebke et Weiss 2001; Verstraelen 2008).

L'altération des fonctions métaboliques exercées par le microbiote peut induire diverses pathologies. Ainsi, une diminution de la dégradation des molécules osmotiquement actives dans l'intestin a pour conséquence une diarrhée fonctionnelle, comme c'est par exemple le cas dans la plupart des diarrhées induites par les antibiotiques. Des dysfonctions du microbiote sont aussi associées aux troubles fonctionnels intestinaux tels que le syndrome du côlon irritable, notamment aux symptômes liés à la production de gaz comme le ballonnement et les flatulences (Parkes et al. 2008). Une altération de la flore dégradant l'oxalate peut être à l'origine d'une hyperoxalurie et de calculs rénaux (Sakhaee 2009). Un défaut du métabolisme du cholestérol par le microbiote peut entraîner une hypercholestérolémie (Sekimoto et al. 1983). Une production excessive d'acides biliaires secondaires, exclusivement synthétisés par le microbiote, peut quant à elle se traduire par des cholélithiases biliaires et pourrait être liée à un risque accru de cancer du côlon (Ridlon et al. 2006). Des liens entre dysbiose et risque cancéreux ont également été observés au niveau d'autres organes (poumon, foie, vessie, etc.) et pourraient être dus, entre autres, à une production accrue ou une dégradation réduite de carcinogènes par le microbiote. Des modifications de la composition du microbiote semblent également être impliquées dans l'obésité. Ces données ont été observées grâce à un modèle murin d'obésité, les souris *ob*/*ob*, dont le gène codant la leptine est muté. Ces expériences ont non seulement montré que les souris obèses présentent une augmentation du ratio firmicutes/bacteroidetes corrélée à une production plus élevée de SCFA et un métabolisme énergétique accru, mais aussi que le transfert de la flore des souris *ob*/*ob* à des souris axéniques sauvages transmet le phénotype obèse (Ley et al. 2005; Turnbaugh et al. 2006). Le même type de déséquilibre du microbiote et de métabolisme des SCFA a été mis en évidence chez l'humain et s'est avéré réversible suite à une perte de poids (Ley et al. 2006; Duncan et al. 2007). De telles dysbioses pourraient être induites dès la première année de la vie, lors de l'implantation du microbiote, au cours de laquelle une flore plus riche en *Staphylococcus aureus* et appauvrie en bifidobactéries a été observée chez des enfants plusieurs années avant qu'ils ne présentent un surpoids (Kalliomäki et al. 2008). L'obésité est généralement associée à un risque de diabète en raison d'une insulino-résistance. Les modifications du microbiote semblent jouer un rôle déterminant dans cet aspect de l'obésité, puisque des animaux axéniques ou subissant une antibiothérapie sont protégés de l'insulino-résistance induite par un régime riche en lipides (Bäckhed et al. 2007; Cani et al. 2007).

Le microbiote, et principalement son implantation au cours des premiers mois de la vie, semble avoir un rôle prépondérant dans le développement des allergies et de l'atopie. L'atopie est une prédisposition à développer des allergies et des hypersensibilités, qui sont elles-mêmes des réactions immunitaires inappropriées à des allergènes de l'environnement et de l'alimentation. Cette réaction est due à l'activation anormale de lymphocytes T naïfs en lymphocytes Th2, ces derniers provoquant la différenciation de lymphocytes B en plasmocytes producteurs d'IgE spécifiques de l'antigène en cause. Des susceptibilités génétiques sont impliquées dans ces pathologies mais ne suffisent pas à expliquer l'augmentation de leur incidence dans les pays industrialisés. L'exposition diminuée ou retardée à certains micro-organismes pourrait être à l'origine de la dérégulation du système immunitaire : c'est la « théorie de l'hygiène ». Ce postulat a été corrélé par de nombreuses études épidémiologiques concernant toutes sortes de micro-organismes, des mycobactéries aux helminthes. Les hypothèses les plus populaires expliquant ce phénomène sont l'induction par les micro-organismes d'une réponse Th1 réprimant la réponse Th2 (vers laquelle l'immunité est naturellement biaisée à la naissance) et la stimulation de la différenciation de lymphocytes Treg concomitante à la présence de l'antigène. La première de ces théories perd aujourd'hui du terrain suite à l'observation de l'accroissement parallèle de l'incidence des allergies et des maladies auto-immunes (réponse Th1 excessive), de l'absence d'augmentation des manifestations allergiques chez les personnes ayant une réponse Th1 altérée en raison d'une immunodéficience génétique, et de l'effet pro-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

tecteur vis-à-vis des allergies des infections helminthiques, qui élicitent pourtant des réponses Th2 (Macpherson et Harris 2004). De nombreuses études ont montré que les enfants allergiques avaient généralement une flore moins abondante en bifidobactéries et plus riche en *Escherichia coli* que les enfants non allergiques (Penders et al. 2007). De façon concomitante, des diminutions de la population de lactobacilles ont souvent été observées (Björkstén et al. 1999; Penders et al. 2007; Sjögren et al. 2009). Il semble que l'allaitement pendant les premiers mois de la vie réduise le risque d'atopie et d'allergie en stimulant essentiellement l'implantation des bifidobactéries. Ces effets sont controversés en raison des discordances entre les diverses études, dont certaines ont même montré que le risque atopique augmentait avec la durée d'allaitement. Ces derniers résultats pourraient refléter un biais dans ces études, les mères ayant tendance à prolonger l'allaitement lorsque le nourrisson présente des manifestations allergiques. Le lait maternel a un effet bifidogène qui se traduit par une flore enrichie en bifidobactéries chez l'enfant nourri au sein, et contient de surcroît des bifidobactéries et des lactobacilles. La présence d'une fratrie semble aussi être associée à une diminution du risque atopique, et il a été montré par ailleurs qu'elle était liée à une augmentation des populations de bifidobactéries chez les nourrissons (Penders et al. 2006).

Les MICI comme la maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique sont caractérisées par des inflammations aberrantes des muqueuses évoluant par poussées. Les lésions inflammatoires affectent principalement l'iléon distal et le côlon dans le cas de la maladie de Crohn et le côlon distal et le rectum dans la rectocolite hémorragique. Ces pathologies ont des composantes multiples : le système immunitaire dérégulé des patients, souvent génétiquement prédisposés, exerce un effet néfaste vis-à-vis du microbiote dont la composition est altérée sous l'influence de divers facteurs, notamment environnementaux. Les modifications de la composition du microbiote ne sont pas limitées aux zones ulcérées, mais sont également retrouvées à distance des lésions inégalement réparties dans la muqueuse (Vasquez et al. 2007). Le rôle du microbiote dans le déclenchement de ces pathologies n'est pas avéré, mais diverses observations appuient cette hypothèse. D'une part, la plupart des modèles animaux de colites inflammatoires sont protégés de la maladie lorsqu'ils sont maintenus en conditions axéniques. D'autre part, il a été montré que le transfert de la flore de souris mutantes, développant spontanément une colite ulcéreuse, à des souris sauvages axéniques induisait le développement de la pathologie chez ces dernières (Garrett et al. 2007). Ces phénomènes ne peuvent donc pas être expliqués par une simple susceptibilité génétique. Certains facteurs prédisposants ont pourtant été mis en évidence, le plus connu étant l'implication dans la maladie de Crohn de mutations du gène *NOD2* codant un récepteur au muramyl dipeptide présent dans le peptidoglycane des bactéries. Ces mutations ne sont cependant pas présentes chez tous les patients. Un point jouant en faveur d'une étiologie microbienne plutôt que génétique est l'existence de discordances vis-à-vis de la maladie entre des jumeaux monozygotes et surtout la différence de composition du microbiote anormalement élevée, comparée à des jumeaux sains, observée entre eux (Dicksved et al. 2008; Willing et al. 2009). Les principales modifications de la composition de la flore survenant chez les patients atteints de MICI sont une diminution de la diversité bactérienne, une réduction du nombre de Clostridiales et une augmentation de la population d'*Escherichia coli*. Parmi les Clostridiales, les plus affectées sont en particulier le groupe *Clostridium coccoides* dans la rectocolite hémorragique et le groupe *Clostridium leptum* dans la maladie de Crohn (Sokol et al. 2006). Une déplétion singulière en *Faecalibacterium prausnitzii*, qui appartient au groupe *Clostridium leptum*, est aussi étroitement associée à ces pathologies (Sokol et al. 2008, 2009; Willing et al. 2009).

La question de la cause des dysbioses reste posée : il a été montré que le génotype ne pouvait à lui seul conditionner les modifications de la composition de la flore, quant à la composante immunitaire, elle paraît ne pas en être une cause mais plus vraisemblablement une conséquence. Les facteurs environnementaux, surtout ceux rencontrés au cours de l'implantation de la flore, pourraient bien sûr jouer un rôle prépondérant, mais les études réalisées sur des jumeaux monozygotes discordants atténuent toutefois l'importance de leur impact. Il reste donc à déterminer quels autres facteurs seraient susceptibles de modifier considérablement la flore. Dans cette optique, les bactériophages présents au sein du microbiote pourraient être de bons candidats. Une étude récente a en effet montré que la population de bactériophages était considérablement augmentée chez les patients atteints de maladie de Crohn, aussi bien dans les zones ulcérées que dans les régions saines de la muqueuse (Lepage et al. 2008). Le fait que les modifications du microbiote dans cette maladie touchent à la fois les zones saines et ulcérées, ainsi que la capacité des bactériophages à réguler les populations bactériennes dans divers écosystèmes, laissent penser que ces virus pourraient être impliqués dans l'apparition de ces dysbioses. Cette hypothèse attrayante ouvre de nouvelles voies d'investigations; cependant elle ne résout pas réellement le problème de la cause des dysbioses mais soulève plutôt une autre question : quels facteurs induisent la prolifération des bactériophages dans l'intestin ?

Les probiotiques

Dès 1906, Tissier avait préconisé l'administration de micro-organismes bénéfiques dans le traitement des diarrhées infantiles, après avoir observé le caractère minoritaire des bifidobactéries chez les enfants malades et leur prépondérance chez les nourrissons nourris au sein et bien portants (Tissier 1906). Cependant, on attribue généralement la paternité du concept de probiotique à Elie Metchnikoff, qui a largement contribué à sa popularisation. Metchnikoff postulait que des réactions délétères étaient dues à des bactéries protéolytiques putréfiantes localisées dans le côlon. « L'autointoxication » résultant de cette « putréfaction intestinale » était à l'origine de maladies, de phénomènes de vieillissement et d'une réduction de l'espérance de vie. Metchnikoff suggéra que la flore intestinale était conditionnée par l'alimentation, et qu'il était donc possible de remplacer les microbes nocifs par des microbes utiles en adoptant certaines mesures diététiques. Après avoir observé, d'une part, que la fermentation lactique préservait les aliments de la putréfaction et, d'autre part, l'extrême longévité d'une population

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

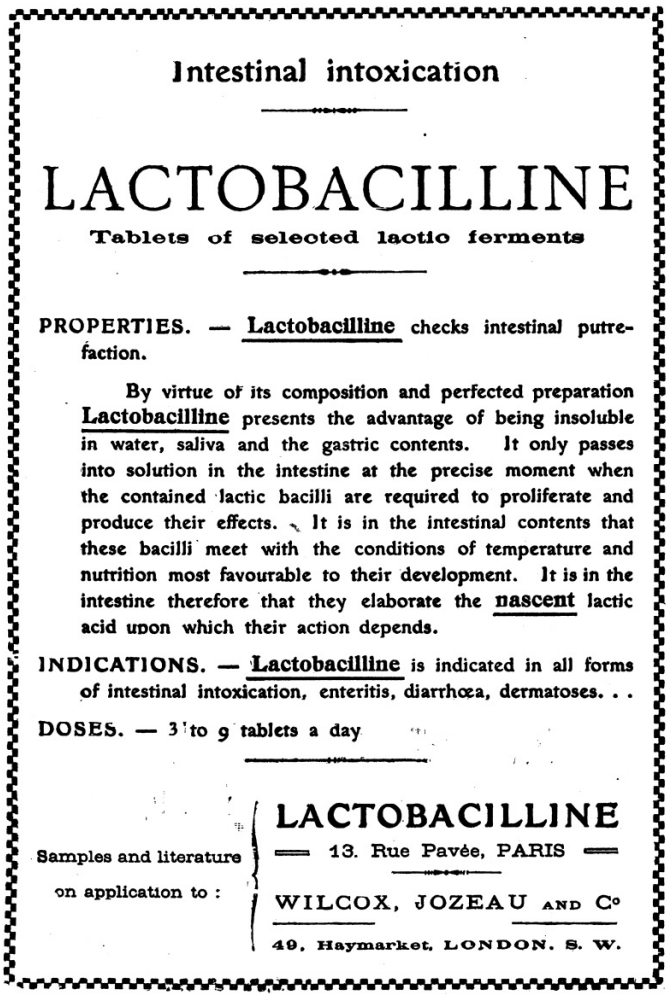
de paysans bulgares consommant de grandes quantités de lait fermenté, il en déduisit que l'apport de bactéries lactiques pouvait améliorer la santé et augmenter la durée de vie (Metchnikoff 1907). Diverses expériences appuyaient cette théorie en montrant que des ferments lactiques, de même que l'acide lactique, réduisaient le phénomène de « putréfaction intestinale »; des bacilles semblaient même capables de persister dans le microbiote plusieurs semaines. Certaines études avaient également montré que les bénéfices liés à l'administration de « bacille bulgare » (probablement un isolat de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) n'étaient pas dus uniquement à la production d'acide par cette souche, puisque la bactérie conférait des effets supérieurs à ceux d'une dose équivalente d'acide lactique.

La théorie de Metchnikoff a dès lors provoqué un engouement pour les laits fermentés de la part de la communauté scientifique aussi bien que du public, et les premiers ferments ont aussitôt été commercialisés. Le plus ancien est probablement la Lactobacilline, lancée en 1906 par la société Le Ferment à Paris, « seul fournisseur du Professeur Metchnikoff » (fig. 4), mais on peut également citer d'autres produits de la même époque tels que Fermenlactyl, Sauerin, Trilactine ou Biolactyl. Certaines études ayant montré par la suite que le « bacille bulgare » était en fait incapable de survivre dans le tube digestif, les chercheurs se sont alors attachés à trouver d'autres bactéries lactiques plus résistantes au passage dans le tractus gastro-intestinal. Des souches de *Lactobacillus acidophilus* et de *Lactobacillus casei* ont ainsi été étudiées et utilisées notamment dans le traitement de la diarrhée. Minoru Shirota, ayant isolé en 1930 une bactérie lactique issue de fèces humaines capable de survivre au processus digestif, la commercialisa sous la forme d'une boisson lactée fermentée. Cette boisson, appelée Yakult, est encore produite aujourd'hui à partir de la même souche bactérienne que lors de sa création en 1935, *Lactobacillus casei* Shirota.

Alfred Nissle eut pour la première fois l'idée d'administrer des bactéries ne produisant pas d'acide lactique une dizaine d'années plus tard. Nissle étudiait la flore fécale de soldats de la Première Guerre Mondiale n'ayant contracté aucune infection intestinale ou diarrhée, qui affectaient pourtant gravement les troupes. Il comparait alors l'antagonisme des bactéries ainsi isolées, c'est-à-dire leur capacité à inhiber la croissance de pathogènes comme le germe de la typhoïde (Nissle 1916). Cette méthode lui a permis d'isoler une souche particulièrement efficace d'*Escherichia coli* qu'il utilisa avec succès dans le traitement d'infections intestinales aiguës telles que les salmonelloses et les shigelloses et qu'il commercialisa en 1917. Le Mutaflor dont le principe actif est la souche *Escherichia coli* Nissle 1917, existe encore de nos jours.

Un autre exemple de probiotique n'appartenant pas aux bactéries lactiques et toujours largement utilisé à l'heure actuelle est la levure *Saccharomyces boulardii*, isolée en 1923. Le microbiologiste Henri Boulard, séjournant en Indochine, observa lors d'une épidémie de choléra que les populations autochtones utilisaient la peau de lychee et de mangoustan comme médicament anti-diarrhéique, en la mâchant ou sous forme de boisson infusée. L'étude de la peau de ces fruits exotiques lui permit d'en mettre en évidence le composé actif, une levure tropicale à laquelle il donna son nom.

Fig. 4. Publicité vantant les propriétés thérapeutiques de la Lactobacilline parue dans l'édition du 6 décembre 1919 de *The British Medical Journal*. L'ancêtre des probiotiques, le bacille bulgare du professeur Metchnikoff, a été commercialisé sous le nom de Lactobacilline dès 1906.



Il existe aujourd'hui une large gamme de produits probiotiques allant des produits laitiers (laits fermentés, yaourts, fromages) aux formes galéniques classiques (comprimés, gélules, poudres) en passant par des formes aussi diverses que les jus de fruits, les crèmes glacées, les chewing-gums ou la mayonnaise. Ces produits contiennent une seule souche ou au contraire un mélange de plusieurs probiotiques appartenant ou non au même genre microbien. Bien que d'autres genres soient également représentés, comme par exemple *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Propionibacterium* ou encore *Clostridium*, les souches probiotiques les plus fréquemment utilisées sont des bifidobactéries et des lactobacilles.

Définition

Le terme de probiotique a été construit à partir des mots grecs προ, préfixe signifiant « pour » ou « en faveur de », et βίος, désignant la vie. Probiotique signifie donc étymologiquement « en faveur de la vie », mais il a surtout été utilisé initialement comme l'antonyme d'antibiotique. Sa définition a ensuite largement évolué au fil du temps.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Bien que le concept de probiotique date du tout début du 20e siècle, il semble que le mot ait seulement été introduit en 1953 par Werner Kollath. Kollath désignait ainsi l'ensemble des suppléments organiques et inorganiques (enzymes, vitamines, composés aromatiques, etc.) permettant de restaurer la santé de patients malnutris (Kollath 1953). La nette opposition faite entre le terme « probiotiques » et les antibiotiques, qualifiés de néfastes, inclut implicitement dans cette première définition les micro-organismes bénéfiques ou les substances produites par ceux-ci. L'année suivante, Ferdinand Vergin précise cet état de fait en décrivant les probiotiques comme l'exact contraire des antibiotiques : les patients sont privés de probiotiques essentiels par l'altération de la flore due aux antibiotiques (Vergin 1954). Hans Kolb introduit ensuite la notion de thérapie probiotique en 1955, en préconisant de prévenir les effets délétères des antibiotiques par l'administration de cultures de bactéries bénéfiques (Rusch 2002).

À partir de 1965, la définition de probiotique change radicalement sous l'impulsion de Lilly et Stillwell qui décrivent un probiotique comme une substance produite par un micro-organisme stimulant la croissance d'un autre micro-organisme (Lilly et Stillwell 1965). D'autres scientifiques ont par la suite repris ce concept de facteur stimulant la croissance bactérienne jusqu'à la définition proposée par Parker en 1974 d'organismes et de substances contribuant à l'équilibre de la flore microbienne intestinale (Parker 1974). Parker utilisait ce terme pour désigner des compléments alimentaires destinés à améliorer la santé des animaux. Roy Fuller a ensuite révisé la définition de Parker en supprimant le terme « substances », et les probiotiques sont devenus des compléments alimentaires microbiens vivants qui exercent une influence bénéfique sur leur hôte (humain ou animal) en améliorant son équilibre microbien intestinal (Fuller 1989, 1991). Havenaar et Huis In't Veld ont depuis étendu le concept à l'ensemble du microbiote et de ses effets bénéfiques, quelle que soit sa localisation dans l'organisme, en supprimant l'aspect « complément alimentaire » et en remplaçant « l'amélioration de l'équilibre de la flore intestinale » par celle des « propriétés de la flore microbienne » (Havenaar et Huis in't Veld 1992). Au cours des 10 années suivantes, de nombreuses définitions discordantes ont été employées : les probiotiques étaient parfois limités à une administration par voie orale, il pouvait s'agir non pas de cultures vivantes mais de préparations microbiennes (incluant micro-organismes tués, lysés, ou composants d'origine microbienne), leur effet pouvait être élargi au simple bénéfice sur la santé de l'hôte ou au contraire restreint à une modification de la flore (seulement intestinale ou dans son ensemble), occasionnellement additionnée d'une influence sur l'immunité ou la nutrition (Sanders 2003; Duflot 2004). Un consensus s'est donc avéré nécessaire, aussi bien d'un point de vue scientifique que pour la mise en place d'une réglementation, et il a permis d'aboutir à la définition actuelle : « *live microorganisms which when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host* » (FAO–WHO 2001, 2002; Reid et al. 2003).

Malgré tout, l'idée d'améliorer l'équilibre ou la fonction du microbiote n'a pas disparu et a donné naissance à la notion de prébiotique. Les prébiotiques sont des substances non digestibles qui produisent un effet physiologique bénéfique sur l'hôte en stimulant sélectivement la croissance ou l'activité d'un nombre limité de bactéries indigènes (Reid et al. 2003). Diverses définitions du terme de prébiotique existent, la plupart recoupant la définition des fibres alimentaires. Celle présentée ici n'est pas la plus consensuelle mais est pourtant l'une des plus larges, puisque l'activité de ces substances n'est pas restreinte à l'intestin ou au tractus gastro-intestinal et englobe donc implicitement toutes les muqueuses colonisées par le microbiote. Les prébiotiques sont non digestibles par l'humain mais fermentescibles par les bactéries. Ce sont généralement des oligosides dont les membres les plus connus sont 2 types de fructane : l'inuline et les fructo-oligosaccharides. Les populations ciblées sont souvent des genres bactériens de la flore supposés bénéfiques, le plus souvent les bifidobactéries et les lactobacilles. Certaines souches appartenant à ces 2 genres étant aussi des probiotiques, l'idée de les associer à des prébiotiques pour les administrer de façon concomitante a conduit au concept de symbiotique.

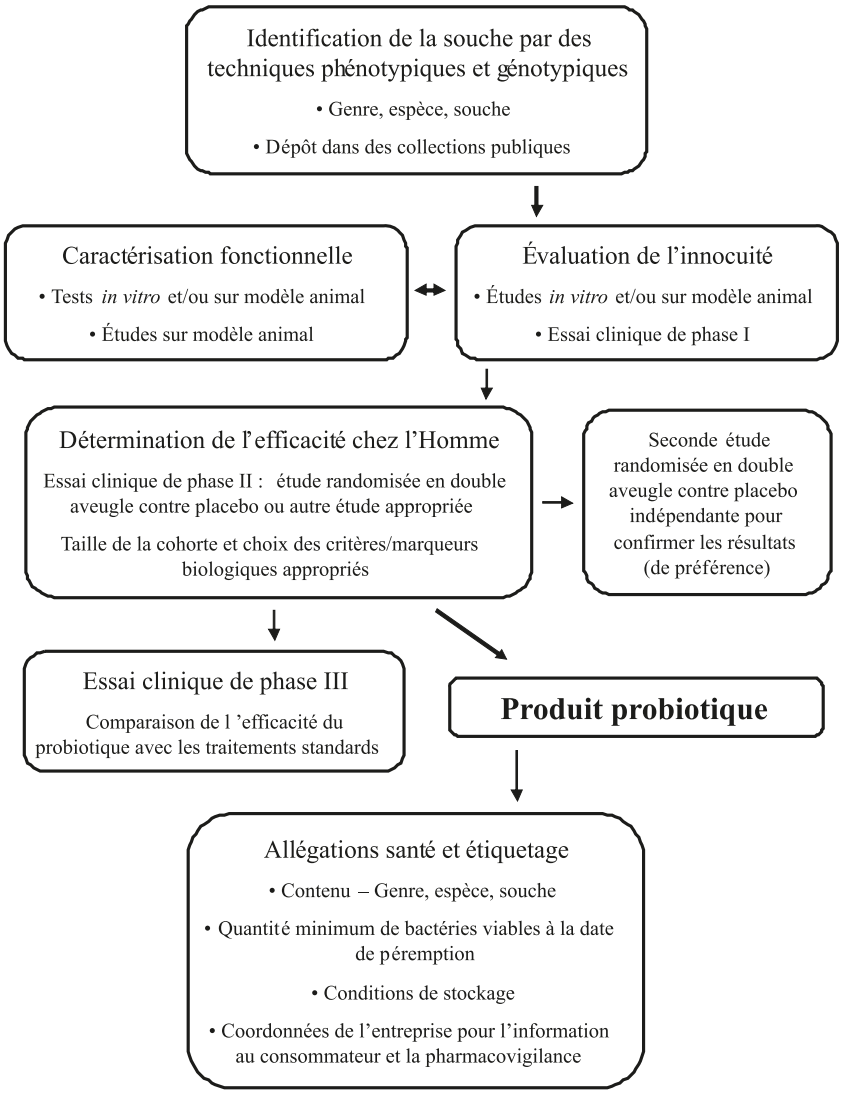
Caractéristiques

À quelques rares exceptions près disposant d'une AMM (autorisation de mise sur le marché), les probiotiques sont vus par les autorités réglementaires ni plus ni moins comme des denrées alimentaires pouvant bénéficier d'allégations de santé. Ils doivent pourtant désormais faire l'objet d'un dossier scientifique très complet, proche de celui constitué pour les médicaments (fig. 5). Étant donnés les bénéfices potentiels considérables de certains probiotiques dans le traitement et la prévention de diverses pathologies humaines, et ce avec peu ou pas d'effets indésirables, il est à déplorer qu'ils ne soient pas plus souvent considérés comme des produits de santé à part entière bénéficiant d'allégations thérapeutiques. De plus, leur classification en aliments restreint leur champ d'activité, puisque cela implique une utilisation exclusivement par voie orale. D'autres voies d'administration, que la définition actuelle des probiotiques inclut implicitement par l'emploi du terme « administrés » (et non « consommés »), sont ainsi éludées par les textes réglementaires. Même si certains points restent sujets à discussion, les caractéristiques qu'une souche bactérienne doit nécessairement posséder pour être qualifiée de probiotique découlent des recommandations et réglementations progressivement mises en place au cours de la dernière décennie, ainsi que de la définition validée par la Food and Agriculture Organization et l'Organisation Mondiale de la Santé. Avant de pouvoir être considérés comme des probiotiques et commercialisés comme tels, les micro-organismes doivent donc satisfaire à un ensemble de critères précis (FAO–WHO 2001, 2002; AFSSA 2005; Commission européenne 2006, 2008; EFSA 2007, 2008; Santé Canada 2009*a*, 2009*b*, 2009*c*).

Identité

Les propriétés probiotiques d'une souche lui sont spécifiques et ne peuvent en aucun cas être attribuées par extrapolation à d'autres souches du même genre ni de la même espèce. Il est donc indispensable d'identifier précisément et de façon aussi exhaustive que possible les souches ayant une activité probiotique. La plupart des probiotiques actuellement commercialisés appartiennent seulement à quelques espèces de bifidobactéries et de bactéries lactiques,

Fig. 5. Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques destinés à l'usage humain (FAO–WHO 2002).



essentiellement du genre *Lactobacillus*, avec 2 exceptions notables que sont *Escherichia coli* Nissle 1917 et la levure *Saccharomyces boulardii*. Plus récemment, plusieurs souches appartenant à des groupes bactériens différents des bactéries lactiques, pour la plupart isolées du microbiote humain, ont aussi montré des effets très prometteurs dans le traitement et la prévention de certaines pathologies in vitro et sur modèles animaux. La description d'une souche probiotique doit bien entendu inclure sa classification taxonomique (genre et espèce) et ses caractères morphologiques, culturaux et métaboliques, notamment son aptitude à fermenter les hydrates de carbone. Il est également intéressant de décrire l'origine du probiotique, puisque les souches isolées de la flore humaine entretiennent probablement des interactions plus étroites et spécifiques avec les cellules et le microbiote humains que des souches provenant d'autres environnements. L'activité probiotique étant souche-spécifique, il faut disposer de techniques suffisamment discriminantes pour distinguer un probiotique des souches qui lui sont taxonomiquement proches. Si le séquençage total du génome des souches probiotiques est souhaitable, il ne résout pas le problème de la mise en place d'un contrôle qualité régulier et fiable. Il est donc important d'établir une véritable carte d'identité de chaque probiotique, avec des techniques permettant des délais de réponse raisonnables. En plus d'une identification précise, il est recommandé de déposer les souches dans des collections publiques comme l'ATCC (« American Type Culture Collection ») afin qu'elles puissent être librement étudiées par la communauté scientifique (sans pour autant en autoriser un quelconque usage commercial).

Innocuité

Il est indispensable que les probiotiques destinés à une administration à l'humain aient auparavant démontré leur absence de pathogénicité. La recherche de gènes codant des facteurs de virulence déjà décrits dans des souches pathogènes du même genre et la détermination du profil de résistance aux antibiotiques de chaque probiotique potentiel paraissent indispensables. Les facteurs de virulence n'étant pas tous connus, l'absence de virulence des souches doit être confirmée par des tests complémentaires réalisés in vitro et sur modèle animal in vivo. La connaissance du profil de résistance aux antibiotiques des souches présente un double intérêt.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

D'une part, si malgré toutes les précautions prises le probiotique provoquait une infection, ce profil permettrait d'orienter rapidement le choix thérapeutique. D'autre part, les germes multi-résistants, en particulier ceux responsables d'infections nosocomiales, posent actuellement de graves problèmes en thérapeutique humaine. Il est donc important de s'assurer qu'aucune résistance présentée par le probiotique ne peut être transférée à d'autres souches bactériennes par l'intermédiaire d'éléments mobiles (transposons, plasmides).

Les éventuels effets délétères des souches doivent ensuite être évalués par des essais précliniques sur des cultures cellulaires in vitro et sur des modèles animaux. Ces tests ont pour but de s'assurer de l'absence d'effets toxiques, mutagènes ou carcinogènes sur les cellules et l'organisme dans son ensemble, y compris lors d'une administration aiguë ou chronique à fortes doses. Le probiotique doit ensuite faire l'objet d'un essai clinique de phase I, c'est-à-dire sur des volontaires sains. Cette étape permet d'évaluer la tolérance et l'innocuité du probiotique chez l'humain. Même en l'absence d'effets indésirables identifiés pour la souche par ces essais, il peut être souhaitable de spécifier des doses maximales à ne pas dépasser. Il est également recommandé de contre-indiquer l'administration du probiotique à certaines populations potentiellement à risque (femmes enceintes ou allaitantes, nourrisson, sujets âgés, immunodéprimés, etc.) en l'absence de tests permettant d'affirmer l'innocuité de la souche vis-à-vis de ces sujets.

Le choix de cribler de préférence des souches appartenant aux bifidobactéries et aux bactéries lactiques pour d'éventuelles activités probiotiques vient probablement en grande partie du prérequis essentiel qu'est l'absence de pathogénicité. Ces bactéries sont en effet présentes dans de nombreux aliments fermentés traditionnels consommés par les populations humains depuis des millénaires. De fait, à l'exception de certains genres et espèces qui font encore parfois débat comme le genre *Enterococcus*, la plupart des bifidobactéries et des bactéries lactiques sont considérées comme sans danger aucun pour l'humain. Pour ces groupes bactériens en particulier, mais aussi pour quelques autres genres de bactéries et de levures, certaines espèces se sont vues conférer un statut particulier de présomption d'innocuité reconnue en fonction de leur long historique d'utilisation chez l'être humain et de l'existence ou non de pathogènes en leur sein. Ainsi, le statut QPS (« qualified presumption of safety ») récemment créé est l'équivalent européen du statut GRAS (« generally recognised as safe ») existant déjà aux États-Unis. Les souches appartenant à des espèces n'ayant pas acquis l'un de ces statuts doivent subir une évaluation complète de leur innocuité. Au contraire, les souches dont l'identification taxonomique prouve qu'elles appartiennent à une espèce à laquelle ces statuts ont été conférés sont dispensées d'une partie, voire de la totalité des études citées ci-dessus (selon l'espèce), à l'exception du profil de résistance aux antibiotiques. La liste des espèces ayant ces statuts est régulièrement mise à jour et ré-évaluée en fonction de l'évolution des connaissances scientifiques.

La sécurité d'emploi des probiotiques doit aussi faire l'objet d'une surveillance permanente après leur mise sur le marché. Cette phase est l'équivalent des études cliniques de phase IV, aussi appelées pharmacovigilance, réalisées pour les médicaments. Dans ce cadre, des investigations doivent être menées pour confirmer ou infirmer l'implication des probiotiques dans l'apparition de toute pathologie, notamment infectieuse, pouvant être liée à leur administration, et en tirer les conclusions qui s'imposent quant à leur innocuité. En effet, le statut GRAS ou QPS des probiotiques ou la démonstration de leur absence de pathogénicité par des essais précliniques et cliniques ne signifient pas qu'ils soient totalement innoffensifs. Comme tous micro-organismes vivants, ce qu'ils sont par définition, ils peuvent avoir des effets délétères et plus particulièrement des complications infectieuses chez des sujets débilités. Des cas de bactériémies, et plus rarement d'endocardites, associées à tous types de bactéries lactiques et dans une moindre mesure de bifidobactéries ont ainsi été décrits, avec des conséquences pouvant parfois aller jusqu'au décès des patients (Snydman 2008). Les souches le plus souvent incriminées sont *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Saccharomyces boulardii*, ce qui n'est pas surprenant puisqu'elles sont aussi les plus largement utilisées et celles qui font l'objet du plus grand nombre d'études.

Il convient de mettre largement en perspective les données concernant les infections dues aux probiotiques, en premier lieu parce que leur incidence est extrêmement faible en comparaison du très grand nombre de personnes consommant régulièrement ces produits à travers le monde. De plus, lorsque des techniques de typage ont été appliquées, les pathogènes opportunistes impliqués se sont souvent révélés différents des souches probiotiques et, par conséquent, vraisemblablement d'origine commensale. Enfin, tous les patients affectés présentaient d'importants facteurs de risque liés à de sévères pathologies sous-jacentes. La contamination de cathéters veineux centraux suite à la manipulation de probiotique par le personnel soignant semble par exemple être à l'origine de cas de fongémies à *Saccharomyces boulardii* chez des sujets faisant l'objet d'une hospitalisation en soins intensifs (Hennequin et al. 2000). Il faut également noter que de nombreux probiotiques, dont *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Saccharomyces boulardii*, ont fait l'objet d'études dans des populations fragilisées ou à risque (immunodépression, hospitalisation en soins intensifs, séropositivité, malnutrition, etc.) et se sont avérés très bien tolérés (Snydman 2008). La survenue de complications infectieuses ponctuelles ne constitue donc pas une remise en cause de l'innocuité des probiotiques per se, mais davantage une mise en garde quant à la nécessité de les utiliser avec discernement chez les sujets souffrant de pathologies critiques.

Cette idée est encore renforcée par la publication récente des résultats d'un essai clinique néerlandais qui visait à évaluer l'efficacité d'un mélange de souches probiotiques en prophylaxie des complications infectieuses de la pancréatite aiguë sévère (Besselink et al. 2008). Non seulement le mélange n'a pas montré d'effet bénéfique, mais surtout une augmentation significative du risque de mortalité et d'ischémie intestinale a été observée dans le groupe recevant les probiotiques. L'explication physiopathologique n'est pas connue, mais il est vraisemblable qu'une combinaison de facteurs de risque ait engendré ce phénomène en provoquant localement une inflammation et une hyperconsommation d'oxygène dans l'intestin. L'administration des bactéries à fortes doses — posologies au demeurant non testées précé-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

demment avec ce mélange particulier — et en bolus, directement dans le jejunum de patients dont la muqueuse intestinale était déjà gravement altérée et hypoperfusée en serait probablement la cause. Cette étude souligne le besoin d'analyser soigneusement le rapport bénéfice/risque pour les patients en état critique préalablement à toute administration de probiotiques.

Viabilité

La viabilité des probiotiques est un critère important : ils doivent pouvoir atteindre leur site d'action vivants pour exercer leur effet de façon optimale. Non pas que des bactéries tuées ou même quelques composants de leur paroi ne suffisent pas à induire certains effets bénéfiques, mais l'action d'un probiotique passe aussi par sa production de métabolites et d'autres substances in situ et par l'expression de certains gènes en réponse à son environnement. Pour cela, la viabilité des souches doit d'abord être assurée tout au long du processus de fabrication, de conditionnement et de stockage des préparations probiotiques, et la présence de probiotiques viables en quantité requise pour obtenir l'effet escompté doit être garantie dans les produits jusqu'à leur date de péremption. Ces produits doivent donc faire l'objet de tests de stabilité évaluant la survie des souches dans les préparations probiotiques. Les souches probiotiques doivent aussi, autant que possible, présenter des caractéristiques technologiques particulières leur permettant de résister au mieux aux processus utilisés en production, comme par exemple la lyophilisation, la compression ou l'incorporation à différentes matrices (boissons, laits fermentés, etc.).

Les probiotiques doivent également survivre aux conditions rencontrées entre leur administration et leur site d'action. Dans le cas d'une administration per os, les probiotiques doivent résister aux stress du tractus digestif pour atteindre le site d'action visé, qui est le plus souvent l'iléon ou le côlon, à savoir 2 stress majeurs rencontrés aux niveaux gastrique et duodénal : d'abord le pH acide dû à la sécrétion d'HCl dans l'estomac, puis la présence de sels biliaires déversés dans le duodénum. Les probiotiques à visée intestinale sont donc évalués in vitro pour leur résistance et leur tolérance à l'acidité et à la lyse par les sels biliaires. Des tests de résistance à diverses enzymes contenues dans les sucs digestifs sont aussi fréquemment réalisés.

L'adhésion des probiotiques aux muqueuses ciblées pourrait améliorer leur persistance à ce niveau et leur niveau d'interaction avec les cellules de l'hôte, donc favoriser leur effet. Les propriétés d'adhésion des probiotiques sont donc souhaitables même si elles ne sont pas indispensables, et l'aptitude des souches à adhérer aux cellules humaines est souvent évaluée sur des modèles de cultures cellulaires. Certains modèles d'adhésion au mucus ou aux tissus intestinaux humains in vitro sont aussi parfois utilisés (Ouwehand et al. 2001, 2002*b*). La survie et la persistance des probiotiques au sein du tractus digestif peut être évaluée in vivo sur des modèles animaux en dénombrant ces souches au niveau des différents compartiments du tractus digestif à un temps donné ou en suivant l'évolution de leur population dans les fèces. L'estimation des populations fécales de probiotique peut également être réalisée chez des volontaires et permettre ainsi d'apprécier la survie et la persistance des probiotiques au sein du tractus digestif humain. L'origine des probiotiques pourrait influencer leur viabilité au niveau du tractus digestif et des muqueuses : des souches isolées du microbiote humain sont probablement plus aptes à résister aux conditions rencontrées et à adhérer aux cellules de l'hôte.

Les souches bactériennes peuvent parfois perdre leur caractère cultivable tout en restant dans un état viable et métaboliquement actif. Il peut donc être intéressant d'évaluer les populations de probiotiques à l'aide de différents marqueurs pour estimer non pas leur cultivabilité mais plutôt leur viabilité (intégrité membranaire, activité respiratoire et enzymatique, etc.). Différentes stratégies peuvent être utilisées pour améliorer la survie des probiotiques lorsque leurs résistances intrinsèques sont insuffisantes pour garantir leur viabilité au site d'action. L'adaptation des souches bactériennes à l'acidité et à des concentrations élevées de sels biliaires a parfois été utilisée dans le but d'obtenir des probiotiques moins sensibles aux stress gastro-intestinaux, mais d'autres modifications du phénotype sont fréquemment associées (Noriega et al. 2004). Une autre stratégie consiste à immobiliser le probiotique dans une matrice grâce à des méthodes comme la micro-encapsulation (Ding et Shah 2007). Ces techniques permettent d'améliorer la résistance aux processus de fabrication et de conditionnement, de favoriser la stabilité des préparations probiotiques durant leur stockage et de protéger les souches de l'environnement (stress gastro-intestinaux) jusqu'à leur libération au niveau intestinal.

Efficacité

Toute allégation de santé doit être dûment justifiée en apportant des preuves scientifiques de l'effet bénéfique apporté par le probiotique. La mise en évidence des effets bénéfiques des probiotiques passe par un certain nombre de tests in vitro tels que l'étude de la production d'enzymes, de métabolites et de substances antimicrobiennes, l'inhibition de la croissance ou de l'adhésion cellulaire de pathogènes en coculture ou l'analyse des effets sur les cellules épithéliales ou immunitaires humaines. Les résultats obtenus au cours de ces études préliminaires doivent ensuite être confirmés sur des modèles animaux de la pathologie ciblée par le produit afin de vérifier l'efficacité du probiotique in vivo et d'estimer les doses à administrer pour obtenir l'effet escompté. En conséquence, il est fortement recommandé de réaliser ces études sur les préparations probiotiques telles qu'il est prévu de les administrer afin de tenir compte de l'interaction des souches avec leur matrice. La mise en évidence de l'effet du probiotique sur la santé nécessite de choisir judicieusement les marqueurs biologiques les mieux adaptés au type d'action du probiotique et de suivre leur évolution en réponse à son administration (scores histologiques, concentrations sériques, etc.).

La conduite d'études sur l'animal est très importante mais non suffisante pour justifier les allégations de santé : des essais cliniques chez l'humain sont également indispensables. Ces études doivent être effectuées en double aveugle contre un placebo avec une randomisation des sujets. Là encore, le choix de marqueurs biologiques appropriés est déterminant pour évaluer les effets sur la physiologie et la santé humaines. La formulation adéquate du placebo constitue aussi un défi, car les effets des préparations probiotiques ne sont pas dus aux seules souches qu'ils contiennent mais également à la matrice et à diverses substances pouvant s'y trouver (prébio-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

tiques, métabolites, composants de paroi, etc.). Ces essais cliniques visent à ajuster la dose à administrer et à vérifier les effets du probiotique chez l'humain. Les doses recommandées pour l'administration doivent être conçues pour offrir une efficacité optimale sans pour autant nuire à la tolérance vis-à-vis du probiotique, et doivent rester dans des proportions réalistes pouvant réellement être consommées.

En plus de démontrer les effets des préparations probiotiques, il peut être intéressant de chercher si elles apportent des améliorations par rapport aux autres thérapeutiques. Il est ainsi possible dans le cadre d'essais cliniques portant sur des patients de comparer le probiotique à des traitements déjà existants en termes d'efficacité, de tolérance et d'effets indésirables. Il convient aussi de s'interroger sur le ou les principes actifs que les préparations probiotiques contiennent. S'agit-il seulement de la souche ? De composants de sa paroi ? De substances qu'elle produit ? La matrice a-t-elle un effet en soi ? Est-elle métabolisée en substances actives par la souche ? L'exploration de ces possibilités peut fournir des indications quant au mode d'action probable du probiotique.

Utilisations thérapeutiques

Les effets bénéfiques des probiotiques ont longtemps été considérés comme provenant de la restauration de l'équilibre de la flore. Cette idée a été abandonnée étant donnés leur faible impact sur la composition du microbiote et l'impossibilité de définir une « bonne flore » au vu des larges variations interindividuelles observées. Les probiotiques sont cependant capables de restaurer ou d'améliorer le microbiote, mais en terme de fonctions physiologiques et non de composition. De nombreux probiotiques ont d'ailleurs été isolés de la flore de personnes saines comparativement à des sujets présentant une pathologie ou une susceptibilité plus importante. Le rôle des probiotiques est donc généralement de compenser ou de prévenir les effets délétères des dysbioses ou simplement de se mêler transitoirement au microbiote pour renforcer ses fonctions naturelles. Le mécanisme d'action précis des probiotiques reste cependant souvent méconnu, malgré la démonstration de leur efficacité dans une très large gamme d'affections (tableau 2).

Effet sur les fonctions physiologiques et métaboliques

Divers probiotiques apportent une amélioration lors de certains troubles des fonctions physiologiques et métaboliques humaines. Ces effets sont surtout liés aux caractéristiques enzymatiques propres à ces souches et à leur activité métabolique in situ.

L'intolérance au lactose se traduit par des ballonnements, des flatulences, des spasmes intestinaux, des douleurs abdominales et des diarrhées osmotiques suite à l'ingestion de produits laitiers. Cette pathologie est due à une déficience partielle ou totale de la production de lactase intestinale. D'autres facteurs encore mal connus s'ajoutent à l'hypolactasie, car les symptômes ne sont pas toujours corrélés au degré de malabsorption du lactose : les sujets hypolactasiques ne présentent pas tous d'intolérance, et l'amélioration de la digestion du lactose ne se répercute pas forcément sur les symptômes. Une amélioration des symptômes de l'intolérance au lactose a cependant été observée chez des personnes consommant des laits fermentés ou des yaourts contenant des bactéries vivantes, en particulier *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (de Vrese et al. 2001). Cet effet serait surtout lié à l'activité lactasique des bactéries, d'autant plus qu'elles sont lysées par l'acidité gastrique et les sels biliaires et libérent ainsi des quantités importantes de β-galactosidase active dans l'intestin. Des effets bénéfiques ont également été relatés pour diverses souches probiotiques de lactobacilles et de bifidobactéries, bien que l'activité lactasique de ces bactéries soit moindre comparée aux bactéries du yaourt préalablement citées (*Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*). Il est probable que l'influence des probiotiques s'exerce aussi de façon indirecte via la régulation de différents facteurs comme la production de gaz dans l'intestin, en particulier de H_2, le pH intra-luminal ou le temps de transit.

La constipation chronique est un phénomène relativement fréquent dans les pays industrialisés, en particulier chez les personnes âgées. Elle peut s'accompagner de différents symptômes gênants (ballonnements, flatulences, douleurs à la selle, etc.) et nuit ainsi globalement à la qualité de vie. Les probiotiques peuvent soulager les symptômes liés à la constipation chronique et participer à la régulation du transit. Cet effet serait surtout associé à la production d'acides diminuant le pH intra-luminal et stimulant la motilité intestinale, entraînant ainsi une amélioration de la consistance des selles et de la fréquence de défécation. La souche probiotique *Lactobacillus casei* Shirota a en particulier montré un effet bénéfique sur les manifestations de constipation chronique chez l'adulte (Koebnick et al. 2003). Une étude portant plus spécifiquement sur le sujet âgé a également montré une légère amélioration associée à la consommation d'un mélange de 2 souches probiotiques des espèces *Lactobacillus rhamnosus* et *Propionibacterium freudenreichii* (Ouwehand et al. 2002*a*). La constipation chronique touche aussi l'enfant, chez lequel elle s'accompagne souvent de distension et de douleurs abdominales et de douleurs importantes à la défécation. Plusieurs des symptômes de la constipation chronique chez l'enfant peuvent être soulagés par l'administration de souches probiotiques, telles que des lactobacilles et des bifidobactéries (Bekkali et al. 2007; Bu et al. 2007).

Les probiotiques ont également démontré leur efficacité dans la prévention et le traitement des diarrhées fonctionnelles, plus particulièrement dans le cas des diarrhées induites par les antibiotiques. Cet effet bénéfique est probablement dû majoritairement à la digestion des carbohydrates osmotiquement actifs présents dans la lumière intestinale. Les probiotiques ayant le plus clairement montré leur efficacité dans ce type d'affections sont *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Saccharomyces boulardii*, mais ces 2 souches sont aussi celles qui ont fait l'objet du plus grand nombre d'études (Doron et al. 2008). Malgré des essais cliniques moins nombreux, d'autres probiotiques, notamment certains mélanges de plusieurs souches, ont permis de réduire l'incidence, la durée ou la sévérité des diarrhées fonctionnelles (Doron et al. 2008; Koning et al. 2008). Enfin, la souche *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 s'est avérée efficace en adjuvance du traitement des diarrhées induites par les radiations chez des patients ayant subi une radiothérapie, principalement pour des cancers de la sphère urogénitale (Urbancsek et al. 2001).

Tableau 2. Affections humaines et principaux probiotiques d'efficacité démontrée.

Affections humaines	Souches probiotiques
Troubles physiologiques et métaboliques	
Intolérance au lactose	Yaourt = *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* + *Streptococcus thermophilus*
Constipation chronique	*L. casei* Shirota; *L. rhamnosus* LC705 + *Propionibacterium freudenreichii shermanii* JS
Diarrhées fonctionnelles	*L. rhamnosus* GG; *Saccharomyces boulardii*; *L. rhamnosus* Lcr35 (diarrhées radio-induites)
Syndrome du côlon irritable	VSL#3; 2 *L. rhamnosus* (GG + LC705) + *Bifidobacterium breve* Bb99 + *P. freudenreichii* JS
Hyperoxalurie	*Oxalobacter formigenes*; *L. acidophilus* + *L. brevis* + *S. thermophilus* + *B. infantis* ± *L. plantarum*
Hypercholestérolémie	*L. acidophilus* L1; *B. longum* BL1; *Enterococcus faecium* M-74; *L. acidophilus* LA-5 + *B. lactis* BB-12 + yaourt; 2 *S. thermophilus* + *E. faecium*
Infections	
Diarrhées infectieuses	*Saccharomyces boulardii*; *L. rhamnosus* GG; *Escherichia coli* Nissle, 1917; *L. acidophilus* + *B. bifidum* + yaourt
Portage d'*Helicobacter pylori*	*Saccharomyces boulardii*; *L. rhamnosus* GG; *L. casei*; *L. acidophilus* + *B. lactis*
Infections de la sphère ORL	*L. rhamnosus*; *L. reuteri; B. lactis* (caries); 2 *L. rhamnosus* (GG + LC705) + *P. freudenreichii* JS (candidoses); streptocoques α-hémolytiques (angines, otites moyennes aiguës)
Infections urinaires	*L. acidophilus*; *E. coli*; *L. crispatus* GAI 98322; *L. rhamnosus* GR-1 + *L. fermentum* B-24
Infections vulvovaginales	*L. rhamnosus* Lcr35; *L. rhamnosus* GR-1 + *L. reuteri* RC-14; *L. gasseri* Lba EB01 + *L. rhamnosus* Lbp PB01
Défenses immunitaires affaiblies	
Infections respiratoires et (ou) saisonnières	*L. rhamnosus* GG; *L. rhamnosus* Lcr35; *L. reuteri* ATCC 55730; 2 *L. rhamnosus* (GG + LC705) + *B. breve* Bb99 + *P. freudenreichii* JS; *L. rhamnosus* GG + *B. lactis* Bb-12; *L. casei* DN-114001 + yaourt; *L. gasseri* PA 16/8 + *B. longum* SP 07/3 + *B. bifidum* MF 20/5
Réponse vaccinale faible	*L. rhamnosus* GG; *L. paracasei* CRL431; *L. fermentum* CECT5716; 2 *L. rhamnosus* (GG + LC705) + *B. breve* Bb99 + *P. freudenreichii* JS; bifidobactéries + *L. johnsonii* La1
Réactions immunitaires délétères	
Allergies et eczéma	*L. rhamnosus* GG; *L. rhamnosus* HN001; *L. fermentum* VRI-033 PCC; *L. reuteri* ATCC 55730; 2 *L. rhamnosus* (GG + LC705) + *B. breve* Bb99 + *P. freudenreichii* JS; *B. longum* BB536 + yaourt; *L. rhamnosus* 19070–2 + *L. reuteri* DSM 122460; *L. gasseri* TMC0356 + *L. rhamnosus* GG
Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	VSL#3; *Saccharomyces boulardii*; *E. coli* Nissle, 1917; *L. rhamnosus* GG; *B. breve* + *B. bifidum* + *L. acidophilus*

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Le syndrome du côlon irritable est un trouble fonctionnel intestinal qui se caractérise par un ensemble de symptômes gastro-intestinaux évoluant de façon chronique et pouvant se manifester en association ou en alternance. Les principaux symptômes sont des douleurs abdominales diffuses ou localisées, des ballonnements, des flatulences et des troubles du transit avec alternance de diarrhée et de constipation. Aucune anomalie structurelle n'est associée à cette pathologie. L'administration de probiotiques permet de soulager certains des symptômes; une réduction du ballonnement et des flatulences a par exemple été observée après administration du mélange de souches probiotiques VSL#3 (Kim et al. 2003, 2005). La consommation d'un autre mélange probiotique comprenant 2 souches de *Lactobacillus rhamnosus*, une souche de *Bifidobacterium breve* et une souche de *Propionibacterium freudenreichii* a permis de diminuer globalement les symptômes du syndrome du côlon irritable (Kajander et al. 2005). Concernant les essais effectués avec une seule souche bactérienne probiotique, certains lactobacilles se sont avérés efficaces, en particulier des *Lactobacillus plantarum*, ainsi que des bifidobactéries appartenant aux espèces *Bifidobacterium* infantis et *Bifidobacterium* animalis (Nobaek et al. 2000; Niedzielin et al. 2001; Whorwell et al. 2006; Guyonnet et al. 2007).

L'hyperoxalurie, c'est-à-dire la présence d'oxalate en excès dans les urines, est un facteur de risque important des néphrolithiases via la formation de cristaux d'oxalate de calcium. L'hyperoxalurie peut être due à une absorption excessive de l'oxalate au niveau intestinal suite à un défaut de dégradation par le microbiote. Certains probiotiques se sont avérés capables de limiter l'hyperoxalurie chez les patients, probablement grâce à leur capacité de dégradation de l'oxalate. La consommation d'un mélange de lactobacilles, streptocoque et bifidobactérie (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium* infantis ± *Lactobacillus plantarum*) a ainsi permis de réduire l'excrétion urinaire d'oxalate chez des sujets hyperoxaluriques (Campieri et al. 2001; Lieske et al. 2005). Cet effet n'a toutefois pas été confirmé lors d'un essai clinique randomisé en double aveugle contre placebo, mais ceci pourrait être dû à l'utilisation de formules probiotiques différant légèrement entre ces 3 études (Goldfarb et al. 2007). Le probiotique le plus prometteur dans le traitement de l'hyperoxalurie, et potentiellement dans la prévention des récidives de néphrolithiases, n'est pas une bactérie lactique mais un anaérobie strict de la classe des *Betaprotéobactéries*, appartenant à l'espèce *Oxalobacter formigenes*. Cette espèce bactérienne a été identifiée comme faisant partie de la flore colique normale et utilise l'oxalate comme seule source d'énergie. Sa prévalence est moindre chez les sujets hyperoxaluriques ou souffrant de néphrolithiases récidivantes, et la colonisation par cette bactérie est associée à une réduction

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

de 70 % du risque de formation de calculs d'oxalate de calcium (Kaufman et al. 2008). L'administration de souches d'*O. formigenes* a permis de réduire significativement l'excrétion urinaire d'oxalate chez des petits groupes de sujets sains non colonisés ou de patients (Duncan et al. 2002; Hoppe et al. 2006).

L'hypercholestérolémie constitue un facteur de risque majeur des pathologies cardio-vasculaires, notamment de l'athérosclérose. Plusieurs probiotiques ont démontré leur capacité à dégrader le cholestérol in vitro, mais cette propriété n'a pas nécessairement été corrélée à un effet hypocholestérolémiant chez l'humain. Un effet hypocholestérolémiant chez des sujets présentant une hypercholestérolémie modérée a néanmoins été mis en évidence après consommation de certains laits fermentés contenant des probiotiques. Une diminution significative des taux sériques de cholestérol total a été observée après ingestion quotidienne pendant 4 à 6 semaines de laits fermentés par une souche de *Lactobacillus acidophilus*, un mélange de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis* additionné aux bactéries du yaourt, ou une souche de *Bifidobacterium* longum (Anderson et Gilliland 1999; Xiao et al. 2003; Ataie-Jafari et al. 2009). Un effet similaire, mais associé en plus à une réduction du taux sérique de LDL (« low density lipoprotein »), c'est-à-dire de « mauvais » cholestérol, a été obtenu chez des sujets hypercholestérolémiques présentant ou non un surpoids ayant consommé pendant 8 semaines un lait fermenté à l'aide de 2 souches de *Streptococcus thermophilus* et d'une souche d'*Enterococcus faecium* (Bertolami et al. 1999; Agerholm-Larsen et al. 2000). Une étude à long terme a montré qu'une souche d'*Enterococcus faecium* administrée sous forme de gélules était également efficace dans la normalisation du cholestérol total et des LDL sériques, avec des réductions respectives de ces taux d'environ 12 % et 19 % après 56 semaines de traitement quotidien (Hlivak et al. 2005).

Action anti-infectieuse

Certains probiotiques se sont avérés efficaces dans la prévention et le traitement de pathologies infectieuses. Cet effet est surtout lié à leurs capacités d'exclusion compétitive et à la stimulation de la fonction de barrière et des défenses immunitaires innée et adaptative. Les probiotiques peuvent en effet, selon les souches, produire une variété des substances antimicrobiennes comme des SCFA, de l'acide lactique, des bactériocines et autres molécules apparentées, du peroxyde d'hydrogène ou du monoxyde d'azote. Ils vont de plus entrer en compétition avec les pathogènes vis-à-vis des nutriments et des sites d'adhésion disponibles dans le milieu. Certains probiotiques participeraient à l'effet de barrière des muqueuses en stimulant la production de mucines et de peptides antimicrobiens mais aussi en améliorant l'intégrité de l'épithélium, notamment la formation des jonctions serrées. Enfin, les probiotiques agiraient sur le système immunitaire et pourraient ainsi augmenter, par exemple, l'activité phagocytaire dans les muqueuses ou stimuler la production d'anticorps spécifiques en réponse aux pathogènes, entre autres, des IgA sécrétoires qui seront libérées à la surface de l'épithélium.

L'effet des probiotiques le mieux décrit est probablement leur rôle dans la prévention des diarrhées infectieuses. *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG et un mélange de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum* avec les bactéries du yaourt (*Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) se sont en particulier montrés efficaces dans la prévention de la diarrhée du voyageur (McFarland 2007). Concernant la prévention et le complément au traitement des diarrhées infectieuses à *Clostridium difficile* consécutives à une antibiothérapie, seule la levure *Saccharomyces boulardii* s'est avérée indéniablement efficace dans des études cliniques (McFarland 2006). Chez l'enfant, divers probiotiques ont permis de réduire l'incidence, la sévérité ou la durée des diarrhées infectieuses aiguës, les souches les mieux documentées étant comme souvent *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Saccharomyces boulardii* (Szajewska et al. 2007*a*, 2007*b*; Vandenplas et al. 2007). D'autres probiotiques présentent des effets similaires, bien qu'ils aient fait l'objet de moins d'études cliniques, comme par exemple *Escherichia coli* Nissle 1917, dont l'administration permet de réduire la durée des diarrhées infectieuses infantiles d'environ 2 jours (Henker et al. 2007). Un effet préventif vis-à-vis des infections à rotavirus, la première cause de gastro-entérites infantiles, épidémiques en période hivernale, a été décrit notamment pour la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG (Szajewska et al. 2007*b*). L'excrétion fécale des particules virales peut également être significativement réduite par l'administration quotidienne de *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 à haute dose (Fang et al. 2009).

Helicobacter pylori colonise l'estomac de plus de la moitié de la population mondiale et entraîne chez certaines personnes des gastrites et des ulcères gastriques et duodénaux pouvant à terme aboutir à des adénocarcinomes ou des lymphomes gastriques. Le principal traitement de l'ulcère gastroduodénal repose sur l'éradication de cette bactérie à l'aide d'une trithérapie associant un inhibiteur de la pompe à protons (IPP) et 2 antibiotiques (clarithromycine et amoxicilline). Le taux d'éradication d'*Helicobacter pylori* est amélioré lorsque des probiotiques sont administrés en complément de la trithérapie standard de première intention (Tong et al. 2007). De plus, l'administration des probiotiques réduit l'incidence des effets indésirables liés aux traitements médicamenteux (troubles du goût, nausées, diarrhées). Ces effets ont été mis en évidence pour divers probiotiques, dont en particulier des mélanges de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis*, la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG, la levure *Saccharomyces boulardii* ou certaines souches de *Lactobacillus casei*. Peu d'études ont porté sur l'effet des probiotiques en complément de traitements d'éradication de seconde intention. Une souche de *Lactobacillus casei* a permis de réduire les effets secondaires liés à un deuxième traitement associant 2 antibiotiques (amoxicilline et imidazolé) et 2 antisécrétoires gastriques (IPP et citrate de bismuth-ranitidine) et a apporté une légère amélioration, non significative, du taux d'éradication, celui-ci étant déjà très élevé sans probiotique (Tursi et al. 2004). Par ailleurs, la consommation d'un yaourt contenant un mélange de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis* pendant 4 semaines après échec d'un premier traitement s'est traduite par une diminution de la charge bactérienne d'*Helicobacter pylori*; le taux d'éradication du pathogène par une quadrithérapie (amoxicilline, métronidazole, IPP et subcitrate de bis-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

muth) d'1 semaine a également augmenté significativement suite au prétraitement par ce yaourt probiotique (Sheu et al. 2006).

Un taux élevé de colonisation par *Streptococcus mutans*, naturellement présent dans la salive et sous forme de biofilms à la surface des dents, constitue le principal facteur de risque de développement des caries, l'une des infections humaines les plus fréquentes. Des probiotiques sont capables d'entraîner une réduction de la population buccale de *Streptococcus mutans* et pourraient ainsi diminuer le risque de caries. Des études réalisées chez des enfants et des jeunes adultes ont montré que la quantité de *Streptococcus mutans* au niveau buccal diminuait suite à la consommation régulière de lait ou de fromage (Edam) contenant certaines souches de *Lactobacillus rhamnosus* (Näse et al. 2001; Ahola et al. 2002). Un effet similaire a été observé pour des souches de *Lactobacillus reuteri* administrées sous différentes formes, telles que des chewing-gums ou des comprimés (Çaglar et al. 2006, 2007, 2008*a*). Les lactobacilles ne sont pas les seuls à avoir des effets prometteurs dans ce domaine, puisque l'addition de certaines souches de *Bifidobacterium lactis* à des yaourts ou des crèmes glacées permet de diminuer le taux de colonisation par *Streptococcus mutans* (Çaglar et al. 2005, 2008*b*; Cildir et al. 2009).

Les candidoses dues à *Candida albicans* sont parmi les infections buccales les plus fréquentes, notamment chez les sujets âgés. La présence importante de *Candida albicans* dans la salive, l'hyposalivation et l'immunodépression sont parmi les facteurs de risque principaux de ces infections. Une étude a mis en évidence que l'addition d'un mélange de souches probiotiques de *Lactobacillus rhamnosus* et de *Propionibacterium freudenreichii* dans un fromage pouvait diminuer le risque de concentrations salivaires élevées de *Candida albicans* et d'hyposalivation chez les sujets âgés (Hatakka et al. 2007).

Les angines causées par les streptocoques β-hémolytiques du groupe A sont fréquentes, surtout chez l'enfant, et exposent au risque de complications comme les rhumatismes articulaires aigus ou les glomérulonéphrites aiguës. Ce type d'angine fait l'objet de traitements antibiotiques visant à éviter les complications à l'infection, mais cela ne suffit pas toujours à éradiquer les streptocoques β-hémolytiques, qui peuvent persister et provoquer des angines récurrentes. Trois études randomisées en double aveugle contre placebo ont montré que l'utilisation d'un spray buccal contenant un mélange de souches de streptocoques α-hémolytiques favorisait significativement l'éradication par antibiothérapie des streptocoques β-hémolytiques et réduisait le risque de récurrence des angines (Roos et al. 1993; Roos et al. 1996; Falck et al. 1999).

L'otite moyenne aiguë est la plus commune des infections bactériennes de l'enfance, avec pour conséquence fréquente une otite moyenne sécrétoire qui se résorbe le plus souvent spontanément mais peut nécessiter la mise en place de drains transtympaniques. L'utilisation d'un spray nasal contenant un mélange de souches de streptocoques α-hémolytiques suite au traitement antibiotique d'un épisode infectieux, puis à nouveau 2 mois plus tard, chez des enfants sujets à des otites moyennes aiguës récidivantes réduit la récurrence de ces infections et diminue le risque de développer consécutivement une otite moyenne sécrétoire (Roos et al. 2001). Un spray nasal contenant une souche de *Streptococcus sanguinis* pourrait, de plus, être efficace dans le traitement de l'otite moyenne sécrétoire persistante et ainsi limiter le recours à la chirurgie dans ces affections (Skovbjerg et al. 2009).

Malgré le peu d'études cliniques à grande échelle réalisées en double aveugle contre placebo, les probiotiques ont montré des effets prometteurs dans la prévention des infections urinaires. La souche *Lactobacillus rhamnosus* GG additionnée à l'alimentation de prématurés au sein d'unités néonatales de soins intensifs a permis de diminuer l'incidence des infections urinaires (3,4 % pour le groupe probiotique contre 5,8 % pour le groupe placebo) bien que cette différence n'ait pas été statistiquement significative (Dani et al. 2002). Une autre étude, réalisée chez des enfants souffrant de reflux urinaire vésico-urétéral, a montré que l'administration orale d'une souche probiotique de *Lactobacillus acidophilus* conférait le même degré de protection vis-à-vis des infections urinaires qu'une antibioprophylaxie par triméthoprime-sulfaméthoxazole (Lee et al. 2007). Chez l'adulte, la colonisation de la vessie par un *Escherichia coli* probiotique administré par instillation intravésicale (2 fois par jour pendant 3 jours) a permis de réduire de moitié l'incidence des infections urinaires au cours de l'année suivante chez des personnes ayant une vessie neurogène et une sonde vésiculaire (Darouiche et al. 2005), et cet effet protecteur a été retrouvé au cours de 2 études pilotes dans lesquelles la sonde vésicale mise en place chez les patients contenait cette même souche bactérienne (Trautner et al. 2007; Prasad et al. 2009). D'autres essais ont montré que l'administration intravaginale de probiotiques permettait également de réduire le risque de récurrence des infections urinaires, comme cela a été mis en évidence avec un mélange des souches *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 et *Lactobacillus fermentum* B-24 et avec une souche de *Lactobacillus crispatus* (Reid et al. 1992; Uehara et al. 2006).

Bien que de nombreux travaux aient montré un effet prometteur des probiotiques dans le traitement et la prévention des candidoses vulvovaginales, il n'est pas possible de conclure quant à leur efficacité en raison du manque de résultats significatifs provenant d'études contrôlées en double aveugle réalisées sur une cohorte suffisante (Falagas et al. 2006). Toutefois, une étude récente a montré que l'administration orale du mélange des souches de lactobacilles *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 et *Lactobacillus reuteri* RC-14 pendant 1 mois améliore significativement l'efficacité du fluconazole dans le traitement de la vulvovaginite à *Candida* (Martinez et al. 2009*a*).

L'utilisation des probiotiques dans le traitement et la prévention des rechutes de vaginites bactériennes a fourni des résultats plus convaincants que pour les candidoses vulvovaginales. Le mélange *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 et *Lactobacillus reuteri* RC-14 administré par voie orale pendant 1 mois permet d'augmenter significativement l'efficacité du traitement des vaginites bactériennes par 7 jours de métronidazole ou une dose unique de tinidazole (Anukam et al. 2006*a*; Martinez et al. 2009*b*). Un traitement de 5 jours par ce même mélange administré sous forme de gélules vaginales a traité la vaginite bactérienne chez 90 % des sujets testés et semble donc plus efficace que l'application vaginale d'un gel de métronidazole, même si ce résultat n'a pas été

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

obtenu lors d'une étude en double aveugle (Anukam et al. 2006*b*). Une diminution significative du risque de rechute a aussi résulté de l'administration par voie vaginale d'un autre mélange de lactobacilles probiotiques, constitué d'une souche de *Lactobacillus gasseri* et d'une souche de *Lactobacillus rhamnosus*, après traitement antibiotique local par clindamycine (Larsson et al. 2008). Enfin, l'efficacité du traitement des vaginites par clindamycine per os a été significativement augmentée par l'administration intravaginale de *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 suite à l'antibiothérapie (Petricevic et Witt 2008).

Renforcement des défenses immunitaires

Les probiotiques peuvent stimuler le système immunitaire inné et adaptatif, aussi bien au niveau local (périphérique) qu'au niveau systémique. Cette propriété leur confère un effet bénéfique antimicrobien « à distance », visible notamment dans la prévention des infections respiratoires et la réponse vaccinale.

Une étude comparant l'effet préventif vis-à-vis des pathologies infectieuses de 3 probiotiques a montré un effet protecteur significatif de *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 contre les infections virales et bactériennes, et plus particulièrement les infections respiratoires, chez des enfants d'age préscolaire (Lin et al. 2009). De même, la consommation régulière prolongée de lait additionné de *Lactobacillus rhamnosus* GG chez l'enfant (1 à 6 ans) semble réduire significativement l'absentéisme dû aux maladies, l'incidence des infections respiratoires et la nécessité de traitements antibiotiques pour ces infections (Hatakka et al. 2001). Un résultat semblable a été obtenu chez le nourrisson avec un mélange contenant 2 souches de *Lactobacillus rhamnosus*, un *Bifidobacterium breve* et un *Propionibacterium freudenreichii*, donné aux mères avant l'accouchement puis aux nouveaux-nés pendant 6 mois; cet effet semble durable puisqu'il a persisté au moins 1 an après arrêt de la consommation du probiotique (Kukkonen et al. 2008). Le recours aux antibiotiques a également été réduit par l'addition de *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Bifidobacterium lactis* Bb-12 à une formule infantile, de façon concomitante avec l'incidence des otites moyennes aiguës et la récurrence des infections respiratoires, pendant la durée de consommation du mélange probiotique (Rautava et al. 2009). Un mélange de lactobacilles probiotiques (*Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei*) a quant à lui permis de diminuer l'incidence et la sévérité des infections respiratoires chez des enfants de 6 à 24 mois, y compris chez des sujets malnutris (Río et al. 2002), tandis que la consommation d'un yaourt contenant une souche probiotique de *Lactobacillus casei* a réduit la durée des infections respiratoires et l'incidence des infections respiratoires inférieures chez des enfants de 3 à 12 ans (Cobo Sanz et al. 2006).

Le même produit a également permis de diminuer significativement la durée des infections hivernales respiratoires et gastro-intestinales chez des sujets âgés, sans cependant avoir d'impact sur l'incidence de ces affections (Turchet et al. 2003). Au contraire, l'administration à des adultes d'une souche probiotique de *Lactobacillus reuteri* s'est traduite par une diminution de 60 % de l'incidence des infections respiratoires et gastro-intestinales et, en conséquence, par une réduction significative de l'absentéisme au travail (Tubelius et al. 2005). Toujours chez l'adulte, 2 études ont montré que l'administration d'un mélange de 3 souches (*Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium bifidum*) réduisait l'incidence des infections respiratoires virales communes, alors qu'une troisième a mis en évidence une diminution de la durée de ces infections; la sévérité des symptômes et la durée des poussées de fièvre se sont avérées réduites dans ces 3 essais cliniques (de Vrese et al. 2005*b*, 2006; Winkler et al. 2005). Enfin, chez des patients séjournant plus de 2 jours en unité de soins intensifs et nourris par sonde nasogastrique, l'administration de *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 a permis de différer la colonisation et l'infection des poumons par le pathogène *Pseudomonas aeruginosa* (Forestier et al. 2008).

La consommation d'un lait fermenté contenant des bifidobactéries et une souche de *Lactobacillus johnsonii* en parallèle de l'ingestion d'une souche atténuée de *Salmonella* Typhi a conduit chez des adultes sains à une augmentation de la concentration des IgA sériques anti-*Salmonella* 4 fois supérieure à celle observée dans un groupe contrôle (Link-Amster et al. 1994). Ce résultat suggère que les probiotiques peuvent stimuler la réponse humorale spécifique et ainsi servir d'adjuvants vaccinaux, en particulier pour les vaccins oraux. Une étude réalisée chez l'adulte a ainsi comparé l'effet adjuvant de 7 souches de lactobacilles et de bifidobactéries sur une vaccination orale contre le cholera; aucun des probiotiques n'a augmenté le degré de protection conférée par le vaccin, mais 2 d'entre eux ont permis d'accélérer la réponse IgG spécifique (Paineau et al. 2008). L'efficacité de la vaccination orale contre le poliovirus pourrait être améliorée par l'administration de certains lactobacilles, notamment *Lactobacillus rhamnosus* GG dont des études contrôlées ont montré le rôle adjuvant. Sa consommation s'est traduite par une augmentation du nombre de cellules sécrétant des IgM spécifiques et une stimulation de la séroconversion IgA chez l'enfant, et chez l'adulte par une activité neutralisante sérique et une production d'IgA et d'IgG spécifiques accrues (Isolauri et al. 1995; de Vrese et al. 2005*a*). Des résultats semblables ont été obtenus chez l'adulte avec un autre lactobacille probiotique appartenant à l'espèce *Lactobacillus paracasei* (de Vrese et al. 2005*a*).

Les probiotiques peuvent aussi stimuler la réponse vaccinale induite par d'autres voies d'administration des antigènes. Un mélange, contenant 2 souches de *Lactobacillus rhamnosus*, une de *Bifidobacterium breve* et une de *Propionibacterium freudenreichii*, a ainsi stimulé la production et augmenté l'occurrence de concentrations protectrices d'IgG anti-*Haemophilus influenzae* b en réponse au vaccin administré en intramusculaire à des enfants âgés de 4 mois (Kukkonen et al. 2006). Au cours d'une autre étude, réalisée chez l'adulte, la production d'IgA spécifiquement dirigés contre le virus de la grippe s'est avérée significativement augmentée lorsqu'une souche de *Lactobacillus fermentum* était consommée pendant les 2 semaines précédant et suivant la vaccination antigrippale; l'incidence des pathologies pseudo-grippales durant les mois suivants a également semblé diminuée dans le groupe probiotique (Olivares et al. 2007).

Régulation des réactions immunitaires délétères

Dans le domaine de l'allergie, la plupart des essais cliniques réalisés ont eu trait à sa prévention chez les enfants à

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

haut risque, en raison de leur historique atopique familial, avec des résultats très variables. Dans l'une de ces études, les mères ont consommé la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG pendant leur dernier mois de grossesse, puis les nouveaux-nés ont reçu le probiotique per os jusqu'à l'âge de 6 mois. En comparaison du groupe placebo, un risque d'eczéma significativement réduit a été rapporté chez ces enfants à l'âge de 2 ans (Kalliomäki et al. 2001). Des suivis ultérieurs de l'étude réalisés à l'âge de 4 et 7 ans ont montré la persistance de la protection vis-à-vis de l'eczéma (Kalliomäki et al. 2003, 2007). En revanche, le traitement probiotique n'a conféré aucun effet préventif sur la sensibilisation atopique ni sur le développement de l'asthme ou des rhinites allergiques (Kalliomäki et al. 2007). Contrairement à cette étude, aucun effet protecteur du probiotique vis-à-vis de l'eczéma n'a été mis en évidence par un autre essai clinique employant la même souche probiotique et un protocole très similaire, la seule différence étant que *Lactobacillus rhamnosus* GG était administré à la mère de 4 à 6 semaines avant jusqu'à 3 mois après l'accouchement (Kopp et al. 2008).

Une souche probiotique de *Lactobacillus reuteri* administrée à la mère pendant les 6 semaines précédant l'accouchement et à l'enfant pendant la première année de vie n'a pas eu d'impact sur l'incidence de l'eczéma, mais a par contre permis de réduire significativement la sensibilisation atopique (Abrahamsson et al. 2007). L'administration d'un mélange de 2 *Lactobacillus rhamnosus*, un *Bifidobacterium breve* et un *Propionibacterium freudenreichii* à des femmes enceintes pendant 2 à 4 semaines avant leur accouchement, puis la consommation de ce même probiotique additionné d'un prébiotique par les enfants jusqu'à l'âge de 6 mois, a permis de diminuer significativement le risque d'eczéma et d'eczéma atopique et semble réduire l'incidence des pathologies associées aux IgE dans leur ensemble, bien qu'aucun effet n'ait été observé sur la sensibilisation atopique (Kukkonen et al. 2007). Le suivi de cette étude n'a montré aucune différence entre les 2 groupes d'enfants à l'âge de 5 ans, mais a mis en évidence un effet préventif du probiotique sur les pathologies associées aux IgE, la sensibilisation atopique et l'eczéma associé aux IgE chez les enfants nés par césarienne (Kuitunen et al. 2009). Un essai clinique a comparé les effets d'une souche de *Lactobacillus rhamnosus* à ceux d'une souche de *Bifidobacterium lactis* en les administrant aux mères de la 35^{e} semaine de gestation jusqu'à 6 mois après la naissance et à l'enfant pendant les 2 premières années de vie : aucun des 2 probiotiques n'a protégé les enfants de l'atopie, néanmoins l'incidence et la sévérité de l'eczéma ont été significativement réduites dans le groupe ayant reçu le lactobacille (Wickens et al. 2008).

Quelques études ont montré un effet des probiotiques dans le traitement de la dermatite atopique. Un traitement de 6 semaines par un mélange de 2 lactobacilles (*Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus reuteri*) a réduit significativement l'étendue de l'eczéma d'enfants âgés de 1 à 13 ans, et ce, d'autant plus que les sujets présentaient par ailleurs un fond allergique (Rosenfeldt et al. 2003). Une amélioration significative du score clinique a aussi été observée chez des enfants de 2 à 12 ans après administration de *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 pendant 3 mois, bien que cet effet n'ait pas différé de celui obtenu avec un prébiotique (Passeron et al. 2006). Chez les enfants en bas âge, l'adjonction de *Lactobacillus rhamnosus* GG dans une formule infantile fortement hydrolysée — utilisée en traitement d'éviction de l'allergie au lait de vache — a réduit en 1 mois le score clinique, l'intensité et l'étendue de l'eczéma (Majamaa et Isolauri 1997); seule une réduction significative de l'étendue de l'eczéma a été observée dans le cas de l'administration d'une souche probiotique de *Lactobacillus fermentum* (Weston et al. 2005).

Quelques probiotiques ont été testés dans le traitement de l'allergie au pollen de cèdre au cours d'essais cliniques. Une souche de *Bifidobacterium longum* additionnée à un yaourt consommé pendant 14 semaines, dont 4 avant la saison des pollens, a soulagé les symptômes oculaires de cette rhinite allergique (Xiao et al. 2006*a*). La même souche, cette fois administrée sous forme de poudre, a été administrée pendant 13 semaines dont 2 avant le début de la saison : l'intensité de tous les symptômes a été considérablement réduite (non significatif pour les signes oculaires, $P = 0{,}082$) tout comme la nécessité de recourir à des soins médicamenteux (Xiao et al. 2006*b*). La consommation pendant 10 semaines, dont 2 avant la saison des pollens, d'un lait fermenté contenant une souche de *Lactobacillus gasseri* et la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG a soulagé significativement les signes d'encombrement nasal à 9 semaines ($P = 0{,}053$ à 10 semaines) et réduit le score de médication pour ce même symptôme les 2 dernières semaines (Kawase et al. 2009).

Les probiotiques peuvent apporter des améliorations dans la prévention des rechutes et le traitement de la maladie de Crohn, de la rectocolite hémorragique et de la pochite. La maladie de Crohn et la rectocolite hémorragique se traduisent par des diarrhées, des douleurs abdominales, de la fatigue et un amaigrissement consécutifs aux poussées inflammatoires survenant au sein de la muqueuse intestinale. Le traitement de la rectocolite hémorragique nécessite parfois une coloproctectomie totale avec anastomose iléo-anale, et le réservoir iléo-anal ainsi mis en place peut être le siège d'inflammations appelées pochites ou pouchites. Les effets bénéfiques des probiotiques sur ces pathologies sont vraisemblablement liés à une amélioration de la fonction de barrière et à une modulation des réponses inflammatoires. Certains probiotiques semblent en particulier stimuler la prolifération et la différenciation de lymphocytes Treg immunomodulateurs par l'intermédiaire des cellules dendritiques, notamment via leur récepteur DC-SIGN, ou bloquer la voie NF-κB chez les cellules épithéliales intestinales, 2 mécanismes qui pourraient jouer un rôle important dans l'activité anti-inflammatoire de ces bactéries (Fedorak 2008).

Les lactobacilles probiotiques ne semblent pas avoir d'effet prophylactique sur les rechutes de la maladie de Crohn, au moins en ce qui concerne les souches *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Lactobacillus johnsonii* LA1 (Prantera et al. 2002; Schultz et al. 2004; Marteau et al. 2006; Van Gossum et al. 2007). Il n'en est pas de même pour le mélange VSL#3, qui contient quatre lactobacilles, 3 bifidobactéries et un streptocoque. Une étude en simple aveugle a comparé l'efficacité de VSL#3 et de la mésalazine — un dérivé salicylé anti-inflammatoire — dans la prévention postopératoire des récidives endoscopiques sévères de la maladie de Crohn : le taux de récidive dans le groupe ayant reçu un antibiotique puis le probiotique était significativement plus faible que celui observé pour les patients sous mésalazine

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

(M. Campieri, données non publiées 2000). L'administration quotidienne de la souche *Escherichia coli* Nissle 1917 en parallèle de l'induction médicamenteuse de la rémission s'est également avérée efficace dans la prévention des rechutes avec respectivement 30 % et 70 % de récidives dans les groupes probiotique et placebo, et la nécessité de maintenir un traitement par corticostéroïdes au-delà de 6 mois uniquement pour certains patients ayant reçu le placebo (Malchow 1997). L'ingestion de la levure *Saccharomyces boulardii* semble aussi favoriser le maintien de la rémission : la comparaison de 2 traitements de maintien par administration quotidienne de 3 g de mésalazine pour l'un et de 2 g de mésalazine + 1 g de *SSaccharomyces boulardii* pour l'autre a mis en évidence que ce probiotique réduisait significativement le risque de récidive, avec seulement 6,25 % de rechute à 6 mois contre 37,5 % pour la mésalazine seule (Guslandi et al. 2000).

La mésalazine, qui est classiquement utilisée dans le maintien de la rémission de la rectocolite hémorragique, pourrait être remplacée par le probiotique *Escherichia coli* Nissle 1917. Aucune différence statistique du taux de récidive ou du temps de rémission n'a en effet été observée entre les groupes recevant l'un ou l'autre de ces produits au cours de 2 études de 12 semaines sur des patients en rémission ou avec une rectocolite hémorragique active (Kruis et al. 1997; Rembacken et al. 1999). Une troisième étude, réalisée pendant 1 an sur des patients en rémission, a mis en évidence l'équivalence significative des traitements par 200 mg d'*Escherichia coli* Nissle 1917 ou 1,5 g de mésalazine dans la prévention des récidives de rectocolite hémorragique (Kruis et al. 2004). Le probiotique *Saccharomyces boulardii* semble également avoir un effet bénéfique car, administré 1 mois à 25 patients souffrant de poussées légères à modérées de rectocolite malgré un traitement quotidien par 3 g de mésalazine, il a significativement réduit le score d'activité clinique (Guslandi et al. 2003). Une rémission a ainsi été obtenue chez 68 % de ces patients qui pouvaient difficilement être traités par corticostéroïdes en raison de leur historique de faible tolérance à ces produits. La consommation quotidienne d'un lait fermenté contenant 3 souches probiotiques (*Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus acidophilus*) permet aussi de réduire significativement les scores d'activité clinique et endoscopique ainsi que le score histologique chez des patients souffrant de rectocolite hémorragique légère ou modérée non traitée par corticostéroïdes (Kato et al. 2004). Une étude ouverte portant sur des patients en rémission a montré que la souche *Lactobacillus rhamnosus* GG augmentait significativement la durée de la phase de rémission comparativement à un traitement par 2,4 g/jour de mésalazine (Zocco et al. 2006). Enfin, un essai randomisé en double aveugle contre placebo a montré l'efficacité du mélange VSL#3 consommé quotidiennement pendant l'induction et le maintien médicamenteux de la rémission de rectocolites hémorragiques nouvellement diagnostiquées chez l'enfant (Miele et al. 2009). Une augmentation du taux de rémission, une réduction des scores histologiques et endoscopiques et une diminution du risque de rechute ont été mises en évidence de façon significative dans le groupe recevant ce probiotique.

La consommation quotidienne d'un lait fermenté contenant la souche probiotique *Lactobacillus rhamnosus* GG immédiatement après l'anastomose iléo-anale semble pouvoir réduire significativement le risque de développer une pochite aiguë (Gosselink et al. 2004). Dans une autre étude, l'administration de gélules contenant cette souche à un groupe de patients ayant une pouchite d'intensité faible n'a en revanche mis en évidence aucune différence significative par rapport à un groupe placebo (Kuisma et al. 2003). Par contre, le mélange VSL#3 apporte un bénéfice incontestable dans la prise en charge des pochites; 3 études cliniques en double aveugle ont ainsi démontré son efficacité dans cette pathologie. L'administration de VSL#3 pendant 9 mois à des patients en rémission a permis de réduire significativement le taux de rechute de la pochite, avec seulement 15 % de récidive pendant le traitement par le probiotique contre 100 % dans le groupe placebo (Gionchetti et al. 2000). En outre, tous les patients encore en rémission à la fin de l'étude (n = 17; 85 % du groupe VSL#3) ont fait les frais d'une rechute de l'inflammation dans les 4 mois suivant l'arrêt du traitement probiotique. Chez des patients souffrant de pochites récurrentes, un traitement de maintien par VSL#3 a évité les récidives chez 85 % des sujets traités, tandis que la moitié du groupe placebo avait subi une rechute dans les 2 premiers mois et que seul un individu (6 %) était encore en rémission après 1 an (Mimura et al. 2004). Enfin, la mise en place d'un traitement probiotique prophylactique d'1 an immédiatement après la chirurgie a significativement réduit l'incidence d'un premier épisode de pochite aiguë (Gionchetti et al. 2003). De plus, l'inflammation observée chez 40 % des patients du groupe placebo était légèrement plus sévère que chez ceux du groupe VSL#3 (10 %) ayant développé une pochite aiguë. Une quatrième étude, réalisée de façon ouverte sur 23 patients présentant une pochite légère, a montré l'efficacité potentielle de VSL#3 dans le traitement des pochites actives, avec 69 % des patients en rémission au bout d'1 mois sans autre traitement que l'administration de doses importantes de ce probiotique (Gionchetti et al. 2007).

Une perspective d'avenir : les micro-organismes génétiquement modifiés

Seuls les bénéfices des probiotiques sur la santé humaine confortés par le biais d'études cliniques ont été présentés ci-dessus, mais nombre d'études sur l'animal ouvrent de larges perspectives quant à l'utilisation future de ces micro-organismes, en particulier dans les pathologies à composante auto-immune comme les MICI, le diabète de type I ou la polyarthrite rhumatoïde. Le développement de micro-organismes génétiquement modifiés (MGM) pourrait constituer l'une des avancées majeures parmi les évolutions futures des probiotiques. L'introduction de gènes hétérologues dans des micro-organismes est déjà utilisée depuis des années à des fins de bioproduction, notamment dans le secteur pharmaceutique; cette aptitude à synthétiser des protéines hétérologues et la popularité croissante des probiotiques ont amené l'idée d'utiliser des MGM comme vecteurs de principes actifs. L'administration de MGM vivants permettrait de faire synthétiser et délivrer certaines molécules actives au niveau des muqueuses. Ce concept ouvre la voie au développement de nouveaux types de traitements beaucoup plus ciblés qu'avec les souches probiotiques naturelles.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

D'une part, les protéines d'intérêt thérapeutique destinées à des traitements systémiques sont habituellement administrées par voie parentérale en raison de leur sensibilité à la protéolyse par les enzymes digestives. Leur délivrance directement au niveau des muqueuses par des MGM vivants éviterait leur dégradation et faciliterait ainsi leur absorption. Cette stratégie offre donc des alternatives aux traitements par voie injectable qui sont extrêmement contraignants pour les patients, avec en plus un coût de production moindre en comparaison de systèmes galéniques complexes. En outre, des MGM administrés par voie intranasale pourraient servir de vecteurs à des molécules actives destinées au système nerveux mais incapables de passer la barrière hématoméningée. Il a notamment été montré que de la leptine sécrétée par des lactocoques administrés à des souris par voie intranasale atteindrait le système nerveux central directement sans passer par la circulation sanguine (Bermúdez-Humarán et al. 2007). L'effet obtenu avec la molécule délivrée par les bactéries n'a de surcroît pas été retrouvée lors de l'administration d'une dose équivalente de leptine, montrant que les MGM pourraient potentialiser le passage de principes actifs dans le système nerveux.

Les MGM ont montré sur des modèles animaux leur efficacité dans la délivrance d'antigènes vaccinaux ou au contraire dans la modulation de la réponse aux allergènes (Wells et Mercenier 2008). Cette stratégie est d'autant plus efficace que les MGM peuvent produire des cytokines et des adjuvants en même temps que l'antigène ou l'allergène, ou servir eux-mêmes d'adjuvants, et ainsi augmenter les effets produits sur le système immunitaire. De nombreux travaux ont mis en évidence l'induction de réponses immunitaires systémiques et périphériques spécifiques et protectrices suite à l'administration sous-cutanée, orale, vaginale et surtout intranasale de bactéries lactiques recombinantes produisant des antigènes. Quant aux allergies — et ceci a été démontré pour plusieurs allergies alimentaires et respiratoires très répandues comme l'hypersensibilité au lait, aux œufs, aux acariens ou au pollen — il a été montré qu'elles pouvaient être prévenues par l'administration de bactéries lactiques recombinantes produisant l'allergène en cause. En plus de protéger les animaux traités d'une sensibilisation ultérieure, l'administration de telles bactéries recombinantes a aussi montré un effet curatif sur les allergies, et ce type de traitement, s'il était appliqué à l'humain, offrirait une alternative de choix à la désensibilisation. Les MGM pourraient aussi être utilisés comme vecteurs de vaccins à ADN. Il a été montré chez la souris que l'administration orale de lactocoques possédant un plasmide portant le gène codant la β-lactoglobuline bovine sous contrôle d'un promoteur eucaryote se traduisait par une synthèse transitoire de cette protéine dans les cellules épithéliales intestinales (Chatel et al. 2008). Ce phénomène s'est avéré protéger les souris d'une sensibilisation ultérieure à la β-lactoglobuline, qui est le principal allergène du lait de vache. Cette approche pourrait être appliquée à la délivrance de plasmides portant des gènes codant des protéines immunogènes.

Plus simplement, les MGM pourraient être utiles dans la délivrance de principes actifs au contact des muqueuses pour des traitements locaux. Des déficiences enzymatiques pathologiques au niveau des muqueuses ou du système digestif pourraient, par exemple, être compensées par l'administration de MGM produisant les enzymes nécessaires. Une autre application possible d'un traitement local est la prévention ou le traitement d'infections à l'aide de MGM pouvant soit neutraliser les pathogènes en produisant des anticorps recombinants spécifiques, soit les leurrer en synthétisant des analogues de récepteurs cellulaires. Enfin, les MGM pourraient être utiles dans le traitement local d'affections des muqueuses, notamment dans les maladies inflammatoires. Diverses souches recombinantes ont montré une efficacité dans le traitement de pathologies inflammatoires intestinales chez l'animal. Le MGM probablement le plus abouti à l'heure actuelle est un lactocoque sécrétant de l'IL-10 recombinante au niveau intestinal après ingestion. Cette approche thérapeutique s'est avérée plus efficace dans la prévention et le traitement de colites chez la souris que l'administration parentérale de quantités plus importantes d'IL-10 (Steidler et al. 2000). Afin de passer du modèle murin à l'humain, une souche produisant de l'IL-10 recombinante humaine a été construite en remplaçant le gène *thyA* du lactocoque par le transgène (Steidler et al. 2003). ThyA est une thymidylate synthase dont l'absence rend la bactérie auxotrophe pour la thymine et la thymidine. La privation de ces molécules n'empêche pas seulement la croissance du lactocoque, elle induit également l'activation de la réponse SOS et la fragmentation de l'ADN, résultant en un suicide de la bactérie recombinante. Ce système de confinement biologique est idéal, car il permet de satisfaire à tous les impératifs d'un MGM : la souche est non disséminable, le transgène est stable et ne nécessite aucune sélection antibiotique puisqu'il est sur le chromosome bactérien, et dans l'hypothèse où le gène *thyA* serait à nouveau acquis via un transfert horizontal, le transgène serait alors éliminé lors de la double recombinaison homologue. Cette souche pourrait être utilisée à terme chez les personnes souffrant de MICI et a déjà fait l'objet d'une étude clinique de phase I sur une dizaine de patients atteints de maladie de Crohn, dans laquelle elle a montré sa sécurité d'emploi et son efficacité (Braat et al. 2006). Ce lactocoque recombinant fait aujourd'hui l'objet d'essais cliniques de phase II, et il est probable qu'il sera très prochainement le premier probiotique recombinant à visée thérapeutique humaine sur le marché.

Bibliographie

Aas, J.A., Paster, B.J., Stokes, L.N., Olsen, I., et Dewhirst, F.E. 2005. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J. Clin. Microbiol. **43**(11) : 5721–5732. doi:10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005. PMID:16272510.

Abrahamsson, T.R., Jakobsson, T., Böttcher, M.F., Fredrikson, M., Jenmalm, M.C., Björkstén, B., et Oldaeus, G. 2007. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. J. Allergy Clin. Immunol. **119**(5) : 1174–1180. doi:10.1016/j.jaci.2007.01.007. PMID: 17349686.

Adlerberth, I., Lindberg, E., Aberg, N., Hesselmar, B., Saalman, R., Strannegård, I.L., et Wold, A.E. 2006. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? Pediatr. Res. **59**(1) : 96–101. doi:10.1203/01.pdr.0000191137.12774.b2. PMID:16380405.

AFSSA. 2005. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), Maisons-Alfort, France.

Agerholm-Larsen, L., Raben, A., Haulrik, N., Hansen, A.S., Man-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

ders, M., et Astrup, A. 2000. Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. Eur. J. Clin. Nutr. **54**(4) : 288–297. doi:10.1038/sj.ejcn.1600937. PMID:10745279.

Ahmed, S., Macfarlane, G.T., Fite, A., McBain, A.J., Gilbert, P., et Macfarlane, S. 2007. Mucosa-associated bacterial diversity in relation to human terminal ileum and colonic biopsy samples. Appl. Environ. Microbiol. **73**(22) : 7435–7442. doi:10.1128/AEM.01143-07. PMID:17890331.

Ahola, A.J., Yli-Knuuttila, H., Suomalainen, T., Poussa, T., Ahlström, A., Meurman, J.H., et Korpela, R. 2002. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. Arch. Oral Biol. **47**(11) : 799–804. doi:10.1016/S0003-9969(02)00112-7. PMID:12446187.

Alam, M., Midtvedt, T., et Uribe, A. 1994. Differential cell kinetics in the ileum and colon of germfree rats. Scand. J. Gastroenterol. **29**(5) : 445–451. doi:10.3109/00365529409096836. PMID:8036460.

Anderson, J.W., et Gilliland, S.E. 1999. Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. J. Am. Coll. Nutr. **18**(1) : 43–50. PMID:10067658.

Anukam, K., Osazuwa, E., Ahonkhai, I., Ngwu, M., Osemene, G., Bruce, A.W., et Reid, G. 2006*a*. Augmentation of antimicrobial metronidazole therapy of bacterial vaginosis with oral probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14: randomized, double-blind, placebo controlled trial. Microbes Infect. **8**(6) : 1450–1454. doi:10.1016/j.micinf.2006.01.003. PMID:16697231.

Anukam, K.C., Osazuwa, E., Osemene, G.I., Ehigiagbe, F., Bruce, A.W., et Reid, G. 2006*b*. Clinical study comparing probiotic *Lactobacillus* GR-1 and RC-14 with metronidazole vaginal gel to treat symptomatic bacterial vaginosis. Microbes Infect. **8**(12–13) : 2772–2776. doi:10.1016/j.micinf.2006.08.008. PMID:17045832.

Arank, A., Syed, S.A., Kenney, E.B., et Freter, R. 1969. Isolation of anaerobic bacteria from human gingiva and mouse cecum by means of a simplified glove box procedure. Appl. Microbiol. **17**(4) : 568–576. PMID:4890748.

Ataie-Jafari, A., Larijani, B., Alavi Majd, H., et Tahbaz, F. 2009. Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects. Ann. Nutr. Metab. **54**(1) : 22–27. doi:10.1159/000203284. PMID:19229114.

Ayabe, T., Satchell, D.P., Wilson, C.L., Parks, W.C., Selsted, M.E., et Ouellette, A.J. 2000. Secretion of microbicidal α-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. Nat. Immunol. **1**(2) : 113–118. doi:10.1038/77783. PMID:11248802.

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L.V., Koh, G.Y., Nagy, A., et al. 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **101**(44) : 15718–15723. doi:10.1073/pnas.0407076101. PMID:15505215.

Bäckhed, F., Manchester, J.K., Semenkovich, C.F., et Gordon, J.I. 2007. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **104**(3) : 979–984. doi:10.1073/pnas.0605374104. PMID:17210919.

Bär, F., Von Koschitzky, H., Roblick, U., Bruch, H.P., Schulze, L., Sonnenborn, U., et al. 2009. Cell-free supernatants of *Escherichia coli* Nissle 1917 modulate human colonic motility: evidence from an in vitro organ bath study. Neurogastroenterol. Motil. **21**(5) : 559–566, e16–e17. doi:10.1111/j.1365-2982.2008.01258.x.

Bates, J.M., Mittge, E., Kuhlman, J., Baden, K.N., Cheesman, S.E., et Guillemin, K. 2006. Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. Dev. Biol. **297**(2) : 374–386. doi:10.1016/j.ydbio.2006.05.006. PMID:16781702.

Beaugerie, L. 2008. Diarrhées post-antibiothérapie. Rev. Prat. **58**(11) : 1207–1212. PMID:18689117.

Bekkali, N.L., Bongers, M.E., Van den Berg, M.M., Liem, O., et Benninga, M.A. 2007. The role of a probiotics mixture in the treatment of childhood constipation: a pilot study. Nutr. J. **6**(1) : 17. doi:10.1186/1475-2891-6-17. PMID:17683583.

Bermúdez-Humarán, L.G., Nouaille, S., Zilberfarb, V., Corthier, G., Gruss, A., Langella, P., et Issad, T. 2007. Effects of intranasal administration of a leptin-secreting *Lactococcus lactis* recombinant on food intake, body weight, and immune response of mice. Appl. Environ. Microbiol. **73**(16) : 5300–5307. doi:10.1128/AEM.00295-07. PMID:17601816.

Bertolami, M.C., Faludi, A.A., et Batlouni, M. 1999. Evaluation of the effects of a new fermented milk product (Gaio) on primary hypercholesterolemia. Eur. J. Clin. Nutr. **53**(2) : 97–101. doi:10.1038/sj.ejcn.1600683. PMID:10099941.

Besselink, M.G., van Santvoort, H.C., Buskens, E., Boermeester, M.A., van Goor, H., Timmerman, H.M., et al. 2008. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet, **371**(9613) : 651–659. doi:10.1016/S0140-6736(08)60207-X. PMID:18279948.

Bezirtzoglou, E. 1997. The intestinal microflora during the first weeks of life. Anaerobe, **3**(2–3) : 173–177. doi:10.1006/anae.1997.0102. PMID:16887585.

Bik, E.M., Eckburg, P.B., Gill, S.R., Nelson, K.E., Purdom, E.A., Francois, F., et al. 2006. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **103**(3) : 732–737. doi:10.1073/pnas.0506655103. PMID:16407106.

Björkstén, B., Naaber, P., Sepp, E., et Mikelsaar, M. 1999. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. Clin. Exp. Allergy, **29**(3) : 342–346. doi:10.1046/j.1365-2222.1999.00560.x. PMID:10202341.

Bouskra, D., Brézillon, C., Bérard, M., Werts, C., Varona, R., Boneca, I.G., et Eberl, G. 2008. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. Nature (Lond.), **456**(7221) : 507–510. doi:10.1038/nature07450. PMID:18987631.

Braat, H., Rottiers, P., Hommes, D.W., Huyghebaert, N., Remaut, E., Remon, J.P., et al. 2006. A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease. Clin. Gastroenterol. Hepatol. **4**(6) : 754–759. doi:10.1016/j.cgh.2006.03.028. PMID:16716759.

Brewer, J.H., et Allgeier, D.L. 1966. Safe self-contained carbon dioxide – hydrogen anaerobic system. Appl. Microbiol. **14**(6) : 985–988. PMID:16349706.

Bry, L., Falk, P.G., Midtvedt, T., et Gordon, J.I. 1996. A model of host–microbial interactions in an open mammalian ecosystem. Science (Washington, D.C.), **273**(5280) : 1380–1383. doi:10.1126/science.273.5280.1380. PMID:8703071.

Bu, L.N., Chang, M.H., Ni, Y.H., Chen, H.L., et Cheng, C.C. 2007. *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 in children with chronic constipation. Pediatr. Int. **49**(4) : 485–490. doi:10.1111/j.1442-200X.2007.02397.x. PMID:17587273.

Caballero-Franco, C., Keller, K., De Simone, C., et Chadee, K. 2007. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. **292**(1) : G315–G322. doi:10.1152/ajpgi.00265.2006. PMID:16973917.

Çaglar, E., Sandalli, N., Twetman, S., Kavaloglu, S., Ergeneli, S., et Selvi, S. 2005. Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. Acta Odontol. Scand. **63**(6) : 317–320. doi:10.1080/00016350510020070. PMID:16512103.

Çaglar, E., Cildir, S.K., Ergeneli, S., Sandalli, N., et Twetman, S. 2006. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. Acta Odontol. Scand. **64**(5) : 314–318. doi:10.1080/00016350600801709. PMID:16945898.

Çaglar, E., Kavaloglu, S.C., Kuscu, O.O., Sandalli, N., Holgerson, P.L., et Twetman, S. 2007. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Clin. Oral Investig. **11**(4) : 425–429. doi:10.1007/s00784-007-0129-9. PMID:17574481.

Çaglar, E., Kuscu, O.O., Cildir, S.K., Kuvvetli, S.S., et Sandalli, N. 2008*a*. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Int. J. Paediatr. Dent. **18**(1) : 35–39. PMID:18086024.

Çaglar, E., Kuscu, O.O., Selvi Kuvvetli, S., Kavaloglu Cildir, S., Sandalli, N., et Twetman, S. 2008*b*. Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. Acta Odontol. Scand. **66**(3) : 154–158. doi:10.1080/00016350802089467. PMID:18568474.

Campieri, C., Campieri, M., Bertuzzi, V., Swennen, E., Matteuzzi, D., Stefoni, S., et al. 2001. Reduction of oxaluria after an oral course of lactic acid bacteria at high concentration. Kidney Int. **60**(3) : 1097–1105. doi:10.1046/j.1523-1755.2001.0600031097.x. PMID:11532105.

Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., et al. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes, **56**(7) : 1761–1772. doi:10.2337/db06-1491. PMID:17456850.

Cash, H.L., Whitham, C.V., Behrendt, C.L., et Hooper, L.V. 2006. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. Science (Washington, D.C.), **313**(5790) : 1126–1130. doi:10.1126/science.1127119. PMID:16931762.

Commission européenne. 2006. Règlement (CE) n° 1924/2006 du Parlement européen et du Conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L 404 du 30.12.2006; rectifié au JO L 12 du 18.1.2007; modifié en dernier lieu par le règlement (CE) n° 109/2008 (JO L 39 du 13.2.2008). Luxembourg.

Commission européenne. 2008. Règlement (CE) ñ 353/2008 de la Commission du 18 avril 2008 fixant les dispositions d'exécution relatives aux demandes d'autorisation d'allégations de santé prévues à l'article 15 du règlement (CE) n° 1924/2006 du Parlement européen et du Conseil Journal officiel de l'Union européenne L 109 du 19.4.2008. Luxembourg.

Chatel, J.M., Pothelune, L., Ah-Leung, S., Corthier, G., Wal, J.M., et Langella, P. 2008. In vivo transfer of plasmid from food-grade transiting lactococci to murine epithelial cells. Gene Ther. **15**(16) : 1184–1190. doi:10.1038/gt.2008.59. PMID:18418419.

Cildir, S.K., Germec, D., Sandalli, N., Ozdemir, F.I., Arun, T., Twetman, S., et Çaglar, E. 2009. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. Eur. J. Orthod. **31**(4) : 407–411. doi:10.1093/ejo/cjn108. PMID:19193706.

Cobo Sanz, J.M., Mateos, J.A., et Muñoz Conejo, A. 2006. Efecto de *Lactobacillus casei* sobre la incidencia de procesos infecciosos en ninos/as. Nutr. Hosp. **21**(4) : 547–551. PMID:16913215.

Collado, M.C., Delgado, S., Maldonado, A., et Rodríguez, J.M. 2009. Assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women by quantitative real-time PCR. Lett. Appl. Microbiol. **48**(5) : 523–528. doi:10.1111/j.1472-765X.2009.02567.x. PMID:19228290.

Dani, C., Biadaioli, R., Bertini, G., Martelli, E., et Rubaltelli, F.F. 2002. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study. Biol. Neonate, **82**(2) : 103–108. doi:10.1159/000063096. PMID:12169832.

Darouiche, R.O., Thornby, J.I., Cerra-Stewart, C., Donovan, W.H., et Hull, R.A. 2005. Bacterial interference for prevention of urinary tract infection: a prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind pilot trial. Clin. Infect. Dis. **41**(10) : 1531–1534. doi:10.1086/497272. PMID:16231269.

De Palma, G., Nadal, I., Collado, M.C., et Sanz, Y. 2009. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. Br. J. Nutr. **102**(8) : 1154–1160. doi:10.1017/S0007114509371767. PMID:19445821.

de Vrese, M., Stegelmann, A., Richter, B., Fenselau, S., Laue, C., et Schrezenmeir, J. 2001. Probiotics — compensation for lactase insufficiency. Am. J. Clin. Nutr. **73**(2 Suppl) : 421S–429S. PMID:11157352.

de Vrese, M., Rautenberg, P., Laue, C., Koopmans, M., Herremans, T., et Schrezenmeir, J. 2005*a*. Probiotic bacteria stimulate virus-specific neutralizing antibodies following a booster polio vaccination. Eur. J. Nutr. **44**(7) : 406–413. doi:10.1007/s00394-004-0541-8. PMID:15578195.

de Vrese, M., Winkler, P., Rautenberg, P., Harder, T., Noah, C., Laue, C., et al. 2005*b*. 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. **24**(4) : 481–491. doi:10.1016/j.clnu.2005.02.006. PMID:16054520.

de Vrese, M., Winkler, P., Rautenberg, P., Harder, T., Noah, C., Laue, C., et al. 2006. Probiotic bacteria reduced duration and severity but not the incidence of common cold episodes in a double blind, randomized, controlled trial. Vaccine, **24**(44–46) : 6670–6674. doi:10.1016/j.vaccine.2006.05.048. PMID:16844267.

Deplancke, B., et Gaskins, H.R. 2001. Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. Am. J. Clin. Nutr. **73**(6) : 1131S–1141S. PMID:11393191.

Dicksved, J., Halfvarson, J., Rosenquist, M., Järnerot, G., Tysk, C., Apajalahti, J., et al. 2008. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. ISME J. **2**(7) : 716–727. doi:10.1038/ismej.2008.37. PMID:18401439.

Ding, W.K., et Shah, N.P. 2007. Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. J. Food Sci. **72**(9) : M446–M450. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00565.x. PMID:18034741.

Dobell, C. 1932. Antony van Leeuwenhoek and his « little animals »: Being some account of the father of protozoology and bacteriology and his multifarious discoveries in these disciplines. Harcourt, Brace.

Doron, S.I., Hibberd, P.L., et Gorbach, S.L. 2008. Probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhea. J. Clin. Gastroenterol. **42**(Suppl. 2) : S58–S63. doi:10.1097/MCG.0b013e3181618ab7. PMID:18542041.

Duflot, V. 2004. Petit historique des définitions du mot « probiotique ». Nutritopics 29, Danone Vitapole Á Palaiseau, France.

Duncan, S.H., Richardson, A.J., Kaul, P., Holmes, R.P., Allison, M.J., et Stewart, C.S. 2002. *Oxalobacter formigenes* and its potential role in human health. Appl. Environ. Microbiol. **68**(8) : 3841–3847. doi:10.1128/AEM.68.8.3841-3847.2002. PMID:12147479.

Duncan, S.H., Belenguer, A., Holtrop, G., Johnstone, A.M., Flint,

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

H.J., et Lobley, G.E. 2007. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. Appl. Environ. Microbiol. **73**(4) : 1073–1078. doi:10.1128/AEM.02340-06. PMID:17189447.

Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., et al. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science (Washington, D.C.), **308**(5728) : 1635–1638. doi:10.1126/science.1110591. PMID:15831718.

EFSA. 2007. Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA on the introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. EFSA J. **587** : 1–16.

EFSA. 2008. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from EFSA on the maintenance of the QPS list of microorganisms intentionally added to food or feed. EFSA J. **923** : 1–48.

Falagas, M.E., Betsi, G.I., et Athanasiou, S. 2006. Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. J. Antimicrob. Chemother. **58**(2) : 266–272. doi:10.1093/jac/dkl246. PMID:16790461.

Falck, G., Grahn-Håkansson, E., Holm, S.E., Roos, K., et Lagergren, L. 1999. Tolerance and efficacy of interfering α-streptococci in recurrence of streptococcal pharyngotonsillitis: a placebo-controlled study. Acta Otolaryngol. **119**(8) : 944–948. doi:10.1080/00016489950180333. PMID:10728939.

Fang, S.B., Lee, H.C., Hu, J.J., Hou, S.Y., Liu, H.L., et Fang, H.W. 2009. Dose-dependent effect of *Lactobacillus rhamnosus* on quantitative reduction of faecal rotavirus shedding in children. J. Trop. Pediatr. **55**(5) : 297–301. doi:10.1093/tropej/fmp001. PMID:19203988.

FAO–WHO. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation, Cordoba.

FAO–WHO. 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group, London, Ontario.

Fedorak, R.N. 2008. Understanding why probiotic therapies can be effective in treating IBD. J. Clin. Gastroenterol. **42**(Suppl. 3 Pt. 1) : S111–S115. doi:10.1097/MCG.0b013e31816d922c. PMID:18806699.

Fierer, N., Hamady, M., Lauber, C.L., et Knight, R. 2008. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **105**(46) : 17994–17999. doi:10.1073/pnas.0807920105. PMID:19004758.

Forestier, C., Guelon, D., Cluytens, V., Gillart, T., Sirot, J., et De Champs, C. 2008. Oral probiotic and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infections: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study in intensive care unit patients. Crit. Care, **12**(3) : R69. doi:10.1186/cc6907. PMID:18489775.

Forsythe, P., Sudo, N., Dinan, T., Taylor, V.H., et Bienenstock, J. 2010. Mood and gut feelings. Brain Behav. Immun. **24**(1) : 9–16. doi:10.1016/j.bbi.2009.05.058. PMID:19481599.

Fritz, J.H., Le Bourhis, L., Magalhaes, J.G., et Philpott, D.J. 2008. Innate immune recognition at the epithelial barrier drives adaptive immunity: APCs take the back seat. Trends Immunol. **29**(1) : 41–49. doi:10.1016/j.it.2007.10.002. PMID:18054284.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. **66**(5) : 365–378. PMID:2666378.

Fuller, R. 1991. Probiotics in human medicine. Gut, **32**(4) : 439–442. doi:10.1136/gut.32.4.439. PMID:1902810.

Garrett, W.S., Lord, G.M., Punit, S., Lugo-Villarino, G., Mazmanian, S.K., Ito, S., et al. 2007. Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. Cell, **131**(1) : 33–45. doi:10.1016/j.cell.2007.08.017. PMID:17923086.

Gérard, P., et Bernalier-Donadille, A. 2007. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. Cah. Nutr. Diét. **42**(HS2) : 28–36.

Gionchetti, P., Rizzello, F., Venturi, A., Brigidi, P., Matteuzzi, D., Bazzocchi, G., et al. 2000. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology, **119**(2) : 305–309. doi:10.1053/gast.2000.9370. PMID:10930365.

Gionchetti, P., Rizzello, F., Helwig, U., Venturi, A., Lammers, K.M., Brigidi, P., et al. 2003. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology, **124**(5) : 1202–1209. doi:10.1016/S0016-5085(03)00171-9. PMID:12730861.

Gionchetti, P., Rizzello, F., Morselli, C., Poggioli, G., Tambasco, R., Calabrese, C., et al. 2007. High-dose probiotics for the treatment of active pouchitis. Dis. Colon Rectum, **50**(12) : 2075–2082, 2084. doi:10.1007/s10350-007-9068-4. PMID:17934776.

Goldfarb, D.S., Modersitzki, F., et Asplin, J.R. 2007. A randomized, controlled trial of lactic acid bacteria for idiopathic hyperoxaluria. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. **2**(4) : 745–749. doi:10.2215/CJN.00600207. PMID:17699491.

Gosselink, M.P., Schouten, W.R., van Lieshout, L.M., Hop, W.C., Laman, J.D., et Ruseler-van Embden, J.G. 2004. Delay of the first onset of pouchitis by oral intake of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. Dis. Colon Rectum, **47**(6) : 876–884. doi:10.1007/s10350-004-0525-z. PMID:15108026.

Graham, J.E., Moore, J.E., Jiru, X., Moore, J.E., Goodall, E.A., Dooley, J.S., et al. 2007. Ocular pathogen or commensal: a PCR-based study of surface bacterial flora in normal and dry eyes. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. **48**(12) : 5616–5623. doi:10.1167/iovs.07-0588. PMID:18055811.

Grice, E.A., Kong, H.H., Conlan, S., Deming, C.B., Davis, J., Young, A.C., et al. 2009. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. Science (Washington, D.C.), **324**(5931) : 1190–1192. doi:10.1126/science.1171700. PMID:19478181.

Guslandi, M., Mezzi, G., Sorghi, M., et Testoni, P.A. 2000. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. Dig. Dis. Sci. **45**(7) : 1462–1464. doi:10.1023/A:1005588911207. PMID:10961730.

Guslandi, M., Giollo, P., et Testoni, P.A. 2003. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. **15**(6) : 697–698. doi:10.1097/00042737-200306000-00017. PMID:12840682.

Guyonnet, D., Chassany, O., Ducrotte, P., Picard, C., Mouret, M., Mercier, C.H., et Matuchansky, C. 2007. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 on the health-related quality of life and symptoms in irritable bowel syndrome in adults in primary care: a multicentre, randomized, double-blind, controlled trial. Aliment. Pharmacol. Ther. **26**(3) : 475–486. PMID:17635382.

Hatakka, K., Savilahti, E., Pönkä, A., Meurman, J.H., Poussa, T., Näse, L., 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**(7298) : 1327. doi:10.1136/bmj.322.7298.1327. PMID:11387176.

Hatakka, K., Ahola, A.J., Yli-Knuuttila, H., Richardson, M., Poussa, T., Meurman, J.H., et Korpela, R. 2007. Probiotics reduce the prevalence of oral *candida* in the elderly — a randomized controlled trial. J. Dent. Res. **86**(2) : 125–130. doi:10.1177/154405910708600204. PMID:17251510.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Havenaar, R., et Huis in't Veld, M.J.H. 1992. Probiotics: a general view. Chapman & Hall, New York. p. 209–224.

Hayashi, H., Sakamoto, M., et Benno, Y. 2002. Fecal microbial diversity in a strict vegetarian as determined by molecular analysis and cultivation. Microbiol. Immunol. **46**(12) : 819–831. PMID: 12597356.

Helgeland, L., Vaage, J.T., Rolstad, B., Halstensen, T.S., Midtvedt, T., et Brandtzaeg, P. 1997. Regional phenotypic specialization of intraepithelial lymphocytes in the rat intestine does not depend on microbial colonization. Scand. J. Immunol. **46**(4) : 349–357. doi:10.1046/j.1365-3083.1997.d01-133.x. PMID: 9350285.

Henker, J., Laass, M., Blokhin, B.M., Bolbot, Y.K., Maydannik, V.G., Elze, M., et al. 2007. The probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 (EcN) stops acute diarrhoea in infants and toddlers. Eur. J. Pediatr. **166**(4) : 311–318. doi:10.1007/s00431-007-0419-x. PMID:17287932.

Hennequin, C., Kauffmann-Lacroix, C., Jobert, A., Viard, J.P., Ricour, C., Jacquemin, J.L., et Berche, P. 2000. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. **19**(1) : 16–20. doi:10.1007/s100960050003. PMID:10706174.

Hill, M.J. 1997. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. Eur. J. Cancer Prev. **6**(Supplement 1 Suppl. 1) : S43–S45. doi:10.1097/00008469-199703001-00009. PMID:9167138.

Hlivak, P., Odraska, J., Ferencik, M., Ebringer, L., Jahnova, E., et Mikes, Z. 2005. One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. Bratisl. Lek Listy (Tlacene Vyd), **106**(2) : 67–72.

Hochreiter, W.W., Duncan, J.L., et Schaeffer, A.J. 2000. Evaluation of the bacterial flora of the prostate using a 16S rRNA gene based polymerase chain reaction. J. Urol. **163**(1) : 127–130. doi:10.1016/S0022-5347(05)67987-6. PMID:10604329.

Hoeksma, A., et Winkler, K.C. 1963. The normal flora of the nose in twins. Acta Leiden. **32** : 123–133. PMID:13963837.

Hooper, L.V., Wong, M.H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P.G., et Gordon, J.I. 2001. Molecular analysis of commensal host–microbial relationships in the intestine. Science (Washington, D.C.), **291**(5505) : 881–884. doi:10.1126/science.291.5505.881. PMID: 11157169.

Hooper, L.V., Stappenbeck, T.S., Hong, C.V., et Gordon, J.I. 2003. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity. Nat. Immunol. **4**(3) : 269–273. doi:10.1038/ni888. PMID:12548285.

Hoppe, B., Beck, B., Gatter, N., von Unruh, G., Tischer, A., Hesse, A., et al. 2006. *Oxalobacter formigenes*: a potential tool for the treatment of primary hyperoxaluria type 1. Kidney Int. **70**(7) : 1305–1311. doi:10.1038/sj.ki.5001707. PMID:16850020.

Hrncir, T., Stepankova, R., Kozakova, H., Hudcovic, T., et Tlaskalova-Hogenova, H. 2008. Gut microbiota and lipopolysaccharide content of the diet influence development of regulatory T cells: studies in germ-free mice. BMC Immunol. **9**(1) : 65. doi:10.1186/1471-2172-9-65. PMID:18990206.

Husebye, E., Hellström, P.M., Sundler, F., Chen, J., et Midtvedt, T. 2001. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. **280**(3) : G368–G380. PMID: 11171619.

Isolauri, E., Joensuu, J., Suomalainen, H., Luomala, M., et Vesikari, T. 1995. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. Vaccine, **13**(3) : 310–312. doi:10.1016/0264-410X(95)93319-5. PMID:7631519.

Izcue, A., Coombes, J.L., et Powrie, F. 2006. Regulatory T cells suppress systemic and mucosal immune activation to control intestinal inflammation. Immunol. Rev. **212**(1) : 256–271. doi:10.1111/j.0105-2896.2006.00423.x. PMID:16903919.

Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., et Jansson, J.K. 2007. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. ISME J. **1**(1) : 56–66. doi:10.1038/ismej.2007.3. PMID:18043614.

Jiménez, E., Fernández, L., Marín, M.L., Martín, R., Odriozola, J.M., Nueno-Palop, C., et al. 2005. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. Curr. Microbiol. **51**(4) : 270–274. doi:10.1007/s00284-005-0020-3. PMID:16187156.

Jiménez, E., Marín, M.L., Martín, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., et al. 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? Res. Microbiol. **159**(3) : 187–193. doi:10.1016/j.resmic.2007.12.007. PMID:18281199.

Kajander, K., Hatakka, K., Poussa, T., Färkkilä, M., et Korpela, R. 2005. A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: a controlled 6-month intervention. Aliment. Pharmacol. Ther. **22**(5) : 387–394. doi:10.1111/j.1365-2036.2005.02579.x. PMID:16128676.

Kalliomäki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P., et Isolauri, E. 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. Lancet, **357**(9262) : 1076–1079. doi:10.1016/S0140-6736(00)04259-8. PMID:11297958.

Kalliomäki, M., Salminen, S., Poussa, T., Arvilommi, H., et Isolauri, E. 2003. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. Lancet, **361**(9372) : 1869–1871. doi:10.1016/S0140-6736(03)13490-3. PMID:12788576.

Kalliomäki, M., Salminen, S., Poussa, T., et Isolauri, E. 2007. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. J. Allergy Clin. Immunol. **119**(4) : 1019–1021. doi:10.1016/j.jaci.2006.12.608. PMID:17289135.

Kalliomäki, M., Collado, M.C., Salminen, S., et Isolauri, E. 2008. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. Am. J. Clin. Nutr. **87**(3) : 534–538. PMID:18326589.

Karlsson, J., Pütsep, K., Chu, H., Kays, R.J., Bevins, C.L., et Andersson, M. 2008. Regional variations in Paneth cell antimicrobial peptide expression along the mouse intestinal tract. BMC Immunol. **9**(1) : 37. doi:10.1186/1471-2172-9-37. PMID: 18637162.

Kato, K., Mizuno, S., Umesaki, Y., Ishii, Y., Sugitani, M., Imaoka, A., et al. 2004. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. Aliment. Pharmacol. Ther. **20**(10) : 1133–1141. doi:10.1111/j.1365-2036.2004.02268.x. PMID:15569116.

Kaufman, D.W., Kelly, J.P., Curhan, G.C., Anderson, T.E., Dretler, S.P., Preminger, G.M., et Cave, D.R. 2008. *Oxalobacter formigenes* may reduce the risk of calcium oxalate kidney stones. J. Am. Soc. Nephrol. **19**(6) : 1197–1203. doi:10.1681/ASN.2007101058. PMID:18322162.

Kawase, M., He, F., Kubota, A., Hiramatsu, M., Saito, H., Ishii, T., et al. 2009. Effect of fermented milk prepared with two probiotic strains on Japanese cedar pollinosis in a double-blind placebo-controlled clinical study. Int. J. Food Microbiol. **128**(3) : 429–434. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.09.017. PMID:18977549.

Kim, H.J., Camilleri, M., McKinzie, S., Lempke, M.B., Burton, D.D., Thomforde, G.M., et Zinsmeister, A.R. 2003. A randomized controlled trial of a probiotic, VSL#3, on gut transit and symptoms in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

Aliment. Pharmacol. Ther. **17**(7) : 895–904. doi:10.1046/j.1365-2036.2003.01543.x. PMID:12656692.

Kim, H.J., Vazquez Roque, M.I., Camilleri, M., Stephens, D., Burton, D.D., Baxter, K., et al. 2005. A randomized controlled trial of a probiotic combination VSL#3 and placebo in irritable bowel syndrome with bloating. Neurogastroenterol. Motil. **17**(5) : 687–696. doi:10.1111/j.1365-2982.2005.00695.x. PMID: 16185307.

Koebnick, C., Wagner, I., Leitzmann, P., Stern, U., et Zunft, H.J. 2003. Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation. Can. J. Gastroenterol. **17**(11) : 655–659. PMID: 14631461.

Kollath, W. 1953. Ernahrung und Zahnsystem; Ubersichtsreferat mit besonderer Berucksichtigung der Vitamine. Dtsch. Zahnarztl. Z. **8**(11) : S7–S16.

Koning, C.J., Jonkers, D.M., Stobberingh, E.E., Mulder, L., Rombouts, F.M., et Stockbrügger, R.W. 2008. The effect of a multispecies probiotic on the intestinal microbiota and bowel movements in healthy volunteers taking the antibiotic amoxycillin. Am. J. Gastroenterol. **103**(1) : 178–189. PMID:17900321.

Kopp, M.V., Hennemuth, I., Heinzmann, A., et Urbanek, R. 2008. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. Pediatrics, **121**(4) : e850–e856. doi:10.1542/peds.2007-1492. PMID:18332075.

Kruis, W., Schütz, E., Fric, P., Fixa, B., Judmaier, G., et Stolte, M. 1997. Double-blind comparison of an oral *Escherichia coli* preparation and mesalazine in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment. Pharmacol. Ther. **11**(5) : 853–858. doi:10.1046/j.1365-2036.1997.00225.x. PMID:9354192.

Kruis, W., Fric, P., Pokrotnieks, J., Lukás, M., Fixa, B., Kascák, M., et al. 2004. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut, **53**(11) : 1617–1623. doi:10.1136/gut.2003.037747. PMID:15479682.

Kuisma, J., Mentula, S., Jarvinen, H., Kahri, A., Saxelin, M., et Farkkila, M. 2003. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG on ileal pouch inflammation and microbial flora. Aliment. Pharmacol. Ther. **17**(4) : 509–515. doi:10.1046/j.1365-2036.2003.01465.x. PMID:12622759.

Kuitunen, M., Kukkonen, K., Juntunen-Backman, K., Korpela, R., Poussa, T., Tuure, T., et al. 2009. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. J. Allergy Clin. Immunol. **123**(2) : 335–341. doi:10.1016/j.jaci.2008.11.019. PMID:19135235.

Kukkonen, K., Nieminen, T., Poussa, T., Savilahti, E., et Kuitunen, M. 2006. Effect of probiotics on vaccine antibody responses in infancy — a randomized placebo-controlled double-blind trial. Pediatr. Allergy Immunol. **17**(6) : 416–421. doi:10.1111/j.1399-3038.2006.00420.x. PMID:16925686.

Kukkonen, K., Savilahti, E., Haahtela, T., Juntunen-Backman, K., Korpela, R., Poussa, T., et al. 2007. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J. Allergy Clin. Immunol. **119**(1) : 192–198. doi:10.1016/j.jaci.2006.09.009. PMID:17208601.

Kukkonen, K., Savilahti, E., Haahtela, T., Juntunen-Backman, K., Korpela, R., Poussa, T., et al. 2008. Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Pediatrics, **122**(1) : 8–12. doi:10.1542/peds.2007-1192. PMID:18595980.

Larsson, P.G., Stray-Pedersen, B., Ryttig, K.R., et Larsen, S. 2008. Human lactobacilli as supplementation of clindamycin to patients with bacterial vaginosis reduce the recurrence rate; a 6-month, double-blind, randomized, placebo-controlled study. BMC Womens Health, **8**(1) : 3. doi:10.1186/1472-6874-8-3. PMID:18197974.

Lee, J., Mo, J.H., Katakura, K., Alkalay, I., Rucker, A.N., Liu, Y.T., et al. 2006. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. Nat. Cell Biol. **8**(12) : 1327–1336. doi:10.1038/ncb1500. PMID: 17128265.

Lee, S.J., Shim, Y.H., Cho, S.J., et Lee, J.W. 2007. Probiotics prophylaxis in children with persistent primary vesicoureteral reflux. Pediatr. Nephrol. **22**(9) : 1315–1320. doi:10.1007/s00467-007-0507-1. PMID:17530295.

Lefrancois, L., et Goodman, T. 1989. In vivo modulation of cytolytic activity and Thy-1 expression in TCR-γδ+ intraepithelial lymphocytes. Science (Washington, D.C.), **243**(4899) : 1716–1718. doi:10.1126/science.2564701. PMID:2564701.

Leonard, J., Marshall, J.K., et Moayyedi, P. 2007. Systematic review of the risk of enteric infection in patients taking acid suppression. Am. J. Gastroenterol. **102**(9) : 2047–2056, quiz 2057. doi:10.1111/j.1572-0241.2007.01275.x. PMID:17509031.

Lepage, P., Colombet, J., Marteau, P., Sime-Ngando, T., Doré, J., et Leclerc, M. 2008. Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages? Gut, **57**(3) : 424–425. doi:10.1136/gut.2007.134668. PMID:18268057.

Ley, R.E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C.A., Knight, R.D., et Gordon, J.I. 2005. Obesity alters gut microbial ecology. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **102**(31) : 11070–11075. doi:10.1073/pnas.0504978102. PMID:16033867.

Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., et Gordon, J.I. 2006. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. Nature (Lond.), **444**(7122) : 1022–1023. doi:10.1038/4441022a. PMID:17183309.

Ley, R.E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P.J., Ramey, R.R., Bircher, J.S., et al. 2008*a*. Evolution of mammals and their gut microbes. Science (Washington, D.C.), **320**(5883) : 1647–1651. doi:10.1126/science.1155725. PMID:18497261.

Ley, R.E., Lozupone, C.A., Hamady, M., Knight, R., et Gordon, J.I. 2008*b*. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. Nat. Rev. Microbiol. **6**(10) : 776–788. doi:10.1038/nrmicro1978. PMID:18794915.

Leyden, J.J., McGinley, K.J., Mills, O.H., et Kligman, A.M. 1975. Age-related changes in the resident bacterial flora of the human face. J. Invest. Dermatol. **65**(4) : 379–381. doi:10.1111/1523-1747.ep12607630. PMID:1176788.

Lieske, J.C., Goldfarb, D.S., De Simone, C., et Regnier, C. 2005. Use of a probiotic to decrease enteric hyperoxaluria. Kidney Int. **68**(3) : 1244–1249. doi:10.1111/j.1523-1755.2005.00520.x. PMID:16105057.

Lilly, D.M., et Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. Science (Washington, D.C.), **147**(3659) : 747–748. doi:10.1126/science.147.3659.747. PMID:14242024.

Lin, J.S., Chiu, Y.H., Lin, N.T., Chu, C.H., Huang, K.C., Liao, K.W., et Peng, K.C. 2009. Different effects of probiotic species/strains on infections in preschool children: A double-blind, randomized, controlled study. Vaccine, **27**(7) : 1073–1079. doi:10.1016/j.vaccine.2008.11.114. PMID:19114073.

Link-Amster, H., Rochat, F., Saudan, K.Y., Mignot, O., et Aeschlimann, J.M. 1994. Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. FEMS Immunol. Med. Microbiol.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

10(1) : 55–63. doi:10.1111/j.1574-695X.1994.tb00011.x. PMID: 7874079.

Mack, D.R., Ahrne, S., Hyde, L., Wei, S., et Hollingsworth, M.A. 2003. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. Gut, **52**(6) : 827–833. doi:10.1136/gut.52.6.827. PMID:12740338.

Macpherson, A.J., et Harris, N.L. 2004. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. Nat. Rev. Immunol. **4**(6) : 478–485. doi:10.1038/nri1373. PMID:15173836.

Macpherson, A.J., Geuking, M.B., et McCoy, K.D. 2005. Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. Immunology, **115**(2) : 153–162. doi:10.1111/j.1365-2567.2005.02159.x. PMID:15885120.

Majamaa, H., et Isolauri, E. 1997. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. J. Allergy Clin. Immunol. **99**(2) : 179–185. doi:10.1016/S0091-6749(97)70093-9. PMID: 9042042.

Malchow, H.A. 1997. Crohn's disease and *Escherichia coli*. A new approach in therapy to maintain remission of colonic Crohn's disease? J. Clin. Gastroenterol. **25**(4) : 653–658. doi:10.1097/00004836-199712000-00021. PMID:9451682.

Marteau, P., Pochart, P., Doré, J., Béra-Maillet, C., Bernalier, A., et Corthier, G. 2001. Comparative study of bacterial groups within the human cecal and fecal microbiota. Appl. Environ. Microbiol. **67**(10) : 4939–4942. doi:10.1128/AEM.67.10.4939-4942.2001. PMID:11571208.

Marteau, P., Lémann, M., Seksik, P., Laharie, D., Colombel, J.F., Bouhnik, Y., et al. 2006. Ineffectiveness of *Lactobacillus johnsonii* LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: a randomised, double blind, placebo controlled GETAID trial. Gut, **55**(6) : 842–847. doi:10.1136/gut.2005.076604. PMID:16377775.

Martín, R., Heilig, G.H., Zoetendal, E.G., Smidt, H., et Rodríguez, J.M. 2007*a*. Diversity of the *Lactobacillus* group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. J. Appl. Microbiol. **103**(6) : 2638–2644. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03497.x. PMID:18045446.

Martín, R., Heilig, H.G., Zoetendal, E.G., Jiménez, E., Fernández, L., Smidt, H., et Rodríguez, J.M. 2007*b*. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. Res. Microbiol. **158**(1) : 31–37. doi:10.1016/j.resmic.2006.11.004. PMID:17224259.

Martinez, R.C., Franceschini, S.A., Patta, M.C., Quintana, S.M., Candido, R.C., Ferreira, J.C., et al. 2009*a*. Improved treatment of vulvovaginal candidiasis with fluconazole plus probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14. Lett. Appl. Microbiol. **48**(3) : 269–274. doi:10.1111/j.1472-765X.2008.02477.x. PMID:19187507.

Martinez, R.C., Franceschini, S.A., Patta, M.C., Quintana, S.M., Gomes, B.C., De Martinis, E.C., et Reid, G. 2009*b*. Improved cure of bacterial vaginosis with single dose of tinidazole (2 g), *Lactobacillus rhamnosus* GR-1, and *Lactobacillus reuteri* RC-14: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Can. J. Microbiol. **55**(2) : 133–138. doi:10.1139/W08-102. PMID: 19295645.

Mattar, A.F., Teitelbaum, D.H., Drongowski, R.A., Yongyi, F., Harmon, C.M., et Coran, A.G. 2002. Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. Pediatr. Surg. Int. **18**(7) : 586–590. doi:10.1007/s00383-002-0855-7. PMID:12471471.

Mazmanian, S.K., Liu, C.H., Tzianabos, A.O., et Kasper, D.L. 2005. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. Cell, **122**(1) : 107–118. doi:10.1016/j.cell.2005.05.007. PMID:16009137.

McFarland, L.V. 2006. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease. Am. J. Gastroenterol. **101**(4) : 812–822. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00465.x. PMID:16635227.

McFarland, L.V. 2007. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea. Travel Med. Infect. Dis. **5**(2) : 97–105. doi:10.1016/j.tmaid.2005.10.003. PMID:17298915.

Metchnikoff, I.I. 1907. The prolongation of life: optimistic studies. Heinemann, London.

Meyer-Hoffert, U., Hornef, M.W., Henriques-Normark, B., Axelsson, L.G., Midtvedt, T., Pütsep, K., et Andersson, M. 2008. Secreted enteric antimicrobial activity localises to the mucus surface layer. Gut, **57**(6) : 764–771. doi:10.1136/gut.2007.141481. PMID:18250125.

Miele, E., Pascarella, F., Giannetti, E., Quaglietta, L., Baldassano, R.N., et Staiano, A. 2009. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. Am. J. Gastroenterol. **104**(2) : 437–443. doi:10.1038/ajg.2008.118. PMID:19174792.

Mimura, T., Rizzello, F., Helwig, U., Poggioli, G., Schreiber, S., Talbot, I.C., et al. 2004. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. Gut, **53**(1) : 108–114. doi:10.1136/gut.53.1.108. PMID:14684584.

Montagnini Spaine, D., Mamizuka, E.M., Pereira Cedenho, A., et Srougi, M. 2000. Microbiologic aerobic studies on normal male urethra. Urology, **56**(2) : 207–210. doi:10.1016/S0090-4295(00)00615-4. PMID:10925079.

Moore, W.E.C. 1966. Techniques for routine culture of fastidious anaerobes. Int. J. Syst. Bacteriol. **16**(2) : 173–190. doi:10.1099/00207713-16-2-173.

Moore, W.E., et Holdeman, L.V. 1974. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese–Hawaiians. Appl. Microbiol. **27**(5) : 961–979. PMID:4598229.

Moseman, E.A., Liang, X., Dawson, A.J., Panoskaltsis-Mortari, A., Krieg, A.M., Liu, Y.J., et al. 2004. Human plasmacytoid dendritic cells activated by CpG oligodeoxynucleotides induce the generation of $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells. J. Immunol. **173**(7) : 4433–4442. PMID:15383574.

Mourelatos, K., Eady, E.A., Cunliffe, W.J., Clark, S.M., et Cove, J.H. 2007. Temporal changes in sebum excretion and propionibacterial colonization in preadolescent children with and without acne. Br. J. Dermatol. **156**(1) : 22–31. doi:10.1111/j.1365-2133.2006.07517.x. PMID:17199562.

Mueller, S., Saunier, K., Hanisch, C., Norin, E., Alm, L., Midtvedt, T., et al. 2006. Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. Appl. Environ. Microbiol. **72**(2) : 1027–1033. doi:10.1128/AEM.72.2.1027-1033.2006. PMID:16461645.

Näse, L., Hatakka, K., Savilahti, E., Saxelin, M., Pönkä, A., Poussa, T., et al. 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. **35**(6) : 412–420. doi:10.1159/000047484. PMID:11799281.

Niedzielin, K., Kordecki, H., et 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. **13**(10) : 1143–1147. doi:10.1097/00042737-200110000-00004. PMID:11711768.

Nissle, S.d.R. 1916. Über die Grundlagen einer neuen ursaechlichen Bekaempfung der pathologischen Darmflora. Dtsch. Med. Wochenschr. **42**(39) : 1181–1184. doi:10.1055/s-0028-1135392.

Nobaek, S., Johansson, M.L., Molin, G., Ahrné, S., et Jeppsson, B. 2000. Alteration of intestinal microflora is associated with re-

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

duction in abdominal bloating and pain in patients with irritable bowel syndrome. Am. J. Gastroenterol. **95**(5) : 1231–1238. doi:10.1111/j.1572-0241.2000.02015.x. PMID:10811333.

Noriega, L., Gueimonde, M., Sánchez, B., Margolles, A., et de los Reyes-Gavilán, C.G. 2004. Effect of the adaptation to high bile salts concentrations on glycosidic activity, survival at low PH and cross-resistance to bile salts in *Bifidobacterium.* Int. J. Food Microbiol. **94**(1) : 79–86. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.003. PMID:15172487.

Olivares, M., Díaz-Ropero, M.P., Sierra, S., Lara-Villoslada, F., Fonollá, J., Navas, M., et al. 2007. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. Nutrition, **23**(3) : 254–260. doi:10.1016/j.nut.2007.01.004. PMID:17352961.

Östman, S., Rask, C., Wold, A.E., Hultkrantz, S., et Telemo, E. 2006. Impaired regulatory T cell function in germ-free mice. Eur. J. Immunol. **36**(9) : 2336–2346. doi:10.1002/eji.200535244. PMID:16897813.

Ouwehand, A.C., Tuomola, E.M., Tölkkö, S., et Salminen, S. 2001. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. Int. J. Food Microbiol. **64**(1–2) : 119–126. doi:10.1016/S0168-1605(00)00440-2. PMID:11252493.

Ouwehand, A.C., Lagström, H., Suomalainen, T., et Salminen, S. 2002*a*. Effect of probiotics on constipation, fecal azoreductase activity and fecal mucin content in the elderly. Ann. Nutr. Metab. **46**(3–4) : 159–162. doi:10.1159/000063075. PMID:12169860.

Ouwehand, A.C., Salminen, S., Tölkkö, S., Roberts, P., Ovaska, J., et Salminen, E. 2002*b*. Resected human colonic tissue: new model for characterizing adhesion of lactic acid bacteria. Clin. Diagn. Lab. Immunol. **9**(1) : 184–186. PMID:11777852.

Paineau, D., Carcano, D., Leyer, G., Darquy, S., Alyanakian, M.A., Simoneau, G., et al. 2008. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. FEMS Immunol. Med. Microbiol. **53**(1) : 107–113. doi:10.1111/j.1574-695X.2008.00413.x. PMID:18422632.

Palmer, C., Bik, E.M., DiGiulio, D.B., Relman, D.A., et Brown, P.O. 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. PLoS Biol. **5**(7) : e177. doi:10.1371/journal.pbio.0050177. PMID:17594176.

Parker, R.B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim. Nutr. Health, **29**(12) : 4–8.

Parkes, G.C., Brostoff, J., Whelan, K., et Sanderson, J.D. 2008. Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: their role in its pathogenesis and treatment. Am. J. Gastroenterol. **103**(6) : 1557–1567. doi:10.1111/j.1572-0241.2008.01869.x. PMID:18513268.

Passeron, T., Lacour, J.P., Fontas, E., et Ortonne, J.P. 2006. Prebiotics and synbiotics: two promising approaches for the treatment of atopic dermatitis in children above 2 years. Allergy, **61**(4) : 431–437. doi:10.1111/j.1398-9995.2005.00956.x. PMID:16512804.

Pasteur Vallery-Radot, L. 1939. Oeuvres de Pasteur. Masson, London, R.-U.

Pei, Z., Bini, E.J., Yang, L., Zhou, M., Francois, F., et Blaser, M.J. 2004. Bacterial biota in the human distal esophagus. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **101**(12) : 4250–4255. doi:10.1073/pnas.0306398101. PMID:15016918.

Penders, J., Thijs, C., Vink, C., Stelma, F.F., Snijders, B., Kummeling, I., et al. 2006. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics, **118**(2) : 511–521. doi:10.1542/peds.2005-2824. PMID:16882802.

Penders, J., Stobberingh, E.E., van den Brandt, P.A., et Thijs, C. 2007. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders. Allergy, **62**(11) : 1223–1236. doi:10.1111/j.1398-9995.2007.01462.x. PMID:17711557.

Perez, P.F., Doré, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J., Serrant, P., et al. 2007. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics, **119**(3) : e724–e732. doi:10.1542/peds.2006-1649. PMID:17332189.

Petricevic, L., et Witt, A. 2008. The role of *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35 in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis. BJOG, **115**(11) : 1369–1374. doi:10.1111/j.1471-0528.2008.01882.x. PMID:18823487.

Porter, J.R. 1976. Antony van Leeuwenhoek: tercentenary of his discovery of bacteria. Bacteriol. Rev. **40**(2) : 260–269. PMID:786250.

Prantera, C., Scribano, M.L., Falasco, G., Andreoli, A., et Luzi, C. 2002. Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomised controlled trial with *Lactobacillus* GG. Gut, **51**(3) : 405–409. doi:10.1136/gut.51.3.405. PMID:12171964.

Prasad, A., Cevallos, M.E., Riosa, S., Darouiche, R.O., et Trautner, B.W. 2009. A bacterial interference strategy for prevention of UTI in persons practicing intermittent catheterization. Spinal Cord, **47**(7) : 565–569. doi:10.1038/sc.2008.166. PMID:19139758.

Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., et Medzhitov, R. 2004. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. Cell, **118**(2) : 229–241. doi:10.1016/j.cell.2004.07.002. PMID:15260992.

Rautava, S., Salminen, S., et Isolauri, E. 2009. Specific probiotics in reducing the risk of acute infections in infancy — a randomised, double-blind, placebo-controlled study. Br. J. Nutr. **101**(11) : 1722–1726. doi:10.1017/S0007114508116282. PMID:18986600.

Rawls, J.F., Samuel, B.S., et Gordon, J.I. 2004. Gnotobiotic zebrafish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **101**(13) : 4596–4601. doi:10.1073/pnas.0400706101. PMID:15070763.

Reid, G., Bruce, A.W., et Taylor, M. 1992. Influence of three-day antimicrobial therapy and *lactobacillus* vaginal suppositories on recurrence of urinary tract infections. Clin. Ther. **14**(1) : 11–16. PMID:1576619.

Reid, G., Sanders, M.E., Gaskins, H.R., Gibson, G.R., Mercenier, A., Rastall, R., et al. 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. J. Clin. Gastroenterol. **37**(2) : 105–118. doi:10.1097/00004836-200308000-00004. PMID:12869879.

Rembacken, B.J., Snelling, A.M., Hawkey, P.M., Chalmers, D.M., et Axon, A.T. 1999. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. Lancet, **354**(9179) : 635–639. doi:10.1016/S0140-6736(98)06343-0. PMID:10466665.

Rescigno, M., Urbano, M., Valzasina, B., Francolini, M., Rotta, G., Bonasio, R., et al. 2001. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. Nat. Immunol. **2**(4) : 361–367. doi:10.1038/86373. PMID:11276208.

Ridlon, J.M., Kang, D.J., et Hylemon, P.B. 2006. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. J. Lipid Res. **47**(2) : 241–259. doi:10.1194/jlr.R500013-JLR200. PMID:16299351.

Río, M.E., Zago Beatriz, L., Garcia, H., et Winter, L. 2002. El estado nutricional modifica la efectividad de un suplemento dietario de bacterias lacticas sobre la aparicion de patologias de vias respiratorias en ninos. Arch. Latinoam. Nutr. **52**(1) : 29–34. PMID:12214543.

Roos, K., Holm, S.E., Grahn, E., et Lind, L. 1993. α-Streptococci

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

as supplementary treatment of recurrent streptococcal tonsillitis: a randomized placebo-controlled study. Scand. J. Infect. Dis. **25**(1) : 31–35. PMID:8460346.

Roos, K., Holm, S.E., Grahn-Håkansson, E., et Lagergren, L. 1996. Recolonization with selected α-streptococci for prophylaxis of recurrent streptococcal pharyngotonsillitis — a randomized placebo-controlled multicentre study. Scand. J. Infect. Dis. **28**(5) : 459–462. doi:10.3109/00365549609037940. PMID:8953674.

Roos, K., Håkansson, E.G., et Holm, S. 2001. Effect of recolonisation with "interfering" α-streptococci on recurrences of acute and secretory otitis media in children: randomised placebo controlled trial. BMJ, **322**(7280) : 210–212. doi:10.1136/bmj.322.7280.210. PMID:11159619.

Rosenfeldt, V., Benfeldt, E., Nielsen, S.D., Michaelsen, K.F., Jeppesen, D.L., Valerius, N.H., et Paerregaard, A. 2003. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. **111**(2) : 389–395. doi:10.1067/mai.2003.389. PMID:12589361.

Rusch, V. 2002. Probiotics and definitions: a short overview. Herborn Litterae.

Sakhaee, K. 2009. Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis. Kidney Int. **75**(6) : 585–595. doi:10.1038/ki.2008.626. PMID:19078968.

Sanders, M.E. 2003. Probiotics: considerations for human health. Nutr. Rev. **61**(3) : 91–99. doi:10.1301/nr.2003.marr.91-99. PMID:12723641.

Santacruz, A., Marcos, A., Warnberg, J., Marti, A., Martin-Matillas, M., Campoy, C., et al. 2009. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. Obesity (Silver Spring).

Santé Canada. 2009*a*. Allégations acceptées relatives à la nature des microorganismes probiotiques utilisés dans les aliments. Disponible au http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/label-etiquet/claims-reclam/probiotics_claims-allegations_probiotiques-fra.php.

Santé Canada. 2009*b*. Lignes directrices: Utilisation de microorganismes probiotiques dans les aliments. Direction des aliments, Direction générale des produits de santé et des aliments, Santé Canada, Ottawa, Ont. Disponible auhttp://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/guide-ld/probiotics_guidance-orientation_probiotiques-fra.php [accédé le 18 juin 2010]

Santé Canada. 2009*c*. Probiotiques. Direction générale des produits de santé et des aliments, Santé Canada, Ottawa, Ont..Disponible auhttp://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/applications/licen-prod/monograph/mono_probioti-fra.php [accédé le 18 juin 2010].

Schenk, M., Bouchon, A., Birrer, S., Colonna, M., et Mueller, C. 2005. Macrophages expressing triggering receptor expressed on myeloid cells-1 are underrepresented in the human intestine. J. Immunol. **174**(1) : 517–524. PMID:15611278.

Schultz, M., Timmer, A., Herfarth, H.H., Sartor, R.B., Vanderhoof, J.A., et Rath, H.C. 2004. *Lactobacillus* GG in inducing and maintaining remission of Crohn's disease. BMC Gastroenterol. **4**(1) : 5. doi:10.1186/1471-230X-4-5. PMID:15113451.

Schwebke, J.R., et Weiss, H. 2001. Influence of the normal menstrual cycle on vaginal microflora. Clin. Infect. Dis. **32**(2) : 325. doi:10.1086/318464. PMID:11170935.

Sekimoto, H., Shimada, O., Makanishi, M., Nakano, T., et Katayama, O. 1983. Interrelationship between serum and fecal sterols. Jpn. J. Med. **22**(1) : 14–20. PMID:6302358.

Sepp, E., Julge, K., Vasar, M., Naaber, P., Björksten, B., et Mikelsaar, M. 1997. Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants. Acta Paediatr. **86**(9) : 956–961. doi:10.1111/j.1651-2227.1997.tb15178.x. PMID:9343275.

Shaykhiev, R., Behr, J., Bals, R., et Unutmaz, D. 2008. Microbial patterns signaling via Toll-like receptors 2 and 5 contribute to epithelial repair, growth and survival. PLoS One, **3**(1) : e1393. doi:10.1371/journal.pone.0001393. PMID:18167552.

Sheu, B.S., Cheng, H.C., Kao, A.W., Wang, S.T., Yang, Y.J., Yang, H.B., et Wu, J.J. 2006. Pretreatment with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual *Helicobacter pylori* infection after failed triple therapy. Am. J. Clin. Nutr. **83**(4) : 864–869. PMID:16600940.

Shulman, S.T., Friedmann, H.C., et Sims, R.H. 2007. Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician? Clin. Infect. Dis. **45**(8) : 1025–1029. doi:10.1086/521946. PMID:17879920.

Sjögren, Y.M., Jenmalm, M.C., Böttcher, M.F., Björkstén, B., et Sverremark-Ekström, E. 2009. Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. Clin. Exp. Allergy, **39**(4) : 518–526. doi:10.1111/j.1365-2222.2008.03156.x. PMID:19220322.

Skovbjerg, S., Roos, K., Holm, S.E., Grahn Håkansson, E., Nowrouzian, F., Ivarsson, M., et al. 2009. Spray bacteriotherapy decreases middle ear fluid in children with secretory otitis media. Arch. Dis. Child. **94**(2) : 92–98. doi:10.1136/adc.2008.137414. PMID:18713796.

Snydman, D.R. 2008. The safety of probiotics. Clin. Infect. Dis. **46**(Suppl. 2) : S104–S111, discussion S144–S151. doi:10.1086/523331. PMID:18181712.

Sokol, H., Seksik, P., Rigottier-Gois, L., Lay, C., Lepage, P., Podglajen, I., et al. 2006. Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. Inflamm. Bowel Dis. **12**(2) : 106–111. doi:10.1097/01.MIB.0000200323.38139.c6. PMID:16432374.

Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L.G., Gratadoux, J.J., et al. 2008. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **105**(43) : 16731–16736. doi:10.1073/pnas.0804812105. PMID:18936492.

Sokol, H., Seksik, P., Furet, J.P., Firmesse, O., Nion-Larmurier, I., Beaugerie, L., et al. 2009. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. Inflamm. Bowel Dis. **15**(8) : 1183–1189. doi:10.1002/ibd.20903. PMID:19235886.

Stappenbeck, T.S., Hooper, L.V., et Gordon, J.I. 2002. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **99**(24) : 15451–15455. doi:10.1073/pnas.202604299. PMID:12432102.

Steidler, L., Hans, W., Schotte, L., Neirynck, S., Obermeier, F., Falk, W., et al. 2000. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. Science (Washington, D.C.), **289**(5483) : 1352–1355. doi:10.1126/science.289.5483.1352. PMID:10958782.

Steidler, L., Neirynck, S., Huyghebaert, N., Snoeck, V., Vermeire, A., Goddeeris, B., et al. 2003. Biological containment of genetically modified *Lactococcus lactis* for intestinal delivery of human interleukin 10. Nat. Biotechnol. **21**(7) : 785–789. doi:10.1038/nbt840. PMID:12808464.

Stewart, J.A., Chadwick, V.S., et Murray, A. 2005. Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. J. Med. Microbiol. **54**(12) : 1239–1242. doi:10.1099/jmm.0.46189-0. PMID:16278440.

Sun, C.M., Hall, J.A., Blank, R.B., Bouladoux, N., Oukka, M., Mora, J.R., et Belkaid, Y. 2007. Small intestine lamina propria dendritic cells promote *de novo* generation of Foxp3 T reg cells

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.

via retinoic acid. J. Exp. Med. **204**(8) : 1775–1785. doi:10.1084/jem.20070602. PMID:17620362.

Swidsinski, A., Loening-Baucke, V., Theissig, F., Engelhardt, H., Bengmark, S., Koch, S., et al. 2007. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. Gut, **56**(3) : 343–350. doi:10.1136/gut.2006.098160. PMID:16908512.

Szajewska, H., Skórka, A., et Dylag, M. 2007*a*. Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhoea in children. Aliment. Pharmacol. Ther. **25**(3) : 257–264. PMID:17269987.

Szajewska, H., Skórka, A., Ruszczyński, M., et Gieruszczak-Białek, D. 2007*b*. Meta-analysis: *Lactobacillus* GG for treating acute diarrhoea in children. Aliment. Pharmacol. Ther. **25**(8) : 871–881. PMID:17402990.

Tissier, H. 1906. Traitement des infections intestinales par la méthode de transformation de la flore bactérienne de l'intestin. C. R. Soc. Biol. **60** : 359–361.

Tong, J.L., Ran, Z.H., Shen, J., Zhang, C.X., et Xiao, S.D. 2007. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy. Aliment. Pharmacol. Ther. **25**(2) : 155–168. PMID:17229240.

Trautner, B.W., Hull, R.A., Thornby, J.I., et Darouiche, R.O. 2007. Coating urinary catheters with an avirulent strain of *Escherichia coli* as a means to establish asymptomatic colonization. Infect. Control Hosp. Epidemiol. **28**(1) : 92–94. doi:10.1086/510872. PMID:17230395.

Tubelius, P., Stan, V., et Zachrisson, A. 2005. Increasing workplace healthiness with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: a randomised, double-blind placebo-controlled study. Environ. Health, **4**(1) : 25. doi:10.1186/1476-069X-4-25. PMID:16274475.

Turchet, P., Laurenzano, M., Auboiron, S., et Antoine, J.M. 2003. Effect of fermented milk containing the probiotic *Lactobacillus casei* DN-114001 on winter infections in free-living elderly subjects: a randomised, controlled pilot study. J. Nutr. Health Aging, **7**(2) : 75–77. PMID:12679825.

Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R., et Gordon, J.I. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature (Lond.), **444**(7122) : 1027–1031. doi:10.1038/nature05414. PMID:17183312.

Tursi, A., Brandimarte, G., Giorgetti, G.M., et Modeo, M.E. 2004. Effect of *Lactobacillus casei* supplementation on the effectiveness and tolerability of a new second-line 10-day quadruple therapy after failure of a first attempt to cure *Helicobacter pylori* infection. Med. Sci. Monit. **10**(12) : CR662–CR666. PMID:15567983.

Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., et Kumon, H. 2006. A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. Int. J. Antimicrob. Agents, **28**(Suppl. 1) : S30–S34. doi:10.1016/j.ijantimicag.2006.05.008. PMID:16859900.

Urbancsek, H., Kazar, T., Mezes, I., et Neumann, K. 2001. Results of a double-blind, randomized study to evaluate the efficacy and safety of Antibiophilus in patients with radiation-induced diarrhoea. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. **13**(4) : 391–396. doi:10.1097/00042737-200104000-00015. PMID:11338068.

Van de Merwe, J.P., Stegeman, J.H., et Hazenberg, M.P. 1983. The resident faecal flora is determined by genetic characteristics of the host. Implications for Crohn's disease? Antonie Leeuwenhoek, **49**(2) : 119–124. doi:10.1007/BF00393669. PMID:6684413.

Van Gossum, A., Dewit, O., Louis, E., de Hertogh, G., Baert, F., Fontaine, F., et al. 2007. Multicenter randomized-controlled clinical trial of probiotics (*Lactobacillus johnsonii*, LA1) on early endoscopic recurrence of Crohn's disease after lleo-caecal resection. Inflamm. Bowel Dis. **13**(2) : 135–142. doi:10.1002/ibd.20063. PMID:17206696.

Vandenplas, Y., Salvatore, S., Vieira, M., Viera, M., Devreker, T., et Hauser, B. 2007. Probiotics in infectious diarrhoea in children: are they indicated? Eur. J. Pediatr. **166**(12) : 1211–1218. doi:10.1007/s00431-007-0497-9. PMID:17611775.

Vasquez, N., Mangin, I., Lepage, P., Seksik, P., Duong, J.P., Blum, S., et al. 2007. Patchy distribution of mucosal lesions in ileal Crohn's disease is not linked to differences in the dominant mucosa-associated bacteria: a study using fluorescence *in situ* hybridization and temporal temperature gradient gel electrophoresis. Inflamm. Bowel Dis. **13**(6) : 684–692. doi:10.1002/ibd.20084. PMID:17206669.

Vergin, F. 1954. [Antibiotics and probiotics.]. Hippokrates, **25**(4) : 116–119. PMID:13174124.

Verstraelen, H. 2008. Cutting edge: the vaginal microflora and bacterial vaginosis. Verh. K. Acad. Geneeskd. Belg. **70**(3) : 147–174. PMID:18669158.

Wang, M., Ahrné, S., Jeppsson, B., et Molin, G. 2005. Comparison of bacterial diversity along the human intestinal tract by direct cloning and sequencing of 16S rRNA genes. FEMS Microbiol. Ecol. **54**(2) : 219–231. doi:10.1016/j.femsec.2005.03.012. PMID:16332321.

Wells, J.M., et Mercenier, A. 2008. Mucosal delivery of therapeutic and prophylactic molecules using lactic acid bacteria. Nat. Rev. Microbiol. **6**(5) : 349–362. doi:10.1038/nrmicro1840. PMID:18345021.

Weston, S., Halbert, A., Richmond, P., et Prescott, S.L. 2005. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. Arch. Dis. Child. **90**(9) : 892–897. doi:10.1136/adc.2004.060673. PMID:15863468.

Whorwell, P.J., Altringer, L., Morel, J., Bond, Y., Charbonneau, D., O'Mahony, L., et al. 2006. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. Am. J. Gastroenterol. **101**(7) : 1581–1590. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.00734.x. PMID:16863564.

Wickens, K., Black, P.N., Stanley, T.V., Mitchell, E., Fitzharris, P., Tannock, G.W., et al. 2008. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. J. Allergy Clin. Immunol. **122**(4) : 788–794. doi:10.1016/j.jaci.2008.07.011. PMID:18762327.

Willing, B., Halfvarson, J., Dicksved, J., Rosenquist, M., Järnerot, G., Engstrand, L., et al. 2009. Twin studies reveal specific imbalances in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn's disease. Inflamm. Bowel Dis. **15**(5) : 653–660. doi:10.1002/ibd.20783. PMID:19023901.

Winkler, P., de Vrese, M., Laue, Ch., et Schrezenmeir, J. 2005. Effect of a dietary supplement containing probiotic bacteria plus vitamins and minerals on common cold infections and cellular immune parameters. Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. **43**(7) : 318–326. PMID:16035374.

Wolf, B., Gama, A., Rey, L., Fonseca, W., Roord, J., Fleer, A., et Verhoef, J. 1999. Striking differences in the nasopharyngeal flora of healthy Angolan, Brazilian and Dutch children less than 5 years old. Ann. Trop. Paediatr. **19**(3) : 287–292. doi:10.1080/02724939992383. PMID:10715716.

Xiao, J.Z., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu,

A., et al. 2003. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. J. Dairy Sci. **86**(7) : 2452–2461. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73839-9. PMID:12906063.

Xiao, J.Z., Kondo, S., Yanagisawa, N., Takahashi, N., Odamaki, T., Iwabuchi, N., et al. 2006*a*. Effect of probiotic *Bifidobacterium longum* BB536 [corrected] in relieving clinical symptoms and modulating plasma cytokine levels of Japanese cedar pollinosis during the pollen season. A randomized double-blind, placebo-controlled trial. J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. **16**(2) : 86–93. PMID:16689181.

Xiao, J.Z., Kondo, S., Yanagisawa, N., Takahashi, N., Odamaki, T., Iwabuchi, N., et al. 2006*b*. Probiotics in the treatment of Japanese cedar pollinosis: a double-blind placebo-controlled trial. Clin. Exp. Allergy, **36**(11) : 1425–1435. doi:10.1111/j.1365-2222.2006.02575.x. PMID:17083353.

Yamanaka, T., Helgeland, L., Farstad, I.N., Fukushima, H., Midtvedt, T., et Brandtzaeg, P. 2003. Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. J. Immunol. **170**(2) : 816–822. PMID:12517945.

Zhou, X., Brown, C.J., Abdo, Z., Davis, C.C., Hansmann, M.A., Joyce, P., et al. 2007. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. ISME J. **1**(2) : 121–133. doi:10.1038/ismej.2007.12. PMID:18043622.

Zocco, M.A., dal Verme, L.Z., Cremonini, F., Piscaglia, A.C., Nista, E.C., Candelli, M., et al. 2006. Efficacy of *Lactobacillus* GG in maintaining remission of ulcerative colitis. Aliment. Pharmacol. Ther. **23**(11) : 1567–1574. doi:10.1111/j.1365-2036.2006.02927.x. PMID:16696804.

Zoetendal, E.G., Akkermans, A.D.L., Vliet, W.M.A., Arjan, J., de Visser, G.M., et de Vos, W.M. 2001. The host genotype affects the bacterial community in the human gastronintestinal tract. Microb. Ecol. Health Dis. **13**(3) : 129–134. doi:10.1080/089106001750462669.

Zoetendal, E.G., von Wright, A., Vilpponen-Salmela, T., Ben-Amor, K., Akkermans, A.D., et de Vos, W.M. 2002. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. Appl. Environ. Microbiol. **68**(7) : 3401–3407. doi:10.1128/AEM.68.7.3401-3407.2002. PMID:12089021.

Zoumpopoulou, G., Tsakalidou, E., Dewulf, J., Pot, B., et Grangette, C. 2009. Differential crosstalk between epithelial cells, dendritic cells and bacteria in a co-culture model. Int. J. Food Microbiol. **131**(1) : 40–51. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.037. PMID:19264370.

Can. J. Microbiol. Downloaded from cdnsciencepub.com by 188.119.27.117 on 01/10/25
For personal use only.