

Article de synthèse

Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé

Sophie DROUAULT, Gérard CORTIER*

Unité d'Écologie et de Physiologie du Système Digestif, Institut National de la Recherche Agronomique, 78352 Jouy-en-Josas Cedex, France

(Reçu le 19 octobre 2000 ; accepté le 11 décembre 2000)

Abstract – Health effects of lactic acid bacteria ingested in fermented milk. Many recent studies have shown the health effects of various strains of lactic acid bacteria in humans and animals and have tried to describe their action mechanism in the digestive tract. A number and a variety of potential beneficial effects have been published. Some of these effects have already been described such as the improvement of lactose digestion and the treatment of diarrheal disorders. Other health effects are still a subject of controversy such as the decrease of serum cholesterol and the reduction of tumor formation. The aim of this article is to summarize the probiotic effects of lactic acid bacteria, their mechanisms, and the fate of these microorganisms during their transit in the digestive tract.

lactic acid bacteria / probiotics / health / digestive tract

Résumé – Des travaux de plus en plus nombreux étudient les « effets santé » de différentes souches de bactéries lactiques chez l'homme et l'animal et essaient de cerner leur mécanisme d'action dans le tractus digestif. Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés. Certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tels que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation de tumeurs. Le but de cet article est de faire une synthèse sur les effets probiotiques des bactéries lactiques, le mécanisme d'action et le devenir de ces micro-organismes dans le tractus digestif.

bactérie lactique / probiotique / santé / tractus digestif

* Correspondance et tirés-à-part
Tél. : (33) 1 34 65 24 67 ; fax : (33) 1 34 65 24 62 ; e-mail : corthier@biotec.jouy.inra.fr

Plan

1. Introduction	102
2. Les bactéries lactiques	102
2.1. Définition	102
2.2. Connaissance en génétique sur les bactéries lactiques	103
2.3. Utilisations industrielles des bactéries lactiques	103
3. Effets directs des bactéries lactiques sur la santé	103
3.1. Digestion du lactose	104
3.2. Prophylaxie ou traitement de certaines affections intestinales avec diarrhées	105
3.3. Cancérogénèse	107
3.4. Diminution du cholestérol sérique et déconjugaison des sels biliaires	108
4. Devenir des bactéries lactiques ingérées	108
4.1. Élimination des bactéries lactiques ingérées	109
4.2. Survie des bactéries lactiques dans la lumière intestinale	109
4.3. Facteurs influençant la survie des bactéries lactiques dans le tractus digestif	110
4.3.1. La sécrétion acide gastrique	110
4.3.2. La motricité gastrique et intestinale	110
4.3.3. Les sécrétions digestives	111
4.3.4. Les sécrétions entériques	111
4.3.5. L'effet barrière de la microflore endogène	111
4.3.6. Influence de l'aliment contenant les bactéries lactiques	111
4.4. Nouveaux critères de sélection des bactéries lactiques	112
5. Conclusion	112

1. INTRODUCTION

Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont consommées quotidiennement et en grande quantité par des populations très importantes. Dans les yaourts, par exemple, deux espèces de bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) sont présentes à 10^8 – 10^9 germes par gramme. En plus de leur intérêt dans la fabrication et la préservation des produits alimentaires, certaines souches de bactéries lactiques ont été décrites comme ayant des effets bénéfiques sur la santé humaine. Des travaux de plus en plus nombreux montrent ou suggèrent en effet les effets bénéfiques de ces bactéries. Un certain nombre d'études cliniques chez l'homme ou sur des modèles animaux ont notamment confirmé l'effet bénéfique des laits fermentés et des yaourts dans le cas d'intolé-

rance au lactose, de diarrhées virales ou de diarrhées associées à la prise d'antibiotiques. Les mécanismes par lesquels les bactéries lactiques exercent leurs effets bénéfiques sont multiples et seront présentés ultérieurement dans cet article.

2. LES BACTÉRIES LACTIQUES

2.1. Définition

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram-positif qui regroupent 12 genres bactériens dont les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus*. Ces bactéries peuvent avoir des formes de bâtonnet ou de coque, sont immobiles et ne sporulent pas. Elles ont également un métabolisme aérobie facultatif et ne produisent pas de catalase. Les bactéries lactiques ont en

commun la capacité de fermenter les sucres en acide lactique. Certaines sont dites homofermentaires car elles produisent très majoritairement de l'acide lactique alors que d'autres sont dites hétérofermentaires et produisent de l'acide lactique en même temps que d'autres composés (acétate et éthanol en général).

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif.

Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont considérées comme non-pathogènes et se voient attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS (Generally Regarded As Safe) [1, 2, 110]. Cependant, quelques membres du genre *Streptococcus* et *Enterococcus* ainsi que d'autres bactéries lactiques sont considérées comme pathogènes opportunistes [2].

2.2. Connaissance en génétique sur les bactéries lactiques

La plupart des études génétiques sur les bactéries lactiques concernent les streptocoques pathogènes (*Streptococcus pneumoniae* par exemple) et les souches utilisées dans l'industrie laitière. Depuis quelques années, des études se sont développées notamment sur *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* [36, 60, 70, 84, 85, 130]. Cependant, parmi les souches alimentaires, *Lactococcus lactis* est la bactérie la plus étudiée ; elle est de ce fait considérée comme l'espèce modèle. *L. lactis* est divisé en deux sous-espèces principales, *lactis* et *cremoris*, initialement séparées sur des bases phénotypiques [31] puis à l'aide du séquençage des gènes codant pour les ARN ribosomiques 16S [66, 109]. Des données sont disponibles sur divers aspects du métabolisme des sucres, l'assimilation de l'azote, la biosynthèse des acides aminés et des bases, ou

encore la réponse aux stress. De plus, un grand nombre d'outils sont disponibles et permettent d'étudier et de contrôler l'expression des gènes [35, 68]. Récemment, le génome de la sous-espèce *lactis* a été entièrement séquencé [12].

2.3. Utilisations industrielles des bactéries lactiques

La fermentation lactique des aliments constitue l'une des plus anciennes formes de conservation de la nourriture. Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers (yaourts et fromages). Ces bactéries interviennent également dans la fabrication des salaisons, du vin et des ensilages (Tab. I). L'action de la flore lactique sur la conservation d'un aliment est liée à l'abaissement du pH consécutif à la production d'acide lactique. Les bactéries lactiques peuvent aussi produire de nombreux agents anti-bactériens tels que les bactéricines [89, 90] qui contribuent à inhiber la croissance de flores indésirables. Enfin elles ont une action déterminante sur les qualités organoleptiques des produits fermentés (texture et arôme par exemple).

3. EFFETS DIRECTS DES BACTÉRIES LACTIQUES SUR LA SANTÉ

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907, par le russe Metchnikoff [87]. Selon lui, les lactobacilles pouvaient réduire la putréfaction intestinale, en modifiant la microflore intestinale, et ainsi prolonger la vie. Depuis, un grand nombre d'études sur l'effet potentiel des bactéries lactiques sur la santé ont été publiées. Plus récemment, des études de type pharmaceutique (double-aveugle avec placebo) ont été menées à grande échelle

Tableau I. Exemples de bactéries lactiques utilisées dans la fermentation des aliments.

Aliments/produits	Ingrédients	Bactéries lactiques
Produits laitiers		
Fromages	Lait de vache, chèvre ou brebis	Lactocoques, lactobacilles...
Yaourt	Lait de vache	<i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> et <i>Lb. bulgaricus</i> subsp. <i>delbrueckii</i>
Lait fermenté	Lait de vache	<i>Lb. acidophilus</i>
Kéfir	Lait de vache, de jument ou de chèvre	<i>Lb. kefir</i>
Produits carnés et de la pêche		
Saucisse sèche	Porc, bœuf	Pediocoques, <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i>
Saucisse semi-sèche	Porc	Pediocoques
Izushi	Poisson, riz, légumes	<i>Leu. mesenteroides</i> , <i>Lb. plantarum</i>
Produits végétaux		
Ogi (Nigeria)	Maïs	<i>Lb. plantarum</i> , <i>L. lactis</i>
Olives	Olives vertes	Pédiocoques, <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i>
Pickles	Concombres	Pédiocoques, <i>Lb. plantarum</i>
Choucroute	Chou	<i>Leu. mesenteroides</i> , <i>Lb. plantarum</i>
Sauce soja	Soja	<i>Lb. bulgaricus</i> subsp. <i>delbrueckii</i>
Vin	Raisin	<i>Leu. oenos</i>
Sake	Riz	<i>Lb. sake</i> , <i>Lb. homohiochi</i> , <i>Leu. Mesenteroides</i>
Pain		
Idli	Farines de riz et de haricots	<i>Leu. mesenteroides</i>
“San Francisco sourdough”	Farine de blé	<i>Lb. sanfrancisco</i>

dans plusieurs laboratoires afin de démontrer l'effet bénéfique des bactéries lactiques sur la santé [40, 57, 58, 77, 128]. Seul un petit nombre de bactéries lactiques dont les genres bactériens sont *Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *E. faecium* ainsi que les bifidobactéries a été ainsi étudié. Les effets bénéfiques potentiels cités sont nombreux et variés. Certains sont maintenant bien établis tels que l'amélioration de la digestion du lactose et le traitement des désordres diarrhéiques, d'autres restent encore controversés tels que la diminution du cholestérol sérique ou encore la réduction de la formation de tumeurs. Les bactéries lactiques pour lesquelles ces effets sont décrits sont appelées probiotiques. Les probiotiques sont définis comme des micro-

organismes vivants, qui après ingestion, exercent des effets bénéfiques sur la santé allant au-delà des vertus nutritives inhérentes de l'aliment [44, 113].

3.1. Digestion du lactose

Il est bien établi que le yaourt a des effets positifs sur la maldigestion du lactose dans le cas de déficiences primaires et secondaires en lactase [4, 14, 78, 112]. La déficience en lactase est due à une faible activité en lactase intestinale sur les entérocytes des villosités situées dans la bordure en brosse du jéjunum [108]. Le lactose non digéré dans l'intestin grêle est fermenté dans le côlon par les bactéries coliques conduisant

à la production d'acides organiques à chaîne courte et de gaz tels que l'hydrogène, le méthane et le gaz carbonique. Ces produits présents en quantités excessives dans le côlon peuvent provoquer flatulences, spasmes intestinaux, douleurs abdominales, ballonnements et diarrhées osmotiques [34]. Plusieurs études ont montré, par le test respiratoire à l'hydrogène, que la production d'hydrogène est beaucoup moins importante avec le yaourt qu'avec le lait [4, 108, 118]. Marteau et al. [78] ont également montré que plus de 90% du lactose du yaourt est digéré chez des sujets déficients en lactase. L'effet bénéfique du yaourt par rapport au lait est indépendant de la quantité de lactose dans le produit et n'est donc pas dû à une plus faible teneur en lactose du yaourt. Trois hypothèses ont été proposées sur cet effet bénéfique :

- la digestion du lactose dans la lumière intestinale par la lactase des bactéries lactiques du yaourt. Plusieurs auteurs postulent que la bile contenue dans l'intestin grêle augmenterait la perméabilité des cellules bactériennes, permettant au lactose d'entrer et d'être dégradé [92]. La lyse des bactéries lactiques dans le tractus digestif avec relargage de leur lactase intracellulaire est également possible [81] ;

- un ralentissement de la vidange gastrique et du transit gastro-intestinal dus à la texture plus épaisse et visqueuse du yaourt par rapport au lait [78]. Ceci laisserait plus

de temps à la lactase intestinale résiduelle et aux bactéries lactiques du yaourt pour agir ;

- la stimulation de l'activité lactasique de la muqueuse intestinale par les bactéries lactiques du yaourt [11]. Besnier et al. [11] ont observé chez la souris une augmentation de l'activité lactasique dans la bordure en brosse chez des souris normales et des souris axéniques (sans germe) après 14, 28 et 42 jours de consommation de yaourt. Cependant les résultats d'une étude ultérieure menée en 1989 chez 16 sujets présentant une déficience en lactase contredisent ces données [71].

3.2. Prophylaxie ou traitement de certaines affections intestinales avec diarrhées

Certaines bactéries lactiques sont utilisées dans la prévention ou le traitement des diarrhées infectieuses et des troubles digestifs liés à la prise d'antibiotiques (Tabs. II et III).

Plusieurs essais randomisés avec placebo ont montré l'efficacité de certaines bactéries lactiques dans la prévention des perturbations digestives liées à l'antibiothérapie (Tab. II). Les diarrhées associées à la prise d'antibiotiques constituent un problème fréquent qui touche environ 20% des patients hospitalisés et auxquels on administre des antibiotiques [7]. Un tiers de ces diarrhées est causée par *Clostridium difficile* [41].

Tableau II. Exemples d'essais randomisés montrant un effet significatif de bactéries lactiques versus placebo dans la prévention des diarrhées digestives liées à l'antibiothérapie.

Antibiotique	Bactérie lactique	Effet	Référence
Divers	<i>Lb. rhamnosus</i> GG	5% cas de diarrhée vs. 16%	[5]
Divers	<i>Lb. rhamnosus</i> GG	3,7% cas de diarrhée vs. 13,3%	[127]
Erythromycine	<i>Lb. rhamnosus</i> GG	2 jours de diarrhées vs. 8	[120]
Divers	<i>E. faecium</i> SF68 (Bioflorin®)	8,7% cas de diarrhée vs. 27,2%	[133]
Néomycine	<i>Lb. acidophilus</i> (Infloran®)	20% cas de diarrhée vs. 42%	[23]
Divers	<i>E. faecium</i> SF68 (Bioflorin®)	2,6% cas de diarrhée vs. 14,5%	[13]
Ampicilline	<i>Lb. acidophilus</i> et <i>Lb. bulgaricus</i> (Lactinex®)	8,3% cas de diarrhée vs. 21%	[49]

Tableau III. Exemples d'études randomisées de l'effet de bactéries lactiques versus placebo dans la prévention de la diarrhée du voyageur.

Bactérie lactique	Efficacité	Référence
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	47% ; $p < 0,005$	[56]
<i>Lb. fermentum</i>	Non significatif	[64]
<i>Lb. acidophilus</i>	Non significatif	[64]
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	40,2% ; $p < 0,005$	[95]
Lactinex®	Non significatif	[32]

L'origine des deux autres tiers est incertaine mais pourrait être liée à des troubles dans le métabolisme des bactéries du côlon. Les grosses molécules alors non métabolisées par les bactéries du côlon s'accumuleraient exerçant un effet osmotique dans le côlon provoquant des diarrhées [127]. Les bactéries lactiques ayant un effet significatif dans la prévention des perturbations intestinales liées à l'antibiothérapie sont essentiellement *E. faecium* SF68 (Bioflorin®), *Lb. rhamnosus* GG et *Lb. acidophilus* (Tab. II).

Plusieurs travaux ont démontré un effet thérapeutique significatif de plusieurs probiotiques, notamment *Lb. rhamnosus* GG sur la durée des diarrhées en cas de gastroentérites causées notamment par les rotavirus [17, 18, 49, 52, 61, 74, 96, 104, 119]. De plus un essai randomisé avec placebo a montré que l'administration à des nourrissons hospitalisés de *B. bifidum* et *S. thermophilus* diminuait significativement le risque de diarrhée et de portage de rotavirus [107]. La capacité des bactéries lactiques à prévenir la diarrhée du voyageur a fait jusqu'à présent l'objet d'un nombre limité d'études (Tab. III). Les résultats parfois encourageants nécessitent cependant confirmation.

Plusieurs mécanismes d'action des bactéries lactiques dans le traitement des affections intestinales avec diarrhées ont été proposés :

– *Production de substances antimicrobiennes*

Certaines bactéries lactiques ont la capacité de produire des substances antimicro-

biennes comme le peroxyde d'hydrogène, les bactériocines ou encore les acides organiques. *Lb. rhamnosus* GG produit par exemple des composés tels que le peroxyde d'hydrogène et le pyroglutamate qui inhibent in vitro la croissance de plusieurs bactéries Gram-positives et Gram-négatives [88, 121]. Certaines bactéries lactiques produisent également des bactériocines qui présentent une action antibactérienne avec un large spectre d'action [89, 90]. Ces données dérivent d'études in vitro et mériteraient des confirmations in vivo.

La production d'acides organiques tels que le lactate diminue le pH, ce qui défavorise la croissance des organismes pathogènes. Kovacs-Zomborszky et al. [69] ont notamment montré que chez des porcs canulés au niveau du duodénum et de l'iléon, après consommation du mélange de probiotiques dénommé « Lacto Sacc » (*Lb. acidophilus*, *E. faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*), la concentration en acide lactique passe de 4,77% à 7,22% et le pH diminue de 7,39 à 6,42 dans l'iléon [69]. Parallèlement à cette diminution de pH, les auteurs ont observé une diminution de la population d'*Escherichia coli* dans les contenus intestinaux et les fèces.

– *Immunomodulation*

Plusieurs expériences chez l'homme et l'animal montrent que certaines bactéries lactiques ingérées peuvent moduler des fonctions du système immunitaire. Certains constituants des parois cellulaires auraient un effet dans l'immunomodulation [76, 91]. Schiffrin et al. [114] ont montré que l'ingestion d'un lait fermenté contenant *Lb. acidophilus* La1 augmente in vivo l'activité phagocytaire des granulocytes du sang chez l'homme. De Simone et al. [33] ont montré que l'ingestion d'un mélange de *B. bifidum* et *Lb. acidophilus* (Infloran®) entraîne une augmentation du pourcentage de lymphocytes B dans le sang. Des études plus spécifiques portant sur la production d'anticorps ont montré que l'ingestion de *Lb. rhamnosus* GG raccourcit la durée des

diarrhées causées par les rotavirus et stimule en parallèle la production d'anticorps contre les rotavirus [32, 63, 95]. Link-Amster et al. ont montré que l'ingestion d'un lait fermenté contenant *Lb. acidophilus* La1 et des bifidobactéries augmentait la réponse en anticorps lors d'une vaccination orale par *Salmonella typhi* Ty21a chez l'homme [73].

– *Inhibition de l'adhésion des pathogènes à l'épithélium intestinal*

Beaucoup d'auteurs se sont intéressés à l'adhésion des bactéries lactiques au tractus digestif [9, 21]. L'idée générale est qu'une forte adhésion des bactéries lactiques à l'épithélium intestinal interférerait avec celle des agents pathogènes par saturation des sites de fixation. L'adhésion des bactéries lactiques à l'épithélium digestif a été étudiée in vitro avec des lignées cellulaires d'origine colique ou intestinale (Caco-2 et HT-29 par exemple), animale [16, 27, 54, 115] ou humaine [9, 10, 21]. Les bactéries lactiques capables d'adhérer in vitro à l'épithélium humain et animal sont principalement des lactobacilles et certaines bifidobactéries isolées de la microflore humaine [9, 21, 25]. Ces interactions sont hôte-spécifique. Les mécanismes moléculaires par lesquels ces bactéries lactiques adhèrent à l'épithélium intestinal sont complexes et varient en fonction des souches testées et des lignées cellulaires humaines ou animales utilisées. Pour certaines bactéries, l'adhésion est calcium dépendante alors que pour d'autres, elle ne l'est pas [21]. Plusieurs études suggèrent que l'adhésion est médiée par des protéines [10, 27, 54] alors que d'autres suggèrent un rôle des acides lipoteichoïques [19, 50] et des carbohydrates [10, 16]. Pour certaines souches, deux facteurs semblent impliqués dans l'adhésion, un facteur lié à la paroi cellulaire et un facteur sécrété [25].

Jusqu'à maintenant, les propriétés d'exclusion compétitive des souches adhérentes de bactéries lactiques ont été uniquement démontrées in vitro. Par exemple,

B. bifidum et *Lb. acidophilus* LB sont capables d'inhiber l'adhésion de *Salmonella typhimurium* et de la bactérie entéro-pathogène *E. coli* aux cellules Caco-2 [9, 10, 24]. Les résultats obtenus avec ces modèles in vitro restent là encore à valider par des données in vivo.

3.3. Cancérogenèse

La flore colique pourrait être impliquée dans la cancérogenèse. Cet effet serait médié par des enzymes bactériennes qui activent des procarcinogènes en carcinogènes. Des expériences menées avec des modèles animaux et chez l'homme ont montré que plusieurs bactéries lactiques pouvaient diminuer les taux d'enzymes responsables de l'activation de certains procarcinogènes tels que la β -glucuronidase, la β -glucosidase, l'azoréductase, ou encore la nitroréductase [6, 47, 48, 97, 106].

Des études récentes plus spécifiques de la cancérogenèse ont permis de montrer que *B. longum* et *Lb. acidophilus* diminuent significativement, chez le rat, à la fois la formation de tumeurs coliques induites par l'azoxyméthane, l'activité ornithine décarboxylase (responsable de la formation de polyamine) et l'expression de l'oncoprotéine ras-p21 [103, 123]. Les mécanismes d'action produisant ces effets ne sont pas encore connus. Certains auteurs associent la réduction des tumeurs à des composants de la paroi bactérienne tels que des glycopeptides [94, 116]. Pour d'autres, les bactéries lactiques, en altérant la microflore intestinale, supprimeraient les organismes responsables de la production de carcinogènes [6, 117]. Outre l'effet bénéfique des bactéries lactiques sur la cancer du côlon, plusieurs travaux épidémiologiques ont également suggéré un effet positif de la consommation de *Lb. casei* sur le risque de cancer superficiel de la vessie chez la souris [126] et du yaourt sur le risque de cancer du sein [129].

3.4. Diminution du cholestérol sérique et déconjugaison des sels biliaires

L'effet des bactéries lactiques sur le métabolisme du cholestérol reste encore controversé. Alors que plusieurs études rapportent que la concentration en cholestérol sérique diminue pendant la consommation de grandes quantités (680 à 5 000 mL par jour) de produits laitiers fermentés [8, 55], d'autres études démontrent que la consommation de laits fermentés n'a aucun effet sur la concentration en cholestérol sérique [105, 125]. Gilliland [45] a montré que plusieurs bactéries, notamment *Lb. acidophilus* et *B. longum*, sont capables de limiter le taux de cholestérol sanguin chez des porcs nourris avec un régime riche en cholestérol. Ces mêmes bactéries sont capables d'assimiler le cholestérol *in vitro* en présence de taurocholate de sodium [30, 45, 93]. Une partie de ce cholestérol assimilé (environ 20%) a notamment été retrouvée dans la membrane cellulaire de ces bactéries lactiques [30, 93].

Les concentrations en acides biliaires et la proportion d'acides biliaires déconjugés dans des échantillons sanguins et de contenu digestif ont été comparées chez des souris gnotoxéniques sans lactobacilles et chez ces mêmes souris colonisées avec des souches de lactobacilles (*Lb. delbrueckii* et *Lb. fermentum*) [124]. La proportion de sels biliaires déconjugés et l'activité « bile salt hydrolase » sont considérablement augmentées dans le contenu de l'intestin grêle des animaux hébergeant des lactobacilles. Mais il s'agit là d'un modèle extrême car les bactéries, en absence de microflore résidente, colonisent à un niveau très élevé le tractus digestif. Cette situation (souris monoxénique) est très différente d'une bactérie lactique en transit avec l'aliment.

Certaines bactéries lactiques des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* possèdent une activité hydrolase intracellulaire [29, 51]. Cette enzyme, estimée à 126 kDa chez *Lb. acidophilus*, catalyse *in vitro* l'hydrolyse des acides biliaires conjugués pour don-

ner des acides biliaires libres et les acides aminés correspondants [29]. La déconjugaison des sels biliaires par les bactéries lactiques *in vivo* présenterait un intérêt potentiel dans la réduction du cholestérol sérique. Cependant la déconjugaison excessive des sels biliaires peut avoir des effets pathologiques tels qu'une malabsorption des lipides et des vitamines liposolubles ou encore un rôle dans le développement du cancer du côlon [82].

4. DEVENIR DES BACTÉRIES LACTIQUES INGÉRÉES

L'étude de la survie des bactéries lactiques dans le tractus gastro-intestinal est importante pour une meilleure connaissance du devenir des bactéries lactiques ingérées avec l'aliment et une meilleure compréhension de l'action des probiotiques chez l'homme et l'animal. Il est probable que pour exercer un effet probiotique significatif, les bactéries doivent arriver vivantes et en nombre suffisant dans l'intestin. Une telle étude est également nécessaire pour la sélection et le développement des probiotiques ou des vaccins oraux.

Le moyen le plus fiable d'étudier le devenir des bactéries ingérées dans le tractus digestif est d'effectuer des mesures *in vivo*. Pour cela, deux techniques peuvent être utilisées : la collection des selles et l'intubation intestinale. Ces deux techniques ont déjà permis d'étudier la survie d'un petit nombre de bactéries lactiques, essentiellement des lactobacilles, dans le tractus digestif [15, 79, 80].

4.1. Élimination des bactéries lactiques ingérées

Le pourcentage de survie des bactéries dans les selles après consommation varie de 1 à 5% excepté pour *Bifidobacterium* sp. et *Lb. plantarum* NCIMB 8826 qui

atteignent environ 25 à 30% de survie (Tab. IV). Par contre, la survie dans les selles des bactéries lactiques du yaourt, *S. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* est très faible et les bactéries sont souvent en quantités inférieures au seuil de détection [72]. Les bactéries ingérées sont généralement excrétées dans les selles pendant quelques jours après leur ingestion à la même vitesse qu'un marqueur de transit [15, 67, 80]. Par exemple, *L. lactis* n'est plus détectable dans les selles 3 jours après l'arrêt de l'administration orale des bactéries [67]. Cependant certaines souches de lactobacilles peuvent persister plus longtemps dans les selles. Deux études récentes ont notamment montré que *Lb. plantarum* 299 et 299v et *Lb. rhamnosus* GG peuvent persister dans la muqueuse jéjunale et/ou rectale chez quelques sujets. Ces souches sont encore détectables dans les selles respectivement 7 et 11 jours après arrêt de leur consommation [3, 62].

Ces éléments suggèrent que de nombreux facteurs environnementaux influent sur l'élimination des bactéries lactiques du tractus digestif. Mais une limitation de ces études est que le taux de bactéries dans les selles peut ne pas refléter celui de la lumière intestinale. C'est pourquoi des techniques ont été mises au point pour étudier le devenir des bactéries en transit dans le tractus digestif chez l'homme.

4.2. Survie des bactéries lactiques dans la lumière intestinale

L'intubation intestinale est la meilleure technique pour obtenir des échantillons humains ou animaux à partir des différents segments du tractus gastro-intestinal. De plus, les techniques de perfusion permettent de déterminer non seulement les concentrations en bactéries mais également leur débit dans un compartiment bien précis du tractus digestif. À ce jour, seulement un petit nombre de bactéries lactiques ont été ainsi étudiées (Tab. V).

Tableau IV. Pourcentages de survie de quelques bactéries d'origine alimentaire dans les selles humaines.

Bactérie lactique	% de survie	Référence
<i>Lb. plantarum</i>		
NCIMB 8826	25	[131]
<i>Lb. salivarius</i>	0,2	[78]
<i>L. lactis</i> TC 165.5	1	[67]
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	2	[78] ^a
<i>Bifidobacterium</i> sp.	29,7	[15]
<i>Lb. rhamnosus</i> GG	1-5	[48] ^a
<i>Lb. acidophilus</i>	2-5	[46] ^a

^a Résultat calculé à partir d'un poids de selles théorique de 150 g par jour par Marteau et Rambaud [78].

Les études qui décrivent le devenir des bactéries du yaourt, *Lb. bulgaricus* et *S. thermophilus*, démontrent que leur survie est faible dans les parties hautes du tractus digestif [80]. Lindwall et Fonden [72] ont notamment observé qu'après consommation d'un yaourt contenant 10^9 *Lb. bulgaricus*·g⁻¹, leur concentration dans l'iléon était de 10^5 chez 3 sujets et 10^6 chez le quatrième. Petterson et al. [99] ont également rapporté qu'après consommation de 500 mL de yaourt, les bactéries lactiques atteignent l'iléon seulement chez 1/4 des sujets.

Les autres bactéries majoritairement étudiées sont *Lb. acidophilus* et les bifidobactéries. Marteau et al. ont notamment montré qu'après ingestion d'un lait fermenté contenant 10^8 ·g⁻¹ *Lb. acidophilus* et 10^7 ·g⁻¹ *Bifidobacterium*, environ 1,5% et 37,5% des *Lb. acidophilus* et *Bifidobacterium* ingérés étaient retrouvés dans les contenus iléaux [77].

4.3. Facteurs influençant la survie des bactéries lactiques dans le tractus digestif

4.3.1. La sécrétion acide gastrique

La sécrétion gastrique constitue le premier mécanisme de défense contre la

Tableau V. Pourcentages de survie de quelques bactéries d'origine alimentaire dans l'intestin grêle humain.

Bactérie lactique	% de survie	Site de récupération	Référence
<i>Lb. plantarum</i> NCIMB 8826	7	Iléon	[131]
<i>Lb. fermentum</i> KLD	0,5	Iléon	[131]
<i>Lactococcus lactis</i> MG1363	1	Iléon	[131]
<i>B. bifidum</i>	37,5	Iléon	[79]
<i>Lb. acidophilus</i>	1,5	Iléon	[79]
<i>Bifidobacterium</i> sp.	23,5	Iléon	[101]
<i>Lb. bulgaricus</i>	>1	Duodénum	[100]
<i>S. thermophilus</i>	>1	Duodénum	[100]
<i>Lb. acidophilus</i>	1,3	Iléon	[99]

majorité des micro-organismes ingérés [122]. Différentes études *in vitro* ont permis d'étudier la résistance de certaines bactéries lactiques à l'acidité. Marteau et al. [77] ont démontré que le pourcentage de survie des bactéries à la sortie du compartiment gastrique est significativement plus faible pour *Lb. bulgaricus* (26%) et *S. thermophilus* (12%) que pour *Lb. acidophilus* (64%) et *B. bifidum* (67%). *Lb. bulgaricus* et *S. thermophilus* ont une résistance très faible à l'acidité et sont détruits très rapidement à pH 1 et après environ 1 h à pH 3 [26, 72]. *Lb. acidophilus* a une capacité de survie aux conditions acides beaucoup plus importante. Une première étude démontre que *Lb. acidophilus* perd sa viabilité seulement après 2 h à pH 2,5 et 1% des bactéries sont toujours vivantes après 4 h [26]. Une seconde étude montre que 37 à 59% de *Lb. acidophilus* survivent dans le suc gastrique, à pH 1,4, contre 0,1% pour *Lb. bulgaricus* [72]. *In vitro*, *L. lactis* ne survit pas à une acidification brutale du milieu. Par contre, cette survie peut être augmentée par une phase d'adaptation à des pH intermédiaires [102].

La capacité de survie à l'acidité gastrique varie beaucoup selon genres et souches. Plusieurs hypothèses peuvent être faites pour expliquer ces différences. Certains auteurs incriminent des différences de résistance de la paroi cellulaire [22, 26, 102]. Chou et

Weimer [22] ont montré des différences dans la composition en acides gras de la paroi cellulaire d'une souche de *Lb. acidophilus* et de son variant résistant à l'acidité. Cette différence portait essentiellement sur l'acide gras C14:1, présent chez la souche sauvage mais absent chez le variant résistant à l'acidité. Rallu [102] a également démontré que la résistance à l'acidité de mutants de *L. lactis* impliquait des gènes de biosynthèse de la paroi tel que le gène *pbp2B*. Ce gène code en effet pour une enzyme impliquée dans la synthèse du peptidoglycane ; elle possède à la fois une activité transglycolase pour polymériser le brin de glycane et une activité transpeptidase pour lier entre eux les brins par leur chaîne peptidique. Le maintien de l'intégrité de la paroi semble donc être un point important dans la résistance à l'acidité puisque la paroi constitue pour la bactérie la première barrière contre les agressions extérieures.

4.3.2. La motricité gastrique et intestinale

La motricité gastrique et intestinale constitue un mécanisme de défense important de l'intestin. Des perturbations dans le péristaltisme aboutissent à une colonisation bactérienne chronique de l'intestin grêle [65].

4.3.3. Les sécrétions digestives

L'influence des sécrétions digestives sur la survie des bactéries lactiques ingérées n'a pas encore été clairement démontrée *in vivo*. Des modèles *in vitro* existent cependant et ont permis des études préliminaires [20, 81].

Marteau et al. [81] ont clairement démontré, *in vitro*, que les sels biliaires avaient un effet bactéricide. De la même manière que pour l'acidité gastrique, cette étude démontre une différence dans la sensibilité aux sels biliaires entre les espèces bactériennes. *Lb. bulgaricus* et *S. thermophilus* ont un pourcentage de survie très faible comparé à *Lb. acidophilus* et *B. bifidum*. Les sels biliaires auraient un effet détergeant sur les membranes cellulaires résultant en une augmentation de la perméabilité cellulaire.

La résistance au suc pancréatique de différentes souches de lactobacilles a été déterminée après exposition d'une suspension cellulaire lavée dans un suc intestinal (pH 8, 37 °C) contenant de la pancréatine (1 g·L⁻¹) et du chlorure de sodium (5 g·L⁻¹) [20]. La majorité des souches testées sont intrinsèquement résistantes au suc pancréatique reconstitué et ne montrent aucune réduction de la viabilité après 4 h d'incubation. Certaines souches sont au contraire très sensibles et subissent une très rapide réduction en viabilité (plus de 1,5 log CFU·mL⁻¹ en 4 h). Là aussi ces résultats mettent en évidence des différences de viabilité entre souches.

4.3.4. Les sécrétions entériques

La surface épithéliale de l'intestin est essentielle pour l'absorption des substances nutritives et constitue également une barrière entre le corps et l'environnement externe qu'est la lumière intestinale. Tout au long du tractus intestinal, la couche de mucus agit comme une barrière vis-à-vis des micro-organismes étrangers [42, 59]. Les chaînes oligosaccharidiques des mucines imitent celles des récepteurs de surface. En se liant aux microbes, elles peuvent les

empêcher d'atteindre la surface. La sécrétion de mucus est également imprégnée d'IgA et de lysozyme.

Les cellules de Paneth, localisées à la base des cryptes intestinales sont plus abondantes dans l'iléon. Elles ont un rôle physiologique important dans la synthèse de molécules effectrices de la défense contre les micro-organismes étrangers (lysozyme et phospholipase A2) [53, 98]. Les cellules de Paneth expriment également des peptides ayant une activité antimicrobienne, les défensines [39, 75]. Ces peptides anti-microbiens sont notamment impliqués dans la perméabilisation des membranes cellulaires des micro-organismes [111, 132].

4.3.5. L'effet barrière de la microflore endogène

L'équilibre de la flore intestinale résulte d'interactions microbiennes au sein de l'écosystème sous la forme de compétitions (pour des substrats nutritifs ou des sites d'adhérence) et de modifications de l'écosystème par des produits du métabolisme bactérien (pH, acides organiques, bactériocines) [37, 38, 43]. La flore endogène exerce un effet de barrière vis-à-vis des micro-organismes en transit.

4.3.6. Influence de l'aliment contenant les bactéries lactiques

L'aliment dans lequel les bactéries sont ingérées influe sur leur taux de survie dans le tractus digestif. Il est en effet bien établi que les produits laitiers fermentés ont un fort pouvoir tampon dans l'estomac qui a pour effet de protéger les bactéries [83, 100]. Il a notamment été montré *in vivo* que la présence de lait augmente la résistance de *Lb. acidophilus* ADH à l'acidité gastrique : entre 40 et 60 min dans l'estomac sans addition de lait et jusqu'à 2 h quand du lait est ajouté [26, 99]. La survie de *Lb. bulgaricus* et *S. thermophilus* est également plus importante lorsqu'ils sont ingérés dans du yaourt [100].

4.4. Nouveaux critères de sélection des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont généralement sélectionnées pour leur propriété technologique : bonne croissance et participation au développement de flaveur au cours de la fermentation du lait ou encore résistance aux bactériophages. Mais depuis quelques années, avec le développement des connaissances relatives à l'effet bénéfique des bactéries lactiques sur la santé, d'autres propriétés sont prises en compte. Un déterminant essentiel dans la sélection d'un micro-organisme potentiel probiotique est sa capacité d'atteindre, de survivre voire de persister dans l'environnement dans lequel il doit agir. C'est pourquoi de nombreuses études visent à sélectionner des souches capables de tolérer l'acide gastrique et les sels biliaires, d'adhérer *in vitro* aux cellules épithéliales et de produire plusieurs substances antimicrobiennes.

5. CONCLUSION

Des travaux de plus en plus nombreux montrent des « effets santé » de différentes souches de bactéries lactiques chez l'homme et essaient de cerner leur mécanisme d'action dans le tractus digestif. Les effets probiotiques démontrés chez l'homme sont la bonne tolérance du yaourt par rapport au lait chez les sujets souffrant d'une intolérance au lactose et la prévention ou le raccourcissement de certaines diarrhées. L'utilisation des bactéries lactiques dans la prévention de certaines maladies et le bien-être des consommateurs semble tenir une place de plus en plus importante tant au niveau économique qu'hédonique.

Dans un but thérapeutique, de nombreux programmes de recherches s'intéressent à l'utilisation des bactéries lactiques non plus en tant que souche naturelle mais en tant que souche modifiée génétiquement dans le but de délivrer de nouvelles molécules d'intérêt médical dans le tractus digestif [28,

86]. Les deux approches sont complémentaires.

RÉFÉRENCES

- [1] Adams M.R., Marteau P., On the safety of lactic acid bacteria from food, *Int. J. Food Microbiol.* 27 (1995) 263-264.
- [2] Aguirre M., Collins M.D., Lactic acid bacteria and human clinical infection, *J. Appl. Bacteriol.* 75 (1993) 95-107.
- [3] Alander M., Satokari R., Korpela R., Saxelin M., Vilpponen-Salmela T., Mattila-Sandholm T., Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption, *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1999) 351-354.
- [4] Arrigoni E., Marteau P., Briet F., Pochart P., Rambaud J.C., Messing B., Tolerance and absorption of lactose from milk and yoghurt during short bowel syndrome in man, *Am. J. Clin. Nutr.* 60 (1994) 926-929.
- [5] Arvola T., Laiho K., Torkkeli S., Mykkanen H., Salminen S., Maunula L., Isolauri E., Prophy-lactic *Lactobacillus* GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study, *Pediatrics* 104 (1999) 1-4.
- [6] Ayebo A.D., Angelo I.E., Shahani K.M., Effect of ingested *Lactobacillus acidophilus* milk upon fecal flora and activity in humans, *Milchwis-senschaft* 35 (1980) 730-733.
- [7] Barlett J.G., Antibiotic-associated diarrhea, *Clin. Infect. Dis.* 15 (1992) 573-581.
- [8] Bazarre T.L., Wu L., Yuhas J.A., Total and HDL-cholesterol concentrations following yogurt and calcium supplementation, *Nutr. Rep. Int.* 28 (1983) 1225-1232.
- [9] Bernet M.F., Brassart D., Neeser J.R., Servin A.L., Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions, *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (1993) 4121-4128.
- [10] Bernet M.F., Brassart D., Neeser J.R., Servin A.L., *Lactobacillus acidophilus* LA1 binds to cultured human intestinal cells lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria, *Gut* 35 (1994) 483-489.
- [11] Besnier M.O., Bourlioux P., Fourniat J., Ducluzeau R., Aumaitre A., Influence de l'ingestion de yogurt sur l'activité lactasique intestinale chez des souris axéniques ou holoxéniques, *Ann. Microbiol. Paris A* 134 (1983) 219-230.
- [12] Bolotin A., Mauger S., Malarme S., Erhlich S.D., Sorokin A., Low redundancy sequencing of the entire *Lactococcus lactis* IL1403 genome, *Antonie van Leeuwenhoek* 76 (1999) 27-76.

- [13] Borgia M., Sepe N., Brancato V., Borgia R.A., Controlled clinical study on *Streptococcus faecium* preparation for the prevention of side reactions during long-term antibiotic treatments, *Curr. Ther. Res.* 31 (1982) 265-271.
- [14] Boudraa G., Touhami M., Pochart P., Mary J.Y., Desjeux J.F., Effect of feeding yogurt versus milk in children with persistent diarrhea, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 11 (1990) 509-512.
- [15] Bouhnik Y., Pochart P., Marteau P., Arlet G., Goderel I., Rambaud J.C., Fecal recovery of viable *Bifidobacterium* sp. ingested in fermented milk, *Gastroenterology* 102 (1992) 875-878.
- [16] Brooker B.F., Fuller R., Adhesion of lactobacilli to the chicken crop epithelium, *J. Ultrastruct. Res.* 52 (1975) 21-31.
- [17] Buydens P., Debeuckelaere S., Efficacy of SF 68 in the treatment of acute diarrhea. A placebo-controlled trial, *Scand. J. Gastroenterol.* 31 (1996) 887-891.
- [18] Camarri E., Belvisi A., Guidoni G., Marini G., Frigerio G., A double-blind comparison of two different treatments for acute enteritis in adults, *Chemotherapy* 27 (1981) 466-470.
- [19] Chan R.C.Y., Reid G., Irvin R.T., Bruce A.W., Costerton J.W., Competitive exclusion of uropathogens from human uroepithelial cells by *Lactobacillus* whole cells and cell wall fragments, *Infect. Immun.* 47 (1985) 84-89.
- [20] Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L., Collins J.K., Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract, *J. Appl. Microbiol.* 84 (1998) 759-768.
- [21] Chauvière G., Coconnier M.H., Kernéis S., Fourniat J., Servin A.L., Adhesion of human *Lactobacillus acidophilus* strain LB to human enterocyte-like Caco-2 cells, *J. Gen. Microbiol.* 138 (1992) 1689-1696.
- [22] Chou L.S., Weimer B., Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*, *J. Dairy Sci.* 82 (1999) 23-31.
- [23] Clements M.L., Levine M.M., Ristuscio P.A., Exogenous lactobacilli fed to man – their fate and ability to prevent diarrheal disease, *Prog. Food Nutr. Sci.* 7 (1983) 29-37.
- [24] Coconnier M.E., Klaenhammer T.R., Kernéis S., Bernet M.F., Servin A.L., Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992) 2034-2039.
- [25] Coconnier M.E., Bernet M.F., Kernéis S., Chauvière G., Fourniat J., Servin A.L., Inhibition of adhesion of enteroinvasive pathogens to human intestinal Caco-2 cells by *Lactobacillus acidophilus* strain LB decreases bacterial invasion, *FEMS Microbiol. Lett.* 110 (1993) 299-306.
- [26] Conway P.L., Gorbach S.L., Goldin B.R., Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells, *J. Dairy Sci.* 70 (1987) 1-12.
- [27] Conway P.L., Kjelleberg S., Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus fermentum* strain 737 to mouse stomach squamous epithelium, *J. Gen. Microbiol.* 135 (1989) 1175-1186.
- [28] Corthier G., Renault P. Future directions for research on biotherapeutic agents: contribution of genetic approaches on lactic acid bacteria, in: Elmer G.W. (Ed.), *Biotherapeutic agents and infectious diseases*, Humana Press Inc., Totowa, 1999, pp. 269-304.
- [29] Corzo G., Gilliland S.E., Bile salt hydrolase activity of three strains of *Lactobacillus acidophilus*, *J. Dairy Sci.* 82 (1999) 472-480.
- [30] Dambekodi P.C., Gilliland S.E., Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Bifidobacterium longum*, *J. Dairy Sci.* 81 (1998) 1818-1824.
- [31] Davidson B.E., Kordias N., Dobos M., Hillier A.J., Genomic organization of lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek* 70 (1996) 161-183.
- [32] de Dios Pozzo Olano J., Warram J.H., Gomez R.G., Cavazos M.G., Effect of a *Lactobacilli* preparation on traveler's diarrhea: a randomized double-blind clinical trial, *Gastroenterology* 74 (1978) 829-830.
- [33] de Simone C., Ciardi A., Grassi A., Lambert Gardini S., Tzantzoglou S., Trincheri V., Effect of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* on gut mucosa and peripheral blood lymphocytes, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 14 (1992) 331-340.
- [34] de Villiers V., The effect of lactose maldigestion on the stools of young Tswana children, *J. Trop. Pediatr.* 41 (1995) 54-56.
- [35] de Vos W.M., Simons G.F.M., Gene cloning and expression system in Lactococci, in: Gasson M., de Vos W.M. (Eds.), *Genetics and Biotechnology of lactic acid bacteria*, Blackie Academic and Professional, London, 1994, pp. 52-105.
- [36] de Vos W.M., Gene expression systems for lactic acid bacteria, *Curr. Opin. Microbiol.* 2 (1999) 289-295.
- [37] Ducluzeau R., Role of experimental microbial ecology in gastroenterology, in: Bergogne-Berezin E. (Ed.), *Microbial ecology and intestinal infections*, Springer Paris, Springer, 1989, pp. 7-26.
- [38] Duncan H.E., Edberg S.C., Host-microbe interaction in the gastrointestinal tract, *Crit. Rev. Microbiol.* 21 (1995) 85-100.
- [39] Eisenhauer P.B., Harwig S.S., Lehrer R.I., Cryptidins: antimicrobial defensins of the murine

- small intestine, *Infect. Immun.* 60 (1992) 3556-3565.
- [40] Elmer G.W., Surawicz C.M., McFarland L.V., Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infection, *J. Am. Med. Assoc.* 275 (1996) 870-876.
- [41] Fekety R., Shah A.B., Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* colitis, *J. Am. Med. Assoc.* 269 (1993) 71-75.
- [42] Forstner J.F., Forstner G.G., Gastrointestinal mucus in physiology of the gastrointestinal tract, in: Johnson L.R. (Eds.), Raven Press, New York, 1994.
- [43] Freter R., Factors influencing the microecology of the gut, in: Fuller R. (Ed.), Probiotics: the scientific basis, Chapman et Hall, London, 1992, pp. 111-145.
- [44] Fuller R., Probiotics in man and animal, *J. Appl. Bacteriol.* 66 (1989) 365-378.
- [45] Gilliland S.E., Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.* 87 (1990) 175-188.
- [46] Gilliland S.E., Speck M.L., Nauyok G.F., Giesbrecht F.G., Influence of consuming non-fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* on fecal flora of healthy males, *J. Dairy Sci.* 61 (1978) 1-10.
- [47] Goldin B.R., Gorbach S.L., Probiotics for humans, in: Fuller R. (Eds.), Probiotics, the scientific basis, Chapman & Hall, London, 1992, pp. 335-376.
- [48] Goldin B.R., Gorbach S.L., Saxelin M., Barakat S., Gualtieri L., Salminen S., Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract, *Dig. Dis. Sci.* 37 (1992) 121-128.
- [49] Gotz V., Romankiewica J.A., Moss J., Murray H.W., Prophylaxis against ampicillin-associated diarrhea with a *Lactobacillus* preparation, *Am. J. Hosp. Pharm.* 36 (1979) 754-757.
- [50] Granato D., Perotti F., Masserey I., Rouvet M., Golliard M., Servin A., Cell surface-associated lipoteichoic acid acts as an adhesion factor for attachment of *Lactobacillus johnsonii* La1 to human enterocyte-like Caco-2 cells, *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (1999) 1071-1077.
- [51] Grill J.P., Schneider F., Crociani J., Ballongue J., Purification and characterization of conjugated bile salt hydrolase from *Bifidobacterium longum* BB536, *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (1995) 2577-2582.
- [52] Guarino A., Canani R.B., Spagnuolo M.I., Albano F., Benedetto L., Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 25 (1997) 516-519.
- [53] Harwig S.S., Tan L., Qu X.D., Cho Y., Eisenhauer P.B., Lehrer R.I., Bactericidal properties of murine phospholipase A2, *J. Clin. Invest.* 95 (1995) 603-610.
- [54] Henriksson A., Szewzyk R., Coway P.L., Characteristics of the adhesive determinants of *Lactobacillus fermentum* 104, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (1991) 499-502.
- [55] Hepner G., Fried R., StJeor S., Fusetti L., Morin R., Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk, *Am. J. Clin. Nutr.* 32 (1979) 19-24.
- [56] Hilton E., Lilakowski P., Smith M., Singer C., Efficacy of *Lactobacillus* GG as a diarrheal preventive in travelers, *J. Travel Med.* 4 (1997) 41-43.
- [57] Hitchins A.D., McDonough A., Prophylactic and therapeutic aspects of fermented milk, *Am. J. Clin. Nutr.* 49 (1989) 675-684.
- [58] Holzapfel W.H., Haberer P., Snel J., Schillinger U., Huis in't Veld J.H.J., Overview of gut flora and probiotics, *Int. J. Food Microbiol.* 41 (1998) 85-101.
- [59] Hoskins L.C., Mucin degradation in the human gastrointestinal tract and its significance to enteric microbial ecology, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 5 (1993) 205-213.
- [60] Hugenholtz J., Kleerebezem M., Metabolic engineering of lactic acid bacteria: overview of the approaches and results of pathway rerouting involved in food fermentations, *Curr. Opin. Biotechnol.* 10 (1999) 492-497.
- [61] Isolauri E., Juntunen M., Rautanen T., Sillanaukee P., Koivu T.A., A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp. strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children, *Pediatrics* 88 (1991) 90-97.
- [62] Johansson M.L., Molin G., Jeppsson B., Nobaek S., Ahrné S., Bengmark S., Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: in vivo colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora, *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (1993) 15-20.
- [63] Kaila M., Isolauri E., Soppi E., Virtanen E., Laine S., Arvilommi H., Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain, *Pediatr. Res.* 32 (1992) 141-144.
- [64] Kataralis P.H., Salam I., Farthing M.J.G., Lactobacilli to prevent traveler's diarrhea?, *N. Engl. J. Med.* 333 (1995) 1360-1361.
- [65] King C.E., Toskes P.P., Small intestine overgrowth, *Gastroenterology* 76 (1979) 1035-1055.
- [66] Klinj N., Weerkamp A.H., de Vos W.M., Identification of mesophilic lactic acid bacteria by using polymerase chain reaction-amplified variable regions of 16S rRNA and specific DNA probes, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (1991) 3390-3393.
- [67] Klinj N., Weerkamp A.H., de Vos W.M., Genetic marking of *Lactococcus lactis* shows its survival in the human gastrointestinal tract, *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (1995) 2771-2774.

- [68] Kok J., Inducible gene expression and environmentally regulated genes in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek* 70 (1996) 129-145.
- [69] Kovacs-Zomborszky M., Kreizinger F., Gombos S., Zomborszky Z., Data on the effect of the probiotic "Lacto Sacc", *Acta Vet. Hung.* 42 (1994) 3-14.
- [70] Kuipers O.P., Genomics for food biotechnology: prospects of the use of high-throughput technologies for the improvement of food microorganisms, *Curr. Opin. Biotechnol.* 10 (1999) 511-516.
- [71] Lerebours E., N'Djitoyap Ndam C., Lavoine A., Hellot M.F., Antoine J.M., Colin R., Yogurt and fermented-then-pasteurized milk: effect of short-term and long-term ingestion on lactose absorption and mucosal lactase activity in lactase-deficient subjects, *Am. J. Clin. Nutr.* 49 (1989) 823-827.
- [72] Lindwall S., Fonden R., Passage and survival of *L. acidophilus* in the human gastrointestinal tract, *Annu. Bull. Int. Dairy Fed.* 21 (1984) 179.
- [73] Link-Amster H., Rochat F., Saudan K.Y., Mignot O., Aeschlimann J.M., Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 10 (1994) 55-63.
- [74] Majamaa H., Isolauri E., Saxelin M., Vesikari T., Lactic acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 20 (1995) 333-338.
- [75] Mallow E.B., Harris A., Salzman N., Russel J.P., DeBerardinis R.J., Ruchelli E., Human enteric defensins, *J. Biol. Chem.* 271 (1996) 4038-4045.
- [76] Marteau P., Rambaud J.C., Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man, *FEMS Microbiol. Rev.* 12 (1993) 207-220.
- [77] Marteau P., Rambaud J.C., Probiotiques en gastroentérologie: bases rationnelles, effets démontrés et perspectives, *Hepato-Gastroenterology* 4 (1998) 267-273.
- [78] Marteau P., Flourie B., Pochart P., Chastang C., Desjeux J.F., Rambaud J.C., Effect of the microbial lactase (*EC* 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans, *Br. J. Nutr.* 64 (1990) 71-79.
- [79] Marteau P., Pochart P., Bouhnik Y., Survie dans l'intestin grêle de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium* sp. ingérés dans un lait fermenté: une base rationnelle à l'utilisation de probiotiques chez l'homme, *Gastroentérol. Clin. Biol.* 16 (1992) 25-28.
- [80] Marteau P., Pochart P., Bouhnik Y., Rambaud J.C., The fate and effects of transiting, nonpathogenic microorganisms in the human intestine, *World Rev. Nutr. Diet.* 74 (1993) 1-21.
- [81] Marteau P., Minekus M., Havebaar R., Huis in't Veld J.H., Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and effects of bile, *J. Dairy Sci.* 80 (1997) 1031-1037.
- [82] Marteau P., Gerhardt M.F., Myara A., Bouvier E., Trivin F., Rambaud J.C., Metabolism of bile salts by alimentary bacteria during transit in the human small intestine, *Microb. Ecol. Health Dis.* 8 (1995) 151-157.
- [83] Martini M.C., Bollweg G.L., Levitt M.D., Savaiano D.A., Lactose digestion by yogurt β -galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity, *Am. J. Clin. Nutr.* 45 (1987) 432-436.
- [84] Mercenier A., Molecular genetics of *Streptococcus thermophilus*, *FEMS Microbiol. Rev.* 7 (1990) 61-77.
- [85] Mercenier A., Pouwels P.H., Chassy B.M., Genetics Engineering of lactobacilli, leuconostocs, and *Streptococcus thermophilus*, in: Gasson M., de Vos W.M. (Eds.), *Genetics and Biotechnology of lactic acid bacteria*, Blackie Academic and Professional, London, 1994, pp. 252-294.
- [86] Mercenier A., Lactic acid bacteria as live vaccines, in: *Probiotics: a critical review*, Horizon Scientific Press, Wymondham, 1999, pp. 113-127.
- [87] Metchnikoff E., In the prolongation of life: optimistic studies, in: Chalmers M. (Eds.), *William Heinemann*, London, 1907.
- [88] Meurman J.H., Antila H., Korhonen A., Salminen S., Effect of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 51303) on the growth of *Streptococcus dobrinus* in vitro, *Eur. J. Oral Sci.* 103 (1995) 253-258.
- [89] Moll G.N., Konings W.N., Driessen A.J.M., Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation, *Antonie van Leeuwenhoek* 76 (1999) 185-198.
- [90] Naidu A.S., Bidlack W.R., Clemens R.A., Probiotic spectra of lactic acid bacteria, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 38 (1999) 13-126.
- [91] Namba Y., Hidaka Y., Taki K., Morimoto T., Effect of oral administration of lysozyme or digested bacterial cell walls on immunostimulation in guinea pigs, *Infect. Immun.* 31 (1981) 580-583.
- [92] Noh D.O., Gilliland S.E., Influence of bile on β -galactosidase activity of component species of yogurt starter cultures, *J. Dairy Sci.* 77 (1995) 3532-3537.
- [93] Noh D.O., Kim S.H., Gilliland S.E., Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121, *J. Dairy Sci.* 80 (1997) 107-113.
- [94] Okawa T., Nibbe H., Arai T., Sekiba K., Noda K., Takeuchi S., Effect of LC9018 combined with radiation therapy on carcinoma of the uterine cervix, *Cancer* 72 (1993) 1949-1954.
- [95] Oksanen P.J., Salminen S., Saxelin M., Hamalainen P., Ihantola-Vormisto A.,

- Muurasiemi-Isoviita L., Prevention of travelers' diarrhoea by *Lactobacillus* GG, *Ann. Med.* 22 (1990) 53-56.
- [96] Pant A.R., Graham S.M., Allen S.J., *Lactobacillus* GG and acute diarrhoea in young children in the tropics, *J. Trop. Pediatr.* 42 (1996) 162-165.
- [97] Pedrosa M.C., Golner B., Goldin B., Baraket S., Dallal G., Russel R.M., Effect of *Lactobacillus acidophilus* or yogurt feeding on bacterial fecal enzymes in the elderly, *Gastroenterology* 98 (1990) A439.
- [98] Peeters T., Vantrappen G., The Paneth cells: a source of intestinal lysozyme, *Gut* 16 (1975) 553-558.
- [99] Petterson L., Graf W., Sevelin V., Survival of *Lactobacillus acidophilus* NCDO 1748 in the human gastro-intestinal tract. 2. Ability to pass the stomach and intestine in vivo, in: Hallgren B. (Ed.), Nutrition and the intestinal flora-Symp. Swed. Nutr. Found. XV, Almqvist & Wiksley, Uppsala, 1985, pp. 127-130.
- [100] Pochart P., Dewitt O., Desjeux J.F., Bourlioux P., Viable starter culture, β -galactosidase activity, and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans, *Am. J. Clin. Nutr.* 49 (1989) 828-831.
- [101] Pochart P., Marteau P., Bouhnik Y., Goderel Y., Bourlioux P., Rambaud J.C., Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion, *Am. J. Clin. Nutr.* 55 (1992) 78-80.
- [102] Rallu F., Étude de la résistance au stress acide de *Lactococcus lactis*, 1999, Thèse de Doctorat, Université Paris VI, France.
- [103] Rao C.V., Sanders M.E., Indranie C., Simi B., Reddy B.S., Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFMTM in F344 rats, *Int. J. Oncol.* 14 (1990) 939-944.
- [104] Raza S., Graham S.M., Allen S.J., Sultana S., Cuevas L., Hart C.A., *Lactobacillus* GG promotes recovery from acute nonbloody diarrhea in Pakistan, *J. Pediatr. Infect. Dis.* 14 (1995) 107-111.
- [105] Rossouw J.E., Burger E., van der Vyer P., Ferreira J.J., The effect of skim milk, yogurt and full cream on human serum lipids, *Am. J. Clin. Nutr.* 34 (1981) 351-356.
- [106] Rowland I.R., Rumney C.J., Coutts J.T., Lievens L.C., Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats, *Carcinogenesis* 19 (1998) 281-285.
- [107] Saavedra J.M., Bauman N.A., Oung I., Perman J.A., Yolken R.H., Feeding of *Bifidobacterium longum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus, *Lancet* 344 (1994) 1046-1049.
- [108] Sahi T., Hypolactasia and lactase persistence, *Scand. J. Gastroenterol.* 29 (1994) 1-6.
- [109] Salama M., Sandine W., Giovannoni S., Development and application of oligonucleotide probes for identification of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (1991) 1313-1318.
- [110] Salminen S., von Wright A., Morelli L., Marteau P., Brassart D., de Vos W.M., Demonstration of safety of probiotics – a review, *Int. J. Food Microbiol.* 44 (1998) 93-106.
- [111] Satoh Y., Ishikawa K., Ono K., Vollrath L., Quantitative light microscopic observations on Paneth cells of germ-free and ex-germ-free Wistar rats, *Digestion* 34 (1986) 115-121.
- [112] Savaiano D.A., AbouElAnouar A., Smith D.E., Levitt M.D., Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet *acidophilus* milk, and cultures milk in lactase-deficient individuals, *Am. J. Clin. Nutr.* 40 (1984) 1219-1223.
- [113] Schaafsma G., State of the art concerning probiotic strains in milk products, *Int. Dairy Fed. Nutr. Newsl.* 5 (1996) 23-24.
- [114] Schiffrin E.J., Rochat F., Link-Amster H., Aeschlimann J.M., Donnet-Hughes A., Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria, *J. Dairy Sci.* 78 (1995) 491-497.
- [115] Schneitz C., Nuotio L., Lounatma K., Adhesion of *Lactobacillus acidophilus* to avian intestinal epithelial cells mediated by the crystalline bacterial cell surface layer (S-layer), *J. Appl. Bacteriol.* 74 (1993) 290-294.
- [116] Sekine K., Ohta J., Tatuski T., Shimokawa Y., Toida T., Kawashima T., Analysis of antitumor properties of effector cells stimulated with a cell wall preparation (WPG) of *Bifidobacterium infantis*, *Biol. Pharm. Bull.* 18 (1995) 148-153.
- [117] Shahani K.M., Ayebo A.D., Role of dietary lactobacilli in the gastrointestinal microecology, *Am. J. Clin. Nutr.* 33 (1980) 2448-2457.
- [118] Shermak M.A., Saavdra J.M., Jackson T.L., Huang S.S., Bayless T.M., Perman J.A., Effect of yogurt on symptoms and kinetics of hydrogen production in lactose-malabsorbing children, *Am. J. Clin. Nutr.* 62 (1995) 1003-1006.
- [119] Shornikova A.V., Casas I.A., Mykkanen H., Salo E., Vesikari T., Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis, *Pediatr. Infect. Dis. J.* 16 (1997) 1103-1107.
- [120] Siitonen S., Vapaatalo H., Salminen S., Gordin A., Saxelin M., Wikberg R., Effect of *Lactobacillus* GG yoghurt in prevention of antibiotic associated diarrhoea, *Ann. Med.* 22 (1990) 57-59.
- [121] Silva M., Jacobus N.V., Deneke C., Gorbach S.L., Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain, *Antimicrob. Agents Chemother.* 31 (1987) 1231-1233.
- [122] Simon G.L., Gorbach S.L., Intestinal flora and gastrointestinal function, in: Johnson L.R. (Eds.),

- Physiology of the gastrointestinal tract, Raven Press, New York, 1987, pp. 1729-1747.
- [123] Singh J., Rivenson A., Tomita M., Shimamura S., Ishibashi N., Reddy B.S., *Bifidobacterium longum*, a lactic acid-producing intestinal bacterium inhibits colon cancer and modulates the intermediate biomarkers of colon carcinogenesis, *Carcinogenesis* 18 (1997) 833-841.
- [124] Tannock G.W., Tangerman A., van Schaik A., McConnell M.A., Deconjugaison of bile acids by lactobacilli in the mouse small bowel, *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (1994) 3419-3420.
- [125] Thompson L.V., Jenkins D.J.A., Amer M.A., Reichert R., Jenkins A., Kamulsky J., The effect of fermented and unfermented milk on serum cholesterol, *Am. J. Clin. Nutr.* 36 (1982) 1106-1111.
- [126] Tomita K., Akaza H., Nomoto K., Yokokura T., Matsushima H., Homma Y., Aso Y., Influence of *Lactobacillus casei* on rat bladder carcinogenesis, *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 85 (1994) 655-663.
- [127] Vanderhoof J.A., Whitney D.B., Antonson D.L., Hanner T.L., Lupo J.V., Young R.J., *Lactobacillus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children, *J. Pediatr.* 135 (1999) 564-568.
- [128] Vanderhoof J.A., Young R.J., Use of probiotics in childhood gastrointestinal disorders, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 27 (1998) 323-332.
- [129] van't Veer P., Dekker J.M., Lamers J.W., Kok F.J., Shouten E.G., Brants H.A., Sturmans F., Hermus R.J., Consumption of fermented milk products and breast cancer: a case-control study in the Netherlands, *Cancer Res.* 49 (1989) 4020-4023.
- [130] Venema G., Kok J., van Sinderen D., From DNA sequence to application: possibilities and complications, *Antonie van Leeuwenhoek* 76 (1999) 3-23.
- [131] Vesa T., Pochart P., Marteau P., Pharmacokinetics of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826, *Lactobacillus fermentum* KLD, and *Lactococcus lactis* MG1363 in the human gastrointestinal tract, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 14 (2000) 823-828.
- [132] Wimley W.C., Selsted M.E., White S.H., Interactions between human defensins and lipid bilayers: evidence for formation of multimeric pores, *Protein Sci.* 3 (1994) 1362-1373.
- [133] Wunderlich P.F., Braun L., Fumagalli I., D'Apuzzo V., Heim F., Karly M., Double blind report on the efficacy of lactic acid-producing *Enterococcus* SF68 in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and in the treatment of diarrhoea, *J. Int. Med. Res.* 17 (1989) 333-338.