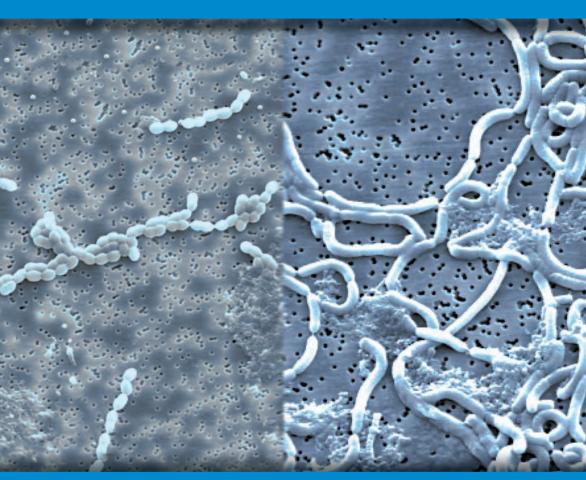


# François-Marie Luquet • Georges Corrieu coordonnateurs



# Bactéries lactiques et probiotiques



# Bactéries lactiques et probiotiques



Président du Directoire : J.-L. MULTON

# Bactéries lactiques et probiotiques

#### coordonnateurs

#### François-Marie Luquet

docteur ès sciences ancien directeur du centre international de recherches Daniel-Carasso (groupe Danone) expert près la Cour de cassation et la cour d'appel de Paris vice-président de Bio-K<sup>+</sup> International (Canada)

#### **Georges Corrieu**

docteur de l'université de Dijon responsable du laboratoire de génie et microbiologie des procédés alimentaires, Institut national de la recherche agronomique (Thiverval-Grignon) professeur consultant à l'Institut national agronomique Paris-Grignon



11, rue Lavoisier 75008 Paris

LONDRES - PARIS - NEW YORK

#### Chez le même éditeur

Nutrigénétique du risque cardiovasculaire – Terrains génétiques et nutrition C. Junien, 2003

11e réunion du Club des bactéries lactiques Rédacteur en chef invité : A. Lonvaud Science des Aliments, vol. 22 n°1-2, 2002

La science alimentaire de A à Z

J. Adrian, J. Potus, R. Frangne, 3e éd., 2002

Entérobactéries – Systématique et méthodes de diagnostic collection « Monographies de microbiologie » B. Joly, A. Reynaud, 2002

Immunologie

N. Genetet, coord., 4e éd,. 2002

Aliments fonctionnels collection « Sciences et techniques alimentaires » M. Roberfroid, coord., 2001

Introduction à la nouvelle classification bactérienne – Les principaux groupes bactériens J.-P. Larpent,  $2000\,$ 



© LAVOISIER, 2005

ISBN: 2-7430-0741-9 ISSN: 0243-5624

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (20, rue des Grands-Augustins - 75006 Paris), est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et, d'autre part, les analyses et courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (Loi du 1° juillet 1992 - art. L. 122-4 et L. 122-5 et Code pénal art. 425).

### Remerciements

Écrire un tel ouvrage, collectif, n'est guère aisé... Chacun ayant sa personnalité, son style, ses habitudes.

Nous tenons à remercier les différents auteurs de nous avoir fait confiance, d'avoir répondu en écrivant un chapitre selon les règles et, surtout d'avoir transmis son savoir scientifique.

Nous tenons à remercier les membres de notre comité de lecture, et en particulier Michel Desmazeaud et M<sup>me</sup> Sodimi qui nous ont conseillés et beaucoup apporté.

Ce document sera suivi d'un second ouvrage qui présentera les dernières acquisitions scientifiques en matière de connaissance des bactéries lactiques.

Ils font suite à un ouvrage français, dont l'un d'entre nous était coordonnateur, paru il y a quelques années, mais hélas partiellement caduque.

Bonne lecture à vous — n'hésitez pas à nous apporter critiques ou suggestions!

Les coordonnateurs François-Marie Luquet et Georges Corrieu

### Liste des auteurs

#### Véronique Agnetti

chef de groupe Études cliniques Danone Vitapole RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Jean-Marc Berjeaud

maître de conférences des universités unité de microbiologie fondamentale et appliquée – UMR 6008 IBMIG Université de Poitiers

Université de Poitiers 40 avenue du Recteur Pineau 86022 Poitiers cedex

#### Sylvie Breton

docteur ingénieur ingénieur de recherches en nutrition Danone Vitapole RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Jean-Michel Faurie

docteur ingénieur chef de groupe Sélection de souches Danone Vitapole RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Bénédicte Flambard

PhD
Project Manager/Research Scientist
Chr. Hansen
Genomics and Strain Devlopment
Bøge Allé 10-12
DK-2970 Hørsholm, Danemark

#### Jacques Frère

professeur des universités unité de microbiologie fondamentale et appliquée – UMR 6008 IBMIG Université de Poitiers 40 avenue du Recteur Pineau 86022 Poitiers cedex

#### Yann Héchard

maître de conférences des universités laboratoire de chimie de l'eau et de l'environnement IBMIG Université de Poitiers 40 avenue du Recteur Pineau 86022 Poitiers cedex

#### Laurent Marchal

Responsable industrialisation Ferments Danone Vitavaleur RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Philippe Marteau

MD, PhD, professeur des universités Hôpital européen Georges Pompidou Service de gastro-entérologie 20 rue Leblanc 75508 Paris cedex 15

#### Marie-Christine Moreau

ancien directeur de recherches INRA unité d'écologie et de physiologie du système digestif 78350 Jouy en Josas

#### Dany Morisset

laboratoire de biochimie et de microbiologie Université Laval Pavillon Marchand Ste-Foy (Québec) G1K 7P4, Canada

#### David Obis

docteur en sciences des aliments microbiologiste alimentaire Groupe Danone Centre de sécurité des aliments RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Élisabeth Oudot

expert développement ferments Danone Vitapole RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Denis Paquet

docteur ès sciences responsable du groupe de recherche Lait Danone Vitapole RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Sandra Pernoud

ingénieur agronome docteur en microbiologie ingénieur de recherche Danone Vitapole Centre de sécurité des aliments RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Tobin Robinson

PhD, BSc microbiologiste Danone Vitapole Centre de sécurité des aliments RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Nicole Schneid-Citrain

docteur ingénieur responsable de l'information scientifique et technique Danone Vitapole RD 128 91767 Palaiseau cedex

#### Philippe Seksik

MD, chef de clinique Hôpital européen Georges Pompidou Service de gastro-entérologie 20 rue Leblanc 75508 Paris cedex 15

#### Anne Korslund Søndergaard

Development Scientist Chr. Hansen Research & Development Bøge Allé 10-12 DK-2970 Hørsholm, Danemark

## Table des matières

#### Chapitre 1

Application des bactéries lactiques dans les produits laitier	s frais
et effets probiotiques	
(S. Pernoud, N. Schneid-Citrain, V. Agnetti, S. Breton, J.M. Fa	urie.

L. Marchal, D. Obis, E. Oudot, D. Paquet, T. Robinson)	. 1
Introduction sur les « produits laitiers frais »	
1.1. Définitions	
1.1.1. Produit laitier frais	1
1.1.2. Lait fermenté	4
1.1.3. Lait fermenté à effet probiotique	5
1.2. Évolution des laits fermentés dans le monde au cours des âges	6
1.2.1. Traditions sur les bénéfices santé	6
1.2.2. Produits et modes de consommation	7
1.3. Réglementation sur les laits fermentés	9
1.3.1. Différentes réglementations	
1.3.2. Les allégations santé relatives à l'utilisation de probiotiques	11
2. Aspects économiques	
2.1. Marché des laits fermentés	14
2.1.1. Consommations de produits dans le monde	14
2.1.2. Principaux acteurs du domaine des laits fermentés	18
2.2. Attentes consommateurs vis-à-vis des laits fermentés	22
2.2.1. Critères de choix d'un lait fermenté	22
2.2.2. Impact d'une communication sur les effets des probiotiques	23
3. Étapes technologiques de la fabrication d'un yoghourt	25
3.1. Les ferments et leur impact sur la fermentation	25
3.1.1. Caractérisation des souches pures	

	dans le but de créer un ferment
	3.1.3. Protocoopération ou symbiose
	3.2. Choix des matières premières – Impact sur la fermentation
	3.2.1. Matières premières laitières
	3.2.2. Matières premières non laitières
	3.3. Procédés de fabrication
	3.3.1. Schémas des principaux procédés
	3.3.2. Moyens de maîtrise des étapes clés de la fermentation
	3.4. Caractérisation des produits finis yoghourt
	3.4.1. Caractères physicochimiques
	3.4.2. Caractères microbiologiques
	3.4.3. Caractères sensoriels
	3.5. Aspects logistiques
4.	Mise au point de produits laitiers frais pour effets santé démontrés
	4.1. Choix des souches – Démarche générale de sélection d'un probiotique 70
	4.2. Aspects technologiques – Choix et sélection des souches
	4.2.1. Propagation
	4.2.2. Adaptation au support laitier
	4.2.3. Survie dans les produits laitiers frais
	4.3. Démonstration des effets bénéfiques pour la santé afin de garantir
	les allégations
	4.3.1. Études <i>in vitro</i> et précliniques (approches mécanistiques
	et études chez l'animal)
	4.3.2. Études cliniques sur les probiotiques
	4.3.3. Exemples d'études cliniques sur les probiotiques
	4.3.4. Conclusion – Faisceau de preuves
5.	Aspects de sécurité et de propriété industrielle relatifs à la sélection
	de nouvelles souches de bactéries lactiques
	5.1. Aspects sécurité du développement de nouvelles souches de bactéries lactiques
	5.1.1. Criblage initial des souches
	5.1.2. Innocuité et sécurité d'emploi de la souche d'intérêt
	5.1.3. Innocuité du nouveau produit fini
	5.1.4. Conclusion
	5.2. Propriété industrielle – Protection des matériels biologiques
	5.2.1. Notions générales de propriété industrielle
	5.2.2. Historique de la propriété industrielle des matériels biologiques
,	5.2.3. La protection des matériels biologiques en pratique
0.	Conclusion et perspectives
	6.1. Impacts économiques de l'utilisation de probiotiques dans les laits fermentés

6.2. Utilisations potentielles des probiotiques dans d'autres secteurs	06
de l'alimentation humaine	96
6.3. Évolutions attendues pour renforcer les preuves des bénéfices santé	07
des aliments probiotiques	
Remerciements	
Références bibliographiques	100
Chapitre 2	
Bactériocines de bactéries lactiques	
(Dany Morisset, Jean-Marc Berjeaud, Jacques Frère et Yann Héchard)	113
1. Classification des bactériocines	
1.1. Classe I – Lantibiotiques	114
1.1.1. Lantibiotiques de type A	114
1.1.2. Lantibiotiques de type B	115
1.1.3. Autres lantibiotiques	116
1.2. Classe II – Peptides non modifiés	116
1.2.1. Sous-classe IIa	
1.2.2. Sous-classe IIb	118
1.2.3. Sous-classe IIc	120
1.3. Classe III – Protéines.	120
1.4. Classe IV – Bactériocines complexes	120
2. Organisation génétique et régulation.	
2.1. Lantibiotiques	121
2.1.1. Organisation générale	121
2.1.2. Éléments génétiques du locus	124
2.2. Bactériocines de classe II	127
2.2.1. Organisation générale	
2.2.2. Éléments génétiques du locus	
3. Sécrétion des bactériocines	
3.1. Peptide leader	
3.1.1. Peptides leaders de type « FNLDV »	
3.1.2. Peptides leaders de type « GG »	
3.2. Transporteur de type ABC	
3.3. Facteur accessoire	137
4. Structure et mode d'action	138
4.1. Bactériocines de classe I	
4.1.1. Structure	139
4.1.2. Relations structure/fonction	142
4.1.3. Mode d'action	
4.2. Bactériocines de classe II	
4.2.1. Bactériocines de sous-classe IIa	
4.2.2. Bactériocines de sous-classe IIb.	
4.2.3. Bactériocines de sous-classe IIc	159

4.3. Bactériocines de classe III	1
5. Applications industrielles des bactériocines de bactéries lactiques	2
5.1. Protection alimentaire         163	3
5.1.1. Additif alimentaire	3
5.1.2. Cultures protectrices	5
5.1.3. Applications industrielles	$\mathbf{C}$
5.1.4. Conclusion	$\mathbf{C}$
5.2. Hygiène et santé	2
Références bibliographiques	4
Chapitre 3	
Application of probiotics in food	
(Anne Korslund Søndergaard)19:	5
1. Introduction	5
2. Application in yoghurt and other fermented milks	6
2.1. Factors affecting viability of probiotics in fermented milks	6
2.2. Improving viability in fermented milks and other foods	8
2.2.1. Inoculation	8
2.2.2. Oxygen	8
2.2.3. Acid	9
2.2.4. Temperature	9
2.2.5. Proteolytic activity	9
2.2.6. Encapsulation	C
2.3. Fermented milk products on the market	C
3. Application in other food products	1
3.1. Ice cream	1
3.2. Cheese	2
3.3. Beverages	3
3.4. Cereal based products	4
3.5. Mayonnaise-based products and spreads	4
4. Isolation and enumeration of probiotics in food products	5
Conclusion	7
References	7
Chapitre 4	
Bactéries lactiques probiotiques et immunité	
(Marie-Christiane Moreau)21	1
Introduction	2
1. Rappels sur l'immunité	
1.1 Immunité innée 21	

© Lavoisier – La photocopie non autorisée est un délit

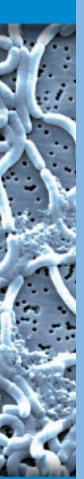
Table des matières XIII

1.2. Immunité acquise.	. 213
1.3. Balance Th1/Th2 et cellules Th3	. 214
2. Système immunitaire associé à l'intestin (SII)	. 215
2.1. Description du SII	. 216
2.2. Fonctions du SII	. 217
2.2.1. Réponses suppressives – Cas de la tolérance orale	. 217
2.2.2. Réponses protectrices – Cas de la réponse anticorps IgA sécrétoire	. 219
3. Effets des bactéries de la flore intestinale commensale sur l'immunité de l'hôte	. 219
3.1. Flore intestinale commensale de l'homme	. 220
3.2. Interactions « flore intestinale et SII »	. 221
3.2.1. Activation du SII	. 222
3.2.2. Modulation des réponses spécifiques – Exemple de la réponse IgA anti-rotavirus	. 223
3.2.3. Régulation des processus immuns	. 224
3.3. Interactions flore et système immunitaire périphérique	. 225
3.3.1. Réponses atopiques – Balance Th1/Th2	. 225
3.3.2. Susceptibilité aux maladies	. 226
4. Effets des bactéries lactiques (BL) sur l'immunité	. 226
4.1. Conditions pour un effet « probiotique »	. 227
4.1.1. Facteurs liés aux BL	. 227
4.1.2. Facteurs liés à l'hôte et à l'équilibre de sa flore intestinale	. 230
4.2. Effets immunomodulateurs des BL – Études cliniques et mécanismes	
impliqués	. 231
4.2.1. Cas de l'enfant	. 232
4.2.2. Cas de l'adulte	. 237
4.3. Effets des BL chez l'homme sain	. 240
4.3.1. Adulte	
4.3.2. Cas de la personne âgée	. 242
Conclusions et perspectives	. 242
Références bibliographiques	. 246
Chapitre 5	
Probiotiques et alicaments	
(Philippe Marteau, Philippe Seksik)	_255
1. Définitions et généralités	. 255
1.1. Définitions	
1.2. Composition et sélection	
2. Pharmacologie des bactéries lactiques chez l'homme	
2.1. Principes actifs.	
2.2. Pharmacocinétique (survie dans l'intestin – adhérence – colonisation)	
2.2.1. Méthodes d'étude	

	2.2.2. Facteurs influençant la pharmacocinétique de probiotiques	. 259
	2.2.3. Survie de probiotiques ingérés dans le tube digestif et colonisation	. 260
3.	Effets démontrés	. 263
	3.1. Amélioration de la digestion du lactose	. 263
	3.2. Autres effets directs enzymatiques	. 264
	3.3. Raccourcissement et prévention de gastro-entérites	. 265
	3.3.1. Effet curatif	. 265
	3.3.2. Effet préventif	
	3.4. Effets au cours d'infections intestinales spécifiques et au cours de la diarrhée	
	du voyageur	. 268
	3.4.1. Clostridium difficile	
	3.4.2. Helicobacter pylori	
	3.4.3. Diarrhée du voyageur	
	3.5. Raccourcissement et prévention de diarrhées aux antibiotiques	
	3.6. Prévention de la rechute de maladies inflammatoires de l'intestin	
	3.6.1. Études avec le produit VSL # 3	
	3.6.2. Études avec <i>Saccharomyces boulardii</i>	
	3.6.3. Études avec <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	
	3.6.4. Études avec <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG et autres produits	
	3.7. Diarrhées autres.	
	3.8. Syndrome de l'intestin irritable	
	3.9. Cancer du côlon et autres cancers	
	3.10. Affections non gastro-entérologiques	
	3.10.1. Infections non digestives.	
	3.10.2. Allergies	
4.	Mode d'action	
	4.1. Effets directs	. 277
	4.2. Effets sur la flore endogène et indirects par son intermédiaire	. 278
	4.3. Effets sur la barrière muqueuse et immunologique et effets indirects	
_	par cet intermédiaire	
5.	Effets indésirables potentiels	
	5.1. Infections	. 279
	5.2. Autres effets indésirables théoriques – Métaboliques, immunologiques et génétiques	280
5	Applications cliniques futures de bactéries lactiques génétiquement modifiées ?	
	éférences bibliographiques	
	8 1 1	
	Chapitre 6	
Γ.	actic acid bacteria and cardiovascular health	
	Bénédicte Flambard)	291
	troduction	. 291
1.	The preferable target mechanism in hypertension by functional foods –  The major role of ACE	202
,	Action mechanisms of lactic acid bacteria on the cardiovascular system	
∸•	rection mechanisms of factic acid bacteria on the cardiovascular system	. 493

Table des matières XV

2.1. Liberation of bioactive peptides from caseins	. 293
2.2. Effect of ACE inhibitors in vivo	. 296
2.2.1. Tail cuff method	. 296
2.2.2. Telemetry method	. 297
3. Anti-hypertensive functional foods	. 299
Conclusion	. 300
References	. 301
Index	303



a fiabilité des recherches et l'évolution des connaissances rendent obsolète la littérature parue ces dernières années dans le domaine des probiotiques et de leurs applications, à partir de bactéries.

Cet ouvrage rassemble les dernières acquisitions des connaissances issues de recherches effectuées tant en France qu'à l'étranger par des équipes publiques et universitaires (INRA, INSERM, Institut Pasteur, CNRS, HEG Paris V...) et privées (Chr. Hansen, Danone, Nestle, ITFF, Danisco...)

Ce traité est articulé autour de 6 chapitres traitant successivement :

- des applications des bactéries lactiques dans les produits laitiers et des effets des probiotiques;
- des bactériocines de bactéries lactiques ;
- des applications des probiotiques dans les aliments ;
- des bactéries lactiques probiotiques et de l'immunité ;
- des probiotiques et des alicaments ;
- des bactéries lactiques et de la santé cardiovasculaire.

Bactéries lactiques et probiotiques s'adresse ainsi à un triple public :

- microbiologistes, ingénieurs et techniciens des industries agroalimentaires, notamment laitières;
- professionnels de la nutrition, de l'alimentation et de la santé ;
- spécialistes du marketing et de la communication des produits alimentaires, chargés de communiquer vers le consommateur dans le respect de la réglementation et de la déontologie.

**François-Marie Luquet**, docteur ès sciences, ancien directeur du centre international de recherches Daniel-Carasso (Groupe Danone), expert près la Cour de cassation et la cour d'appel de Paris, est vice-président de Bio-K+International (Canada).

**Georges Corrieu**, docteur de l'université de Dijon, responsable du laboratoire de génie et microbiologie des procédés alimentaires (INRA Thiverval-Grignon), est professeur consultant à l'Institut national agronomique de Paris-Grignon.

