

UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

Année de soutenance : 2019

N°:

THÈSE POUR LE
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 05 juillet 2019

Par Arthur ROUTIER

Né le 08 FÉVRIER 1994 à Saint-Martin Boulogne – France

**Mécanismes d'action des probiotiques dans des modèles
parodontaux *in vitro* : revue de littérature**

JURY

Président :

Monsieur le Pr Guillaume Penel

Assesseurs :

Madame Alessandra Blaizot

Monsieur le Dr Kevimy Agossa

Madame la Dr Marie Dubar

Président de l'Université	:	Pr. J-C. CAMART
Directeur Général des Services de l'Université	:	P-M. ROBERT
Doyen	:	Pr. E. DEVEAUX
Vice-Doyens	:	Dr. E. BOCQUET, Dr. L. NAWROCKI et Pr. G. PENEL
Responsable des Services	:	S. NEDELEC
Responsable de la Scolarité	:	M. DROPSIT

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'U.F.R.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES :

P. BEHIN	Prothèses
T. COLARD	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
E. DELCOURT-DEBRUYNE	Professeur Emérite Parodontologie
E. DEVEAUX	Dentisterie Restauratrice Endodontie Doyen de la Faculté
G. PENEL	Responsable du Département de Biologie Orale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

K. AGOSSA	Parodontologie
T. BECAVIN	Dentisterie Restauratrice Endodontie
A. BLAIZOT	Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.
P. BOITELLE	Prothèses
F. BOSCHIN	Responsable du Département de Parodontologie
E. BOCQUET	Responsable du Département d' Orthopédie Dento-Faciale
C. CATTEAU	Responsable du Département de Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale.
A. de BROUCKER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
M. DEHURTEVENT	Prothèses
T. DELCAMBRE	Prothèses
C. DELFOSSE	Responsable du Département d' Odontologie Pédiatrique
F. DESCAMP	Prothèses
A. GAMBIEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
F. GRAUX	Prothèses
P. HILDELBERT	Responsable du Département de Dentisterie Restauratrice Endodontie
C. LEFEVRE	Prothèses
J.L. LEGER	Orthopédie Dento-Faciale
M. LINEZ	Dentisterie Restauratrice Endodontie
G. MAYER	Prothèses
L. NAWROCKI	Responsable du Département de Chirurgie Orale Chef du Service d'Odontologie A. Caumartin - CHRU Lille
C. OLEJNIK	Biologie Orale
P. ROCHER	Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
L. ROBBERECHT	Dentisterie Restauratrice Endodontie
M. SAVIGNAT	Responsable du Département des Fonction-Dysfonction, Imagerie, Biomatériaux
T. TRENTESAUX	Odontologie Pédiatrique
J. VANDOMME	Responsable du Département de Prothèses

Réglementation de présentation du mémoire de Thèse

Par délibération en date du 29 octobre 1998, le Conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire de l'Université de Lille a décidé que les opinions émises dans le contenu et les dédicaces des mémoires soutenus devant jury doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'ainsi aucune approbation, ni improbation ne leur est donnée.

Remerciements

Aux membres du jury,

Monsieur le Professeur Guillaume Penel

Professeur des Universités – Praticien hospitalier

Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

Département Biologie Orale

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en Odontologie de l'Université René DESCARTES (PARIS V)

Certificat d'Etudes Supérieures d'Odontologie Chirurgicale

Habilitation à Diriger des Recherches

Vice-Doyen Recherche de la Faculté de Chirurgie Dentaire

Responsable du Département de Biologie Orale

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury. J'ai toujours beaucoup apprécié vos qualités pédagogiques, votre écoute et votre bienveillance auprès des étudiants, mais aussi l'humour dont vous savez faire preuve.

Veillez trouver ici le témoignage de ma gratitude et de mon profond respect.

Madame le Docteur Alessandra BLAIZOT

Maître de conférences des universités - Praticien hospitalier des CSERD

Section Développement, Croissance et Prévention

Département Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie Légale

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur en éthique médicale de l'Université Paris Descartes (Paris V)

Master II : Sciences, technologies, santé à finalité recherche. Mention Ethique, Spécialité éthique médicale et bioéthique - Université de Paris Descartes (Paris V)

Master II : Sciences, technologies, santé à finalité recherche. Mention Santé Publique, spécialité épidémiologie clinique - Université Paul Sabatier (Toulouse III)

Maîtrise : Sciences de la vie et de la santé à finalité recherche. Mention méthodes d'analyses et gestion en santé publique, Spécialité épidémiologie clinique – Université Paul Sabatier (Toulouse III)

Diplôme Universitaire de Recherche Clinique en Odontologie – Université Paul Sabatier (Toulouse III)

*Vous m'avez fait l'immense plaisir
d'accepter de juger ce travail. Je vous
remercie de votre gentillesse, de l'intérêt
porté à ce sujet et de votre disponibilité
pour répondre à mes interrogations.
Veuillez trouver ici l'expression de ma
profonde reconnaissance.*

Monsieur le Docteur Kevimy AGOSSA

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier des CSERD

Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

Département Parodontologie

Docteur en Chirurgie Dentaire

Master II « Évaluation médico-économique et recherche clinique »

Certificat d'Études Supérieures de Parodontologie

Attestation d'Études Approfondies en Odontologie Ancien

Assistant des Hospices Civils de Lyon

Ancien Interne en Odontologie Lauréat de l'Académie Nationale de Chirurgie Dentaire

Vous m'avez fait le plaisir d'accepter spontanément de siéger au sein du jury de cette thèse. Je vous suis reconnaissant de la qualité de votre enseignement théorique et pratique. J'aurais aimé avoir eu davantage l'occasion de travailler avec vous et espère que vous retrouverez dans ce travail toute la rigueur qui vous caractérise.

Veillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

Madame le Docteur Marie DUBAR

Assistante Hospitalo-Universitaire des CSERD

Section Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

Département Parodontologie

Docteur en Chirurgie Dentaire

Spécialiste qualifiée en médecine bucco-dentaire

Certificat d'Études Supérieures de parodontologie

Master recherche Biosciences et Ingénierie de la santé – spécialité biotechnologies moléculaires et bio-ingénierie physiopathologie et thérapeutique

Je ne pourrai jamais assez vous remercier, ce fut un réel plaisir de travailler avec vous. Merci d'avoir accepté de diriger ce travail de thèse, merci pour votre implication et votre disponibilité sans faille, vos conseils toujours avisés, votre rigueur et votre bonne humeur.

Je souhaite à quiconque aspire à présenter une thèse de pouvoir bénéficier d'un tel investissement qui force l'admiration et le respect.

J'espère avoir répondu à vos attentes à travers ce travail et vous souhaite le meilleur pour la suite de votre vie professionnelle et personnelle.

Table des matières

Table des abréviations	13
Table des illustrations	14
Table des tableaux.....	15
Introduction.....	16
Partie 1. Physiopathologie de la maladie parodontale.....	17
1.1. L'écosystème buccal.....	17
1.1.1. Définition.....	17
1.1.2. La communauté biotique	17
1.1.3. Le milieu abiotique.....	17
1.1.4. Rôle du microbiote dans le maintien de la santé orale	18
1.2. Les bactéries d'intérêt buccal.....	20
1.2.1. Définition d'une bactérie.....	20
1.2.2. Classification des bactéries	20
1.2.2.1. Classification des procaryotes	20
1.2.2.2. Classification taxonomique des bactéries	20
1.2.3. Le biofilm bactérien	22
1.2.3.1. Définition du biofilm dentaire	22
1.2.3.2. Formation de la plaque dentaire et maturation du biofilm.....	22
1.2.3.2.1. La plaque dentaire	22
1.2.3.2.2. La pellicule acquise exogène.....	22
1.2.3.2.3. Maturation du biofilm	23
1.2.3.2.3.1. Les colonisateurs primaires ou précoces.....	23
1.2.3.2.3.2. Les colonisateurs secondaires ou tardifs	23
1.2.4. Interactions microbiennes au sein du biofilm et maintien de la santé bucco-dentaire	24
1.2.4.1. Interactions synergiques.....	24
1.2.4.1.1. Signalisation cellule-cellule.....	25
1.2.4.1.2. Interactions physiques.....	25
1.2.4.1.3. Interactions nutritionnelles.....	26
1.2.4.1.4. Quorum sensing.....	26
1.2.4.1.5. Transfert de gènes.....	27
1.2.4.2. Interactions antagonistes	27
1.3. Physiopathologie de la maladie parodontale	29
1.3.1. Définition de la maladie parodontale	29
1.3.2. Dysbiose.....	29
1.3.3. La réponse immuno-inflammatoire de l'hôte.....	32
1.3.4. Entretien de la réponse inflammatoire de l'hôte par les bactéries parodontopathogènes.....	35
Partie 2. Les probiotiques	37
2.1. Présentation des probiotiques.....	37
2.1.1. Historique et définition.....	37
2.1.2. Autres définitions	38
2.1.2.1. Prébiotiques.....	38
2.1.2.2. Synbiotiques	38
2.1.2.3. Bactéries lactiques.....	38
2.1.3. Nomenclature des probiotiques	38
2.1.3.1. Désignation d'un probiotique	38

2.1.3.2. Les différents genres de probiotiques	39
2.1.3.2.1. Les lactobacilles.....	39
2.1.3.2.2. Les bifidobactéries	40
2.1.4. Pré-requis à l'utilisation des probiotiques.....	41
2.1.4.1. Identification de la souche.....	43
2.1.4.2. Caractérisation fonctionnelle	43
2.1.4.3. Considérations de sécurité	44
2.1.4.4. Tests in vivo chez l'animal et l'humain.....	45
2.1.4.5. Allégations de santé et étiquetage.....	46
2.2. Applications des probiotiques en parodontologie dans des modèles in vitro.....	46
2.2.1. Intérêts dans le domaine de la santé et en chirurgie dentaire	46
2.2.2. Capacités attendues	47
2.2.2.1. Tolérance aux conditions de stress.....	47
2.2.2.2. Adhésion aux tissus de la cavité buccale.....	48
2.2.2.3. Activité antagoniste contre les bactéries pathogènes.....	48
2.2.2.4. Évaluation du potentiel cariogène.....	48
2.2.3. Conditions d'administration	49
2.2.4. Présentation des trois probiotiques de la revue de littérature : <i>L. reuteri</i> / <i>L. rhamnosus</i> / <i>B. animalis</i>	50
2.2.4.1. Justification de cette sélection.....	50
2.2.4.2. <i>Lactobacillus reuteri</i>	50
2.2.4.3. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	51
2.2.4.4. <i>Bifidobacteria animalis</i>	52
Partie 3. Revue de littérature des mécanismes d'action des probiotiques dans des modèles parodontaux in vitro.....	53
3.1. Contexte	53
3.2. Méthodologie de recherche	54
3.2.1. Les critères de sélection des articles.....	54
3.2.1.1. Les critères d'inclusion.....	54
3.2.1.2. Les critères de non-inclusion	54
3.2.2. Bases de données électroniques	55
3.2.3. Flow chart de la revue.....	56
3.3. Résultats.....	57
3.3.1. Modulation de la réponse immuno-inflammatoire / expressions géniques impliquées.....	57
3.3.1.1. En mono-infection.....	59
3.3.1.2. En co-infection avec une bactérie parodontopathogène.....	62
3.3.1.3. En co-infection avec un cocktail de probiotiques.....	63
3.3.2. Production de substances anti-microbiennes / leurs actions.....	66
3.3.3. Liaison aux modèles de surface dentaire ou cellules in vitro / compétition d'adhésion avec les autres bactéries	67
3.3.4. Inhibition de la croissance des bactéries parodontopathogènes	68
3.3.5. Modification des conditions de l'environnement	69
3.3.6. Cytotoxicité des probiotiques / sécurité	70
3.3.7. Synthèse des résultats	72
3.4. Discussion.....	74
3.4.1. Modulation de la réponse immuno-inflammatoire.....	76
3.4.1.1. En mono-infection	77
3.4.1.2. En co-infection avec une bactérie parodontopathogène.....	78
3.4.1.3. En co-infection avec un cocktail de probiotiques	79

3.4.2. Production de substances anti-microbiennes / leurs actions	80
3.4.3. Liaison aux modèles de surface dentaire ou cellules in vitro / compétition d'adhésion avec les autres bactéries	82
3.4.4. Modifications des conditions de l'environnement	83
3.4.5. Inhibition de la croissance des bactéries parodontopathogènes	84
3.4.6. Cytotoxicité / sécurité des probiotiques.....	86
3.4.7. Synthèse des mécanismes d'action	87
3.5. Limites de la revue de littérature	87
Conclusion.....	90
Références bibliographiques.....	93
Annexes.....	104
Annexe 1 : Tableau d'analyse des articles de la revue de littérature.....	104

Table des abréviations

A. naeslundii : *Actinomyces naeslundii*

A. a : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

ADN : acide désoxyribonucléique

al : *alii* = collaborateurs

B. animalis / lactis : *Bifidobacterium animalis / lactis*

BLC : Bacteriocin-like compound = composé analogue à la bactériocine

C. albicans : *Candida albicans*

CFU : colony-forming units = unité formant des colonies

CSP : competence stimulating-peptide = peptide stimulant la compétence

F. n : *Fusobacterium nucleatum*

GM-CSF : granulocyte-macrophage colony stimulating factor = facteur stimulant les colonies de granulocytes et macrophages

GCF : gingival crevicular fluid = fluide crévicaire ou fluide gingival

IFN : interféron

IL : interleukine

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

hBD-2 : human bêta-défensine 2

LPS : lipopolysaccharide

L. reuteri/rhamnosus : *Lactobacillus reuteri/ rhamnosus*

Mφ : macrophage

MIP-1α : macrophage Inflammatory Protein 1α

MMPs : matrix metalloproteinases = métalloprotéinases matricielles

MOI : multiplicity of infection = multiplicité d'infection

NO : nitric oxyde = oxyde nitrique ou monoxyde d'azote

OCL : ostéoclastes

OCP : précurseurs des ostéoclastes

P. anaerobius : *Peptostreptococcus anaerobius*

P. intermedia / nigrescens : *Prevotella intermedia / nigrescens*

P. gingivalis / circumdentaria : *Porphyromonas gingivalis / circumdentaria*

PBMC : peripheral blood mononuclear cells = cellules mononuclées de sang périphérique

PGE₂ : prostaglandine E₂

PMNs : polymorphonuclear neutrophils = polynucléaires neutrophiles

PRR : pattern recognition receptor = récepteur de reconnaissance de motifs

PSD : polymicrobial synergy and dysbiosis model = modèle de synergie polymicrobienne et de dysbiose

S. aureus /mutans /sanguinis /thermophilus : *Streptococcus aureus /mutans /sanguinis /thermophilus*

S. tiphymurium : *Salmonella tiphymurium*

T. forsythia : *Tannerella forsythia*

TLR : toll-like receptors

TNF : tumor necrosis factor = facteur de nécrose tumorale

Table des illustrations

Figure 1	Facteurs génétiques et environnement potentiellement à l'origine de dysbiose.....	19
Figure 2	Modèle de dysbiose.....	19
Figure 3	Principales morphologies des bactéries.....	21
Figure 4	Modèle spatio-temporel représentant la colonisation bactérienne des surfaces dentaires.....	24
Figure 5	Molécules de signalisation et fonctions sur les bactéries buccales.....	27
Figure 6	Diagramme représentatif des complexes bactériens sous-gingivaux.....	30
Figure 7	Schéma représentatif de la succession microbienne.....	31
Figure 8	Mécanismes inflammatoires conduisant à la résorption osseuse dans la parodontite.....	34
Figure 9	Caractère « inflammophile » du microbiote associée à la maladie parodontale.....	36
Figure 10	Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques à usage médical.....	41
Figure 11	Image au microscope à force atomique de la souche <i>L. reuteri</i> ATCC 23272.....	51
Figure 12	Image au microscope électronique à balayage de la souche <i>L. rhamnosus</i> GG.....	51
Figure 13	Image au microscope électronique de souche <i>B. lactis</i> DSM 10140.....	52
Figure 14	Pathogenèse de la maladie parodontale.....	53
Figure 15	Diagramme de flux provenant de la revue de littérature.....	56
Figure 16	Modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte par un probiotique.....	57
Figure 17	Modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte en présence d'un probiotique et d'une bactérie parodontopathogène.....	58
Figure 18	Modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte en présence d'un cocktail de probiotiques.....	59
Figure 19	Représentation du modèle Transwell	65
Figure 20	Propriétés attendues pour l'usage d'un probiotique en parodontologie.....	76
Figure 21	Mécanismes d'action des probiotiques pour la réhabilitation de l'homéostasie parodontale.....	91

Table des tableaux

Tableau 1	Exemples de souches de la nomenclature des probiotiques.....	39
Tableau 2	Synthèse des résultats de la revue de littérature.....	73

Introduction

Depuis de nombreuses années, la prévalence des maladies bucco-dentaires et notamment de la maladie parodontale reste élevée au sein de la population mondiale. Cette pathologie constituant un réel enjeu de santé publique, de nombreuses thérapeutiques préventives et curatives ont été proposées.

En raison de leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, un intérêt grandissant est porté aux probiotiques dans la communauté scientifique. Ces micro-organismes ont notamment montré leurs bienfaits dans la prévention et le traitement des maladies infectieuses dans le domaine de la gastro-entérologie. L'évaluation de leur potentiel thérapeutique dans le cadre des maladies bucco-dentaires d'origine infectieuses a émergé depuis plus d'une dizaine d'années.

La cavité buccale est l'un des écosystèmes les plus complexes de l'organisme. Les micro-organismes le composant et plus particulièrement les bactéries y vivent en harmonie avec leur environnement. L'équilibre de l'écosystème est fragile, une perturbation importante de l'environnement peut conduire à l'apparition d'un microbiote potentiellement pathogène et donc l'apparition d'une maladie parodontale. L'application potentielle des probiotiques dans le but de maintenir ou de retrouver un équilibre de la communauté microbienne prend alors tout son sens.

Cette revue de littérature a pour objectif d'analyser et de comprendre les mécanismes d'actions des probiotiques sur les déterminants de la maladie parodontale dans des modèles parodontaux *in vitro*. La première partie de ce travail sera consacrée à des rappels sur la physiopathologie de la maladie parodontale. Dans une deuxième partie, une présentation générale des probiotiques et des souches sélectionnées pour cette revue de littérature sera effectuée. Enfin, la troisième partie exposera les données actuelles de la littérature des mécanismes d'action des probiotiques dans des modèles parodontaux *in vitro*.

Partie 1. Physiopathologie de la maladie parodontale

1.1. L'écosystème buccal

1.1.1. Définition

Un écosystème est un système d'interactions établies entre des groupes d'organismes et leur milieu physique ou inanimé. Il est composé de deux parties principales : la communauté biotique, qui comprend tous les organismes vivants de l'écosystème, et le milieu abiotique, qui comprend tous les éléments physiques et biochimiques de l'écosystème (103).

1.1.2. La communauté biotique

La cavité buccale abrite l'un des écosystèmes les plus complexes de l'organisme. Le microbiote buccal, constituant la communauté biotique de cet écosystème, est composée de plus de 700 espèces de micro-organismes vivants tels que les bactéries, les virus, les levures, les archées et les protozoaires (133). La cavité buccale constitue après le côlon la deuxième partie la plus septique de l'organisme. Les micro-organismes y résident au sein de niches écologiques où ils s'approprient les éléments du milieu abiotique pour survivre et proliférer.

1.1.3. Le milieu abiotique

La diversité de la communauté biotique requiert, pour vivre et se développer au sein de niches écologiques buccales, des surfaces d'adhésions favorables, des conditions

nutritives et respiratoires riches et variées, des facteurs physico-chimiques compatibles et des facteurs inhibiteurs maîtrisables. Tout cela constituera le milieu abiotique (103).

1.1.4. Rôle du microbiote dans le maintien de la santé orale

Le microbiote buccal s'organise au sein de niches écologiques telles que la salive, les-surfaces des tissus durs de la dent et des tissus mous de la muqueuse orale. Chaque site est un écosystème unique qui présente des conditions spécifiques à la colonisation de certaines espèces. Les micro-organismes s'organisent sous forme de biofilm, seule une minorité de microbes reste sous forme planctonique. Au sein du biofilm, les différentes espèces résidentes vont interagir entre elles et contribuer à un équilibre relativement stable dans le temps. L'équilibre du microbiote buccal est le résultat d'une symbiose entre les bactéries résidentes, l'hôte et l'environnement contribuant ainsi au maintien de la santé bucco-dentaire. Cependant, un changement brutal des conditions spécifiques à une niche écologique va déstabiliser l'homéostasie microbienne et peut conduire à l'apparition d'un phénomène pathologique (84 / ***Fig.1*** et ***Fig.2***). Ainsi, en l'absence d'hygiène bucco-dentaire par exemple, la plaque dentaire s'accumule jusqu'à un certain seuil de compatibilité avec la santé buccale. Arrivé à ce seuil, la réponse inflammatoire de l'hôte résultante entraîne une augmentation de la quantité de fluide gingival modifiant le statut nutritionnel local et donc la compétitivité bactérienne. Il en résulte l'apparition d'une dysbiose.

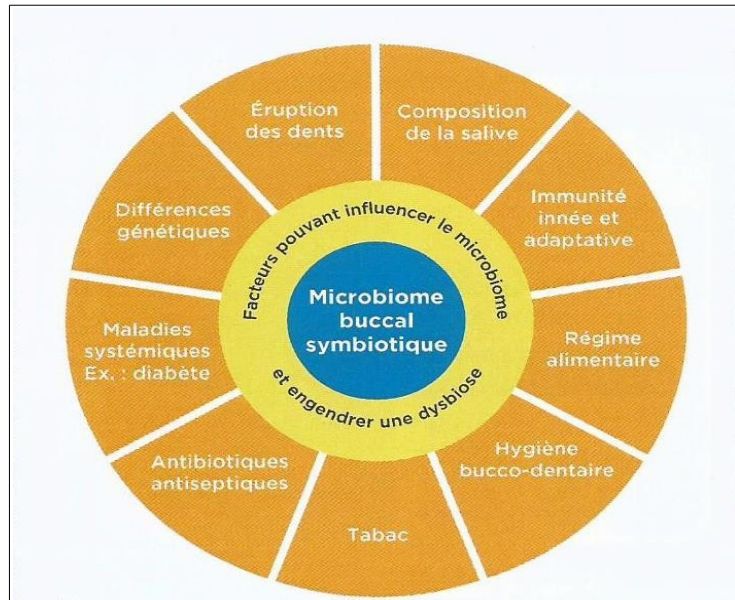


Fig.1: Facteurs génétiques et environnement potentiellement à l'origine de dysbiose (84)

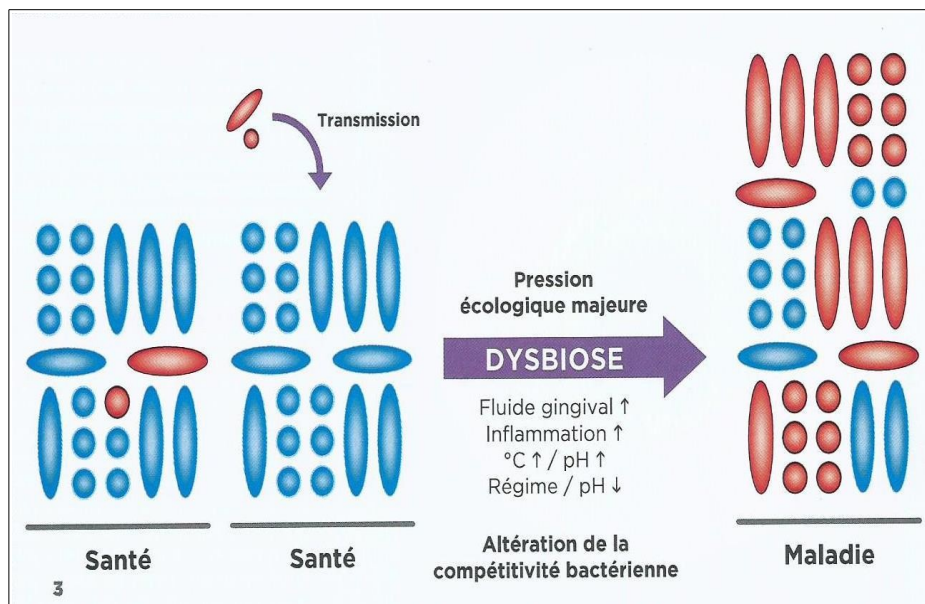


Fig.2: Modèle de dysbiose (84)

1.2. Les bactéries d'intérêt buccal

1.2.1. Définition d'une bactérie

Une bactérie est un être unicellulaire, à structure très simple, dépourvu de noyau et d'organites, au matériel génétique diffus, généralement se reproduisant par scissiparité (68).

1.2.2. Classification des bactéries

1.2.2.1. Classification des procaryotes

On différencie deux domaines de procaryotes : les bactéries et les archées. Les bactéries représentent la plus grande proportion de micro-organismes vivants au sein de la cavité buccale. Cette communauté est dominée par 6 grands groupes appelés « phylum » : les firmicutes, les bactéroïdètes, les protéobactéries, les actinobactéries, les spirochètes et les fusobactéries. Ces phylums se divisent ensuite en classes, ordres, familles, genres et espèces (16).

1.2.2.2. Classification taxonomique des bactéries

La classification des bactéries peut se faire de différentes manières. La taxonomie est utilisée dans le but de classer les bactéries en fonction de leurs caractères discriminants. Parmi eux, on distingue la coloration de Gram, l'obligation d'une croissance en l'absence d'oxygène et la morphologie (103).

La coloration de Gram met en évidence les propriétés de la paroi bactérienne grâce à l'utilisation successive de solutions (violet de Gentiane, lugol, alcool et Fuschine) (73). Il est ainsi observé :

- bactéries à Gram positif : elles possèdent une paroi riche en peptidoglycane (colorées en violet)

- bactéries à Gram négatif : elles possèdent une paroi pauvre en peptidoglycane (colorées en rose)

La croissance des bactéries en l'absence ou présence d'oxygène permet de les classer en :

- bactérie aérobie : la bactérie ne croît qu'en milieu oxygéné
- bactérie aérobie-anaérobie facultative : la bactérie croît en présence ou en absence d'oxygène
- bactérie anaérobie stricte : la bactérie ne peut croître qu'en absence d'oxygène

Les principales morphologies bactériennes sont nombreuses (**Fig.3**). On peut distinguer deux formes prépondérantes :

- rondes : cocci
- en bâtonnets : bacille

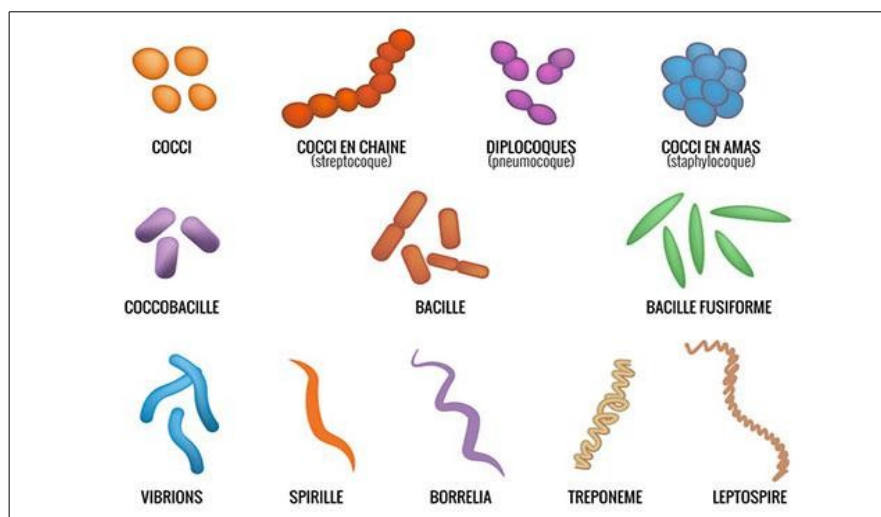


Fig.3 : Principales morphologies des bactéries (114)

1.2.3. Le biofilm bactérien

1.2.3.1. Définition du biofilm dentaire

Le biofilm dentaire est une communauté de micro-organismes, adhérente aux surfaces buccales enrobées dans une matrice intercellulaire de polymères muco-protéique d'origine microbienne et salivaire (103).

1.2.3.2. Formation de la plaque dentaire et maturation du biofilm

1.2.3.2.1. La plaque dentaire

On distingue deux types de plaque dentaire en fonction de la localisation anatomique par rapport à la gencive : la plaque dentaire supra-gingivale et la plaque dentaire sous-gingivale. La plaque dentaire supra-gingivale est la première à se former en l'absence d'hygiène dentaire. Elle se localise au-dessus de la ligne gingivale en dehors des zones de frictions. On y trouve principalement des bactéries aérobies et anaérobies facultatives vivant au contact du fluide salivaire (139). La plaque dentaire sous-gingivale est constituée de bactéries colonisant le sillon gingivo-dentaire et *a posteriori* les poches parodontales. Contrairement au biofilm supra-gingival, les bactéries vivent au contact du fluide gingival. Ces niches sont partiellement dépourvues d'oxygène ; les bactéries s'y développant sont donc principalement anaérobies (139).

1.2.3.2.2. La pellicule acquise exogène

La plaque dentaire dentaire se forme de manière physiologique à la surface des dents. Elle se traduit par la fixation à la pellicule acquise exogène elle-même fixée aux tissus durs de la dent. La pellicule acquise exogène joue le rôle d'interface entre les deux. Cette pellicule est majoritairement composée de protéines d'origine salivaire qui se fixent spontanément aux cristaux d'hydroxyapatites à la surface de l'émail. Une fois fixée aux ions phosphates et calcium, elle va servir de substrat aux espèces bactériennes.

La composition de la pellicule acquise exogène diffère en fonction de différents facteurs, notamment par la présence du fluide gingival et des produits des cellules épithéliales orales (38).

1.2.3.2.3. Maturation du biofilm

1.2.3.2.3.1. Les colonisateurs primaires ou précoces

Les colonisateurs primaires sont les premières bactéries adhérant à la pellicule acquise exogène. Cette adhésion au substrat est irréversible à partir du moment où il existe une spécificité de la liaison entre l'adhésine de la bactérie et le récepteur de la pellicule. Très rapidement, ces bactéries se divisent et d'autres espèces bactériennes viennent s'y fixer pour former des microcolonies. On y trouve essentiellement des bactéries aérobies et anaérobies facultatives Gram positives. Les streptococci représentent environ 60% des colonisateurs primaires, il y a aussi des espèces comme les actinomyces et les veillonella qui représentent la grande partie de ces microcolonies (environ 60%) (58). Ces bactéries font partie de la flore commensale et vivent en harmonie avec l'hôte.

1.2.3.2.3.2. Les colonisateurs secondaires ou tardifs

Après plusieurs jours de maturation du biofilm, de nouvelles espèces bactériennes vont venir coloniser les microcolonies bactériennes. Les colonisateurs secondaires n'ont pas d'affinité avec les colonisateurs primaires pour une grande partie, ils vont principalement se fixer à la bactérie *Fusobacterium nucleatum* pour adhérer au biofilm. Cette bactérie, bacille fusiforme, présente un large spectre d'affinité aux différentes espèces bactériennes et va donc venir jouer le rôle d'interface, de « pont » entre les colonisateurs précoces et tardifs (58 / **Fig.4**).

Avec l'augmentation de la diversité de ce biofilm, l'apparition en plus grand nombre de bactéries aérobies facultatives et anaérobies strictes Gram négatives est observée. Ces bactéries ont un potentiel pathogène plus important comme *P. gingivalis*

et *A. actinomycetemcomitans* dans l'apparition des maladies parodontales. Après deux à trois semaines la plaque devient mature, la communauté bactérienne est en remaniement constant mais le biofilm ne croît plus en épaisseur et va se disséminer notamment en direction du sillon gingivo-dentaire.

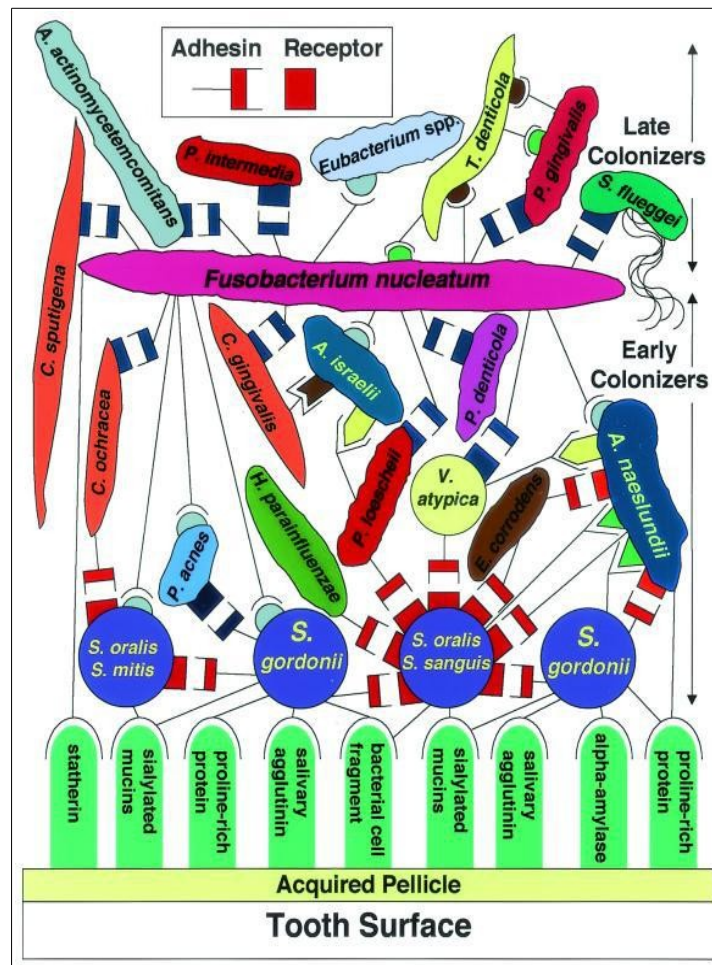


Fig.4 : Modèle spatio-temporel représentant la colonisation bactérienne des surfaces dentaires (58)

1.2.4. Interactions microbiennes au sein du biofilm et maintien de la santé bucco-dentaire

1.2.4.1. Interactions synergiques

De nombreuses espèces bactériennes résident au sein de la cavité buccale où elles vivent en harmonie avec l'hôte. Cette symbiose contribue au maintien de la santé

bucco-dentaire. Comme évoqué précédemment, les bactéries vont spontanément s'organiser au sein de biofilms. La proximité physique entre les différentes espèces bactériennes va occasionner un grand nombre d'interactions potentielles. Ces réactions réciproques sont le plus souvent synergiques ou antagonistes (43 ; 47 ; 49 ; 57 ; 76).

1.2.4.1.1. Signalisation cellule-cellule

Les cellules microbiennes sont capables de communiquer et de répondre à leurs cellules voisines au sein du biofilm au moyen de petites molécules effectrices, diffusibles. Ces stratégies de signalisation cellulaire pourraient permettre aux bactéries de détecter et s'adapter à diverses contraintes environnementales et, par conséquent, réguler et coordonner l'expression des gènes qui influencent la capacité des agents pathogènes pour causer la maladie (76).

1.2.4.1.2. Interactions physiques

La constitution et l'architecture du biofilm bactérien met en jeu de nombreuses interactions physiques. Les bactéries ont une tendance naturelle à adhérer aux autres bactéries, ce processus contribue à la formation de biofilms multi-espèces (57). La liaison entre deux bactéries se fait par reconnaissance spécifique entre un motif moléculaire comme l'adhésine et un récepteur. Deux types de liaisons sont retrouvées :

- co-adhésion : adhésion entre une bactérie planctonique et une bactérie du biofilm
- co-aggrégation : bactéries planctoniques se liant entre elles

Cette liaison peut être homotypique ou hétérotypique. Chaque espèce bactérienne ne peut réaliser qu'un seul type de liaison, seul les streptocoques ont la capacité de faire les deux (56). Une fois la bactérie adhérente au biofilm, la co-adhésion va faciliter d'autres types interactions avec des bactéries à proximité et pour lesquelles elle a une affinité.

1.2.4.1.3. Interactions nutritionnelles

Les nutriments primaires et secondaires constituent les deux sources de nutriments pour les bactéries. Les nutriments primaires sont représentés par les protéines et glycoprotéines de l'hôte. Les bactéries de la plaque supra-gingivale puisent principalement leurs ressources dans la salive (49) alors que le fluide gingival est le réservoir essentiel des bactéries de la plaque infra-gingivale (135). Chaque espèce bactérienne va synthétiser des enzymes spécifiques telles que les protéases et glycosidases. L'action combinée de plusieurs espèces est nécessaire à la dégradation complète des glycoprotéines de l'hôte (13). La capacité métabolique de chaque espèce est donc nécessaire aux autres espèces pour l'accès aux nutriments primaires.

Certaines espèces bactériennes vont utiliser comme source principale alimentaire des produits métaboliques issus du catabolisme de nutriments primaires par d'autres espèces. Ces produits forment des chaînes ou réseaux alimentaires appelés nutriments secondaires (40) et vont être utilisés notamment par les bactéries ayant une faible activité protéolytique.

Ces interactions synergiques permettent de suffire aux besoins nutritionnels de chaque espèce bactérienne, et ce dans le but de maintenir une homéostasie microbienne.

1.2.4.1.4. Quorum sensing

Le quorum sensing est un processus de communication chimique entre les bactéries. Elle se fait à l'aide de molécules appelées auto-inducers et qui se définit comme la régulation des gènes en réponse à densité cellulaire (43). Il est impliqué dans le contrôle des fonctions biologiques, celui de la production des facteurs de virulence et d'anti-microbiens, de la mobilité, de la réplication et transcription des gènes, du métabolisme du carbone et des acides aminés (43 ; 87). Il est également impliqué dans la formation du biofilm et la tolérance au pH acide.

Avec la densité du biofilm bactérien, le quorum sensing est une fonction bactérienne très importante pour maintenir l'homéostasie microbienne. L'autoinducteur

2 et la CSP sont deux molécules de signalisation très utilisées par ce système de communication bactérienne (**Fig.5**).

Signals	Bacteria	Functions	References	
AI-2	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Hemin and iron uptake	Chung <i>et al.</i> (2001), James <i>et al.</i> (2006)	
		Protease and hemagglutinin activities	Burgess <i>et al.</i> (2002)	
		Stress gene response	Yuan <i>et al.</i> (2005)	
	<i>Streptococcus mutans</i>	Biofilm formation	Yoshida <i>et al.</i> (2005)	
		<i>S. gordonii</i>	Carbohydrate metabolism	McNab <i>et al.</i> (2003)
	<i>S. anginosus</i>	Biofilm formation	Petersen <i>et al.</i> (2006)	
	<i>S. intermedius</i>	Virulence factors	Pecharki <i>et al.</i> (2008)	
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Biofilm formation	Shao <i>et al.</i> (2007)	
	<i>Eikenella corrodens</i>	Biofilm formation	Azakami <i>et al.</i> (2006)	
	<i>P. gingivalis</i> - <i>S. gordonii</i>	Biofilm formation	McNab <i>et al.</i> (2003)	
	<i>S. oralis</i> - <i>Actinomyces naeslundii</i>	Biofilm formation	Rickard <i>et al.</i> (2006)	
	CSP	<i>S. mutans</i>	Bacteriocin production, competence	van der Ploeg (2005), Kreth <i>et al.</i> (2005b)
			Biofilm formation	Li <i>et al.</i> (2001a), Aspiras <i>et al.</i> (2004)
Acid tolerance			Li <i>et al.</i> (2001b)	
<i>S. gordonii</i>		Biofilm formation	Loo <i>et al.</i> (2000)	
<i>S. intermedius</i>		Biofilm formation	Petersen <i>et al.</i> (2004)	

Fig.5 : Molécules de signalisation et fonctions sur les bactéries buccales (43)

1.2.4.1.5. Transfert de gènes

La proximité bactérienne représente des conditions idéales au transfert horizontal de gènes. Ce transfert de gènes implique l'acquisition de l'ADN provenant d'espèces co-résidentes ou de sources exogènes (86 ; 104). L'ADN peut être transféré par de nombreux mécanismes tels que la transduction par des virus bactériens (bactériophages), la transformation par absorption d'ADN ou encore l'utilisation des vésicules membranaires chez les bactéries Gram négatif (93). Ce transfert horizontal de gènes permet aux bactéries du biofilm d'augmenter leur potentiel d'adaptation aux changements environnementaux (104). Le transfert horizontal de gènes est considéré comme le principal mécanisme dans l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques qui sont très présents dans la cavité buccale (122).

1.2.4.2. Interactions antagonistes

Les nombreux mécanismes à l'origine d'interactions antagonistes vont permettre de conférer un avantage compétitif à une bactérie lors de la colonisation du biofilm ou

lorsqu'elle est amenée à entrer en compétition avec une autre bactérie. Parmi ces mécanismes peuvent être cités la compétition pour les nutriments essentiels et pour les récepteurs d'adhésion. La compétition se produit lorsque deux espèces ne peuvent pas occuper la même niche écologique selon le principe d'exclusion compétitive. L'organisme le plus apte à utiliser les ressources de l'habitat finit par dominer jusqu'à faire disparaître complètement l'autre organisme.

Il y a aussi antagonisme quand une espèce sécrète des substances inhibitrices ciblées contre une autre ou des substances qui modifient le micro-environnement, défavorisant ainsi le développement de l'autre. Ces substances peuvent être des bactériocines, du peroxyde d'hydrogène, des acides organiques, ou encore la libération d'enzymes lytiques. Cette production notamment pour les bactériocines est régulée par des facteurs génétiques et les conditions environnementales comme la densité cellulaire et le pH (62 ; 63 ; 83 ; 99). Ces systèmes de régulation s'assurent que les bactériocines et autres substances sont produites dans des conditions spécifiques pour être utilisées efficacement au sein de la flore commensale.

Contre intuitivement, les interactions antagonistes pourraient aussi être bénéfiques aux deux partenaires impliqués et pourrait même stimuler la santé de la communauté microbienne (120). En présence d'oxygène, *A. actinomycetemcomitans* doit survivre à des concentrations élevées de peroxyde d'hydrogène libérées par *S. gordonii*. Ces deux espèces vont utiliser la même source de nutriment, le lactate, qui est produit par *S. gordonii* et nécessaire sa survie. Pour atténuer les conditions de stress oxydatif, *A. actinomycetemcomitans* ne réalise pas seulement une catalyse (par l'intermédiaire de l'enzyme de détoxification de l' H_2O_2) mais répond également par induction de la dispersine B, une enzyme qui favorise la dispersion de *A. actinomycetemcomitans* dans les biofilms. Cette dispersion entraîne une augmentation de la distance physique entre *A. actinomycetemcomitans* et *S. gordonii* produisant de l' H_2O_2 . D'autre part, *S. gordonii* qui ne réalise pas sa propre catalase, est protégé de manière croisée par *A. actinomycetemcomitans* des conditions de stress oxydatif induites par lui-même.

Au sein de la flore commensale, l'ensemble de ces interactions va favoriser le développement des bactéries commensales au profit des bactéries parodontopathogènes dans le but de contrôler la pathogénicité du biofilm.

1.3. Physiopathologie de la maladie parodontale

1.3.1. Définition de la maladie parodontale

La parodontite est une maladie inflammatoire multifactorielle résultant de la présence d'une communauté microbienne dysbiotique d'agents parodontopathogènes aboutissant à la destruction des tissus de soutien des dents. Deux types de maladies parodontales peuvent être évoquées en fonction de l'atteinte de ces tissus de soutien :

- la gingivite qui affecte les tissus mous du parodonte, à savoir la gencive, parodonte superficiel
- la parodontite qui est une évolution de la gingivite, elle atteint l'ensemble des tissus de soutien, à savoir la gencive, l'os alvéolaire, le ligament alvéolo-dentaire et le cément, soit le parodonte superficiel et profond

1.3.2. Dysbiose

La composition du microbiome est influencée par l'environnement oral. La perturbation des conditions locales peut affecter les interactions microbiennes au sein du biofilm et déterminer, en partie, si la relation entre le microbiome oral et l'hôte est symbiotique ou dysbiotique (75 ; 105). La santé parodontale est associée aux micro-organismes à gram positif tels que les streptocoques et les actinomyces. Dans le cadre de la maladie parodontale cette composition est modifiée, elle est caractérisée par une augmentation des bactéries anaérobies à gram négatif au profit des autres bactéries. Des complexes bactériens ont été mis en évidence au sein de la plaque dentaire sous-gingivale (116 ; 117 / **Fig.6**). Les bactéries au sein de chaque complexe interagissent entre elles mais également avec celles d'autres complexes. Par exemple, les bactéries du complexe du rouge seront toujours associées à celles du complexe orange alors que les bactéries du complexe vert seront plus souvent associées à celles du complexe jaune. La pathogénicité de la plaque sous-gingivale est dépendante des complexes bactériens présents, la maladie parodontale ayant une étiologie polymicrobienne.

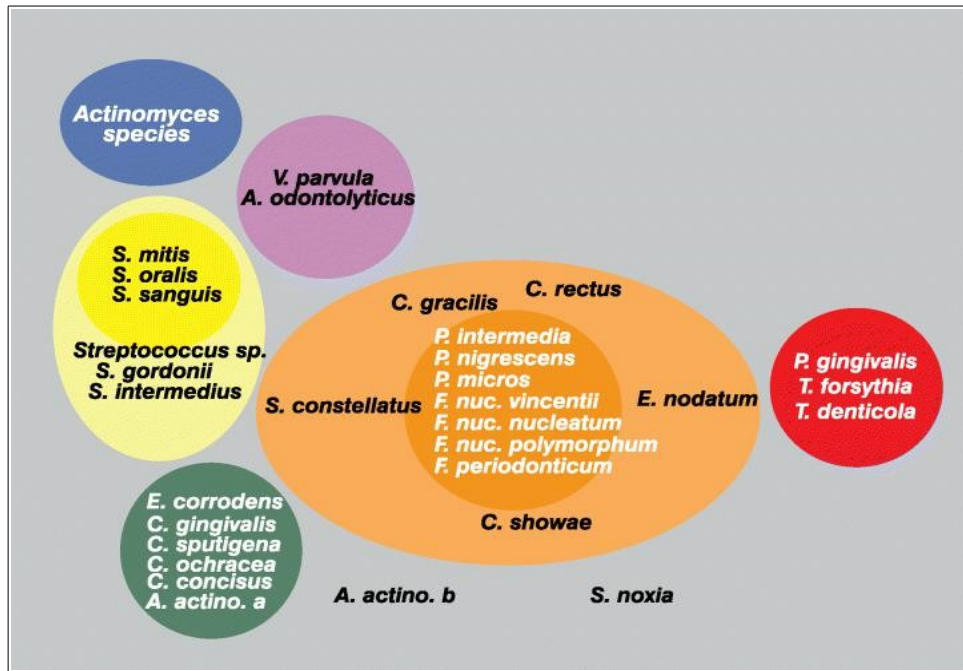


Fig.6 : Diagramme représentatif des complexes bactériens sous-gingivaux (116)

Les bactéries des complexes bleu, violet, jaune et vert sont associées à la santé parodontale tandis que les micro-organismes des complexes orange et rouge sont retrouvés de manière prépondérante chez les individus atteints de maladies parodontales. Les bactéries du complexe rouge *P. gingivalis*, *T. denticola* et *T. forsythia* ayant un fort potentiel parodontopathogène (116).

Lors de la constitution du biofilm, les bactéries pionnières vont d'abord coloniser l'habitat. Ces bactéries sont ensuite remplacées par les colonisateurs secondaires, on parle de succession microbienne (118). Cette succession se retrouve dans la gingivite. Il existe deux types de successions :

- la succession autogénique : les bactéries pionnières altèrent les conditions de l'environnement pour favoriser leur remplacement par des bactéries secondaires qui sont mieux adaptées à cet environnement

- la succession allogénique : une communauté est remplacée par une autre du fait de la modification de l'habitat par des facteurs non-microbiens tels que les conditions physico-chimiques ou la réponse de l'hôte ou les deux

Dans la cavité buccale, la colonisation initiale de la gencive marginale implique des membres des complexes jaune, vert et violet avec les actinomyces. La succession allogénique permet ensuite la colonisation des bactéries des complexes orange et rouge. Il existe une interaction réciproque entre les bactéries des deux derniers complexes permettant l'auto-stimulation de leur croissance et l'apparition d'une gingivite par augmentation de leur nombre (**Fig.7**). La gingivite favorise à son tour une prolifération accrue de bactéries pionnières et donc par succession les bactéries des complexes rouges et orange. Les bactéries vont modifier les conditions du milieu pour ensuite coloniser l'espace sous-gingival et créer des poches parodontales, on parle alors de parodontite. Le biofilm formé servira de réservoir à partir duquel les bactéries vont pouvoir se disséminer vers d'autres sites.

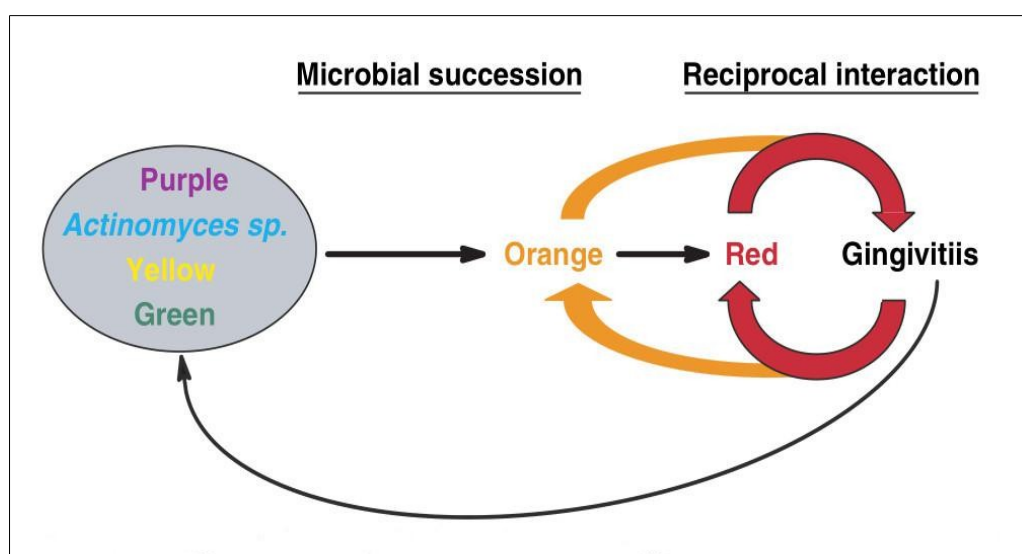


Fig.7 : Schéma représentatif de la succession microbienne (118)

De nombreux micro-organismes sont donc impliqués dans la dysbiose microbienne, pas seulement ceux des complexes rouge et orange. D'ailleurs, la majorité des facteurs de virulence potentiels régulés positivement lors de maladies parodontales proviennent des bactéries normalement associées à la santé confirmant l'origine polymicrobienne, on parle du modèle PSD. Ce modèle implique une synergie d'action entre des agents pathogènes clés tels que *P. gingivalis* et des agents pathogènes accessoires pour moduler la réponse de l'hôte de manière à nuire à la surveillance immunitaire et à faire pencher la balance de l'homéostasie à la dysbiose (34).

Cette succession écologique de la santé à la parodontite révèle l'émergence de membres de la communauté nouvellement dominants plutôt que l'apparition d'espèces nouvelles (4).

1.3.3. La réponse immuno-inflammatoire de l'hôte

La dysbiose microbienne est à l'origine d'une réaction inflammatoire de l'hôte. Cette réponse immuno-inflammatoire est un processus biologique complexe conduisant à maîtriser l'infection bactérienne. Elle se caractérise par une réponse innée et une réponse adaptative. La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense capable de reconnaître les micro-organismes pathogènes. Les mécanismes effecteurs de l'immunité innée sont ensuite améliorés par l'immunité adaptative.

La réponse primaire aux agents pathogènes par le système immunitaire inné est médiée par de nombreuses cellules telles que les cellules dendritiques, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. Cette réponse implique la liaison entre les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) d'une cellule de l'hôte (résidente ou immunitaire) et des motifs moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMPs). Les récepteurs TLR-2 et TLR-4 sont des récepteurs de la famille des Toll-like receptors (TLRs : sous-famille des PRR) particulièrement impliqués dans la reconnaissance des bactéries parodontopathogènes (90). Le récepteur TLR-2 est principalement impliqué dans la reconnaissance de divers composants de cellules bactériennes, tels que le peptidoglycane et les lipoprotéines tandis que TLR-4 reconnaît spécifiquement le lipopolysaccharide, un facteur de virulence associé aux bactéries à Gram négatif (7) .

La reconnaissance de ces motifs bactériens par les TLRs déclenche une cascade de réactions intracellulaires provoquant en retour la libération de cytokines et de chémokines par les cellules immunitaires. Ces molécules pro ou anti-inflammatoires vont alors permettre le recrutement d'autres cellules de l'immunité innée telles que les macrophages et polynucléaires neutrophiles. Ces cellules phagocytaires ont pour rôle de détruire les agents pathogènes reconnus préalablement. Elles sont aussi à l'origine de l'initiation des phénomènes inflammatoires et de la destruction des tissus parodontaux. Par exemple, les cellules épithéliales vont sécréter la chimiokine IL-8 à l'origine du

recrutement des polynucléaires neutrophiles (37). Ces cellules vont à leur tour produire des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-1, l'interleukine-6 et le facteur de nécrose tumorale intervenant dans la destruction du tissu parodontal en stimulant la résorption osseuse (126). La réponse immunitaire innée a donc pour but de contrôler l'infection bactérienne mais elle entraîne aussi une réaction inflammatoire conduisant à la destruction des tissus parodontaux.

Lorsque l'infection initiale n'est pas maîtrisée et qu'elle perdure dans le temps, l'immunité adaptative va alors se mettre en place. Les cellules dendritiques autres que celles participant à la réponse inflammatoire innée ont la capacité de capturer et de présenter des antigènes aux cellules B et T du système immunitaire acquis (19). L'activation des cellules B va permettre la production d'anticorps neutralisant spécifiquement les agents pathogènes. Après stimulation antigénique, les lymphocytes T CD4 + naïfs s'activent, prolifèrent et se différencient en sous-ensembles distincts de cellules caractérisés par leur production de cytokines spécifiques pour détruire les agents pathogènes (20). On distingue les cellules effectrices Th-1 et Th-2, respectivement associées à l'immunité cellulaire et humorale et les cellules régulatrices Th-17 (23). La balance des cytokines pro et anti-inflammatoires contrôlée par différents sous-ensembles de lymphocytes est cruciale dans la pathogenèse de la maladie parodontale (29). En fonction de l'antigène présenté, une sous-population de lymphocytes peut devenir prédominante et les cytokines produites en aval contribuent à la destruction osseuse comme dit précédemment. Par exemple, les sous-populations Th1 et Th17 produisent les cytokines IL-1 β , TNF- α et IL-17 permettant la stimulation de la production de la molécule RANK-L par les ostéoblastes (**Fig.8**). Ce ligand en se liant à son récepteur RANK permet la différenciation des précurseurs des ostéoclastes en ostéoclastes activés et donc la résorption osseuse.

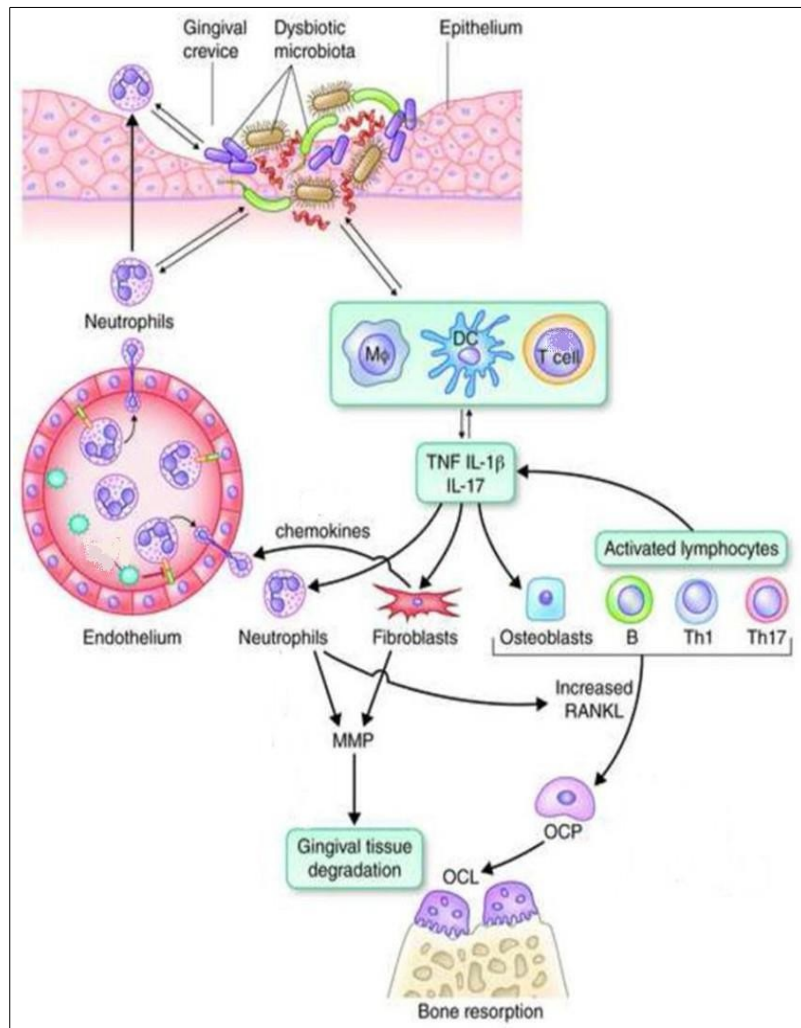


Fig.8 : Mécanismes inflammatoires conduisant à la résorption osseuse dans la parodontite (35)

La réponse immuno-inflammatoire de l'hôte est un processus physiologique qui devient pathologique dans le cadre de la maladie parodontale où un excès de cellules immunitaires innées et adaptatives contribue à la résorption osseuse.

1.3.4. Entretien de la réponse inflammatoire de l'hôte par les bactéries parodontopathogènes

La maladie parodontale est à l'origine d'un état inflammatoire permanent. Les bactéries pathogènes associées à la pathologie doivent s'y accommoder si elles veulent survivre, elles en tirent même un avantage, on peut parler de bactéries « inflammophiles » (33). Du point de vue des micro-organismes, l'inflammation est une source importante d'éléments nutritifs et peut donc exercer une influence déterminante sur la composition et le nombre des bactéries au potentiel pathogène. Elle favorise ainsi les espèces capables de supporter l'inflammation et d'utiliser les produits de dégradation des tissus. Par exemple, les peptides de collagène dégradé et les composés contenant de l'hème peuvent être utilisés par les bactéries protéolytiques et asaccharolytiques pour obtenir des acides aminés essentiels et du fer comme *P. gingivalis* (36). En revanche, les espèces qui ne peuvent pas bénéficier des conditions altérées écologiques de l'environnement inflammatoire, ou pour lesquelles l'inflammation de l'hôte est nuisible, voient leur développement freiné.

De plus, les sites sous-gingivaux hébergeant des bactéries associées à une parodontite présentent un faible potentiel rédox et sont baignés dans le fluide gingival, un exsudat riche en nutriments pour ces micro-organismes, dont le débit augmente avec l'augmentation de l'inflammation parodontale (75).

Ainsi, la constitution sélective d'un microbiote dysbiotique composé de bactéries inflammophiles entretient la destruction inflammatoire des tissus en créant un « cycle vicieux » de progression de la maladie, dans lequel la dysbiose et l'inflammation se renforcent mutuellement (33 / **Fig.9**).

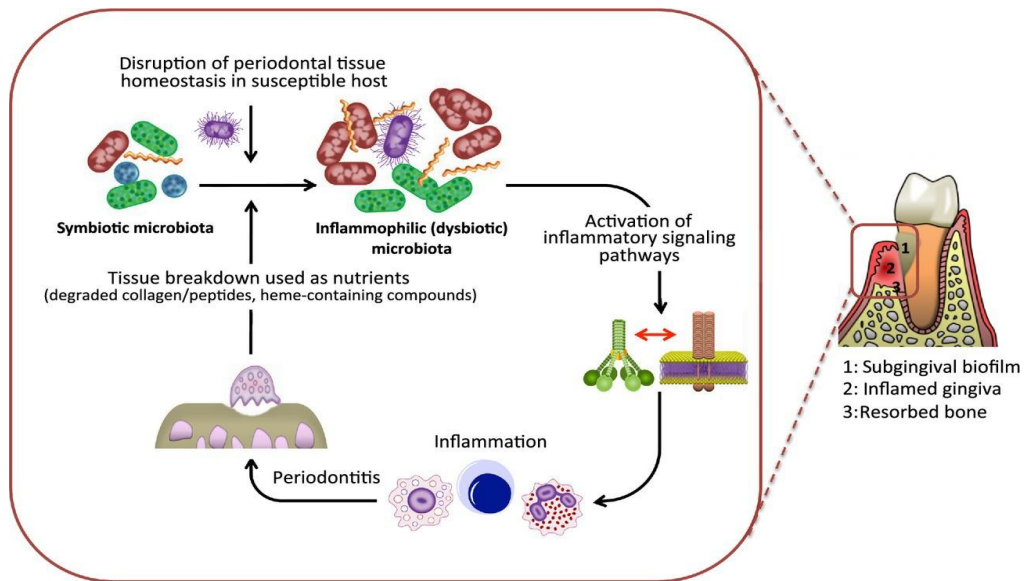


Fig.9 : Caractère « inflammophile » du microbiote associé à la maladie parodontale (33)

La symbiose entre les bactéries au sein de la flore commensale est donc une composante importante au maintien de la santé parodontale. Dans le cadre d'une dysbiose, une destruction inflammatoire des tissus est initiée et entretenue en l'absence d'un équilibre de l'écosystème. Il semble donc important de pouvoir d'agir sur l'équilibre de l'environnement bactérien dans un objectif de santé parodontale.

Partie 2. Les probiotiques

2.1. Présentation des probiotiques

2.1.1. Historique et définition

Au début du XXème siècle, en 1907, le biologiste d'origine ukrainienne Elie Metchnikoff s'intéresse à la consommation de produits laitiers fermentés contenant des bactéries lactiques. Il observe chez les individus les consommant une longévité de la santé et donc des effets bénéfiques. Metchnikoff, co-lauréat du prix Nobel de physiologie et de médecine en 1908, a découvert en travaillant à l'Institut Pasteur de Paris la bactérie *Lactobacillus bulgaricus*, une souche qu'il introduisit par la suite dans des produits laitiers en France et en Europe (86).

Parallèlement, le pédiatre français Henri Tissier observa dans les selles d'enfants souffrant de diarrhées un faible nombre de bactéries de forme bifides, appelées par la suite bifidobactéries, par rapport aux selles d'enfants en bonne santé. Il proposa donc d'en administrer à des individus souffrant de diarrhées pour rétablir la flore intestinale (27).

A la suite de ces découvertes, le terme probiotique, venant du grec « pro bios » signifiant « en faveur de la vie » est évoqué pour la première fois dans les années 1960 par Lily et Stillwell pour désigner des substances produites par des micro-organismes favorisant la croissance d'autres micro-organismes. En 1989, Fuller redéfinit ce concept pour introduire la nature microbienne des probiotiques à savoir « un complément nutritionnel microbien vivant qui a un effet positif sur l'animal hôte en améliorant son équilibre intestinal ».

Les mécanismes d'action n'étant pas totalement élucidés, cette définition a continué à évoluer par la suite. Aujourd'hui, les probiotiques sont définis comme des « micro-organismes vivants, qui, quand ils sont administrés dans des quantités adéquates, ont des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte » (98).

2.1.2. Autres définitions

2.1.2.1. Prébiotiques

Ingrédients sélectivement fermentés qui induisent des changements spécifiques dans la composition et/ou l'activité du microbiote produisant ainsi un effet bénéfique sur la santé de l'hôte (98).

2.1.2.2. Synbiotiques

Produits qui contiennent à la fois des probiotiques et des prébiotiques, et qui produisent un effet bénéfique sur la santé (98).

2.1.2.3. Bactéries lactiques

De nombreux auteurs assimilent les probiotiques aux bactéries lactiques du fait de la métabolisation de substrats en acide lactique. Elles se définissent comme des bactéries non pathogènes, non toxigènes, Gram positives, utiles pour la fermentation alimentaire par production d'acide lactique à partir des hydrates de carbone (98).

2.1.3. Nomenclature des probiotiques

2.1.3.1. Désignation d'un probiotique

Une souche probiotique est répertoriée par son genre, son espèce, sa sous-espèce (s'il y a lieu) et par des caractères alphanumériques pour une identification précise (**Tableau 1**). Il n'existe pas de réglementation par la communauté scientifique en ce qui concerne le marketing et les noms commerciaux. En accord avec les lignes directives de la WHO/FAO, les fabricants de probiotiques sont tenus d'enregistrer leurs souches dans

un registre international. La désignation précise d'un probiotique est importante pour associer une souche ou une combinaison de souches à des effets bénéfiques apportés à l'hôte.

Tableau 1 : Exemples de souches de la nomenclature des probiotiques

Genre	Espèce	Sous-espèce	Désignation de la souche (caractères alphanumériques)	Désignation de la souche selon le registre international
<i>Lactobacillus</i>	<i>reuteri</i>	Sans	RC-14	ATCC 55845
<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>	Sans	GG	ATCC 53103
<i>Bifidobacterium</i>	<i>animalis</i>	<i>lactis</i>	BB-12	IPLA 4549

2.1.3.2. Les différents genres de probiotiques

De nombreux genres de probiotiques existent à ce jour, y figurent notamment les lactobacilles, les bifidobactéries, les streptocoques, les saccharomyces et les enterocoques. Ces micro-organismes sont en majeure partie issus du microbiote intestinal. Dans le domaine médical et plus communément en chirurgie dentaire, les lactobacilles et les bifidobactéries sont les genres les plus étudiés.

2.1.3.2.1. Les lactobacilles

Le genre *Lactobacillus* appartient au phylum des firmicutes. Il comprend plus de 200 espèces regroupées en 24 groupes phylogénétiques (123 ; 140). Ces micro-organismes sont des bactéries Gram + anaérobies facultatives, non sporulées, généralement en forme de bâtonnets et non mobiles (54 ; 111). Les lactobacilles sont presque omniprésentes dans l'environnement (aliments fermentés, surface des plantes,

sur le sol...) Chez l'homme, elles sont présentes dans des zones où les glucides sont disponibles tels que le microbiote gastro-intestinal ou le vagin (134). Dans la cavité buccale, ce genre représente environ 1% de la microflore (11). Elles sont également retrouvées dans les produits alimentaires riches en glucides (produits laitiers, produits céréaliers, bière, fruits...), de sorte qu'il est difficile aujourd'hui de déterminer si ce genre bactérien réside en tant que colonisateur permanent de la cavité buccale ou si sa présence est due à la consommation quotidienne de produits laitiers. Les espèces les plus répandues dans la salive sont *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* et *L. salivarius* (11). Leur métabolisme fermentatif glucidique permet la production d'acides, notamment l'acide lactique, contribuant à leur activité antimicrobienne par inhibition de la croissance de certaines bactéries pathogènes.

Il a été démontré que les lactobacilles avaient des effets bénéfiques sur la santé. Les meilleures preuves existent pour le traitement et la prévention des infections entériques et les syndromes post-antibiotiques. Plusieurs méta-analyses ont établi l'efficacité de certaines lactobacilles dans les diarrhées infectieuses aiguës et la prévention des diarrhées associées aux antibiotiques (113). Les lactobacilles utilisées comme probiotiques ont un profil d'innocuité élevé, sont reconnues pour leur statut «généralement considéré comme sûr», et la tolérance des patients est généralement excellente (70).

2.1.3.2.2. Les bifidobactéries

Les bifidobactéries sont classées dans la famille des actinobactéries. Ce genre regroupe 29 espèces différentes. Ces micro-organismes GRAM + sont des bactéries anaérobies polymorphes, non sporulées, non mobiles et non filamenteuses (28). Les bifidobactéries font partie des premiers colonisateurs de l'intestin chez les nourrissons et y restent présentes même à l'âge adulte. Les souches *B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. animalis*, et *B. dentium* (22 ; 129) sont communément retrouvées dans les selles d'individus sains. L'origine des deux dernières souches est discutable, notamment de par le fait de leur présence dans les produits laitiers. Comme les lactobacilles, ces bactéries ont un métabolisme fermentatif glucidique à l'origine de la production d'acides, principalement

l'acide lactique et acétique. Ce métabolisme contribue notamment à la dégradation des oligosaccharides présents dans le lait maternel ou le lait en poudre chez l'enfant. Les bifidobactéries jouent donc un rôle clé dans le développement physiologique du nouveau-né, y compris la maturation du système immunitaire et l'utilisation des composants alimentaires (39). Les bifidobactéries représentent aussi une proportion mineure des micro-organismes au sein de la cavité buccale ; on y retrouve les souches *B. dentium*, *B. adolescentis*, *B. longum* et *B. urinalis* dans la salive (44). Ces souches seraient associées au statut parodontal sain et à l'évolution de la parodontite dans le sens de la guérison (44). En raison de leurs effets bénéfiques sur la santé, certaines souches telles que *B. longum* et *B. animalis* sont considérées comme probiotiques.

En raison de leurs propriétés métaboliques communes et de l'acceptation de leur incorporation dans des aliments fonctionnels, les lactobacilles et les bifidobactéries se retrouvent souvent associées (54).

2.1.4. Pré-requis à l'utilisation des probiotiques

Un protocole a été établi par la l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et l'Organisation Internationale de la Santé (FAO/WHO) pour déterminer si un probiotique peut être commercialisé (***Fig.10***).

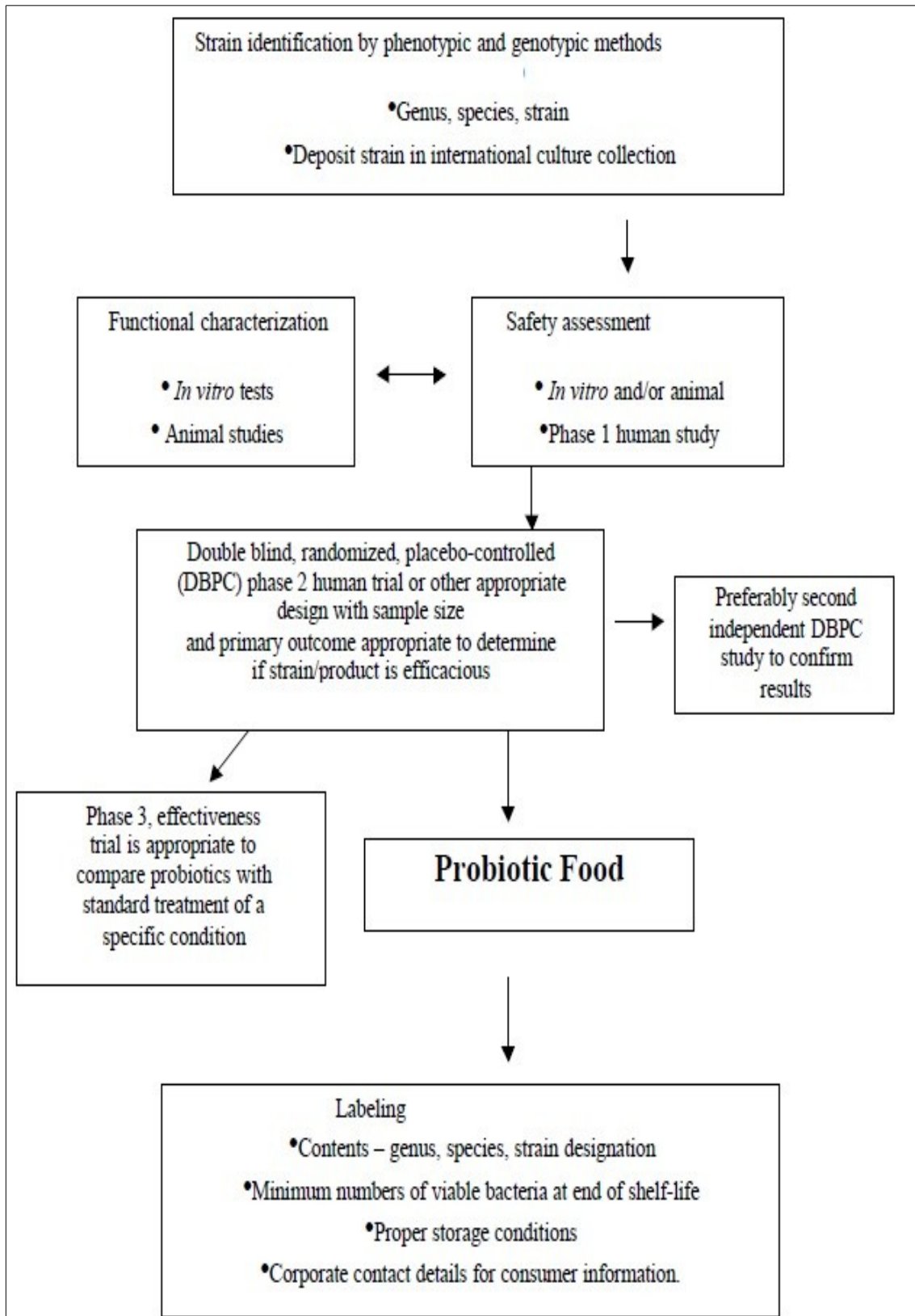


Fig.10: Lignes directrices pour l'évaluation des probiotiques à usage médical (97)

2.1.4.1. Identification de la souche

Il est suggéré que les effets des probiotiques sur la santé sont spécifiques à chaque souche, l'identification précise de chacune d'entre elles est donc nécessaire. Elle a également un intérêt pour la surveillance précise des souches et les études épidémiologiques.

Pour établir la spécificité d'une souche, il est recommandé d'utiliser une combinaison de tests phénotypiques et génétiques. La souche est ensuite reportée à la nomenclature précédemment décrite (97).

L'hybridation de l'ADN est la méthode de référence pour indiquer qu'une souche appartient à une espèce.

2.1.4.2. Caractérisation fonctionnelle

Les tests *in vitro* sont essentiels pour évaluer la sécurité des souches probiotiques mais aussi comprendre leurs mécanismes d'actions. Cependant, il a été noté que les tests actuellement disponibles ne sont pas complètement adéquats pour prédire la fonctionnalité des probiotiques dans le corps humain. Les principaux tests *in vitro* réalisés sont :

- résistance à l'acidité gastrique
- résistance aux acides biliaires
- adhérence au mucus et / ou aux cellules épithéliales humaines et aux lignées cellulaires
- activité antimicrobienne contre les bactéries potentiellement pathogènes
- capacité à réduire l'adhésion de l'agent pathogène aux surfaces
- activité d'hydrolyse des sels biliaires
- résistance aux spermicides

Les résultats observés lors des tests *in vivo* sur animaux doivent être en adéquation avec ceux trouvés *in vitro* pour une souche spécifique. Cela permet la caractérisation fonctionnelle de la souche.

2.1.4.3. Considérations de sécurité

Il est nécessaire d'apporter des preuves qu'une souche probiotique est sûre et sans contamination dans sa forme de livraison. Des recommandations communes ont été dictées pour garantir la sécurité d'un probiotique après son identification précise (112), telles que :

- absence de virulence
- absence de cytotoxicité
- absence d'infectivité
- absence de transfert de gènes de résistance aux antibiotiques

Ces événements restent très rares avec les lactobacilles et non répertoriés avec les bifidobactéries.

Dans le but d'assurer la sécurité d'emploi du produit, le groupe de travail recommande que les probiotiques doivent être caractérisés au minimum avec les six tests suivants:

- détermination des profils de résistance aux antibiotiques
- évaluation de certaines activités métaboliques
- évaluation des effets secondaires lors d'études *in vivo* chez l'homme
- surveillance épidémiologique des incidents indésirables chez les consommateurs
- si la souche évaluée appartient à une espèce connue comme productrice de toxines chez les mammifères, elle doit être testée pour la production de toxines

- si la souche évaluée appartient à une espèce à potentiel hémolytique connu, la détermination de l'activité hémolytique est nécessaire.

2.1.4.4. Tests *in vivo* chez l'animal et l'humain

Dans certains cas, les modèles animaux permettent de confirmer les effets reportés dans les tests *in vitro* et de déterminer les effets d'une souche probiotique. Dans ce cas, il est recommandé d'effectuer les tests *in vivo* chez l'animal avant les essais cliniques sur humains.

Pour les essais cliniques chez l'homme, il faut prouver que la souche utilisée va promouvoir des bénéfices sur la santé de l'homme d'un point de vue statistique et biologique (amélioration de la qualité de vie, des symptômes, du bien être, la réduction du risque de maladie..). On distingue quatre phases dans les essais cliniques :

- phase 1 : sécurité du produit (cf paragraphe 2.1.4.3. ; page 43)
- phase 2 : détermination des effets bénéfiques du produit par une étude si possible en double aveugle, randomisée et contrôlée par un placebo. La mesure des effets indésirables est réalisée durant cette phase
- phase 3 : efficacité du produit : comparaison de l'effet de la souche utilisée à un traitement standard dans des conditions spécifiques
- phase 4 : surveillance du produit

Il est recommandé pour les essais chez l'homme qu'ils soient effectués par un deuxième groupe de recherche indépendant pour confirmer les résultats. Il ne doit pas exister d'effets indésirables si le probiotique est à usage alimentaire. Enfin, il est recommandé que les résultats des essais cliniques, qu'ils soient positifs ou négatifs, soient publiés dans des revues scientifiques ou médicales. Une fois l'essai clinique validé, le probiotique va pouvoir être commercialisé.

2.1.4.5. Allégations de santé et étiquetage

Il est recommandé que le fabricant du produit soit examiné par un tiers indépendant composé d'experts scientifiques, qui contrôlent que les allégations de santé soient véridiques et non sujettes à confusion. Sur l'étiquette du produit, les informations suivantes doivent y figurer :

- genre, espèce et désignation de la souche
- concentration de chaque souche de probiotique une fois la date limite de consommation dépassée
- la dose efficace de probiotique par rapport aux allégations de santé
- les allégations de santé
- conditions de stockage appropriées
- les coordonnées de l'entreprise pour l'information des consommateurs

2.2. Applications des probiotiques en parodontologie dans des modèles *in vitro*

2.2.1. Intérêts dans le domaine de la santé et en chirurgie dentaire

Depuis quelques décennies, des bactéries connues sous le nom de probiotiques ont été ajoutées à divers aliments en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. Ils sont aujourd'hui largement prescrits en gastro-entérologie mais aussi dans le cadre d'infections uro-génitales ou respiratoires. La cavité buccale représente le deuxième microbiote le plus peuplé après celui de l'intestin au sein de l'organisme. Ainsi de nombreux chercheurs s'intéressent à l'effet potentiel des probiotiques sur les pathologies buccales associées à un déséquilibre de la flore bactérienne telles que la maladie parodontale .

2.2.2. Capacités attendues

Le déséquilibre du microbiote est une composante essentielle conduisant à l'initiation d'une inflammation destructrice des tissus parodontaux. Les probiotiques vont être administrés dans le but de rétablir un équilibre au sein du microbiote buccal et ainsi stopper le phénomène inflammatoire. Il n'existe actuellement pas de directives spécifiques pour l'évaluation de souches probiotiques potentielles pour l'usage au sein de la cavité buccale. Par conséquent, il faut se référer aux directives internationales pour l'évaluation des probiotiques (**Fig.10**) comme une condition préalable au dépistage des compétences de chaque souche. D'un point de vue thérapeutique, les probiotiques doivent répondre à plusieurs critères de sélection pour leur utilisation au sein de la cavité buccale (11; 12; 20) :

- tolérance aux conditions de stress
- adhésion aux tissus de la cavité buccale
- activité antagoniste contre les bactéries pathogènes
- sécurité du produit (cf 2.1.4.3 ; page 43)
- pouvoir cariogène minimal

Plus une souche répondra à un grand nombre de ces critères de sélection, plus elle sera potentiellement sélectionnable pour être intégrée à une thérapeutique parodontale.

2.2.2.1. Tolérance aux conditions de stress

Pour coloniser la cavité buccale, un probiotique doit être capable de survivre dans les conditions de stress imposées par la cavité buccale. Au moment de l'administration, le probiotique doit être résistant aux enzymes présentes dans la cavité buccale provenant notamment de la salive, telles que l'amylase et le lysozyme (20). La tolérance aux conditions de stress imposées par la cavité buccale est nécessaire à une souche pour survivre et intégrer le microbiote résident de la cavité buccale.

2.2.2.2. Adhésion aux tissus de la cavité buccale

Un probiotique à visée thérapeutique doit présenter une capacité d'adhésion aux tissus de la cavité buccale s'il veut s'y développer et interagir avec les bactéries du microbiome buccal. L'adhésion aux cellules épithéliales est fondamentale dans le cadre de la maladie parodontale tandis que l'adhésion aux tissus durs l'est pour un processus carieux. L'adhésion des microbes aux cellules épithéliales est liée à la fois à la capacité d'auto-agrégation et aux propriétés hydrophobes de la surface cellulaire. La capacité d'auto-agrégation des cellules microbiennes permet au probiotique d'atteindre une densité cellulaire élevée contribuant ainsi au mécanisme d'adhésion, tandis que l'hydrophobie de la surface cellulaire permet une interaction améliorée entre les cellules épithéliales et les probiotiques (20).

2.2.2.3. Activité antagoniste contre les bactéries pathogènes

Une fois qu'elle a adhéré aux cellules épithéliales, une souche probiotique doit être capable d'affecter le développement des bactéries pathogènes à l'origine de l'inflammation parodontale dans le but de diminuer la quantité de bactéries pathogènes et rétablir un équilibre du microbiote parodontal.

2.2.2.4. Évaluation du potentiel cariogène

Comme dit précédemment, de nombreuses souches de probiotiques telles que les lactobacilles et les bifidobactéries ont un métabolisme glucidique à l'origine de la production d'acides. Elles présentent donc un potentiel cariogène. Pour être considérées comme probiotique, les bactéries doivent avoir un potentiel moins cariogène en terme de pouvoir acidifiant et de capacité de formation de plaque que celles à l'origine de la pathologie carieuse comme *S. mutans* (17).

2.2.3. Conditions d'administration

La qualité des produits probiotiques repose sur le fabricant concerné. Comme la plupart des produits ne sont pas fabriqués selon les normes pharmaceutiques, les autorités de surveillance ne peuvent surveiller l'adhérence aux normes de qualité. Les doses de probiotiques nécessaires varient considérablement selon la souche et le produit. La posologie quotidienne recommandée pour l'efficacité thérapeutique des probiotiques est comprise entre environ 10^6 et 10^{10} micro-organismes vivants par souche et par dose (115). Bien que beaucoup de produits vendus sans ordonnance contiennent ces doses, certains se sont révélés efficaces à des doses plus basses, alors que d'autres en nécessitent des plus élevées. La durée du traitement repose sur les indications données par le fabricant et varie de quelques semaines à quelques mois.

Les facteurs qui sont spécifiquement importants en ce qui concerne la qualité des produits probiotiques sont, entre autres, le maintien de la viabilité jusqu'à la fin de la durée de conservation. Comme les probiotiques sont des organismes vivants, ils sont susceptibles d'extinction pendant le temps de stockage. Les fabricants responsables intègrent un petit surplus pour qu'à la fin de la durée de conservation du produit, celui-ci ne tombe pas en-dessous du degré de puissance mentionné sur l'étiquetage.

La plupart des probiotiques utilisés actuellement sont produits à partir d'aliments fermentés ou à partir de microbes qui se trouvent dans le microbiote sain de l'homme. Les probiotiques sont présentés sous forme de suppléments nutritionnels dans des pastilles, des chewing-gum, des comprimés ou encore en poudre ou gouttes. On les retrouve aussi naturellement dans certains aliments, notamment dans les yaourts enrichis et les produits laitiers fermentés. La forme galénique d'administration va dépendre de l'usage par voie topique ou systémique. Dans le cadre de la maladie parodontale, la voie topique est privilégiée.

Ainsi peu de normes ont été édictées aujourd'hui pour connaître les conditions d'administration optimales des probiotiques dans le domaine de la parodontologie. Les souches seules ou sous forme de cocktail utilisées varient considérablement (en fonction des études et essais cliniques), il semble donc nécessaire de se fier aux recommandations définies par le fabricant du produit.

2.2.4. Présentation des trois probiotiques de la revue de littérature : *L. reuteri* / *L. rhamnosus* / *B. animalis*

2.2.4.1. Justification de cette sélection

Les trois souches de probiotiques retenues pour cette revue de littérature, à savoir *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* et *Bifidobacterium animalis*, sont à l'heure actuelle les souches les plus communément utilisées dans le domaine de la parodontologie dans des conditions *in vitro* et/ou *in vivo*. Elles répondent à plusieurs critères de sélection attendus pour être ingérées dans des conditions de sécurité. Dans un souci de clarté, de nombreuses autres souches probiotiques font l'objet d'études mais ne seront pas mentionnées dans cette revue.

2.2.4.2. *Lactobacillus reuteri*

L. reuteri est une bactérie anaérobie facultative présente au niveau du tractus gastro-intestinal, uro-génital ainsi que dans le lait maternel chez les mammifères (110 / **fig.11**). Elle est considérée comme l'une des quelques espèces indigènes de lactobacilles chez les humains. De nombreuses capacités bénéfiques ont été reportées pour la santé humaine comme la réduction des infections, l'absorption des nutriments, minéraux et vitamines, la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte ou encore la promotion de l'intégrité de la muqueuse intestinale (46; 48; 79; 119; 127), d'où son intérêt en tant que probiotique potentiel.

Actuellement cette souche probiotique est commercialisée par exemple pour la prévention et le traitement de la gingivite (Periobalance®; Sunstar Suisse).

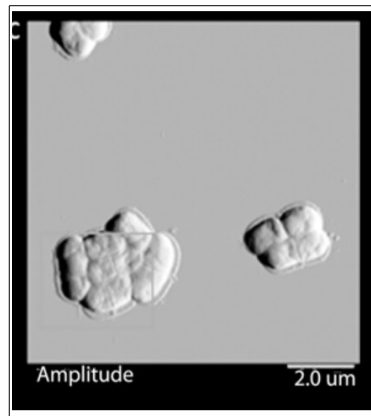


Fig.11 : Image au microscope à force atomique de la souche *L. reuteri* ATCC 23272 (21)

2.2.4.3. *Lactobacillus rhamnosus*

L. rhamnosus est couramment présent dans divers habitats écologiques comme les produits laitiers, la cavité buccale, le tractus intestinal et le vagin (110). Elle est retrouvée dans la salive humaine mais on ne peut déterminer aujourd'hui si sa présence est due à la consommation quotidienne de produits laitiers ou non. Parmi les souches de cette espèce, *L. rhamnosus* GG est l'une des plus étudiée comme probiotique potentiel (***Fig.12***). Elle affiche un large éventail de capacités contribuant à la santé notamment la réduction de la diarrhée et des infections respiratoires (45; 94).

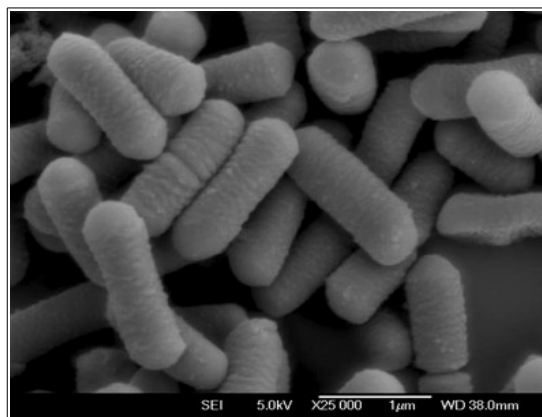


Fig.12 : Image au microscope électronique à balayage de la souche *L. rhamnosus* GG (85)

2.2.4.4. *Bifidobacteria animalis*

Les espèces *B. animalis* et *B. lactis* (**Fig.13**) présentent des caractéristiques phénotypiques similaires. Elles sont considérées depuis 2004 comme des synonymes et regroupées au sein de la même espèce *B. animalis* (71). Cette espèce est subdivisée en deux sous-espèces, *B. animalis subsp.animalis* (*B. animalis*) et *B. animalis subsp.lactis* (*B. lactis*). Deux différences majeures ont été observées entre ces deux sous-espèces :

- *B. lactis* présente une tolérance élevée à l'oxygène comparée à *B. animalis*
- le métabolisme glucidique est similaire pour les deux sous-espèces, à la différence que *B. lactis* n'utilise pas l'amidon (80).

En raison de leur activités métaboliques au niveau intestinal, ces bactéries strictement anaérobies sont depuis peu étudiées dans le domaine de la parodontologie, notamment la souche *B. animalis subsp lactis* BB-12®. Cette souche est considérée comme probiotique potentiel car elle possède des capacités immunomodulatrices et anti-microbiennes intéressantes (108).

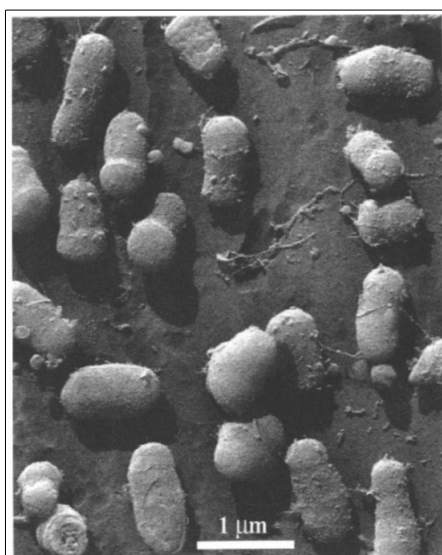


Fig.13 : Image au microscope électronique de souche B. lactis DSM 10140 (108)

Partie 3. Revue de littérature des mécanismes d'action des probiotiques dans des modèles parodontaux *in vitro*

3.1. Contexte

L'équilibre du microbiote buccal est le résultat d'une symbiose entre les bactéries résidentes, l'hôte et l'environnement contribuant ainsi au maintien de la santé bucco-dentaire. Des modifications du micro-environnement sont à l'origine d'une rupture de l'équilibre microbien et une augmentation des bactéries parodontopathogènes. Des interactions complexes entre ce biofilm et la réponse immuno-inflammatoire vont conduire à la destruction des tissus, symptôme de la maladie parodontale (**Fig.14**). Agir sur l'équilibre bactérien dans le but de retrouver une symbiose de l'écosystème buccal pour limiter ces phénomènes inflammatoires destructeurs est donc primordial. Les probiotiques semblent être un candidat sérieux pour répondre à cet objectif.

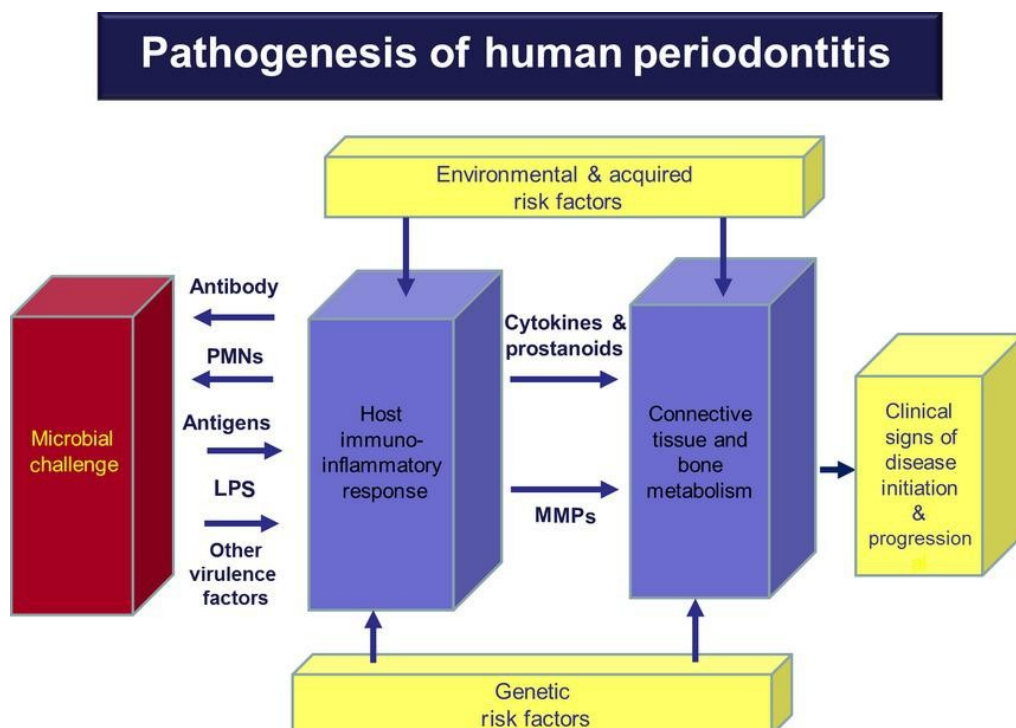


Fig.14 : Pathogénèse de la maladie parodontale (95)

3.2. Méthodologie de recherche

3.2.1. Les critères de sélection des articles

3.2.1.1. Les critères d'inclusion

Les critères d'inclusion sont les caractéristiques permettant d'inclure l'article dans l'étude au départ. Ceux de notre recherche sont :

- probiotiques étudiés : *Lactobacillus reuteri* / *Lactobacillus rhamnosus* / *Bifidobacterium animalis*
- type d'étude : étude expérimentale *in vitro*
- date de parution : parution après le 1er janvier 2009
- critères de recherche associés aux probiotiques : bactéries parodontopathogènes et modulation de la réponse immuno-inflammatoire

3.2.1.2. Les critères de non-inclusion

Les critères de non-inclusion sont les caractéristiques ne permettant pas d'inclure l'article dans l'étude au départ. Ceux de notre recherche sont :

- articles n'intéressant pas les trois probiotiques étudiés
- articles n'intéressant pas le domaine de la parodontologie
- études réalisées dans des conditions *in vivo* / *ex vivo*
- biais importants méthodologiques
- articles n'étant pas rédigés en langue anglaise

3.2.2. Bases de données électroniques

Trois bases de données électroniques ont été utilisées pour la sélection des articles : Pubmed, Web of Science et SpringerLink. Les recherches ont été faites à partir des critères de recherches associés aux probiotiques. A partir de cela, plusieurs jeux de mots-clés ont été retenus :

- « probiotics + oral biofilms »
- « probiotics + periodontal diseases »
- « probiotics + inflammatory response » *
- « probiotics + in vitro + cytokines »*

**Dans le but de mieux cibler les articles correspondant à nos critères d'inclusion, il a été fait le choix de remplacer le terme « probiotics » par l'un des trois probiotiques étudiés, ce qui nous donne par exemple « Lactobacillus. reuteri + inflammatory response ».*

Pour chaque recherche, la période de publication des articles recherchés (2009-2019) a été spécifiée dans les bases de données électroniques.

3.2.3. Flow chart de la revue

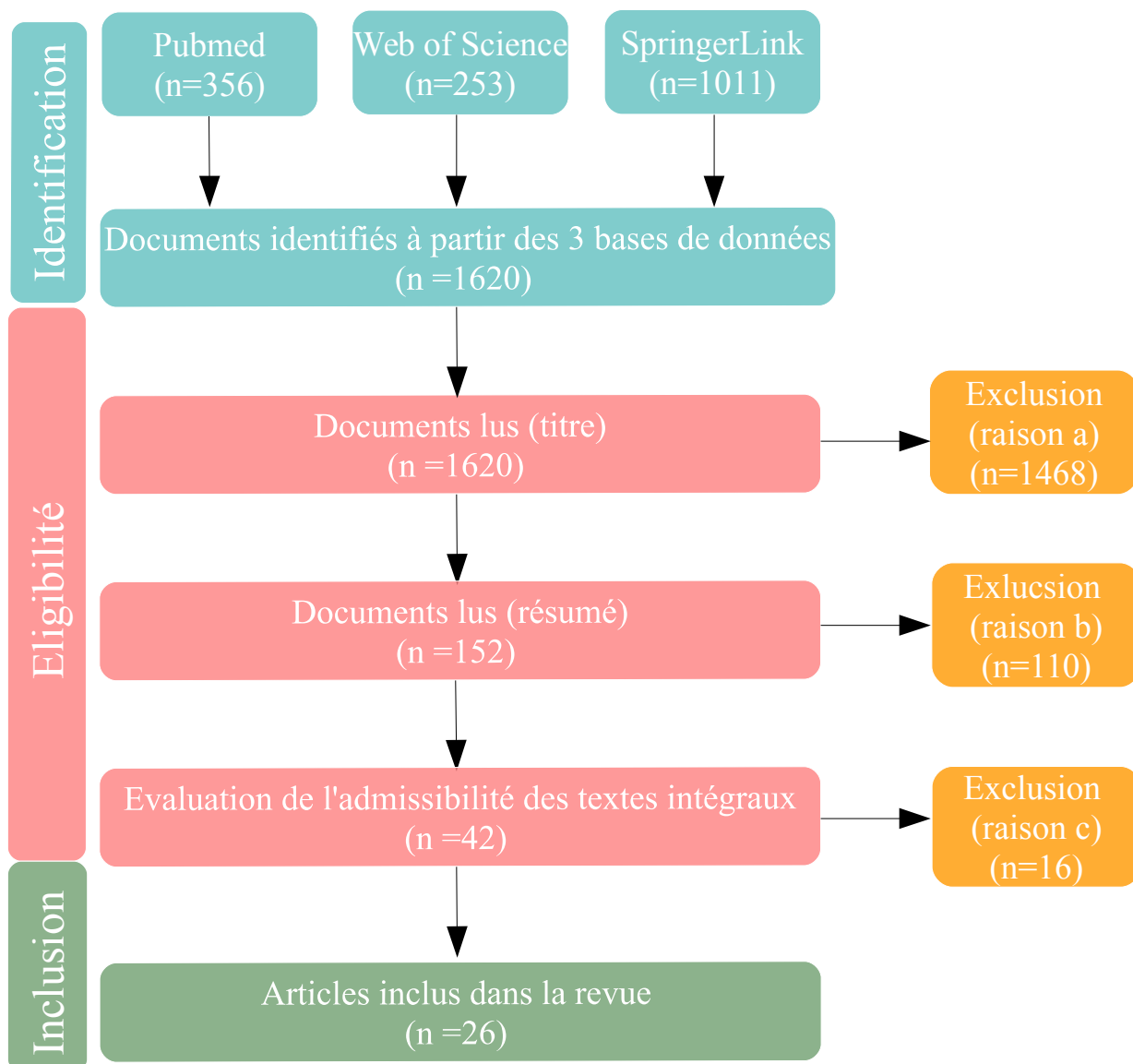


Fig.15 : Diagramme de flux de la revue de littérature

Légende :

exclusion raison a = articles hors-sujets (ne traitant pas des probiotiques ni de modèles parodontaux), doublons

exclusion raison b = articles ne répondant pas aux critères d'inclusion (cf 3.2.1.1. ; page 54)

exclusion raison c = articles présentant des critères de non-inclusion (cf 3.2.1.2. ; page 54)

3.3. Résultats

L'analyse des articles s'est tout d'abord faite à l'aide d'un tableau (annexe 1). Une fois toutes les informations collectées elles ont été retranscrites à l'écrit dans cette partie.

3.3.1. Modulation de la réponse immuno-inflammatoire / expressions géniques impliquées

Les différents articles intéressant cette partie ont pu être classés en fonction des types de contamination cellulaire réalisés. On distingue :

- la mono-infection : la stimulation cellulaire (cellule de l'immunité circulante ou tissulaire / ou cellule résidente des tissus parodontaux) est effectuée par un probiotique seul (Fig. 16)

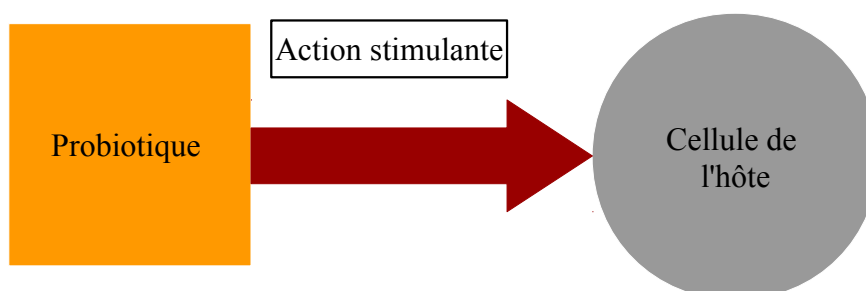


Fig.16 : Modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte par un probiotique

- la co-infection avec une bactérie parodontopathogène : le probiotique est employé en compétition avec une bactérie parodontopathogène lors de la stimulation cellulaire et les résultats sont comparés à la stimulation par le parodontopathogène seul (**Fig.17**)

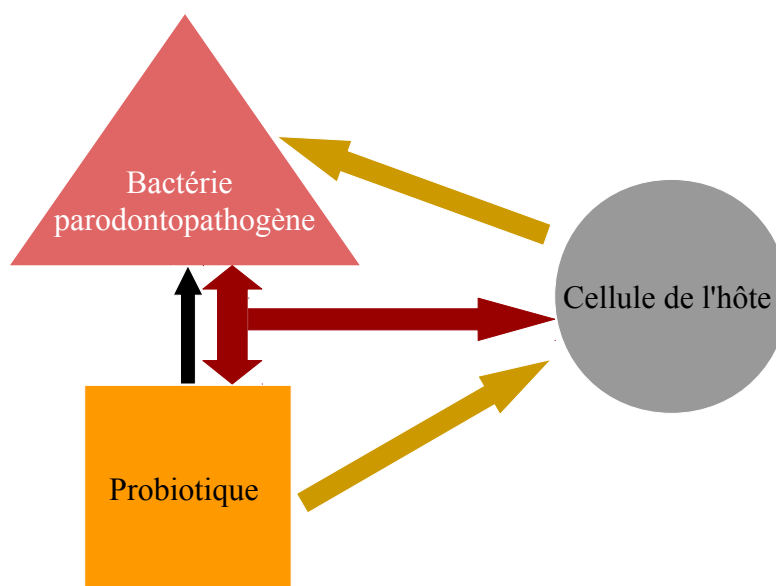





Fig.17 : Modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte en présence d'un probiotique et d'une bactérie parodontopathogène

Légende :

-  compétition pour la stimulation cellulaire
-  inhibition de la bactérie pathogène par la cellule de l'hôte elle-même stimulée par le probiotique
-  inhibition de la bactérie parodontopathogène par le probiotique

- la co-infection par plusieurs souches de probiotiques : un cocktail de probiotiques est utilisé seul ou en compétition avec une ou plusieurs bactéries parodontopathogènes (**Fig.18**)

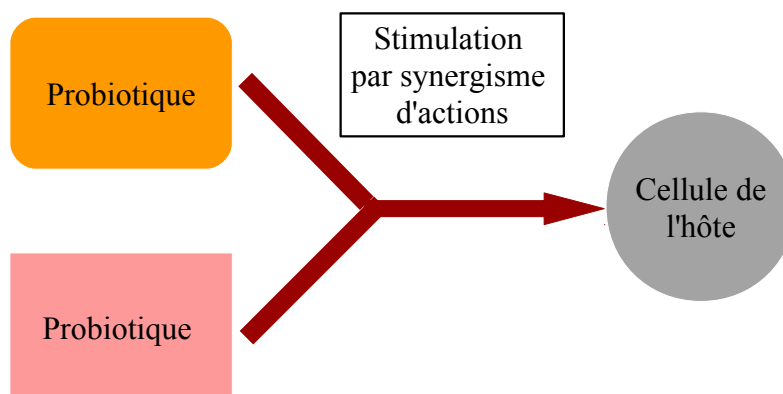


Fig.18 : Modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte en présence d'un cocktail de probiotiques

3.3.1.1. En mono-infection

Parmi les études retenues, nous avons pu recenser 11 articles observant la réponse immuno-inflammatoire induite par des probiotiques (lactobacilles ou bifidobacteries) en mono-infection.

Plusieurs auteurs ont observé que différentes souches de *L. rhamnosus* étaient capables d'induire la production de molécules pro-inflammatoires telles que des cytokines : IL-12p70 (1.29 +/- 0.46 pg/mL vs 94 +/- 9 pg/mL pour la souche IN1L), TNF- α (896 +/- 15 pg/mL vs 10 077 +/- 672 pg/mL pour la souche JL5) par des cellules sanguines périphériques mononuclées humaines (128) ou encore IL-6 (environ 0 vs 950 pg/mL pour les souches GG et KLSD) et IL-8 (environ 1 000 contre 6 200 pg/mL pour les deux souches) par des macrophages en plus des précédentes (106). Ces résultats sont en concordance avec ceux de Dong et collaborateurs (24) et d'Evvard et collaborateurs (25). En effet dans cette dernière étude, par exemple, la souche Lr35 induisait une

régulation positive des gènes responsables de la réponse pro-inflammatoire type Th1 et Th17 des cellules dendritiques à l'origine de la production augmentée des cytokines IL-1 β (environ 2 vs 25pg/mL), TNF- α (environ 20 vs 1 500 pg/mL), IL-12p40 (environ 20 vs 3 500 pg/mL) et IL-23 (environ 10 vs 160 pg/mL) ainsi qu'une régulation positive et négative de gènes chez ces cellules impliqués dans :

- la réponse immune et inflammatoire
- la production d'anticorps
- la signalisation intracellulaire
- la transduction des signaux cellulaire

Cette induction de la réponse pro-inflammatoire Th17 par les cellules sanguines périphériques mononuclées humaines se retrouve dans l'étude de Hidalgo-Cantabrana et al (40), marquée par une production augmentée des cytokines IL-1 β (environ 0 pg/mL vs 350 pg/mL), TNF- α (environ 5 pg/ mL vs 35 pg/mL) et IL-22 (environ 0 pg/mL vs 400 pg/mL) en présence de la souche GG.

De plus, les travaux de Rocha-Ramirez et collaborateurs (106) ont pu mettre en évidence les activations du facteur NF- κ Bpp65 chez plus de 60% des macrophages stimulés par la présence du probiotique (souches GG et KLSD) contre 20% sans probiotique et des récepteurs TLR-2 sur ces macrophages, aboutissant à une réponse inflammatoire via la production de IL-8. Dong et collaborateurs (24) ont aussi observé une augmentation significative de l'activité des cellules Natural Killer (NK) et lymphocytes via une augmentation significative de l'expression des protéines membranaires CD69 et CD25.

Le probiotique *L. reuteri* présente des résultats similaires à ceux de *L. rhamnosus in vitro*. Certains auteurs ont mis en évidence une régulation positive de l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β , IL-8 et IL-12p40 mais pas de IL-6 par des macrophages de lignées cellulaires (100). La souche JTB07 augmentait également la capacité de phagocytose des macrophages 2h après stimulation par du LPS.

En plus de l'induction de la production de cytokines par les PBMC en présence d'une souche de *L. reuteri*, Ashraf et al (8) ont mis en évidence une augmentation de l'expression du marqueur CD25 par les lymphocytes (3,24 % vs 8,84 %).

Des bifidobactéries ont également été étudiées par López et collaborateurs (71). Ainsi, les différentes souches de *B. animalis* (BB-12, IPLA 4549 et 4549dOx) augmentent la production des cytokines IL-6 (production comprise entre 6 000 et 10 000 pour les trois souches vs 0 pg/mL), IL-8 (environ 2 vs 25 pg/mL pour les trois souches) et IL-12 (environ 0 vs 80 pg/mL sauf pour 4549dOx environ 40 pg/mL) par les cellules dendritiques. Elles induisent toute la réponse inflammatoire des cellules dendritiques type TH1.

Concernant la production de cytokines par les cellules sanguines périphériques, elle est augmentée pour IL-10 (environ 20 vs 1 500 pg/mL pour BB-12), TNF- α (environ 0 vs 5 000 pg/mL pour IPLA 4549) et IFN- γ (environ 50 vs 7 000 pg/mL pour 4549 dOx). Toujours dans cette étude, il a été montré que toutes les souches régulent négativement l'expression de CD1a et positivement l'expression des gènes CD40, CD80, CD86 et HLA-DR responsables de la maturation des cellules dendritiques en proportion équivalente au LPS (provenant de *E. coli*).

Pour Mokrozub et collaborateurs (89), les différentes souches de *B. animalis* (VKL et VKB) ont induites une augmentation de la production de IFN- γ (60.2 ± 1.1 vs 72.3 ± 2.4 pg/mL pour la souche VKL / 77.7 ± 4.0 pg/mL pour VKB) par les macrophages.

Ainsi la plupart des études montrent la capacité des lactobacilles et des bifidobactéries étudiées à moduler la réponse immuno-inflammatoire caractérisée par une augmentation de cette réponse et ce quelque soit le type cellulaire et la concentration de probiotiques utilisés.

Cependant trois études ont observé des résultats discordants.

Ainsi dans l'étude de Mendi et collaborateurs (82), la souche de *L. rhamnosus* ATCC9595 utilisée était capable de diminuer celle d'IL-8 (10 vs 2 pg/mL), chimiokine, par les cellules souches mésenchymateuses gingivales issues de volontaires sains avec

ou sans stimulation cellulaire par de l'INF. Seule l'augmentation de la production IL-10 (5 vs 10 pg/mL) et de l'expression des récepteurs TLR-4 sur ces cellules se rapproche des résultats évoqués précédemment.

Dans l'étude de López et collaborateurs (71), les différentes souches de *B. animalis* diminuent la production de IL-2 (environ 30 vs 5 pg/mL pour Bb-12) et IL-4 (2 vs 0 pg/mL pour 4549dOx, IPLA 4549) par les cellules sanguines périphériques.

Finalement dans l'étude d'Albuquerque-Souza et collaborateurs (6), les résultats ont montré une diminution de la production des cytokines pro-inflammatoires TNF- α (environ 50 vs 15 pg/mL) par les cellules épithéliales gingivales humaines OBA-9 en présence du probiotique *L. rhamnosus* Lr32 ainsi qu'une diminution de l'expression de TLR-2 sans modification de celle de TLR-4 par les cellules.

3.3.1.2. En co-infection avec une bactérie parodontopathogène

Parmi les études analysées, trois présentent des résultats concernant une modulation de la réponse immuno-inflammatoire lors d'une co-culture de bactéries impliquées dans la pathogénie des maladies parodontales avec les probiotiques (lactobacilles ou bifidobactéries) dans des modèles *in vitro*. Les auteurs de ces études ont observé des modifications de la sécrétion de molécules pro-inflammatoires ou anti-inflammatoires par rapport à une mono-infection avec un parodontopathogène.

Ainsi Albuquerque-Souza et collaborateurs (6) ont constaté :

- une diminution de la sécrétion de la cytokine TNF- α par *L. rhamnosus* Lr32 (environ 160 vs 45 pg/mL en co-infection avec la souche *P. gingivalis* 33277 et environ 105 vs 50 pg/mL avec la souche W83)
- une augmentation de la sécrétion d'IL-8 (environ 5 vs 10 pg/mL en co-infection avec la souche 33277 et environ 8 vs 35 pg/mL avec la souche W83) par les cellules épithéliales gingivales humaines OBA-9 en présence de Lr32

- une abolition des effets des souches de *P. gingivalis* induite toujours par le même probiotique, se traduisant par une augmentation de l'expression de TLR-2 et la diminution de celle de TLR-4 par les cellules épithéliales gingivales humaines

De manière similaire, une autre souche de *L. rhamnosus* ATCC9595 entraînait une augmentation de la sécrétion de CXCL8/IL-8 (2,5 vs 22,5 pg/ml environ) et une diminution de IL-10 (10 vs 5 pg/ml environ) par des cellules souches mésenchymateuses gingivales par rapport à *P. gingivalis* ATCC33277 en mono-infection (82) contrant alors les effets de la bactérie parodontopathogène. Ces auteurs ont aussi observé une augmentation de l'expression de TLR-2 (responsable de l'augmentation d'IL-8) et une réduction de l'expression des récepteurs TLR-4 par ces cellules en co-infection avec le probiotique/mono-infection par *P. gingivalis*.

Et *L. reuteri* ATCC 55730 diminuerait l'expression de IL-8 mais aussi celle de hBD-2 (peptide anti-microbien) par des cellules épithéliales lors d'une co-infection avec *P. gingivalis* ATCC 33277 (136). La diminution de l'expression de IL-8 et de hBD-2 par les cellules épithéliales gingivales a été aussi retrouvée lors de la co-infection avec *S. mutans* ATCC 25175.

Les différents résultats indiquent une activité inhibitrice des probiotiques par abolition partielle ou totale des effets inflammatoires des bactéries parodontopathogènes sur les cellules immunitaires et/ou résidentes.

3.3.1.3. En co-infection avec un cocktail de probiotiques

Dans cette partie, 2 études ont été retenues.

Pour Sichetti et collaborateurs (115), le cocktail de probiotiques utilisé mêlant *L. rhamnosus* Lr32, *B. lactis* BL04 et *B. longum* BL05 :

- a stimulé la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (environ 0 pg/mL sans probiotique vs 100 pg /mL au MOI 1:1 vs 30 pg/mL au MOI 1:100) et de TNF- α (environ 0 pg/mL sans probiotique vs 300 pg/mL au MOI 1:1 vs 25 pg/mL au MOI 1:100) de manière décroissante en fonction du MOI croissant

(taux d'infection entre bactérie et cellules) par les cellules mononucléés sanguines après 4h d'exposition. Cela est expliqué par les auteurs par une cytotoxicité importante du cocktail de probiotiques à des MOI élevés

- n'a pas eu d'incidence sur la modulation de la production de TNF- α lorsque les cellules ont été pré-traitées 4h par du LPS mais a significativement augmenté la sécrétion d'IL-10 (150 vs 250 pg/ml au MOI 1:1) sans modification lors de l'utilisation du cocktail de probiotiques en préventif (avant stimulation par le LPS)

Dans un modèle d'inflammation simulant la barrière épithéliale intestinale (modèle Transwell / **Fig.19**) mais pouvant être transposé à la barrière épithéliale gingivale, les mêmes auteurs ont observé lors de la mise en contact du cocktail de probiotiques avec la barrière épithéliale :

- une diminution de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-1 β (environ 1000 pg/mL sans probiotique vs 350 pg/mL au MOI 1:1 vs 200 pg/mL au MOI 1:100) et IL-6 (environ 400 pg/mL sans probiotique vs 100 pg/mL au MOI 1:1 et 1:100) par des macrophages issus de la la différenciation des cellules THP-1 (monocytes de lignée cellulaire) après 4h de co-culture dans le compartiment « tissulaire » du modèle
- une absence de sécrétion, par des macrophages issus de la différenciation de cellules mononucléés sanguines périphériques de donneurs sains, des cytokines pro-inflammatoires sans stimulation par le LPS (en pré ou post-traitement) mais une augmentation de celle d'IL-10 et IL-1 β lors du pré-traitement par le LPS sans modulation de la réponse sécrétoire lors du post-traitement après exposition aux probiotiques sauf pour IL-1 β

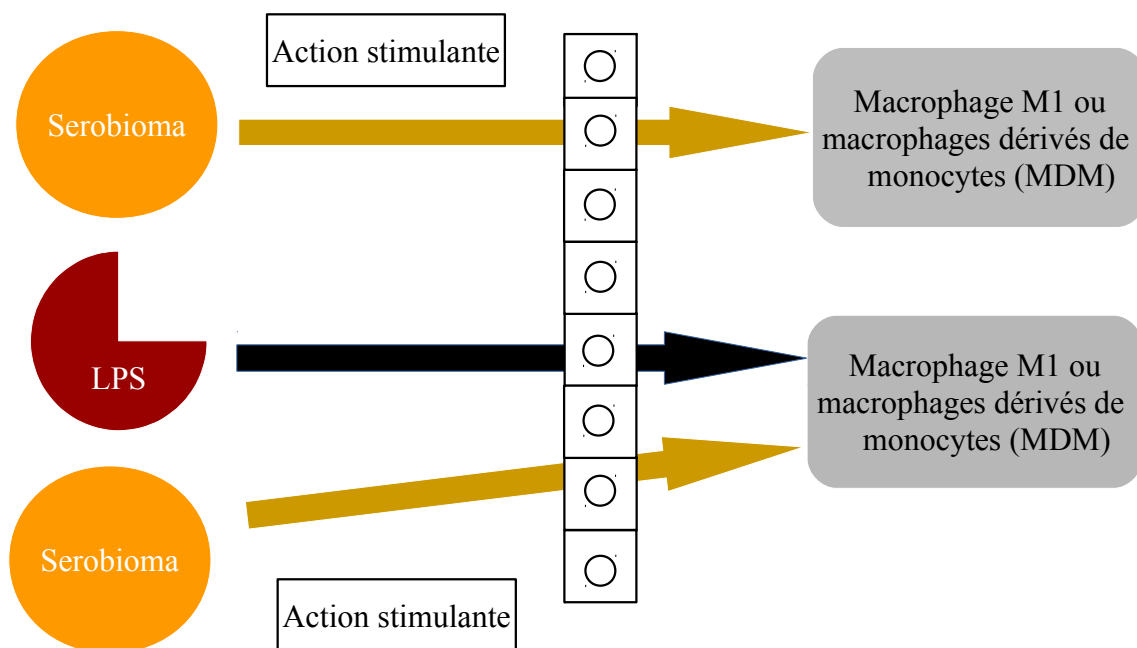




Fig.19 : Représentation du modèle Transwell

Légende :

-  Induction d'un état inflammatoire en pré-traitement ou en post-traitement par le lipopolysaccharide
-  Cellules épithéliales de la barrière intestinale HT-29

Selon Castiblanco et collaborateurs (1 ; 2), le mélange du surnageant cellulaire de deux souches de *L. reuteri* (ATCC PTA 5289 et DSM 17938) entraînerait une stimulation de la production de PGE2 par les fibroblastes gingivaux humains en présence ou en absence d'une stimulation par l'IL-1 β de manière dose-dépendante.

En conclusion, la réponse immuno-inflammatoire d'un cocktail de plusieurs souches de probiotiques est différente en fonction des conditions du milieu de culture. Lorsque le cocktail de probiotiques est en contact direct avec les cellules (***Fig.19***), on retrouve une réponse similaire à celle observée en mono-infection. Lors de la simulation

d'une barrière épithéliale dans un modèle inflammatoire, il est mis en avant la capacité à promouvoir une réponse anti-inflammatoire du cocktail de probiotiques.

3.3.2. Production de substances anti-microbiennes / leurs actions

Parmi les études incluses, six intéressent la production de substances anti-microbiennes par les probiotiques.

Selon Rocha-Ramirez et collaborateurs (106), les deux souches de lactobacilles étudiées (*L. rhamnosus* GG et *L. rhamnosus* KLSD) ont induit une augmentation de la production d'espèces dérivées réactives de l'oxygène par les macrophages ; cette production étant proportionnelle à la concentration en probiotiques. Dans le même esprit, *L. rhamnosus* GD11 a une capacité de production importante d'exopolysaccharides (81). Il a également montré dans cette étude une grande résistance au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Concernant *L. reuteri*, plusieurs effets ont pu être constaté par différents auteurs :

- une augmentation de la production de monoxyde d'azote (NO) par des macrophages de lignée cellulaire en présence de *L. reuteri* JTB07 pendant 24h (environ 2 µM vs 8 µM pour *L. reuteri* vs 13 µM pour son surnageant cellulaire) (100)
- une production en plus grande quantité d'oxyde nitrique (NO) pour la souche 701089 (environ 5 µM pour la souche *L. reuteri* NCIMB 702655 vs 13,5 µM pour *L. reuteri* NCIMB 701089 vs 17,5 µM pour *S. mutans*) que pour les autres souches de *L. reuteri* étudiées mais moins comparé à *S. mutans*. Une activité anti-oxydante supérieure à celle de *S. mutans* a aussi été mise en évidence (107). Cependant les auteurs n'ont pas retrouvé d'activité inhibitrice efficace des bactériocines pour les différentes souches de *L. reuteri*
- une inhibition de composés produits par des bactéries parodontopathogènes (*F. nucleatum* ATCC 10953 et *P. gingivalis* ATCC 33277) comme le

méthylmercaptan via une génération de H₂O₂ et BLC par les souches de *L. reuteri* KCTC 3594, KCTC 3678 et KCTC 3679 (53)

Il a été observé aussi pour les différentes souches de *B. animalis* (VKB et VKL) une augmentation de la production de NO/NO₂ (en quantité plus importante pour VKB) et de l'activité bactéricide oxygène dépendante par les macrophages (89).

Ainsi, les différentes études mettent en évidence la production de substances anti-microbiennes par les souches elles-mêmes ainsi que par les cellules de l'hôte en présence de probiotiques.

3.3.3. Liaison aux modèles de surface dentaire ou cellules *in vitro* / compétition d'adhésion avec les autres bactéries

Deux études se sont intéressées à la liaison des probiotiques seuls à des modèles de surface dentaire. Il a été mis en évidence que *L. rhamnosus* GG a une capacité d'adhésion intéressante aux surfaces constituées d'hydroxyapatites recouvertes d'enduit salivaire (9,89±0,11%) (121). Cette capacité est augmentée lorsque la surface est pré-traitée aux lysozymes. Il en est de même pour les différentes souches de *L. reuteri* au niveau de cellules épithéliales, la souche NCIMB 11951 ayant la meilleure capacité d'adhésion (environ 16% d'adhésion) (109).

Deux autres études ont étudiées la compétition d'adhésion entre un probiotique et une bactérie parodontopathogène. Ainsi Mendi et collaborateurs (82) ont pu constater que *L. rhamnosus* ATCC9595 inhibait l'adhésion de *P. gingivalis* ATCC33277 aux cellules souches gingivales. De plus, il possède une capacité de co-agrégation avec *P. gingivalis* pour former une barrière à la colonisation d'autres bactéries pathogènes. Une diminution de l'adhésion de *P. gingivalis* (ATCC33277 et W83) aux cellules épithéliales gingivales a également été notée pour les différentes souches de *L. rhamnosus* (Lr 32 et HN001), *L. reuteri* (DSM 17938) et *B. animalis* (BB-12) dans l'étude d'Albuquerque-Souza et collaborateurs (6).

Les différentes études nous montre la capacité des différentes souches de probiotiques à adhérer aux modèles de surface dentaire. Ils peuvent également adhérer aux cellules de l'immunité et aux cellules résidentes pour avoir un effet inhibiteur sur les bactéries pathogènes.

3.3.4. Inhibition de la croissance des bactéries parodontopathogènes

Selon Teanpaisan et collaborateurs (124), *L. rhamnosus* SD5 a une capacité d'inhibition de croissance importante envers *P. gingivalis* ATCC 33277 (30,0 +/- 2,8 mm) , *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384 (21,0 +/- 1,4 mm) et *S. mutans* ATCC 25175 (15 +/- 1,4 mm). Cette souche entraîne également une diminution de la viabilité *S. mutans*. En plus de *T. forsythia* ATCC 43037 et *F. nucleatum* ATCC 10953, des résultats similaires ont été observés avec les différentes souches de *L. reuteri* (53). D'autres souches de *L. reuteri* inhibent aussi la souche *S. mutans* NCIMB 702062 (107).

Ces résultats concordent avec les études de Baca-castanon et collaborateurs (9) et van Essche et collaborateurs (131). En effet *L. reuteri* ATCC 55730 inhibe la croissance de *S. mutans* ATCC 700611 (10 ± 1 mm), *T. forsythia* ATCC 43037 (8.5 ± 0.54 mm) et *A. naeslundii* ATCC 51655 (5.8 ± 4.53 mm) de manière décroissante mais moindre par rapport à la chlorhexidine pour le premier. *L. rhamnosus* GG inhibe la croissance de *P. gingivalis* ATCC 33277 (4.07 ± 0.84 mm), *P. intermedia* ATCC 25611 (1.71 ± 0.39 mm), *A. actinomycetemcomitans* ATCC 43718 (0.47 ± 0.24 mm), *F. nucleatum* ATCC 49256 (0.14 ± 0.15 mm) de manière décroissante pour le deuxième. Ces auteurs ont observé que ce même probiotique avait une capacité d' inhibition de croissance supérieure aux bactéries de la flore commensale pour *P. gingivalis* et *P. intermedia* et inférieure aux bactéries de la flore commensale pour *F. nucleatum* et *A. actinomycetemcomitans*.

Selon Jiang et collaborateurs (51), *L. rhamnosus* GG réduirait la croissance de *C. albicans* ATCC 10231 et *S. sanguinis* ATCC 10556 dans des biofilms bi-espèces ainsi que la capacité de *F. nucleatum* ATCC 25586 à former des biofilms bactériens.

Cependant les auteurs n'ont pas observé d'effet de ce probiotique sur *S. mutans* ATCC 27351 avec au contraire une inhibition du probiotique par cette bactérie.

Lors de l'utilisation d'un cocktail de probiotiques associant *B. lactis* (Lm26 et Lm3r) à trois autres espèces de lactobacilles, une inhibition de la croissance de *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 (9,3 +/- 0,6 mm), *P. gingivalis* ATCC 33277 (10,6 +/- 1,2 mm), *P. circumdentaria* NCTC 12469 (11,2 +/- 1,4 mm), *F. nucleatum* ATCC 25586 et *B. fragilis* ATCC 25285 (11,4 +/- 0,9 mm), *P. intermedia* ATCC 25611 (11,5 +/- 1,4mm), *P. nigrescens* ATCC 33563 (13.7 +/- 2.6 mm), *P. anaerobius* ATCC 27337 (17.3 +/-1.7mm) a été observée de manière croissante (141). Il a été aussi montré dans cette étude que *B. lactis* inhibait *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. circumdentaria*, et *P. nigrescens* uniquement lorsqu'il était utilisé en tant que colonisateur primaire.

Dans une autre étude, une autre souche de *B. animalis* (Bb12) a été intégrée dans des modèles de biofilms (50) et présentait une capacité d'inhibition de croissance importante contre *P. gingivalis* ATCC 33277. Cependant, pas d'effet sur la prolifération de *S. mutans* (Ingbritt et MT8148) et *A. naeslundii* ATCC 12104 dans un modèle de biofilm cariogénique/supra-gingival a été reporté.

Dans cette partie, toutes les études convergent vers les mêmes résultats : les différentes souches de probiotiques inhibent la croissance des bactéries parodontopathogènes et des bactéries à l'origine de la formation du biofilm supra-gingival à des concentrations équivalentes de bactéries et de probiotiques.

3.3.5. Modification des conditions de l'environnement

L'étude de Madhwani et collaborateurs (72) s'est intéressée aux effets de l'incorporation de 2 souches de *L. reuteri* ATCC 55730 et ATCC PTA 5289 à un biofilm infra-gingival. Une prolifération significative des bactéries anaérobies GRAM- et des lactobacilles dans la phase planctonique et lors de la première phase de constitution des biofilms (issues de souches) a pu être constatée, le tout accompagné d'une diminution

du pH du milieu. Une augmentation significative de la prolifération des lactobacilles au sein du biofilm mature sans prolifération augmentée des autres bactéries avec un pH inchangé a aussi été observée. Ces lactobacilles persistaient après un dosage au sein de la plaque mature même après 20 jours. Ainsi une modification de la composition de la plaque bactérienne avec une augmentation importante des lactobacilles au profit d'autres bactéries a été mise en évidence.

Pour Saha et collaborateurs (109), les différentes souches de *L. reuteri* étudiées NCIMB 701359, NCIMB 701089, NCIMB 702655, NCIMB 702656 et NCIMB 11951 ne modifiaient également pas le pH du milieu après 24h en co-culture avec *S. mutans* NCIMB 702062. Les études de Baca-Castanon et collaborateurs (9) et de Kang et al (54) ont observé que le probiotique *L. reuteri* avait la possibilité de croître dans un milieu où le pH était autour de 4,35, proche de celui de la croissance de *S. mutans*.

Le probiotique *L. rhamnosus* GG est quant à lui capable de résister et de proliférer dans des biofilms oraux *in vitro* de 4 espèces (*A.a* + *F.n* + *S.s*+*C.a*) ou 5 espèces (*A.a*+*F.n*+*S.s*+*C.a*+*S.m*) après 16,5h de culture. Il croît à un pH compris entre 6,5 et 7 dès 40,5h en mono-culture (51).

En résumé, les différentes souches de lactobacilles étudiées ont la capacité de pouvoir survivre et proliférer en présence de bactéries buccales ou dans un modèle de biofilm sans altération de l'environnement. Ceci se matérialisant notamment par une absence de modification du pH du milieu de culture.

3.3.6. Cytotoxicité des probiotiques / sécurité

Parmi les études retenues, sept d'entre elles ont étudiées le comportement cytotoxique des probiotiques sur les cellules de l'hôte. Ainsi le mélange du surnageant cellulaire de 2 souches de *L. reuteri* (ATCC PTA 5289 et DSM) n'a pas d'incidence sur la viabilité des fibroblastes (1 ; 2). La souche ATCC 55730 supplémentée en glycérol n'affecte pas non plus la viabilité des cellules épithéliales HaCat (environ 95% de viabilité conservée) (136). Face à l'activité cellulaire NK, la viabilité des cellules

sanguines périphériques mononuclées est mieux préservée avec *L. reuteri* NCIMB 11951 et *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 qu'avec les autres souches (46% vs 36% respectivement) (24). Enfin les souches *L. reuteri* DSM 17938 et ATCC PTA 5289 permettent de conserver la vitalité des cellules desmodontales sans différence significative avec le sérum physiologique ou le lait (milieux préconisés) pour la conservation des dents expulsées avant réimplantation (14).

Selon Albuquerque-Souza et collaborateurs (6), les différentes souches de probiotiques n'entraînent pas d'altération de la viabilité des cellules épithéliales gingivales en mono-infection, certaines permettent même une augmentation de la viabilité (BB-12 et Lr 32 par exemple). En co-infection avec une souche de *P. gingivalis* ATCC33277 et W83, la baisse de viabilité cellulaire par les souches de *P. gingivalis* est neutralisée par les souches de probiotiques.

Mendi et ses collaborateurs (81) se sont intéressés à l'incidence de l'utilisation du peroxyde d'hydrogène sur la viabilité des fibroblastes gingivaux en présence ou en absence d'un probiotique. Il en est ressorti que la souche *L. rhamnosus* GD11 protège les fibroblastes de la mort cellulaire (environ 65% de mort cellulaire en l'absence de la souche contre 45% en sa présence). Il a été noté aussi qu'il résiste au peroxyde d'hydrogène.

En définitive, la viabilité des cellules est plus moins bien préservée en fonction des probiotiques utilisés en mono-infection à des concentrations importantes (MOI 1:100 / 1: 1000 / 1:10 000). En co-infection, les souches de probiotiques protègent la viabilité des cellules soit par neutralisation de l'effet de la bactérie parodontopathogène, soit en résistant à l'agent pathogène (peroxyde d'hydrogène).

A contrario, le cocktail de probiotiques *L. rhamnosus*, *B. lactis* et *B. longum* a stimulé la production des cytokines de manière décroissante en fonction du MOI croissant par les cellules mononuclées sanguines après 4h d'exposition. Cela est expliqué par les auteurs par une cytotoxicité importante du cocktail de probiotiques à des MOI élevés (115).

3.3.7. Synthèse des résultats

Tableau 2 : Synthèse des résultats de la revue de littérature

Légende :

- LRE : *L. reuteri*
- LRH : *L. rhamnosus*
- BA : *B. animalis*
- (1) *P. gingivalis*
- (2) *S. mutans*
- (3) sécrétion par les cellules mononucléés sanguines
- (4) sécrétion par les cellules mononucléés sanguines lors du pré-traitement par du LPS
- (5) sécrétion par les macrophages issus de la la différenciation des cellules THP-1 dans le compartiment tissulaire du modèle Transwell
- (6) sécrétion par les macrophages issus de la différenciation de cellules mononucléés sanguines périphériques de donneurs sains lors du pré-traitement par le LPS dans le modèle Transwell
- (7) diminution de la valeur du pH
- (8) pas de modification de la valeur du pH

Note : certaines informations évoquées dans la partie résultats n'ont pas été mentionnées dans ce tableau dans un but de clarté (certaines cytokines, bactéries pathogènes...)

			Probiotique						Cocktail de probiotiques				
			En mono-infection			En co-infection			<i>L.rhamnosus</i> LR32 <i>B.lactis</i> BL04 <i>B.longum</i> BL05	<i>L.reuteri</i> ATCC PTA 5289 et <i>L.reuteri</i> DSM 17938	<i>L.bulgaricus</i> S.thermophilus <i>L.acidophilus</i> B.lactis Im26 et <i>Lm3r</i>		
			LRE	LRH	BA	LRE	LRH	BA					
Modulation de la réponse immuno-inflammatoire / expression géniques impliquées	Molécules et récepteurs impliqués dans la réponse inflammatoire	IL-1β	+	+++						- (5) +(6)			
		IL-6		++	+						- (5)		
		IL-8	+	++ / -	+	- (1) - (2)	+(1) +(1)						
		IL-10	+	++++	++		- (1)				+(3) +(4) +(6)		
		TNF-α	+	+++++ / -	++		- (5)				+(3)		
		TLR-2		+			+(1)						
		TLR-4		+			- (1)						
	Activation et réponse génique	Maturation des cellules dendritiques et activation des lymphocytes	++	++++	+								
	Activité cellulaire NK	+	+										
Production de substances antimicrobiennes / leurs actions	Production d'exopolysaccharides			+									
	Production d'H2O2		+										
	Production de BLC		+										
	Production de NO		+		+								
	Production d'espèces dérivées réactives de l'oxygène			+									
	Résistance au peroxyde d'hydrogène			+									
	Activité anti-oxydante		+										
	Activité bactéricide oxygène dépendante				+								
Liaison aux modèles de surface dentaire/ compétition d'adhésion avec les autres bactéries	Adhésion aux modèles de surface dentaire ou cellules <i>in vitro</i> :	Hydroxyapatites recouvertes d'enduit salivaire		+									
		Cellules épithéliales	+										
	compétition d'adhésion entre un probiotique et une bactérie parodontopathogène	<i>P. gingivalis</i> aux cellules souches gingivales					+						
		<i>P. gingivalis</i> aux cellules épithéliales				+	+	+					
Inhibition de la croissance des bactéries parodontopathogènes par les probiotiques	<i>P. gingivalis</i>					+	++	++				+	
	<i>T. forsythia</i>					+	+						
	<i>F. nucleatum</i>					+	+	+				+	
	<i>P. intermedia</i>						+						
	<i>P. nigrescens</i>							+					
	<i>S. sanguinis</i>						+						
	<i>A. naeslundii</i>		+						-				
Modification des conditions de l'environnement	Prolifération au sein d'un biofilm					+							
	Modification du pH du milieu					+(7) -(8)							
	Valeur du pH de croissance					4,35	6,5-7						
Cytotoxicité des probiotiques/ sécurité :	Préservation de la viabilité des cellules	Probiotique seul	Fibroblastes	+									
			Cellules épithéliales	+	+	+		+(1)	+(1)				
			Cellules desmodontales	+									
	Probiotique avec un agent extérieur	Activité cellulaire NK	+	+									
		Peroxyde d'hydrogène		+							+		

3.4. Discussion

Depuis quelques années, la cavité orale a été proposée comme une cible potentielle à l'utilisation des probiotiques. La santé bucco-dentaire et notamment la santé parodontale est médiée par une population microbienne diverse et variée, ainsi de nombreuses recherches fondamentales ont émergé afin d'étudier les capacités de certaines bactéries commensales considérées comme des « bonnes bactéries » sur les déterminants parodontaux (parodontopathogènes, réaction immuno-inflammatoire, modification de l'environnement, production de substances anti-microbiennes...). Pour prétendre qu'une souche bactérienne est potentiellement une souche « probiotique », plusieurs directives ont été suggérées par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). Elles soulignent la nécessité d'identifier correctement une souche probiotique et l'utilisation de plusieurs tests *in vitro* pour évaluer la fonctionnalité et la sécurité de la souche probiotique. L'état actuel des preuves suggère que les effets probiotiques sont généralement spécifiques à une souche et, par conséquent, l'identification précise des isolats est primordiale.

De nombreuses bactéries commensales ont ainsi été étudiées pour leur potentiel probiotique. On retiendra parmi elles deux genres de bactéries présentant des caractéristiques intéressantes pour le maintien de santé bucco-dentaire : les lactobacilles et les bifidobactéries.

Les lactobacilles représentent environ 1% de la microflore orale humaine (10 ; 11). Elles sont également présentes dans les produits laitiers, de sorte qu'il est difficile aujourd'hui de déterminer si ce genre bactérien réside en tant que colonisateur permanent de la cavité buccale ou si sa présence est due à la consommation quotidienne de produits laitiers. Teanpaisan et collaborateurs (124) ont trouvé 357 souches de lactobacilles parmi les prélèvements salivaires d'enfants thaïlandais ; les plus représentées étaient *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. gasseri* ou encore *L. rhamnosus*, montrant la grande représentativité des lactobacilles au sein de la cavité buccale.

Les lactobacilles ont également un rôle bénéfique dans la balance écologique de cette dernière. Kõll et collaborateurs (61) ont constaté qu'une majorité de souches de lactobacilles avait une capacité d'inhibition de croissance des parodontopathogènes et que la prévalence de ces souches antagonistes envers *P. gingivalis* et *P. intermedia* (*L. rhamnosus*, *L. fermentum*...) était plus élevée chez les individus en bonne santé que chez les individus atteints de parodontite.

L'autre genre bactérien auquel nous nous sommes intéressés pour son potentiel probiotique est la bifidobactérie. Les bifidobactéries représentent eux aussi une part importante des genres bactériens présents dans la cavité buccale. Des études suggèrent même que ces bactéries sont parmi les premières anaérobies de la cavité buccale (107) ; les lactobacilles et les bifidobactéries sont retrouvées dans le lait maternel, suggérant une exposition précoce de la cavité buccale à ces bactéries (3 ; 32). De nombreuses études ont démontré l'intérêt bénéfique des bifidobactéries au niveau intestinal (92 ; 106) mais peu se sont intéressés à leur rôle dans la balance écologique de la cavité orale. Tout de même, Hojo et ses collaborateurs (44) ont comparé la présence de souches de bifidobactéries dans la salive de patients sains et atteints de maladies parodontales : le nombre de bactéries et de souches présentes chez un sujet maintenu en bonne santé était plus élevé que chez un sujet porteur d'une parodontite, suggérant l'effet bénéfique des bifidobactéries dans la balance écologique de la cavité buccale.

Plusieurs mécanismes d'actions possibles des probiotiques ont été avancés par un certain nombre d'auteurs et retrouvés dans cette revue de littérature : l'adhésion aux surfaces dentaires et parodontales, la compétition d'adhésion avec les parodontopathogènes, la production de substances anti-microbiennes dirigées contre ces agents pathogènes, la modification des conditions de l'environnement et la modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte en faveur de leur croissance et pour l'inhibition des pathogènes oraux (11;41). D'autres caractéristiques sont souhaitables, telles que l'inhibition de la croissance des bactéries parodontopathogènes et l'absence de cytotoxicité du produit envers les cellules de l'hôte (***Fig.20***).

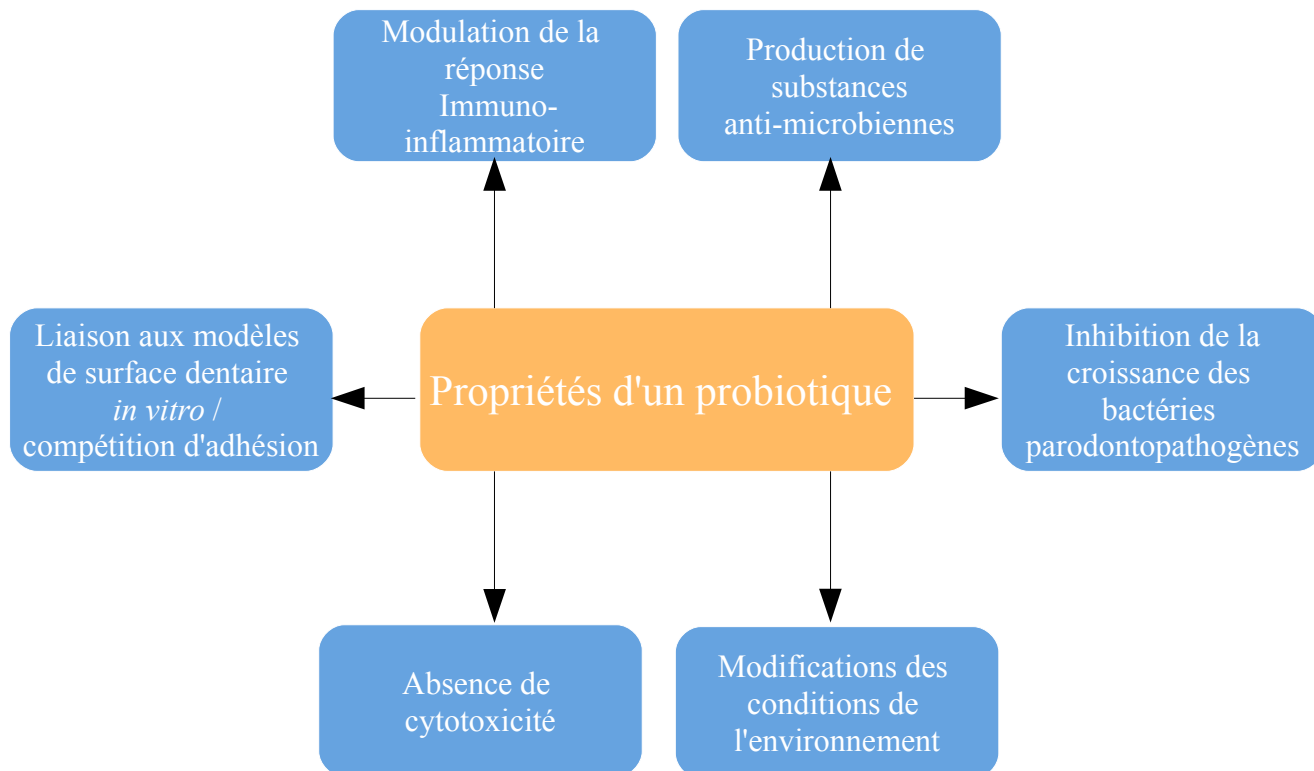


Fig.20: Propriétés attendues pour l'usage d'un probiotique en parodontologie (adapté du schéma de Grenier et al, 2007 (11))

3.4.1. Modulation de la réponse immuno-inflammatoire

Dans notre travail, nous avons pu observer que les différentes souches de probiotiques utilisées possédaient une capacité de modulation de la réponse immuno-inflammatoire et de l'expression génique. Afin de mieux comprendre les effets de ces probiotiques, nous avons analysé les résultats en fonction du type de contamination cellulaire effectué par les auteurs.

3.4.1.1. En mono-infection

Ainsi en mono-infection, la majeure partie des souches de probiotiques étaient capables d'induire une augmentation de la réponse immuno-inflammatoire des cellules de l'hôte. Cette réponse pro-inflammatoire et/ou anti-inflammatoire est en grande partie représentée par la production de cytokines. Ces molécules de signalisation cellulaire interviennent dans la coordination des réponses inflammatoires ou encore la différenciation et la prolifération des cellules de l'immunité (100)

Les probiotiques ont montré des actions à différents niveaux de la cascade d'activation de la réponse immunitaire des cellules de l'hôte. Certains auteurs ont en effet constaté une action sur l'expression des récepteurs TLRs par les cellules de l'immunité innée. L'activation de ces récepteurs via la reconnaissance de divers PAMPs conduit à l'engagement d'un grand nombre de voies de signalisation intracellulaires qui dictent la réponse inflammatoire de l'hôte (64). Rocha-Ramirez et collaborateurs (106) ont pu mettre en évidence une activation des récepteurs TLR-2 par les macrophages en présence de *L. rhamnosus* GG et *L. rhamnosus* KLS, aboutissant à la production de la chimiokine IL-8. Ce résultat montre l'implication des probiotiques dans l'activation des récepteurs TLR conduisant ainsi à la production de molécules inflammatoires telles que les cytokines. Cependant, Albuquerque et collaborateurs (6) ont observé une diminution de l'expression du récepteur TLR-2 sans modification de celle de TLR-4 par les cellules épithéliales gingivales en présence de *L. rhamnosus* Lr32. Ces différences peuvent être attribuées à la proportion de composants immuno-actifs spécifiques à chaque espèce et chaque souche de probiotique. En effet, les propriétés immunomodulatrices spécifiques à chaque souche sont déterminées par des différences structurelles minimes des molécules effectrices exprimées (tels que l'acide lipotéichoïque, peptidoglycane, glycoprotéines...) (70).

La spécificité de la liaison entre une souche probiotique et un récepteur d'une cellule de l'immunité va aussi contribuer à une réponse immunitaire spécifique. Plusieurs études se sont intéressées à la maturation des cellules dendritiques en présence d'une souche probiotique (24 ; 25 ; 71). La différenciation des cellules dendritiques va déterminer la polarisation des cellules T effectrices en sous-population Th1, Th2 et

Th17 (25). Les différentes souches de *B. animalis* (BB-12, IPLA 4549 et 4549dOx) augmentent la production des cytokines IL-6 , IL-8 et IL-12 par les cellules dendritiques conduisant à leur différenciation en cellules Th1 (71).

Les probiotiques agissent également à d'autres niveaux de la cascade d'activation. Ainsi Evrard et collaborateurs (25) ont mis en évidence une régulation positive de 58 gènes et négative de 139 gènes des cellules dendritiques par *L. rhamnosus* Lcr 35 à fortes doses de probiotiques. Ces gènes seraient impliqués dans la réponse immune et inflammatoire, la production d'anticorps, la signalisation intracellulaire et la transduction des signaux cellulaires. De plus une activation en proportion plus importante du facteur NF- κ Bpp65 par les macrophages en présence des souches *L. rhamnosus* GG et KLSD a été reportée (106).

Ainsi en mono-infection, les différentes souches de probiotiques ont donc la capacité de moduler la réponse immuno-inflammatoire en agissant directement sur les cellules de l'immunité innée notamment par l'intermédiaire des récepteurs de reconnaissance des motifs moléculaires.

3.4.1.2. En co-infection avec une bactérie parodontopathogène

Il a été observé dans certaines études une régulation positive ou négative de la protéine CXCL8 lorsque des cellules sont en contact avec *P. gingivalis* (130). La régulation négative de CXCL8-mRNA ou la dégradation de CXCL8 pourrait être due à certaines des protéases nommées gingipaines produites par *P. gingivalis*. Lorsque les cellules souches mésenchymateuses sont pré-traitées par le probiotique *L. rhamnosus* ATCC9595 avant la stimulation par *P. gingivalis*, il y a une augmentation de l'expression de CXCL8 ce qui montre que *L. rhamnosus* dégrade les protéases responsables de la diminution de CXCL8 ou alors ce serait la co-agrégation *P. gingivalis* / *L. rhamnosus* qui empêcherait l'action des structures présentes sur la paroi cellulaire des bactéries aboutissant à cette action (82). *P. gingivalis* est également responsable d'une diminution de l'expression de TLR-2 et une augmentation de celle de TLR-4 (6). En présence du probiotique *L. rhamnosus* Lr 32, les effets de *P. gingivalis* sont abolis montrant ainsi une

compétition entre les deux bactéries et une inhibition des effets inflammatoires de *P. gingivalis* par le probiotique. Des résultats similaires ont été observés en présence de *L. reuteri* ATCC 55730 (136). L'augmentation de l'expression de la cytokine IL-8 et d'un peptide antimicrobien, hBD-2, par les cellules épithéliales gingivales causée par les bactéries *P. gingivalis* ou *S. mutans* était totalement inhibée en présence de la souche probiotique.

En co-infection avec des bactéries parodontopathogènes, les différentes souches de probiotiques étudiées modifient donc la réponse inflammatoire des cellules de l'immunité induite par ces pathogènes. Cette réponse se manifeste par une réduction des effets pro-inflammatoires de la bactérie parodontopathogène sur les cellules de l'hôte.

3.4.1.3. En co-infection avec un cocktail de probiotiques

Aujourd'hui, un grand nombre de souches probiotiques sont disponibles dans différentes formulations commerciales pour la consommation humaine comme compléments alimentaires. Habituellement, ces produits sont des mélanges probiotiques multi-souches, car chaque souche peut avoir un effet additif ou synergique (115). Il a été retrouvé le caractère pro-inflammatoire des souches de probiotiques en absence d'un agent pathogène comme, par exemple, avec le cocktail *L. reuteri* ATCC PTA 5289 et *L. reuteri* DSM 17938. Ce dernier entraînait en effet une stimulation de la production de PGE2 au contact des fibroblastes gingivaux humains (1 ; 2). Cependant Sichert et collaborateurs (115) ont observé que la majeure partie des études réalisées ne représentaient pas les conditions réelles d'interactions probiotique/cellule. En effet, dans la plupart des cas l'interaction est simulée par un contact direct entre les cellules de l'hôte et le probiotique alors qu'elle devrait se faire au travers d'une membrane. Ces auteurs ont donc tenté de simuler dans des conditions *in vitro* l'interaction entre probiotique(s) et cellules de l'immunité à travers la barrière épithéliale intestinale, comme lors d'une absorption d'un complément alimentaire contenant le cocktail de probiotiques. Aucune activité inflammatoire du cocktail Serobioma (*L. rhamnosus* Lr32,

B. lactis BL04 et *B. longum* BL05) n'a été reportée en absence de pré-traitement des macrophages par des LPS, alors qu'une augmentation de la sécrétion de IL-10 et IL-1 β est observée s'il y a pré-traitement par des LPS. Lorsqu'un pré-traitement était effectué, l'induction d'un état inflammatoire général d'abord de la barrière épithéliale puis des macrophages était constatée par les auteurs. Les macrophages produisaient alors des substances anti-inflammatoires comme la cytokine IL-10 et dans une moindre mesure, une diminution de la sécrétion de molécules pro-inflammatoires sauf pour IL-1 β .

Ainsi l'utilisation d'un cocktail de probiotiques permet de moduler la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte. L'association de plusieurs souches compatibles permettrait d'avoir un effet synergique ou additif envers les cellules immunitaires vers une réponse anti-inflammatoire dans les cas où ces cellules ont déjà été exposées à des agents pathogènes.

3.4.2. Production de substances anti-microbiennes / leurs actions

Les résultats de notre travail montrent le potentiel des probiotiques à agir par l'intermédiaire de substances anti-microbiennes. Les bactéries lactiques acides ont tout d'abord la capacité de produire des substances elles-mêmes. Mendi et collaborateurs (81) ont reporté une production importante d'exopolysaccharides par *L. rhamnosus* GD11. Les exopolysaccharides (EPS) constituent une classe de biomolécules libérées par les probiotiques pour se protéger dans des conditions de famine, des conditions extrêmes de pH et de température (55). Compte tenu des conditions stressantes créés par la cavité buccale, les EPS confèrent un avantage à la survie des probiotiques dans ce milieu.

Les probiotiques peuvent produire de l'acide lactique, du peroxyde d'hydrogène et des bactériocines ou des substances de type bactériocine qui peuvent agir seules ou ensemble pour inhiber les pathogènes (65 ; 88). Kang et collaborateurs (53) ont mis en évidence une inhibition de composés comme le méthylmercaptan produits par *F. nucleatum* et *P. gingivalis*, via une génération de H₂O₂ et BLC par les souches *L. reuteri* KCTC 3594, KCTC 3678 et KCTC 3679. Il a été avancé par plusieurs auteurs que le méthylmercaptan est très toxique et possède un rôle significatif dans la pathogénie de la maladie parodontale (52 ; 91). Le méthaneithiol (méthylmercaptan ; CH₃SH) a en effet la capacité de réduire les potentiels redox de l'environnement sous-gingival permettant l'invasion par les biofilms via une augmentation de la perméabilité des membranes et des altérations des protéines de la matrice extracellulaire des tissus gingivaux. Ainsi l'inhibition de cette molécule lors de la présence de probiotiques entraînerait une capacité d'invasion des bactéries parodontopathogènes moindre de par une diminution de l'action d'un de leurs facteurs de virulence.

Les probiotiques ont également la capacité d'induire une augmentation de la production de substances anti-microbiennes par les cellules de l'immunité. Ainsi, la quantité d'espèces dérivées réactives de l'oxygène produite par les macrophages a été augmentée en présence *L. rhamnosus* GG et *L. rhamnosus* KLSL (106). Les espèces dérivées réactives à l'oxygène sont extrêmement toxiques et ont des effets délétères sur une variété d'agents pathogènes, tels que les bactéries, champignons et parasites et bactéries (26). Quintero et collaborateurs (100) ont mis en évidence une augmentation de la production de monoxyde d'azote (NO) par des macrophages de lignée cellulaire en présence de *L. reuteri* JTB07 ; le monoxyde d'azote étant connu à la fois pour ses propriétés antibactériennes (31) et ses propriétés anti-inflammatoires (67).

Les substances anti-microbiennes présentent un intérêt majeur pour répondre aux processus pathologiques. Les probiotiques peuvent agir de deux manières : par production de substances anti-microbiennes ou par induction de la production de ces substances par les cellules de l'immunité. Ces composés anti-microbiens peuvent agir soit par action directe sur les bactéries parodontopathogènes ou leurs facteurs de virulence soit en conférant un avantage aux probiotiques ; le but étant la compétitivité au sein d'une même niche écologique.

3.4.3. Liaison aux modèles de surface dentaire ou cellules *in vitro* / compétition d'adhésion avec les autres bactéries

L'adhérence des bactéries aux surfaces de l'hôte est considérée comme d'une importance majeure à l'établissement permanent, voire transitoire, d'espèces probiotiques dans toute niche environnementale. Stamatova et collaborateurs (121) ont observé une capacité d'adhésion intéressante du probiotique *L. rhamnosus* GG aux surfaces constituées d'hydroxyapatites recouvertes d'enduit salivaire. La capacité d'adhésion des probiotiques aux surfaces et/ou aux cellules de l'immunité, va leur permettre de prétendre à une compétition avec les bactéries parodontopathogènes aux mêmes récepteurs. Albuquerque et collaborateurs (6), ont en effet pu constater une diminution de l'adhésion de *P. gingivalis* aux cellules épithéliales gingivales en présence des différentes souches de probiotiques (*L. rhamnosus* Lr 32 et HN001, *L. reuteri* DSM 17938 et *B. animalis* BB-12). Mendi et collaborateurs (82) ont aussi constaté celle de *P. gingivalis* par *L. rhamnosus* ATCC9595 aux cellules souches gingivales. Cette diminution indique une compétition d'adhésion aux mêmes récepteurs des cellules gingivales ou une diminution de l'aptitude du pathogène par le probiotique. Cette compétition d'adhésion pourrait donc se faire via une compétition entre adhésines bactériennes (protéines de surface) des probiotiques (lactobacilles/bifidobactéries) et celles des bactéries parodontopathogènes comme observée au niveau des récepteurs cellulaires intestinaux (138). De plus, le probiotique *L. rhamnosus* ATCC9595 possède une capacité de co-agrégation avec *P. gingivalis* suggérant que cette co-agrégation pourrait aussi empêcher la liaison du pathogène aux récepteurs des cellules souches gingivales (82).

Les probiotiques ont la capacité d'adhérer aux surfaces buccales et aux cellules de l'immunité dans le but de s'y développer et de survivre. Cette compétence des probiotiques va leur permettre également d'altérer l'adhésion des bactéries parodontopathogènes aux cellules de l'hôte via divers mécanismes tels que la compétition pour un même récepteur ou par action directe du probiotique sur le pathogène. Le pouvoir pathogène de la bactérie s'en trouve donc diminué.

3.4.4. Modifications des conditions de l'environnement

Les différentes souches de probiotiques étudiées ont la capacité de pouvoir survivre et proliférer en présence de bactéries buccales ou dans un modèle de biofilm sans altération de l'environnement. Madhwani et collaborateurs (72) ont observé une modification de la composition de la plaque bactérienne avec une augmentation importante des lactobacilles au profit d'autres bactéries suite à l'ajout de *L. reuteri* ATCC 55730 et *L. reuteri* ATCC PTA 5289. Ces lactobacilles persistaient après un dosage au sein de la plaque mature même après 20 jours, suggérant l'intégration possible de souches de probiotiques dans un biofilm. *L. reuteri* produirait plusieurs substances antibactériennes comme la reutérine. Il a été prétendu que l'effet inhibiteur de la reutérine s'opposait à des bactéries buccales pathogènes (15). En conséquence, *L. reuteri* aurait inhibé les effets potentiellement nocifs des bactéries présentes dans le biofilm et aurait donc pu proliférer à leur dépens. Dans cette étude les auteurs ont également observé une diminution du pH du milieu durant la phase planctonique et une absence de modification de ce dernier en phase mature. Les bactéries lactiques acides telles que les lactobacilles peuvent croître à un pH acide, il a notamment été observé pour *L. reuteri* une croissance à un pH proche de 4,35 (9 ; 53). Les probiotiques, en particulier les souches de lactobacilles, produisent de l'acide acétique, lactique et propionique qui abaisse le pH local, ce qui inhibe la croissance d'une large gamme de bactéries gram-négatives (132) incluant les bactéries parodontopathogènes comme *P. gingivalis*. En effet, la croissance de la souche *P. gingivalis* W83 est fortement ralentie à un pH de 5 alors qu'elle n'est pas affectée à un pH neutre ou alcalin (137). Donc une diminution du pH serait favorable à la croissance des lactobacilles mais pas celle de la bactérie parodontopathogène. Il est à noter qu'un pH acide rendrait favorable la croissance des bactéries aciduriques comme *S. mutans* et donc potentiellement le développement de pathologies carieuses.

Le probiotique *L. rhamnosus* GG peut lui aussi survivre et proliférer dans des biofilms multi-espèces (50). Les différentes espèces bactériennes au sein d'un biofilm ont des interactions synergiques et antagonistes (75). La prolifération de *L. rhamnosus* témoigne d'interactions synergiques avec les autres membres bactériens présents dans le biofilm. Ce probiotique est également à l'origine d'effets antagonistes comme la

diminution de l'adhésion de *S. mutans*, l'inhibition de croissance de *S. sanguinis* et *F. nucleatum*. Van Essche et collaborateurs (131) ont observé une inhibition de la croissance de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* et *F. nucleatum* par *L. rhamnosus* GG. Ils suggèrent que l'inhibition de la croissance causée par les bactéries lactiques acides envers les agents pathogènes serait principalement causée par la production d'acides organiques puisque la neutralisation du pH éliminait complètement l'activité antagoniste des surnageants cellulaires.

Les probiotiques ont démontré des capacités de croissance et de persistance dans des biofilms *in vitro*. Ils seraient responsables alors d'effets synergiques avec certaines bactéries ou antagonistes envers d'autres comme les bactéries parodontopathogènes. Ces résultats pourraient être expliqués entre autres par des modifications des conditions de leur milieu de culture comme des modifications de pH ou des résistances à différents milieux (acide/alcalin), le tout induisant des pressions écologiques en faveur de leur croissance.

3.4.5. Inhibition de la croissance des bactéries parodontopathogènes

De nombreuses études se sont intéressées au potentiel d'inhibition de croissance des bactéries parodontopathogènes par les lactobacilles et les bifidobactéries. Ainsi Teanpaisan et collaborateurs ont observé une inhibition de la croissance de *P. gingivalis*, de *A. actinomycetemcomitans* et de *S. mutans* par la souche *L. rhamnosus* SD5. Cette capacité d'inhibition de croissance de *P. gingivalis* est retrouvée lors de l'incorporation de *B. animalis* BB-12 à un modèle de biofilm sous-gingival (50). Concernant *L. reuteri*, Kang et collaborateurs (53) ont noté une capacité d'inhibition du probiotique contre *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *F. nucleatum* et *S. mutans*. Les capacités inhibitrices des lactobacilles et des bifidobactéries orales pourraient être liées à de nombreux mécanismes dont certains évoqués précédemment :

- la compétition pour les nutriments semble être un mécanisme probant. Saha et collaborateurs (109) ont démontré l'existence d'une compétition nutritive pour le sucrose entre *S. mutans* et plusieurs souches de *L. reuteri*. La réduction de la disponibilité du sucrose, une source de carbohydrate pour *S. mutans*, par les probiotiques contribue à l'inhibition de *S. mutans*. L'inhibition de la croissance de *P. gingivalis* par les bifidobactéries orales peut être liée à une compétition des deux bactéries pour la vitamine K, qu'ils utilisent pour leur croissance (42)
- la compétition et l'exclusion pour les récepteurs d'adhésion : la co-aggrégation entre *L. fermentum* NCIMB 5221 et *S. mutans* limite la croissance du pathogène, son adhésion aux cellules épithéliales gingivales et facilite son élimination rapide (109)
- la production de substances anti-microbiennes : ces substances peuvent agir directement sur les bactéries (53), moduler la réponse inflammatoire de l'hôte (109) ou modifier le micro-environnement (132). L'inhibition des bactéries peut aussi se faire via la production de substances anti-microbiennes par les cellules de l'immunité elles-mêmes induites par des souches de probiotiques (100)

Lors de l'utilisation d'un cocktail de probiotiques associant *B. lactis* (Im26 et Lm3r) à trois autres espèces de lactobacilles, des inhibitions de la croissance de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. circumdentaria*, *F. nucleatum* et *B. fragilis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. anaerobius* ont été observées (141). Les mécanismes d'action de ce cocktail semblent être identiques à ceux retrouvés pour les probiotiques utilisés en mono-infection mais avec une activité anti-microbienne importante possiblement due à la synergie d'action entre les bactéries présentes dans le yaourt.

La compétition et l'exclusion des récepteurs d'adhésion, la compétition pour les nutriments et la production de substances antimicrobiennes représentent des mécanismes par lesquels les probiotiques vont inhiber la croissance des bactéries parodontopathogènes.

3.4.6. Cytotoxicité / sécurité des probiotiques

Pour qu'un probiotique puisse être administré en toute sécurité, il doit présenter une absence de toxicité et de danger pour le patient (41). L'impact des différentes souches de probiotiques sur la viabilité des cellules de l'hôte a été évalué. Ainsi, il a été observé que le mélange du surnageant cellulaire de 2 souches de *L. reuteri* (ATCC PTA 5289 et DSM) n'a pas d'incidence sur la viabilité des fibroblastes même à des concentrations élevées (1 ; 2).

Il a également été reporté la capacité des probiotiques à préserver la viabilité des cellules de l'hôte en présence d'un agent pathogène. La diminution de la viabilité des cellules épithéliales par les souches *P. gingivalis* ATCC33277 et *P.gingivalis* W83 est neutralisée par *L.rhamnosus* Lr 32 et *B.animalis* BB-12, témoignant d'une activité antagoniste du probiotique contre le pathogène (6).

Sichetti et collaborateurs (115) ont observé que le cocktail de probiotiques *L. rhamnosus*, *B. lactis* et *B. longum* pouvait stimuler la production des cytokines par les cellules mononucléées sanguines de manière décroissante en fonction d'un MOI croissant après 4h d'exposition, pouvant être expliqué par une cytotoxicité à forte concentration du cocktail (115). Un phénomène de dose-dépendance a été mis en évidence par Castiblanco et collaborateurs (1 ; 2) quant à la nécessité d'utiliser une certaine quantité de probiotique pour obtenir un effet *in vitro* souhaité. Cependant des études sur les concentrations minimales et maximales seront donc à l'avenir nécessaires pour une utilisation sécurisée des probiotiques.

En conclusion, les lactobacilles et les bifidobactéries ont la capacité *in vitro* de préserver la viabilité lorsqu'ils sont en contact direct avec les cellules de l'hôte. Les probiotiques vont également limiter la baisse de viabilité des cellules induite par les bactéries pathogènes en agissant sur ces agents via des mécanismes décrits précédemment. Il semble important de préciser qu'il est nécessaire d'avoir une certaine quantité de probiotiques pour obtenir l'effet souhaité. A contrario, une quantité trop importante pourrait devenir délétère pour l'hôte.

3.4.7. Synthèse des mécanismes d'action

De nombreux mécanismes d'actions des probiotiques ont donc été mis en évidence. On peut les répertorier en trois grands groupes (66 ; 125) :

- modulation de la réponse immuno-inflammatoire de l'hôte : par action directe sur les cellules de l'immunité ou par diminution des effets pro-inflammatoires des bactéries pathogènes
- effet direct sur les bactéries pathogènes ou leurs facteurs de virulence : par production de substances anti-microbiennes ou par agrégation probiotique-bactérie
- effet indirect sur les bactéries pathogènes :
 - ➔ exclusion des bactéries par compétition pour les nutriments essentiels, les produits chimiques ou les récepteurs d'adhésion cellulaires
 - ➔ modification du micro-environnement par le biais de substances anti-microbiennes
 - ➔ modification du comportement des cellules de l'immunité

3.5. Limites de la revue de littérature

Dans cette revue de littérature, l'ensemble des expérimentations des articles sélectionnés ont été réalisées dans des conditions *in vitro*. Cependant du fait de disparités importantes du point de vue méthodologique, des difficultés ont été rencontrées pour la comparaison et l'interprétation des résultats. Elles concernaient :

- les conditions de culture :
 - ➔ quantité de bactéries, de probiotiques et de cellules résidentes / immunitaires utilisée
 - ➔ souches bactériennes, de probiotiques et types cellulaires employés
 - ➔ temps d'incubation
 - ➔ composition du milieu de culture (gel d'infusion coeur-cerveau, disques d'hydroxyapatites...)
 - ➔ type de contamination cellulaire : mono-infection ou co-infection
 - ➔ modèles d'études : interaction entre bactéries et/ou probiotiques et macrophages au travers d'une barrière épithéliale (115), contact direct entre bactéries et/ou probiotiques et cellules de l'hôte (6 ; 82...), modèle de biofilm sous-gingival (50 ; 72)

- expression des résultats :
 - ➔ déterminants parodontaux (expression de cytokines, production de substances anti-microbiennes, inhibition des bactéries parodontopathogènes...)
 - ➔ techniques d'analyse microbiologique
 - ➔ l'unité de mesure pour un même déterminant parodontal
 - ➔ résultats discordants dans la partie modulation de la réponse immuno-inflammatoire en mono-infection pour trois études (6 ; 71 ; 82) : ces résultats pourraient être imputés à la spécificité d'action de la souche probiotique utilisée

Ces disparités sont parfaitement visibles dans le tableau de synthèse des résultats (cf **Tableau 2** ; page 73).

Des biais méthodologiques ont également été observés rendant ainsi les données de ces articles inexploitable pour la comparaison des résultats aux autres études :

- reproductibilité de l'étude : pas d'informations sur la reproduction de l'expérience normalement réalisée en triplicata (24 ; 51 ; 81 ; 89)
- pas de précision concernant la quantité de bactéries et de probiotiques (9 ; 131) ou de cellules desmodontales utilisée (14)

Conclusion

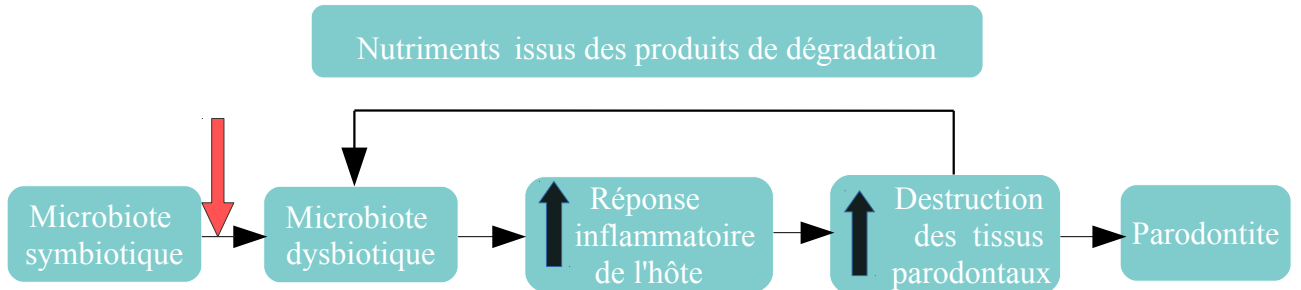
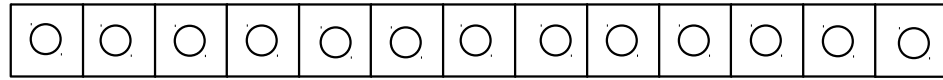
Les probiotiques se sont montrés efficaces en santé générale, notamment au niveau intestinal. Dans cette revue de littérature, sont mis en évidence les mécanismes d'action selon lesquels les probiotiques *L. reuteri*, *L. rhamnosus* et *B. animalis* agissent dans des modèles *in vitro* dans le but de promouvoir la santé parodontale. Trois grandes catégories d'actions ont été répertoriées, à savoir la modulation de la réponse immuno-inflammatoire, l'action directe sur les bactéries pathogènes ou leurs facteurs de virulence et l'action indirecte sur ces mêmes bactéries. Chaque souche présente des caractéristiques particulières entraînant des actions spécifiques sur les micro-organismes du microbiote buccal et/ou les cellules de l'hôte, d'où l'importance de les identifier de manière précise. Un probiotique ne peut agir sur toutes les composantes de la maladie parodontale, ainsi l'administration d'un cocktail de plusieurs souches pourrait être bénéfique pour avoir des effets synergiques (**Fig. 21**).

Il est reconnu aujourd'hui que de nombreux pathogènes résistants aux traitements antibiotiques émergent. Une nouvelle approche semble donc nécessaire; celle visant à rééquilibrer le microbiote plutôt que d'éradiquer à la fois les « bonnes » et les « mauvaises » bactéries.

Cette revue confirme les compétences intéressantes des lactobacilles et des bifidobactéries pour espérer promouvoir la santé parodontale de l'hôte. Cependant des études supplémentaires dans des conditions *in vivo* seront nécessaires pour valider les mécanismes d'action, l'efficacité par voie topique à long terme dans un but préventif et/ou curatif de chaque souche probiotique et donc leur contribution à la santé parodontale.

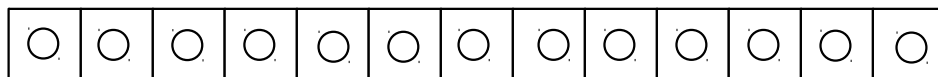
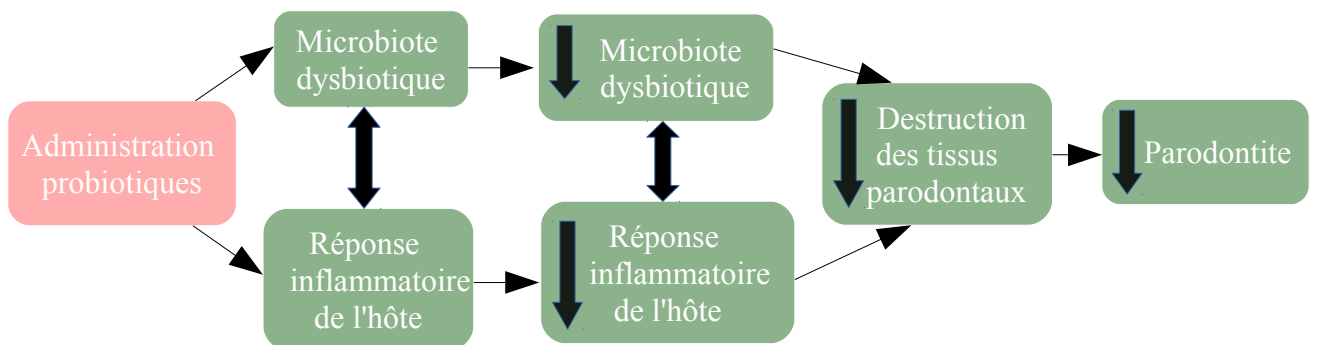
Pour aller plus loin, les probiotiques sont aujourd'hui associés à de nombreuses thérapies de réhabilitation de l'équilibre microbien *in vivo* telle que la transplantation de microbiome oral (41) montrant l'intérêt scientifique porté à ces micro-organismes dans un objectif de santé parodontale.

Dysbiose parodontale



Administration de probiotiques

Modulation de la réponse immuno-inflammatoire		Effet direct sur les bactéries pathogènes		Effet indirect sur les bactéries pathogènes		
Action sur les cellules de l'immunité	Action sur les bactéries	Substances anti-microbiennes	Agrégation probiotique-bactérie	Compétition pour les nutriments / récepteurs d'adhésion / produits chimiques	Modifications de l'environnement	Modifications du comportement des cellules de l'immunité



Homéostasie parodontale

Fig. 21 : Mécanismes d'action des probiotiques pour la réhabilitation de l'homéostasie parodontale (schéma adapté de l'étude de Saha et al, 2014 (109))

Légende :



épithélium gingival



bactérie parodontopathogène



bactérie associée à la santé parodontale



perturbation des conditions de l'environnement

Références bibliographiques

1. A Castiblanco GA, Yucel-Lindberg T, Roos S, Twetman S. Erratum to: Effect of *Lactobacillus reuteri* on Cell Viability and PGE2 Production in Human Gingival Fibroblasts. *Probiotics Antimicrob Proteins*. B 2017;9(2):213.
2. A Castiblanco G, Yucel-Lindberg T, Roos S, Twetman S. Effect of *Lactobacillus reuteri* on Cell Viability and PGE2 Production in Human Gingival Fibroblasts. *Probiotics Antimicrob Proteins*. Sept 2017;9(3):278-83.
3. Abrahamsson TR, Sinkiewicz G, Jakobsson T, Fredrikson M, Björkstén B. Probiotic lactobacilli in breast milk and infant stool in relation to oral intake during the first year of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. Sept 2009;49(3):349-54.
4. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burleson JA, Strausbaugh LD, et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J*. mai 2013;7(5):1016-25.
5. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol*. Sept 2007;8(9):942-9.
6. Albuquerque-Souza E, Balzarini D, Ando-Sugimoto ES, Ishikawa KH, Simionato MRL, Holzhausen M, et al. Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodont Res*. 4 oct 2018;
7. Arancibia SA, Beltrán CJ, Aguirre IM, Silva P, Peralta AL, Malinarich F, et al. Toll-like receptors are key participants in innate immune responses. *Biol Res*. 2007;40(2):97-112.
8. Ashraf R, Vasiljevic T, Day SL, Smith SC, Donkor ON. Lactic acid bacteria and probiotic organisms induce different cytokine profile and regulatory T cells mechanisms. *Journal of Functional Foods*. 2014;6:395–409.
9. Baca-Castañón ML, De la Garza-Ramos MA, Alcázar-Pizaña AG, Grondin Y, Coronado-Mendoza A, Sánchez-Najera RI, et al. Antimicrobial Effect of *Lactobacillus reuteri* on Cariogenic Bacteria *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mutans*, and Periodontal Diseases *Actinomyces naeslundii* and *Tannerella forsythia*. *Probiotics Antimicrob Proteins*. Mars 2015;7(1):1-8.
10. Bizzini B, Pizzo G, Scapagnini G, Nuzzo D, Vasto S. Probiotics and oral health. *Curr Pharm Des*. 2012;18(34):5522-31.
11. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc*. Oct 2009;75(8):585-90.

12. Bosch M, Nart J, Audivert S, Bonachera MA, Alemany AS, Fuentes MC, et al. Isolation and characterization of probiotic strains for improving oral health. *Arch Oral Biol*. Mai 2012;57(5):539-49.
13. Bradshaw DJ, Homer KA, Marsh PD, Beighton D. Metabolic cooperation in oral microbial communities during growth on mucin. *Microbiology (Reading, Engl)*. déc 1994;140 (Pt 12):3407-12.
14. Caglar E, Sandalli N, Kuscu OO, Durhan MA, Pisiriciler R, Caliskan EA, et al. Viability of fibroblasts in a novel probiotic storage media. *Dent Traumatol*. Oct 2010;26(5):383-7.
15. Casas IA, Dobrogosz WJ. Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad-spectrum protection against disease in humans and animals. *Microbial ecology in health and disease*. 2000;12(4):247–285.
16. Classification of bacteria. - sponsored by Ribocon GmbH [Internet]. [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: <http://www.bacterio.net/-classifphyla.html>
17. Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser J-R. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci*. juin 2002;110(3):218-24.
18. Culligan EP, Hill C, Sleator RD. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects. *Gut Pathog*. 23 nov 2009;1(1):19.
19. Cutler CW, Jotwani R. Antigen-presentation and the role of dendritic cells in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2004;35:135-57.
20. De Melo Pereira GV, de Oliveira Coelho B, Magalhães Júnior AI, Thomaz-Soccol V, Soccol CR. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnol Adv*. 2018;36(8):2060-76.
21. Dean SN, Leary DH, Sullivan CJ, Oh E, Walper SA. Isolation and characterization of
22. Delgado S, Suárez A, Mayo B. Bifidobacterial diversity determined by culturing and by 16S rDNA sequence analysis in feces and mucosa from ten healthy Spanish adults. *Dig Dis Sci*. oct 2006;51(10):1878-85.
23. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:503754.
24. Dong H, Rowland I, Yaqoob P. Comparative effects of six probiotic strains on immune function in vitro. *Br J Nutr*. Août 2012;108(3):459-70.
25. Evrard B, Coudeyras S, Dosgilbert A, Charbonnel N, Alamé J, Tridon A, et al. Dose-dependent immunomodulation of human dendritic cells by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35. *PLoS ONE*. 18 avr 2011;6(4):e18735.

26. Fang FC. Antimicrobial actions of reactive oxygen species. *MBio*. 2011;2(5).
27. FAO / OMS. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Population (French Edition). 2001;5(4):764.
28. Felis GE, Dellaglio F. Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *Current issues in intestinal microbiology*. 2007;8(2):44.
29. Ford PJ, Gamonal J, Seymour GJ. Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. juin 2010;53:111-23.
30. Gaffen SL, Hajishengallis G. A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J Dent Res*. Sept 2008;87(9):817-28.
31. Ghaffari. Potential application of gaseous nitric oxide as a topical antimicrobial agent. - PubMed - NCBI [Internet]. 2006 [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.ressources-electroniques.univ-lille.fr/pubmed/16188471>
32. Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology*. 2007;92(1):64-6.
33. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Mol Oral Microbiol*. Déc 2014;29(6):248-57.
34. Hajishengallis G, Lamont RJ, a. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol*. Déc 2012;27(6):409-19.
35. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*. Janv 2014;35(1):3-11.
36. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA, b. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. Oct 2012;10(10):717-25.
37. Han YW, Shi W, Huang GT, Kinder Haake S, Park NH, Kuramitsu H, et al. Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells: *Fusobacterium nucleatum* adheres to and invades epithelial cells. *Infect Immun*. Juin 2000;68(6):3140-6.
38. Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci*. 2006;19:29-64.
39. Hidalgo-Cantabrana C, Delgado S, Ruiz L, Ruas-Madiedo P, Sánchez B, Margolles A. Bifidobacteria and Their Health-Promoting Effects. *Microbiol Spectr*. 2017;5(3).

40. Hidalgo-Cantabrana C, Lucena-Prieto MR, Moro-García MA, Alonso-Arias R, Sánchez B. Whole fractions from probiotic bacteria induce in vitro Th17 responses in human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Functional Foods*. 2018;48:367–373.
41. Hoare A, Marsh PD, Diaz PI. Ecological Therapeutic Opportunities for Oral Diseases. *Microbiol Spectr*. 2017;5(4).
42. Hojo K, Nagaoka S, Murata S, Taketomo N, Ohshima T, Maeda N. Reduction of vitamin K concentration by salivary Bifidobacterium strains and their possible nutritional competition with Porphyromonas gingivalis. *J Appl Microbiol*. Nov 2007;103(5):1969-74.
43. Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N. Bacterial interactions in dental biofilm development. *J Dent Res*. Nov 2009;88(11):982-90.
44. Hojo K, Mizoguchi C, Taketomo N, Ohshima T, Gomi K, Arai T, et al. Distribution of salivary Lactobacillus and Bifidobacterium species in periodontal health and disease. *Biosci Biotechnol Biochem*. Janv 2007;71(1):152-7.
45. Hojsak I, Snovak N, Abdović S, Szajewska H, Misak Z, Kolacek S. Lactobacillus GG in the prevention of gastrointestinal and respiratory tract infections in children who attend day care centers: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr*. Juin 2010;29(3):312-6.
46. Hou. Study and use of the probiotic Lactobacillus reuteri in pigs: a review. - PubMed - NCBI [Internet]. 2015 [cité 1 mars 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ressources-electroniques.univ-lille.fr/pubmed/25954504>
47. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*. Oct 2011;2(5):435-44.
48. Indrio. The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns. - PubMed - NCBI [Internet]. 2008 [cité 1 mars 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ressources-electroniques.univ-lille.fr/pubmed/?term=The+effects+of+probiotics+on+feeding+tolerance%2C+bowel+habits%2C+and+gastrointestinal+motility+in+preterm+newborns>
49. Jakubovics NS. Saliva as the Sole Nutritional Source in the Development of Multispecies Communities in Dental Plaque. *Microbiol Spectr*. Juin 2015;3(3).
50. Jäsberg H, Söderling E, Endo A, Beighton D, Haukioja A. Bifidobacteria inhibit the growth of Porphyromonas gingivalis but not of Streptococcus mutans in an in vitro biofilm model. *Eur J Oral Sci*. 2016;124(3):251-8.
51. Jiang Q, Stamatova I, Kainulainen V, Korpela R, Meurman JH. Interactions between Lactobacillus rhamnosus GG and oral micro-organisms in an in vitro biofilm model. *BMC Microbiol*. 12 2016;16(1):149.

52. Johnson PW, Lancero H. Function of gingival fibroblasts and periodontal ligament cells in the presence of methyl mercaptan. *Quintessence Int.* Mai 1999;30(5):343-9.
53. Kang M-S, Oh J-S, Lee H-C, Lim H-S, Lee S-W, Yang K-H, et al. Inhibitory effect of *Lactobacillus reuteri* on periodontopathic and cariogenic bacteria. *J Microbiol. Avr* 2011;49(2):193-9.
54. Kleerebezem M, Vaughan EE. Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity. *Annu Rev Microbiol.* 2009;63:269-90.
55. Knoshaug EP, Ahlgren JA, Trempy JE. Growth associated exopolysaccharide expression in *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* Ropy352. *J Dairy Sci.* avr 2000;83(4):633-40.
56. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol.* 2000;54:413-37.
57. Kolenbrander PE. Multispecies communities: interspecies interactions influence growth on saliva as sole nutritional source. *Int J Oral Sci.* avr 2011;3(2):49-54.
58. Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Eglund PG, Foster JS, Palmer RJ. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* sept 2002;66(3):486-505, table of contents.
59. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol* 2000. 2006;42:47-79.
60. Kõll P, Mändar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiol Immunol.* Avr 2008;23(2):139-47.
61. Kõll-Klais P, Mändar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol.* Déc 2005;20(6):354-61.
62. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Co-ordinated bacteriocin production and competence development: a possible mechanism for taking up DNA from neighbouring species. *Mol Microbiol.* Juill 2005;57(2):392-404.
63. Kreth J, Merritt J, Zhu L, Shi W, Qi F. Cell density- and ComE-dependent expression of a group of mutacin and mutacin-like genes in *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett.* Déc 2006;265(1):11-7.
64. Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun.* 30 oct 2009;388(4):621-5.

65. Lahtinen SJ, Jalonen L, Ouwehand AC, Salminen SJ. Specific Bifidobacterium strains isolated from elderly subjects inhibit growth of Staphylococcus aureus. *Int J Food Microbiol.* 10 juin 2007;117(1):125-8.
66. Laleman I, Teughels W. Probiotics in the dental practice: a review. *Quintessence Int. Mars* 2015;46(3):255-64.
67. Lamine F, Fioramonti J, Bueno L, Nepveu F, Cauquil E, Lobysheva I, et al. Nitric oxide released by *Lactobacillus farciminis* improves TNBS-induced colitis in rats. *Scand J Gastroenterol.* Janv 2004;39(1):37-45.
68. Larousse É. Définitions : bactérie - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/bact%C3%A9rie/7392>
69. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SCJ. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action. *Microbiol Mol Biol Rev.* déc 2008;72(4):728-64, Table of Contents.
70. Lee I-C, Tomita S, Kleerebezem M, Bron PA. The quest for probiotic effector molecules--unraveling strain specificity at the molecular level. *Pharmacol Res. Mars* 2013;69(1):61-74.
71. López P, Gueimonde M, Margolles A, Suárez A. Distinct Bifidobacterium strains drive different immune responses in vitro. *Int J Food Microbiol.* 31 mars 2010;138(1-2):157-65.
72. Madhwani T, McBain AJ. Bacteriological effects of a *Lactobacillus reuteri* probiotic on in vitro oral biofilms. *Arch Oral Biol.* Nov 2011;56(11):1264-73.
73. Magniez M. Identification bactérienne par la coloration de GRAM [Internet]. biotechnologie. [cité 2 mars 2019]. Disponible sur: <http://www.technobio.fr/article-16615932.html>
74. Mahajan A, Singh B, Kashyap D, Kumar A, Mahajan P. Interspecies communication and periodontal disease. *ScientificWorldJournal.* 2013;2013:765434.
75. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology (Reading, Engl).* févr 2003;149(Pt 2):279-94.
76. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol.* mars 2017;44 Suppl 18:S12-22.
77. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol* 2000. févr 2011;55(1):16-35.

78. Masco L, Ventura M, Zink R, Huys G, Swings J. Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and *Bifidobacterium lactis* reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. and *Bifidobacterium lactis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* juill 2004;54(Pt 4):1137-43.
79. McFall-Ngai M. Adaptive immunity: care for the community. *Nature.* 2007;445(7124):153.
80. Meile L, Ludwig W, Rueger U, Gut C, Kaufmann P, Dasen G, et al. *Bifidobacterium lactis* sp. nov., a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. *Systematic and Applied Microbiology.* 1997;20(1):57–64.
81. Mendi A, Aslım B. Antioxidant lactobacilli could protect gingival fibroblasts against hydrogen peroxide: a preliminary in vitro study. *Probiotics Antimicrob Proteins.* Déc 2014;6(3-4):157-64.
82. Mendi A, Köse S, Uçkan D, Akca G, Yılmaz D, Aral L, et al. *Lactobacillus rhamnosus* could inhibit *Porphyromonas gingivalis* derived CXCL8 attenuation. *J Appl Oral Sci.* févr 2016;24(1):67-75.
83. Merritt J, Zheng L, Shi W, Qi F. Genetic characterization of the *hdrRM* operon: a novel high-cell-density-responsive regulator in *Streptococcus mutans*. *Microbiology (Reading, Engl).* août 2007;153(Pt 8):2765-73.
84. Meuric V. Des bactéries aux microbiomes. 2016;7.
85. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis.* Sept 2007;13(5):443-51.
86. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci.* juin 2005;113(3):188-96.
87. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2001;55:165-99.
88. Moghaddam MZ, Sattari M, Mobarez AM, Doctorzadeh F. Inhibitory effect of yogurt *Lactobacilli* bacteriocins on growth and verotoxins production of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Pak J Biol Sci.* 2006;9(11):2112–2116.
89. Mokrozub VV, Lazarenko LM, Sichel LM, Babenko LP, Lytvyn PM, Demchenko OM, et al. The role of beneficial bacteria wall elasticity in regulating innate immune response. *EPMA J.* 2015;6(1):13.
90. Mori Y, Yoshimura A, Ukai T, Lien E, Espevik T, Hara Y. Immunohistochemical localization of Toll-like receptors 2 and 4 in gingival tissue from patients with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* Févr 2003;18(1):54-8.
91. Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. *Int Dent J.* juin 2002;52 Suppl 3:217-20.

92. O’Callaghan A, van Sinderen D. Bifidobacteria and Their Role as Members of the Human Gut Microbiota. *Front Microbiol.* 2016;7:925.
93. Olsen I, Tribble GD, Fiehn N-E, Wang B-Y. Bacterial sex in dental plaque. *J Oral Microbiol.* 2013;5.
94. Osterlund P, Ruotsalainen T, Korpela R, Saxelin M, Ollus A, Valta P, et al. Lactobacillus supplementation for diarrhoea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomised study. *Br J Cancer.* 22 oct 2007;97(8):1028-34.
95. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000.* juin 1997;14:9-11.
96. Petersen FC, Tao L, Scheie AA. DNA binding-uptake system: a link between cell-to-cell communication and biofilm formation. *J Bacteriol.* Juill 2005;187(13):4392-400.
97. [probiotic_guidelines.pdf](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf) [Internet]. [cité 1 mars 2019]. Disponible sur: https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
98. [probiotics-and-prebiotics-french-2017.pdf](http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-french-2017.pdf) [Internet]. [cité 9 mars 2019]. Disponible sur: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-french-2017.pdf>
99. Qi F, Merritt J, Lux R, Shi W. Inactivation of the *ciaH* Gene in *Streptococcus mutans* diminishes mutacin production and competence development, alters sucrose-dependent biofilm formation, and reduces stress tolerance. *Infect Immun.* Août 2004;72(8):4895-9.
100. Quinteiro-Filho WM, Brisbin JT, Hodgins DC, Sharif S. Lactobacillus and Lactobacillus cell-free culture supernatants modulate chicken macrophage activities. *Res Vet Sci.* déc 2015;103:170-5.
101. Ratcliff PA, Johnson PW. The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. *J Periodontol.* Mai 1999;70(5):485-9.
102. Ratcliff PA, Johnson PW. The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis. A review. *J Periodontol.* Mai 1999;70(5):485-9.
103. Robert MJ-C. Module - Bactériologie. 2012;287.
104. Roberts AP, Kreth J. The impact of horizontal gene transfer on the adaptive ability of the human oral microbiome. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014;4:124.
105. Roberts FA, Darveau RP. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontol 2000.* oct 2015;69(1):18-27.

106. Rocha-Ramírez LM, Pérez-Solano RA, Castañón-Alonso SL, Moreno Guerrero SS, Ramírez Pacheco A, García Garibay M, et al. Probiotic Lactobacillus Strains Stimulate the Inflammatory Response and Activate Human Macrophages. *J Immunol Res.* 2017;2017:4607491.
107. Rotimi VO, Duerden BI. The development of the bacterial flora in normal neonates. *J Med Microbiol.* févr 1981;14(1):51-62.
108. Russell DA, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *Int J Food Microbiol.* 1 sept 2011;149(1):88-105.
109. Saha S, Tomaro-Duchesneau C, Rodes L, Malhotra M, Tabrizian M, Prakash S. Investigation of probiotic bacteria as dental caries and periodontal disease biotherapeutics. *Benef Microbes.* déc 2014;5(4):447-60.
110. Salvetti E, O'Toole PW. The Genomic Basis of Lactobacilli as Health-Promoting Organisms. *Microbiol Spectr.* 2017;5(3).
111. Salvetti E, Torriani S, Felis GE. The Genus Lactobacillus: A Taxonomic Update. *Probiotics Antimicrob Proteins.* déc 2012;4(4):217-26.
112. Sanders ME, Akkermans LMA, Haller D, Hammerman C, Heimbach J, Hörmannspurger G, et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes.* juin 2010;1(3):164-85.
113. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis.* juin 2006;6(6):374-82.
114. Schema-classification-espece-bacterienne. -633x400 png (633x400) [Internet]. [cité 27 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.antibio-responsable.fr/-/media/EMS/Conditions/Consumer%20Healthcare/AntiBioTherapic/Content/Images/les-bacteries/5-1-decouverte-classification/5-1-schema-classification-espece-bacterienne-633x400%20png>
115. Sichiatti M, De Marco S, Pagiotti R, Traina G, Pietrella D. Anti-inflammatory effect of multistrain probiotic formulation (*L. rhamnosus*, *B. lactis*, and *B. longum*). *Nutrition.* sept 2018;53:95-102.
116. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* févr 1998;25(2):134-44.
117. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000.* 2002;28:12-55.
118. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000.* 2005;38:135-87.

119. Spinler JK, Taweechoatipatr M, Rognerud CL, Ou CN, Tumwasorn S, Versalovic J. Human-derived probiotic *Lactobacillus reuteri* demonstrate antimicrobial activities targeting diverse enteric bacterial pathogens. *Anaerobe*. juin 2008;14(3):166-71.
120. Stacy A, Everett J, Jorth P, Trivedi U, Rumbaugh KP, Whiteley M. Bacterial fight-and-flight responses enhance virulence in a polymicrobial infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 27 mai 2014;111(21):7819-24.
121. Stamatova I, Kari K, Vladimirov S, Meurman JH. In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion to saliva-coated surfaces. *Oral Microbiol Immunol*. juin 2009;24(3):218-23.
122. Sukumar S, Roberts AP, Martin FE, Adler CJ. Metagenomic Insights into Transferable Antibiotic Resistance in Oral Bacteria. *J Dent Res*. 2016;95(9):969-76.
123. Sun Z, Harris HMB, McCann A, Guo C, Argimón S, Zhang W, et al. Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nat Commun*. 29 sept 2015;6:8322.
124. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol*. oct 2011;53(4):452-9.
125. Teughels W, Loozen G, Quirynen M. Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? *J Clin Periodontol*. mars 2011;38 Suppl 11:159-77.
126. Trevani AS, Chorny A, Salamone G, Vermeulen M, Gamberale R, Schettini J, et al. Bacterial DNA activates human neutrophils by a CpG-independent pathway. *Eur J Immunol*. nov 2003;33(11):3164-74.
127. Tubelius P, Stan V, Zachrisson A. Increasing work-place healthiness with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: a randomised, double-blind placebo-controlled study. *Environ Health*. 7 nov 2005;4:25.
128. Tuo Y, Zhang W, Zhang L, Ai L, Zhang Y, Han X, et al. Study of probiotic potential of four wild *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Anaerobe*. juin 2013;21:22-7.
129. Turroni F, Foroni E, Pizzetti P, Giubellini V, Ribbera A, Merusi P, et al. Exploring the diversity of the bifidobacterial population in the human intestinal tract. *Appl Environ Microbiol*. mars 2009;75(6):1534-45.
130. Uehara A, Naito M, Imamura T, Potempa J, Travis J, Nakayama K, et al. Dual regulation of interleukin-8 production in human oral epithelial cells upon stimulation with gingipains from *Porphyromonas gingivalis*. *J Med Microbiol*. avr 2008;57(Pt 4):500-7.

131. van Essche M, Loozen G, Godts C, Boon N, Pauwels M, Quirynen M, et al. Bacterial antagonism against periodontopathogens. *J Periodontol.* juin 2013;84(6):801-11.
132. Vanderpool C, Yan F, Polk DB. Mechanisms of probiotic action: Implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* Nov 2008;14(11):1585-96.
133. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res.* mars 2013;69(1):137-43.
134. Walter J. Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. *Appl Environ Microbiol.* août 2008;74(16):4985-96.
135. Wei GX, van der Hoeven JS, Smalley JW, Mikx FH, Fan MW. Proteolysis and utilization of albumin by enrichment cultures of subgingival microbiota. *Oral Microbiol Immunol.* Déc 1999;14(6):348-51.
136. Widyarman AS, Drestia AM, Bachtiar EW, Bachtiar BM. The Anti-inflammatory Effects of Glycerol-supplemented Probiotic *Lactobacillus reuteri* on Infected Epithelial cells In vitro. *Contemp Clin Dent.* juin 2018;9(2):298-303.
137. Xu X, Tong T, Yang X, Pan Y, Lin L, Li C. Differences in survival, virulence and biofilm formation between sialidase-deficient and W83 wild-type *Porphyromonas gingivalis* strains under stressful environmental conditions. *BMC Microbiol.* 18 août 2017;17(1):178.
138. Yadav AK, Tyagi A, Kumar A, Panwar S, Grover S, Saklani AC, et al. Adhesion of Lactobacilli and their anti-infectivity potential. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 3 juill 2017;57(10):2042-56.
139. Zhang Y, Wang X, Li H, Ni C, Du Z, Yan F. Human oral microbiota and its modulation for oral health. *Biomed Pharmacother.* mars 2018;99:883-93.
140. Zheng J, Ruan L, Sun M, Gänzle M. A Genomic View of Lactobacilli and Pediococci Demonstrates that Phylogeny Matches Ecology and Physiology. *Appl Environ Microbiol.* Oct 2015;81(20):7233-43.
141. Zhu Y, Xiao L, Shen D, Hao Y. Competition between yogurt probiotics and periodontal pathogens in vitro. *Acta Odontol Scand.* sept 2010;68(5):261-8.

Annexes

Annexe 1 : Tableau d'analyse des articles de la revue de littérature

Auteur Nom de l'étude Date de publication	Objectif de l'étude	Matériels		Cellules et support du milieu de culture	Techniques d'analyse microbiologique	Critères de jugement	Résultats
		Probiotique	Marqueur discriminant de la maladie parodontale				
Mendi <i>L.rhamnosus</i> could inhibit <i>P.gingivalis</i> derived CXCL8 attenuation 2016	Evaluer la capacité de <i>L.rhamnosus</i> à inhiber la suppression de CXCL8 par <i>P.gingivalis</i> via des mécanismes de co-aggregation, d'adhésion compétitive et la modulation de l'expression des TLRs	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC9595 Quantité : 1x10 ⁸ Colony Forming Units /mL	<i>P.gingivalis</i> ATCC33277 Quantité : 1x10 ⁸ Colony Forming Units /mL	Cellules souches mésenchymateuses gingivales isolées à partir de prélèvements gingivaux chez des volontaires sains de 21 à 24 ans pendant avulsion DDS (G-MSSCs)	Test ELISA Cytométrie en flux Auto et co-aggregation Adhésion compétitive	Auto et co-agrégation <i>L.rhamnosus</i> et <i>P.gingivalis</i> (après 1h de co-culture) Concentrations de CXCL8/IL-8 et IL-10 dans le surnageant cellulaire (après 12h de culture) Expression de TLR-2 et TLR-4 par les cellules souches mésenchymateuses gingivales (après 12 h de culture) au MOI 1:100 (cellule:bactérie)	<i>L.rhamnosus</i> : - peut co-agréger avec <i>P.gingivalis</i> (23.7 %±0.002 de co-aggregation) pouvant former une barrière à la colonisation d'autres bactéries pathogènes - inhibe l'adhésion de <i>P.gingivalis</i> aux cellules souches gingivales (6.85±0.1 vs 2±0.2 en présence du probiotique) -inhibe la sécrétion d'IL-8 (10 pg/ml vs 2 pg/ml environ) par les cellules et augmentent celle de IL-10 (5 pg/ml vs 10 pg/ml environ) également lors de la stimulation de la sécrétion de médiateurs de l'inflammation par IFN (13 pg/ml vs 24 pg/ml environ et 10 pg/ml vs 80 pg/ml environ respectivement) <i>L.rhamnosus</i> en coculture avec <i>P.gingivalis</i> : - entraîne une augmentation de la sécrétion de CXCL8 (2,5 pg/ml vs 22,5 pg/ml environ) et une diminution de IL-10 (10 pg/ml vs 5 pg/ml environ) par les G-MSSCs / <i>P.gingivalis</i> seule - augmente l'expression de TLR-2 (0,9 %, p<0,01) et réduit l'expression des récepteurs TLR-4 (10,3 %, p<0,01) par les cellules souches gingivales / <i>P.gingivalis</i> seule

<p>Jiang</p> <p>Interactions between <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG and oral micro-organisms in an in vitro biofilm model</p> <p>2016</p>	<p>Explorer la capacité de <i>L. rhamnosus</i> à intégrer un biofilm et à influencer la composition et la croissance des multiples espèces en son sein</p>	<p><i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG ATCC 53103 (LRGG)</p> <p>10⁸ CFU/mL</p>	<p><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 27351 = <i>S. sobrinus</i> <i>Coykendall</i></p> <p><i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556</p> <p><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 43718</p> <p><i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586</p> <p><i>Candida albicans</i> ATCC 10231 10⁷ CFU/mL pour <i>C.albicans</i></p> <p>10⁸ CFU/mL pour chacune des autres souches</p>	<p>Disques d'hydroxy-apatite imprégnés de salive dans des conditions anaérobies pendant pendant 16,5h ou 64,5h pour formation des biofilms</p>	<p>Microscope confocal à balayage laser</p> <p>Mesures de pH</p>	<p>Capacité de croissance de <i>L. rhamnosus</i> en biofilm mono-espèce ou pluri-espèces</p> <p>Taux d'adhésion</p> <p>Viabilité cellulaire</p> <p>pH du milieu de culture</p> <p>Morphologie des espèces au sein des biofilms</p> <p>MOI 1:1</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> GG :</p> <p>- est capable de résister et proliférer dans des biofilms oraux <i>in vitro</i> de 4 espèces (<i>A. a + F. n + S. s+C. a</i>) ou 5 espèces (<i>A. a+F. n+S. s+C. a+S. m</i>) après 16,5h de culture</p> <p>- croît à un pH compris entre 6,5 et 7 dès 40,5h de culture cellulaire (mono-culture)</p> <p>- réduit la croissance de <i>C. albicans</i> (viabilité cellulaire : 100 % vs 0 % de LRGG à 64,5h) , <i>S. sanguinis</i> (viabilité cellulaire : 70 % vs 30 % de LRGG à 64,5h) dans des biofilms bi-espèces et la capacité de <i>F. nucleatum</i> à former des biofilms bactériens</p> <p>- n'a pas d'effet sur <i>S. mutans</i> et cette dernière inhibe LRGG (viabilité cellulaire : 100 % vs 0 % de LRGG à 64,5h)</p>
<p>Teaupaisan</p> <p>Inhibitory effect of oral Lactobacillus against oral pathogens</p> <p>2011</p>	<p>Evaluer l'activité inhibitrice de plusieurs souches de Lactobacilles dont <i>L. rhamnosus</i> et déterminer la souche la plus efficace contre des bactéries parodontopathogènes du biofilm oral</p>	<p>Souches de Lactobacillus dont <i>Lactobacillus rhamnosus</i>,SD5</p> <p>10⁶ CFU/mL</p>	<p><i>P. gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 33384</p> <p><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</p> <p>10⁶ CFU/mL</p>	<p>Gel d'infusion cerveau-coeur + 1% de mucine</p>	<p>Méthode de superposition de la gélose (double gélose)</p> <p>Etude de la viabilité des cellules avec fluorescence : <i>Live / Dead Bacterial Viability kit</i> (Invitrogen Carlsbad, CA),</p> <p>Mesure de la largeur de la zone d'inhibition</p>	<p>Zone d'inhibition des différentes souches de Lactobacilles contre <i>S. mutans</i>, <i>P. gingivalis</i> et <i>P. gingivalis</i></p> <p>Viabilité cellulaire au</p> <p>MOI 1:1</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> a un effet inhibiteur envers <i>S. mutans</i> significativement plus élevé que les autres souches (15mm +/- 1.4 vs 2-5 mm) et entraîne une diminution de la viabilité de la bactérie.</p> <p>Cette même souche présente une capacité d'inhibition de croissance importante contre <i>P. gingivalis</i> (30mm +/- 2.8mm) et <i>A. actinomycetemcomitans</i> (21 +/- 1.4mm)</p>

<p>Sichetti Anti-inflammatory effect of multistrain probiotic formulation</p> <p>2018</p>	<p>Evaluer la capacité de l'association de probiotique (<i>Serobioma</i>) : <i>Lactobacillus rhamnosus</i>, <i>Bifidobacterium lactis et Bifidobacterium longum</i> à promouvoir la production de cytokines anti-inflammatoires et réduire celle de cytokines pro-inflammatoires</p>	<p>Serobioma = <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LR32 <i>Bifidobacterium lactis</i> BL04 <i>Bifidobacterium longum</i> BL05</p> <p>Quantité : une capsule de 8×10^9 Colony Forming Units /mL</p> <p>MOI 1:1 / 1:10 / 1:100</p>	<p>Cytokines pro-inflammatoires</p>	<p>Cellules sanguines périphériques mononuclées issues de sang veineux périphérique de donneurs de la banque du sang (Italie) + différenciation des monocytes issus de ces cellules en macrophages (MDM)</p> <p>Lignée cellulaire macrophages humains THP1 + différenciation en macrophages M1</p> <p>lignée cellulaire adénocarcinome colorectale épithéliale humaine HT-29, ATCC HTB-38</p> <p>Inserts de coculture cellulaire : modèle Transwell = modèle d'inflammation intestinale)</p>	<p>Tests ELISA</p> <p>Tests de cytotoxicité</p>	<p>Production de cytokines pro-inflammatoires : IL-1β, IL-6, TNFα et cytokines anti-inflammatoires : IL-10</p> <p>Viabilité cellulaire</p>	<p>Serobioma :</p> <ul style="list-style-type: none"> - stimule la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (environ 0pg/mL sans probiotique vs 100pg /mL au MOI 1:1 vs 30pg/mL au MOI 1:100) et de TNF-α (environ 0 pg/mL sans probiotique vs 300 pg/mL au MOI 1:1 vs 25pg/mL au MOI 1:100) de manière décroissance en ft du MOI (MOI 1:1>MOI 1:10>MOI 1:100) par les cellules mononuclées sanguines après 4h d'exposition - n'induit pas de modulation de la production de TNF-α lorsque les cellules PBMC sont pré-traitées 4h par du LPS et augmente significativement la sécrétion d'IL-10 au MOI 1:1 (150pg/ml vs 250 pg/ml) mais pas de modification lors de l'utilisation du cocktail de probiotiques en préventif (avant stimulation par le LPS) <p>Serobioma dans le modèle Transwell :</p> <ul style="list-style-type: none"> - diminue la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL-1β (environ 1000 pg/mL sans probiotique vs 350 pg/mL au MOI 1:1 vs 200pg/mL au MOI 1:100) et IL-6 (environ 400pg/mL sans probiotique vs 100pg/mL au MOI 1:1 et 1:100) par les macrophages M1 issus de la la différenciation des cellules THP-1 en co-culture avec les cellules HT29 au différents MOI (1:1, 1:10 et 1:100) après 4h de co-culture - Absence de cytotoxicité cellulaire (Macrophages M1 ou MDM) au différents MOI employés - Absence de sécrétion par les MDM de cytokines sans stimulation par le LPS (en pré ou post-traitement) et pas de modulation de la réponse sécrétoire lors du post-traitement par le LPS après exposition aux probiotiques sauf avec IL-1β - stimule la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 par les MDM en co-culture après 24h lors de la stimulation par le LPS (4h) en pré-traitement de même que pour IL-1β dès 4h d'exposition aux probiotiques
---	--	---	-------------------------------------	--	---	---	--

<p>Madhwani</p> <p>Bacteriological effects of a <i>Lactobacillus reuteri</i> probiotic on in vitro oral biofilms</p> <p>2011</p>	<p>Étudier les effets de l'introduction d'une combinaison de probiotiques comprenant deux souches de <i>L. reuteri</i> sur la composition bactérienne de la plaque naissante et mature dans un modèle de biofilm infra-gingival <i>in vitro</i></p>	<p><i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 et <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 5289</p> <p>Quantité : 9.3 Log 10 <i>L. reuteri</i> par tablette avec des proportions approximativement équivalentes des 2 souches</p> <p>9.3 log10 CFU/ml</p>	<p>Bactéries anaérobies</p> <p>Bactéries anaérobies gram -</p> <p>Bactéries anaérobies facultatives</p> <p>streptocoques</p> <p>provenant de souches <i>Fus. nucleatum</i> , <i>Lact. Rhamnosus</i> , <i>Strep. Oralis</i> <i>Strep. sanguis</i> , <i>N. subflava</i> , <i>Porph.gin givalis</i> , <i>Act. naeslundii</i> and <i>Prev. nigrescens</i> were obtained from Dr D. Bradshaw (BioSciences, Quest International, Ashford, UK).</p> <p>5 log10 CFU/mL</p> <p>2</p>	<p>Disques d'hydroxyapatite</p> <p>Disques fermenteurs à profondeur constante</p> <p>Salive artificielle et salive de donneurs sains (absence de maladie parodontale)</p>	<p>Electrophorèse sur gel en gradient dénaturant (DGGE = étude taxonomie via ARN ribosomal)</p> <p>Mesure du pH</p>	<p>Nombre de bactéries anaérobies, streptocoques et lactobacilles viables au MOI 1:1</p> <p>pH du milieu</p>	<p>Incorporation de <i>L. reuteri</i> au biofilm entraîne :</p> <ul style="list-style-type: none"> -prolifération significative des bactéries anaérobies GRAM- et des lactobacilles dans la phase planctonique et la première phase de constitution des biofilms. Le tout accompagné d'une diminution du pH du milieu -augmentation significative de la prolifération des lactobacilles au sein du biofilm mature sans prolifération augmentée des autres bactéries avec un pH inchangé - persistance des lactobacilles après dosage au sein de la plaque mature après 20 jours
--	---	--	---	---	---	--	--

<p>Kang</p> <p>Inhibitory effect of <i>L. reuteri</i> on periodopathic and cariogenic bacteria</p> <p>2011</p>	<p>Examiner la capacité de <i>L. reuteri</i> à inhiber la croissance des bactéries parodontopathogènes et de <i>S. mutans</i> par des substances antimicrobiennes</p>	<p><i>L. reuteri</i> :</p> <p>Souches dérivées de l'intestin d'hommes adultes KCTC 3594 et KCTC 3678</p> <p>Souches dérivées du rat KCTC 3679</p> <p>Quantité : 1×10^6 Colony Forming Units/mL pour chaque souche</p>	<p><i>P. gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p><i>F. nucleatum</i> ATCC 10953</p> <p><i>T. forsythia</i> ATCC 43037</p> <p><i>A. actinomycetemcomitans</i> ATCC 33384</p> <p><i>S. mutans</i> Ingbritt</p> <p>Quantité : 1×10^6 Colony Forming Units/mL pour chaque souche sauf <i>S. mutans</i> 5×10^5 CFU/ml</p>	<p>Milieu de culture Man, Rogosa et Sharpe</p>	<p>Mesure de la densité optique</p> <p>Chromatographie à phase gazeuse</p> <p>Mesure du pH</p>	<p>Densité optique des bactéries parodontopathogènes dans le surnageant cellulaire</p> <p>Quantification de la production de substances antimicrobiennes : acides organiques, peroxyde d'hydrogène, reuterine</p> <p>MOI 1:1 MOI 1:10 pour <i>S. mutans</i></p>	<p>inhibition significative par les différentes souches de <i>L. reuteri</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - de la croissance de <i>S. mutans</i> -de la croissance des bactéries parodontopathogènes - de composés produits par les bactéries <i>F. nucleatum</i> et <i>P. gingivalis</i> (methyl mercaptan) par génération d'H₂O₂ et BLC (>50 %) - Les souches de <i>L. reuteri</i> croient dans un milieu au pH=4,35
<p>Castiblanco</p> <p>Effect of <i>Lactobacillus reuteri</i> on Cell Viability and PGE2 Production in Human Gingival Fibroblasts</p> <p>2017</p>	<p>Examiner la viabilité de fibroblastes gingivaux humains et leur production de prostaglandine E2 (PGE2), lorsqu'ils sont exposés à un mélange de deux souches de <i>L. reuteri</i></p>	<p><i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC PTA 5289 et DSM 17938 à doses équivalentes</p> <p>Différentes dilutions utilisées :</p> <p>$0,5 \times 10^7$ $1,0 \times 10^7$ $2,5 \times 10^7$ $5,0 \times 10^7$ CFU/mL</p>	<p>Cytokines pro-inflammatoires IL-1β et PGE2 (inflammation)</p>	<p>Culture primaire de fibroblastes gingivaux humains provenant de biopsies du tissu gingival ou de donneurs sains ne présentant pas signes de maladies parodontales</p> <p>4×10^4 cellules/mL</p>	<p>Numération des cellules vivantes (Test MTT)</p> <p>Test ELISA</p>	<p>Viabilité des fibroblastes gingivaux humains</p> <p>Production de PGE2 par les fibroblastes après 24h d'incubation</p>	<p>Mélange du surnageant cellulaire de 2 <i>L. reuteri</i> entraîne:</p> <ul style="list-style-type: none"> -absence d'atteinte de la viabilité des fibroblastes -stimulation de la production de PGE2 en présence d'une stimulation par l'IL-1β de manière dose-dépendante (155 pg/mL pour le contrôle, 283 pg/mL à $5,0 \times 10^7$ et 3000 à $5,0 \times 10^7$ en présence de IL-1β)

<p>Jasberg</p> <p>Bifidobacteria inhibit the growth of <i>Porphyromonas gingivalis</i> but not of <i>Streptococcus</i> in an in vitro biofilm model</p> <p>2016</p>	<p>Étudier la capacité d'intégration de <i>B. animalis</i> au sein des modèles de biofilms et d'inhibition de croissance des bactéries parodontopathogènes</p>	<p><i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> Bb12</p>	<p><i>P. gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p><i>F. nucleatum</i> ATCC 10953</p> <p><i>Actinomyces naeslundii</i> ATCC 12104</p> <p><i>S. mutans</i> Ingbritt</p> <p><i>S. mutans</i> MT8148</p>	<p>Disques d'hydroxyapatite + salive de volontaires sains</p>	<p>Comptage des colonies après 2-3 jours (<i>S. mutans</i> et <i>bifidobacterium</i>) et après 7 jours (<i>A. naeslundii</i>, <i>F. nucleatum</i> et <i>P. gingivalis</i>)</p> <p>Essai de diffusion/interférence en milieu gélosé</p> <p>Mesure du pH</p>	<p>Le nombre de bactéries parodontopathogènes après 18h et 42h d'incubation en présence de souches de probiotiques dans les modèles de biofilm supra et sous-gingivaux en CFU/mL</p> <p>Toutes les bactéries sont en proportions égales dans les biofilms</p>	<p>Modèle de biofilm sous-gingival : <i>Bb 12</i> a une capacité inhibition contre <i>F. nucleatum</i> à 18h (nombre de bactérie : $6,4 \pm 0,6$ vs $5,7 \pm 0,6$, $p=0,024$) mais pas à 42h</p> <p>Modèle de biofilm cariogénique/supra-gingival : Souches de bifidobacteries n'ont pas d'effet sur le nombre de <i>S. mutans</i> et <i>A. naeslundii</i></p> <p>Bb12 a une capacité d'inhibition de croissance importante contre <i>P. gingivalis</i> à 18h et 42h de co-culture ($p < 0,05$) mais le nombre de Bb12 est complètement diminué lors de la présence de <i>A. naeslundii</i> + <i>S. mutans</i> Ingbritt dès 18h de co-culture et pas <i>A. naeslundii</i> + <i>S. mutans</i> MT8148</p>
<p>Quinteiro</p> <p>Lactobacillus and Lactobacillus cell-free culture supernatants modulate chicken macrophage activities</p> <p>2015</p>	<p>Evaluer la capacité de <i>L. reuteri</i>, à stimuler l'activité des macrophages par l'expression de cytokines pro-inflammatoires, la production d'oxyde de nitrite et l'activation de la phagocytose</p>	<p><i>Lactobacillus reuteri</i> JTB07</p> <p>Quantités : 1×10^8 CFU/ml</p>	<p>IL-1β, IL-6, IL-8 et IL-12p40</p>	<p>Lignée cellulaire de macrophages provenant de poulets (MQ-NCSU)</p> <p>Quantité : 5×10^6 ou 1×10^5 cellules/mL</p>	<p>Quantitative reverse-transcription polymerase chain reaction = RT-qPCR (cytokines)</p> <p>Mesure de l'absorbance (oxyde de nitrite)</p> <p>mesure de bioluminescence (phagocytose)</p>	<p>Expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1β, IL-6, IL-8 et IL-12p40 par les macrophages au MOI 1:100 (macrophage : bactérie) en fold change</p> <p>Concentration (μM) d'oxyde de nitrite dans le surnageant cellulaire au MOI 1:100</p> <p>Capacité de phagocytose des macrophages au MOI 1:1000</p>	<p><i>L. reuteri</i> (sous forme bactérienne) :</p> <ul style="list-style-type: none"> -induit l'expression de cytokines pro-inflammatoires IL-1β mais pas celle d'IL-6 par les macrophages -régule positivement l'expression de IL-8 et IL-12p40 maximale après 12h ou 18h de culture par les macrophages -augmente la capacité de phagocytose des macrophages 2h après stimulation par du LPS - diminue la production de NO 24h après stimulation par du LPS

<p>Tuo</p> <p>Study of probiotic potential of four wild <i>Lactobacillus rhamnosus</i> strains</p> <p>2013</p>	<p>Étudier l'activité immunomodulatrice de quatre souches <i>L. rhamnosus</i> (sous forme d'ADN, de puits cellulaire ou de bactérie vivante) sur les cellules sanguines périphériques mononuclées humaines via la stimulation de cytokines pro-inflammatoires</p>	<p><i>Lactobacillus rhamnosus</i> SB5L, J5L, IN1L et SB31L (issu d'aliments fermentés traditionnels de Gansu et de matières fécales d'enfants du Harbin-Chine)</p> <p>Quantité : 1x10⁶ CFU/mL</p>	<p>Cytokines pro-inflammatoires IL-12, TNF-α et IFN-γ</p>	<p>Cellules sanguines périphériques mononuclées humaines (PBMC) provenant de volontaires en bonne santé</p> <p>Quantité : 2x 10⁵ cellules/mL</p>	<p>Test de dispersion</p> <p>Test ELISA</p>	<p>Zone d'inhibition</p> <p>Concentration de cytokines pro-inflammatoires dans le surnageant cellulaire au MOI 1:10 (cellule : bactérie) en pg/mL</p>	<p>Les différentes souches de <i>L. rhamnosus</i></p> <p>-survivent dans le suc gastro-intestinal simulé</p> <p>-induisent la production des cytokines pro-inflammatoires IL-12 (1.29 pg/mL +/- 0.46 vs 94 +/- 9 pour la souche IN1L), TNF-α (896 +/- 15 vs 10077 +/- 672 pour la souche JL5) et IFN-γ (2038 +/- 255 vs 75 169 +/- 4077) pour la souche SB31L) notamment sous sa forme vivante</p>
<p>Caglar</p> <p>Viability of fibroblasts in a novel probiotic storage media</p> <p>2010</p>	<p>Evaluer la capacité de <i>L. reuteri</i> à maintenir la viabilité des cellules desmodontales</p>	<p><i>L. reuteri</i> DSM 17938</p> <p><i>L. reuteri</i> ATCC PTA 5289</p> <p>Quantités : >1x10⁸ Colony- Forming Units / 5drops</p>	<p>Cellules desmodontales issues de la surface radiculaire de dents extraites</p>	<p>Prémolaires à apex fermés extraites pour raison orthodontique</p>	<p>Comptage cellulaire sous microscope à l'aide d'un hématimètre</p>	<p>Viabilité des cellules desmodontales</p>	<p><i>L. reuteri</i> permet de conserver la vitalité des cellules desmodontales sans différence significative avec le sérum physiologique ou le lait (milieux préconisés) pour la conservation des dents expulsées avant réimplantation</p>

<p>Baca-Castanon</p> <p>Antimicrobial Effect of <i>Lactobacillus reuteri</i> on Cariogenic Bacteria <i>Streptococcus gordonii</i>, <i>Streptococcus mutans</i>, and Periodontal Diseases <i>Actinomyces naeslundii</i> and <i>Tannerella forsythia</i></p> <p>2014</p>	<p>Evaluer la capacité d'inhibition de croissance de <i>L. reuteri</i> contre les bactéries <i>T. forsythia</i> et <i>A. naeslundii</i> incriminées dans l'apparition des maladies parodontales</p>	<p><i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC55730</p>	<p><i>T. forsythia</i> ATCC 43037</p> <p><i>A. naeslundii</i> ATCC 51655</p> <p><i>S. mutans</i> ATCC 700611</p>	<p>Disques de papier filtre sur boites de Petri</p>	<p>Spectrophotomètre (morphologie et différenciation bactérienne)</p> <p>Méthode Kirby Bauer : méthode de diffusion par la gélose</p> <p>Mesure de la largeur de la zone d'inhibition</p>	<p>Halo d'inhibition de croissance des bactéries parodontopathogènes autour des disques imprégnés de <i>L. reuteri</i></p> <p>mesure de pH</p>	<p><i>L. reuteri</i> induit :</p> <p>-inhibition de croissance contre <i>S. mutans</i> > <i>T. forsythia</i> > <i>A. naeslundii</i> (10±1, 8.5 ± 0.54 mm et 5.8 ± 4.53 mm respectivement)</p> <p>- inhibition moindre par rapport à CHX 0,12 % (15.66 ± 3.50 et 6.83 ± 5.38 mm respectivement) après 16h de contact</p> <p>milieu de croissance de <i>L. reuteri</i> autour de 4,35</p> <p>milieu de croissance de <i>S. mutans</i>, <i>A. naeslundii</i> et <i>T. forsythia</i> autour de 5,5</p>
<p>van Escche</p> <p>Bacterial Antagonism Against Periodontopathogens</p> <p>2013</p>	<p>Comparer la capacité-de probiotiques à inhiber la croissance de 4 bactéries parodontopathogènes à celle de bactéries issues de la flore commensale</p>	<p><i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG</p>	<p><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 43718</p> <p><i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p><i>Prevotella intermedia</i> ATCC 25611</p> <p><i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 49256</p>	<p>Plaques de gélose de sang</p>	<p>Méthode de diffusion sur gélose</p> <p>Identification moléculaire des bactéries commensales (RT-PCR)</p> <p>Mesure de la largeur de la zone d'inhibition</p>	<p>Halo d'inhibition de croissance des bactéries parodontopathogènes par <i>L. rhamnosus</i> ou les bactéries de la flore commensale (patients sains ou atteints de parodontite)</p>	<p><i>L.rhamnosus</i> GG induit :</p> <p>-inhibition de croissance de <i>P. gingivalis</i> > <i>P. intermedia</i> > <i>A. actinomycetemcomitans</i> > <i>F. nucleatum</i> (respectivement 4.07± 0.84 mm ; 1.71± 0.39 mm ; 0.47± 0.24 mm ; 0.14± 0.15 mm)</p> <p>- inhibition de croissance supérieure aux bactéries de la flore commensale pour <i>P. gingivalis</i> (sains : 0.96± 0.61mm/parodontite : 1.37± 0.85mm) et <i>P. intermedia</i> (sains : 0.29± 0.25mm/parodontite : 0.31± 0.24mm)</p> <p>-inhibition de croissance inférieure aux bactéries de la flore commensale pour <i>F. nucleatum</i> (sains : 0.47± 0.45mm/parodontite : 0.29± 0.36mm) et <i>A. actinomycetemcomitans</i> (sains : 0.33± 0.36mm/parodontite : 0.42± 0.35mm)</p>

<p>Evrard</p> <p>Dose-Dependent Immunomodulation of Human Dendritic Cells by the Probiotic <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lcr35</p> <p>2011</p>	<p>Evaluer la capacité de différentes concentrations de <i>L. rhamnosus</i> à réguler l'activité immunomodulatrice des cellules dendritiques par l'expression de certains gènes et la production de cytokines</p>	<p><i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lcr35</p> <p>2 concentrations utilisées :</p> <p>10⁴ CFU (MOI = 0,01)</p> <p>10⁷ CFU (MOI=10)</p>	<p>Gènes CD86, CD83, HLA-DR et TLR-4</p> <p>Cytokines TNF-α , IL-12p40, IL-12p70, IL-1β et IL-23</p>	<p>Monocytes dérivés de cellules dendritiques immatures humaines</p>	<p>qRT-PCR</p> <p>Cytométrie de flux</p> <p>Puce à ADN</p>	<p>Régulation de l'expression de gènes présents dans les cellules dendritiques (DC) par <i>L. rhamnosus</i></p> <p>Régulation de la production de cytokines par les cellules dendritiques par <i>L. rhamnosus</i></p>	<p><i>L. rhamnosus</i> induit :</p> <ul style="list-style-type: none"> - régulation positive de 58 gènes et négative de 139 gènes des cellules dendritiques à fortes doses de probiotiques (MOI10) – les gènes concernés sont impliqués dans : <ol style="list-style-type: none"> 1. la réponse immune et inflammatoire 2. la production des anticorps 3. la signalisation intracellulaire 4. la transduction des signaux - immunomodulation par régulation positive de la réponse pro-inflammatoire des cellules dendritiques type Th1 et Th17 (IL-1β (environ 2pg/mL vs 25pg/mL), TNF-α (environ 20 vs 1500) , IL-12p40 (environ 20 vs 3500), IL-23 (environ 10 vs 160) à des doses fortes (MOI10) : régulation positive des gènes et production augmentée des cytokines - modification du phénotype des DC à MOI 10 : pro-inflammatoire (76%), pro et anti-inflammatoire (11%) et anti-inflammatoire (13%) - pas d'effet immunomodulateur à des doses faibles (MOI 0,01) les DC restent immatures
---	---	---	---	--	--	---	--

<p>Saha</p> <p>Investigation of probiotic bacteria as dental caries and periodontal disease biotherapeutics 2014</p>	<p>Evaluer la capacité d'inhibition de croissance de <i>L. reuteri</i> contre <i>S. mutans</i> ainsi que de ses propriétés antibactériennes</p>	<p>5 souches de <i>L. reuteri</i> :</p> <p>-NCIMB 701359</p> <p>-NCIMB 701089</p> <p>-NCIMB 702655</p> <p>-NCIMB 702656</p> <p>-NCIMB 11951</p> <p>Quantité : approximativement 10⁷ CFU/mL</p>	<p><i>S. mutans</i> NCIMB 702062</p> <p>Quantité : approximativement 10⁷ CFU/mL</p>	<p>Gélose MRS (Man, Rogosa and Sharpe)</p> <p>Fluide salivaire artificiel</p>	<p>Comptage cellulaire</p> <p>Mesure de l'absorbance</p> <p>mesure de pH (pHmètre)</p> <p>methode colorimétrique à l'acide dinitrosalicylique (consommation de sucre)</p>	<p>Viabilité cellulaire (activité de la bactériocine) au MOI 1:10 (<i>S. mutans</i> : probiotique)</p> <p>Adhésion compétitive aux cellules de l'épithélium gingival (2x 10⁴) au MOI 1:1000 (cellule:bactérie)</p> <p>Production d'oxyde nitrique au MOI 1:1000</p> <p>Activité antioxydante bactérienne au MOI 1:1000</p>	<p>Les différentes souches testées de <i>L. reuteri</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> -inhibent la croissance de <i>S. mutans</i> (<10 CFU/ml de cellules viables) au MOI 1:1 - ne modifient pas le pH du milieu - ne diffèrent pas dans leur consommation de sucre par rapport à <i>S. mutans</i> en proportions égales (146.22±0.01 mM) mais la souche de <i>L. reuteri</i> NCIMB 701089 en consomme le plus (144.53±0.01 mM) - <i>L. reuteri</i> NCIMB 11951 a la meilleure capacité d'adhésion aux cellules épithéliales - <i>L. reuteri</i> NCIMB 701089 est la seule souche produisant une plus grande quantité d'oxyde nitrique que les autres souches mais moins comparé à <i>S. mutans</i> <p>Toutes les souches de <i>L. reuteri</i> ont une activité antioxydante supérieure à celle de <i>S. mutans</i> (3.24±0.62 µM vs 13.99±0.94 µM pour la souche NCIMB 701359)</p> <ul style="list-style-type: none"> - absence d'activité inhibitrice efficace des bactériocines pour les différentes souches
--	---	---	--	---	---	---	---

<p>Mendi</p> <p>Antioxydant Lactobacilli Could Protect Gingival Fibroblasts Against Hydrogen Peroxide: A Preliminary In Vitro Study</p> <p>2014</p>	<p>Etudier l'aptitude des lactobacilles et des bifidobactéries à protéger les fibroblastes gingivaux grâce à leur pouvoir anti-oxydant afin de déterminer la souche la plus appropriée en dentisterie</p>	<p>Lactobacilles provenant de selles d'enfants</p> <p><i>L. rhamnosus</i> GD11</p> <p>Quantité : 1×10^{11} CFU/mL</p>	<p>Fibroblastes gingivaux</p> <p>10^3/ puits</p>	<p>Gélose Man, Rogosa and Sharpe</p>	<p>Comptage cellulaire (résistance H₂O₂)</p> <p>Spectrophotométrie (absorbance bleue de tryptan pour viabilité et différence d'absorbance de DPPH pour l'activité anti-oxydante et absorbance de phénol et acide sulfurique pour la quantification EFP)</p>	<p>Quantification de la production d'exopolysaccharides (EPS)</p> <p>Viabilité des probiotiques après exposition au peroxyde d'hydrogène</p> <p>Pourcentage de mort cellulaire des fibroblastes suite à l'exposition au peroxyde d'hydrogène en présence du probiotique</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - a une capacité de production d'exopolysaccharides significativement plus importante que les autres souches testées (28 +/- 0.7 mg/l pour la souche LA3 vs 44±2mg/l pour la souche A10 vs 117±0,5mg/l pour la souche GD11) sauf <i>B. breve</i> A28 - résiste au peroxyde d'hydrogène même après 30 minutes à 30mM de concentration - induit une mortalité des fibroblastes gingivaux (50%) mais protection de la mort cellulaire par le peroxyde d'hydrogène pour <i>L. rhamnosus</i> (65 % de mort cellulaire)
<p>Stamatova</p> <p>In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG adhesion to saliva-coated surfaces</p> <p>2009</p>	<p>Explorer la capacité d'adhésion de <i>L. rhamnosus</i> GG aux surfaces recouvertes d'enduit salivaire et son impact sur l'adhésion d'une bactérie parodontopathogène via des mécanismes de compétition bactérienne</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103</p> <p>Quantité : approximativement 10^7 CFU/mL</p>	<p><i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC 10556</p> <p><i>S. sanguinis</i>, serotype I 972</p> <p>Quantité : approximativement 10^7 CFU/mL</p>	<p>Perles d'hydroxy-apatite recouvertes d'enduit salivaire prélevé chez 5 patients sains</p> <p>Plaque en polystyrène pour microtitration remplie d'enduit salivaire prélevé chez 5 patients sains</p>	<p>Mesure de la radioactivité</p>	<p>Adhésion de <i>L. rhamnosus</i> aux surfaces recouvertes d'enduit salivaire</p> <p>Adhésion aux surfaces salivaire pré-traitées par lysozymes</p> <p>Adhésion de <i>S. sanguinis</i> aux surfaces recouvertes de salive prétraité par <i>L. rhamnosus</i> GG</p> <p>MOI 1:1</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> a une meilleure capacité d'adhésion comparé aux autres lactobacilles étudiées mais inférieure aux souches de <i>S. sanguinis</i> (9,89±0,11 % vs 11,18±0,05% et 18,89±0,08 %), augmentation de cette adhésion face à une surface pré-traitée aux lysozymes (9,89±0,11 % vs 16,09±0,04%)</p> <p>Pas de différence significative de l'adhésion de <i>S. sanguinis</i> aux surfaces salivaire quand pré-traitée avec les souches de lactobacilles</p>

<p>Albuquerque-Souza</p> <p>Probiotics alter the immune response of gingival epithelial cells challenged by <i>Porphyromonas gingivalis</i></p> <p>2018</p>	<p>Evaluer la capacité de 12 souches de probiotiques en compétition avec deux souches de <i>P. gingivalis</i> à moduler la réponse immunitaire des cellules épithéliales gingivales</p>	<p>Lactobacilles et bifidobactéries dont :</p> <p><i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938</p> <p><i>L. rhamnosus</i> Lr-32</p> <p><i>L. rhamnosus</i> HN001</p> <p><i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12</p> <p>2.0 x 10⁸ CFU/mL</p>	<p><i>P. gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p><i>P. gingivalis</i> W83</p> <p>2.0 x 10⁸ CFU/mL</p>	<p>Cellules épithéliales gingivales humaine (lignée cellulaire OBA-9)</p> <p>2x10⁵ cellules par puits</p>	<p>Numération des cellules vivantes (MTT assay)</p> <p>Tests ELISA</p> <p>RT-qPCR</p>	<p>- % de cellules épithéliales viables en présence d'une souche de <i>P.g</i> et/ou de probiotique au MOI 1:1000</p> <p>- Quantification de la concentration de IL-1β, TNF-α, et CXCL8 (en pg/mL) au MOI 1:1000</p> <p>- Adhésion et invasion d'une souche de <i>P.g</i> aux cellules épithéliales au MOI 1:1000</p> <p>- ARNm des récepteurs TLR-2 et TLR-4 au MOI 1:1000</p>	<p>Neutralisation de la baisse de viabilité cellulaire par les souches de <i>P. gingivalis</i> lors de la co-infection avec les probiotiques voire augmentation significative de la viabilité en présence de Lr-32 et LA-5 (p<0,01)</p> <p>- Adhésion diminuée des 2 souches de <i>P. gingivalis</i> lors de la co-infection avec les probiotiques (sauf DSM avec W83)</p> <p>- Invasion inhibée de <i>P. gingivalis</i> lors de la co-infection (sauf par les lactobacilles avec la souche 33277)</p> <p>- Adhésion des probiotiques aux cellules OBA-9 augmentent significativement en co-infection/mono-infection (p<0,001)</p> <p>→ sélection de 5 souches de probiotiques dont <i>Lr32</i> :</p> <p>- En mono-infection, * <i>Lr 32</i> diminue la production de TNF-α (50 vs 15 pg/mL) par les cellules OBA-9</p> <p>* <i>Lr 32</i>, diminue l'expression de TLR-2 sans modification de celle de TLR-4</p> <p>- En co-infection avec <i>P. gingivalis</i> après 2h: * <i>Lr 32</i> diminue la sécrétion de TNF-α (environ 160 vs 45 pg/mL en présence de la souche 33277 / 105 vs 50 pg/mL avec la souche W83) (p<0,0001)</p> <p>* <i>Lr32</i> augmente celle d'IL-8 (5 vs 10 pg/mL avec la souche 33277 / 8 vs 35 pg/mL avec la souche W83) par les cellules OBA-9</p> <p>* Abolition des effets des souches de <i>P.g</i> (<i>P.g</i> diminuent l'expression de TLR-2 et augmentent celle de TLR-4) par les probiotiques = <i>Lr 32</i>, augmente l'expression de TLR-2 et diminue celle de TLR-4</p>
---	---	--	---	--	---	--	---

<p>Dong</p> <p>Comparative effects of six probiotic strains on immune function <i>in vitro</i></p> <p>2011</p>	<p>Évaluer la capacité de 6 souches de probiotiques dont <i>L.rhamnosus</i> et <i>L.reuteri</i> à moduler la réponse immunitaire des cellules sanguines périphériques mononuclées</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103</p> <p><i>L. reuteri</i> NCIMB 11951</p>	<p>Marqueurs CD69 et CD25</p> <p>Cytokines IL-1b, IL-6, IL-10, TNF-a / Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (G-MCSF) / Macrophage inflammatory protein 1a (MIP-1a)</p>	<p>Cellules sanguines périphériques mononuclées provenant de 7 individus sains âgés de 58 à 65ans</p> <p>2x10⁶ cellules/mL</p>	<p>Cytométrie en flux</p> <p>Multiplex (human cytokines array)</p> <p>Test cytotoxique au bleu de Trypan</p>	<p>Expression des marqueurs CD69 et CD25 à la surface des lymphocytes, cellules T et cellules NK en présence des différences souches de probiotiques</p> <p>Modulation de l'activité des cellules NK</p> <p>Production des cytokines IL-1b, IL-6, IL-10, TNF-α / G-MCSF / MIP-1α MOI 1:1</p>	<p>- Meilleure viabilité cellulaire avec <i>L. reuteri</i> (46%) puis <i>L. rhamnosus</i> (36%)</p> <p>- Augmentation significative de l'expression de CD69 et CD25 sur les lymphocytes et les cellules NK (57,55 à 82,52 % et 8,08 à 22,26 %, respectivement) et seulement l'expression de CD69 sur les cellules T</p> <p>- Augmentation significative de l'activité cellulaire NK par toutes les souches au ratio 50:1 (38,3 à 42,3%)</p> <p>-Cytokines : <i>L. rhamnosus</i>, et <i>L. reuteri</i> augmentent la sécrétion de IL-1β, TNF-α, IL-8, IL-10, IL-6, MIP-1α par les cellules mononuclées</p>
<p>Widyarman</p> <p>The anti-inflammatory effects of glycerol-supplemented probiotic <i>Lactobacillus reuteri</i> on infected epithelial cells <i>in vitro</i></p> <p>2018</p>	<p>Évaluer l'activité anti-inflammatoire de <i>L. reuteri</i> supplémentée en glycérol <i>via</i> la modulation de l'expression de IL-8 et hBD-2 par des cellules de lignées kératinocytaires humaines (HaCat) stimulées par <i>P.gingivalis</i> ou <i>S. mutans</i></p>	<p><i>L. reuteri</i> ATCC 55730</p> <p>10⁷ CFU/mL</p>	<p><i>S. mutans</i> ATCC 25175</p> <p><i>P. gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p>10⁷ CFU/mL</p>	<p>Cellules épithéliales humaines (lignée cellulaire kératinocytaire HaCat)</p> <p>10⁵ cellules/mL</p>	<p>Numération des cellules vivantes (MTT assay)</p> <p>RT-qPCR</p>	<p>Viabilité des cellules épithéliales au MOI 1:100 (cellule : bactérie)</p> <p>Expression de l'ARNm de IL-8 et hBD-2 par les cellules épithéliales au MOI 1:100</p>	<p><i>L. reuteri</i> supplémenté en glycérol n'affecte pas la viabilité des cellules HaCat</p> <p>- Cellules stimulées par <i>S. mutans</i> :</p> <p>* Diminution significative de l'expression de IL-8 au bout de 3h (p<0,001) en présence de <i>L. reuteri</i> supplémenté par le glycerol ou au bout de 6h (p=0,018) quand non supplémenté</p> <p>* Diminution de l'expression de hBD-2 au bout de 3h en présence de <i>L. reuteri</i> supplémenté ou non en glycerol mais en quantité plus importante si glycérol</p> <p>- Cellules stimulées par <i>P. gingivalis</i> :</p> <p>* Diminution significative de l'expression de IL-8 au bout de 6h (p<0,001) si adjonction de <i>L. reuteri</i> supplémenté en glycerol mais absence de modulation quand non supplémenté voire augmentation au bout de 3h* Diminution de l'expression de hBD-2 au bout de 6h avec ou sans glycérol (p<0,001)</p>

<p>Zhu</p> <p>Competition between yogurt probiotics and periodontal pathogens in vitro</p> <p>2010</p>	<p>Étudier la capacité d'inhibition de croissance d'un cocktail de probiotiques (issus de yaourts) contre des bactéries parodontopathogènes</p>	<p><i>Lactobacillus bulgaricus</i></p> <p><i>Streptococcus thermophilus</i></p> <p><i>Lactobacillus acidophilus</i></p> <p><i>Bifidobacterium lactis</i> Im26 et Lm3r</p> <p>issus de yaourts commerciaux contenant les probiotiques (Chine)</p> <p>10⁸ CFU/mL</p>	<p><i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586</p> <p><i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277</p> <p><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 29523</p> <p><i>Prevotella intermedia</i> ATCC 25611</p> <p><i>Prevotella nigrescens</i> ATCC 33563</p> <p><i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337</p> <p><i>Bacteroids fragilis</i> ATCC 25285</p> <p><i>Porphyromonas circumdentaria</i> NCTC 12469</p> <p><i>S. sanguinis</i> ATCC 10556</p> <p>10⁸ CFU/mL</p>	<p>Gel d'infusion coeur-cerveau</p>	<p>Méthode de diffusion sur gélose</p> <p>PCR</p>	<p>Halo d'inhibition de croissance des bactéries parodontopathogènes au MOI 1:1 (bactérie : bactérie)</p> <p>Compétition bactérienne au MOI 1:1</p>	<p>- Le cocktail de probiotiques induit une inhibition de croissance de :</p> <p><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC 29523 (9,3 +/- 0,6mm) < <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 (10,6 +/- 1,2mm) < <i>Porphyromonas circumdentaria</i> NCTC 12469 (11,2 +/- 1,4mm) < <i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586 et <i>Bacteroids fragilis</i> ATCC 25285 (11,4 +/- 0,9mm) < <i>Prevotella intermedia</i> ATCC 25611 (11,5 +/- 1,4mm) < <i>Prevotella nigrescens</i> ATCC 33563 (13,7 +/- 2,6mm) < <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337 (17,3 +/- 1,7mm)</p> <p>- Compétition entre les probiotiques et les bactéries parodontopathogènes en tant que colonisateur primaire : <i>*Bifidobacterium lactis</i> inhibe <i>Porphyromonas gingivalis</i>, <i>Fusobacterium nucleatum</i>, <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>, <i>Porphyromonas circumdentaria</i>, et <i>Prevotella nigrescens</i></p> <p>- Absence de compétitions bactériennes quand les probiotiques sont utilisés simultanément avec les bactéries parodontopathogènes où quand ils sont colonisateurs secondaires.</p> <p>* <i>S. sanguinis</i>, en tant que colonisateur primaire, inhibe les quatre souches de probiotiques mais exclusion diminuée quand inoculation simultanée de cette bactérie protectrice avec les probiotiques ou en tant que colonisateur secondaire.</p>
--	---	---	--	-------------------------------------	---	---	---

<p>Rocha-Ramirez</p> <p>Probiotic Lactobacillus Strains Stimulate the Inflammatory Response and Activate Human Macrophages</p> <p>2017</p>	<p>Étudier la capacité de <i>L. rhamnosus</i> à moduler la réponse inflammatoire des macrophages via la production de cytokine, la production d'espèces oxygènes-réactives et la participation à des cascades d'activation avec NF-κBpp65 et TLR-2</p>	<p><i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG</p> <p><i>L. rhamnosus</i> KLSD</p> <p>10⁸ CFU/mL</p>	<p>IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF-α</p> <p>voie d'activation NF-κB</p>	<p>Macrophages dérivés de monocytes humains (donneurs volontaires) : 1x10⁵</p> <p>Embryons de reins humains HEK293</p>	<p>Test ELISA</p> <p>Chemoluminescence indirecte</p> <p>Microscopie à épifluorescence</p>	<p>Production d'espèces réactives de l'oxygène MOI 1:10, 1:50, 1:100, 1:250 et 1:500 (macrophage / lactobacilles)</p> <p>Quantification de la production de cytokines par les macrophages MOI 1:500 (macrophage : lactobacilles) en pg/mL</p> <p>Pourcentage d'activation de NF-κBpp65 MOI 1:500 (macrophages : lactobacilles)</p> <p>Quantification de la production de IL-8 par les HEK293-hTLR2</p>	<p>Les différentes souches de lactobacilles induisent une :</p> <ul style="list-style-type: none"> - augmentation de la production d'espèces dérivées réactives de l'oxygène par les macrophages proportionnelle à la concentration en probiotiques maximum au MOI de 1:500 pour <i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. rhamnosus</i> KLSD, (190±15 et 196±24 Mv/mL, respectivement) - augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires de manière significative : IL-8 (environ 1000 pg/mL vs 6200 pour les souches GG et KLSD), TNF-α (environ 50 vs 1800 pour les 2 souches) , IL-6 (environ 0 vs 950 pour les 2 souches) , IL-12p70 (environ 20 vs 650 pour les 2), IL-10 (environ 10 vs 180 pour les 2) (p<0,05) par les macrophages - activation du facteur NF-κBpp65 chez plus de 60% des macrophages contre 20% sans probiotiques - activation des récepteurs TLR-2 aboutissant à une réponse inflammatoire via la production de IL-8
--	--	---	--	---	---	--	--

<p>Lopez</p> <p>Distinct Bifidobacterium strains drive different immune responses <i>in vitro</i></p> <p>2009</p>	<p>Etudier la capacité des différentes souches de <i>B. animalis</i> à moduler la réponse immunitaire des cellules dendritiques (DC) et des PBMC par la production de cytokines</p>	<p>12 souches de Bifidobacteria dont <i>B. animalis subsp lactis</i> BB-12, IPLA 4549 et 4549dOx</p>	<p>Gènes CD1a, CD40, CD80, CD86 et HLA-DR responsables de la maturation des cellules dendritiques</p> <p>Cytokines IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17, IFNγ et TNFα</p>	<p>Cellules dendritiques dérivant de monocytes humains 5x10⁵cellules / mL</p> <p>PBMC provenant d'humains en bonne santé 2x 10⁴ cellules/mL</p>	<p>Cytométrie en flux</p>	<p>Expression des gènes CD1a, CD40, CD80, CD86 et HLA-DR responsables de la maturation des cellules dendritiques après 48h d'exposition à un probiotique ratio 1/10 DC/probiotique</p> <p>Quantification de la production des cytokines IL-8, IL-6, IL-1β, IL-10, TNF-α et IL-12 après 48h au ratio cellule / bactérie 1/5</p> <p>Quantification de la production des cytokines IL-4, IL-2, IL-10, IL-17, IFN-γ et TNF-α par les PBMC ratio 1:5 (PBMC/probiotiques)</p>	<p>Les différentes souches de <i>B. animalis</i> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - régulent négativement l'expression de CD1a et positivement l'expression des gènes CD40, CD80, CD86 et HLA-DR en proportion équivalente au LPS (provenant de <i>E. coli</i>). Le surmageant cellulaire des probiotiques a un effet beaucoup moins significatif. - Augmentation de la production des différentes cytokines en mono-infection notamment IL-8 (environ 2 vs 25 pg/mL pour les trois souches), IL-6 (production comprise entre 6 000 et 10 000 pour les trois souches vs 0 pg/mL) Les souches de <i>B. animalis</i> induisent une augmentation de IL-12 (environ 0 vs 80 pg/mL sauf 4549dOx environ 40pg/mL) Augmentation du ratio TNF-α/IL-10 non significatif et diminution IL-10/IL-12 => <i>B. animalis</i> induit la réponse inflammatoire des DC type TH1 Les différentes souches de <i>B. animalis</i> entraînent : <ul style="list-style-type: none"> - Diminution de la production de IL-2 (environ 30 vs 5 pg/mL pour Bb-12) et IL-4 (2 vs 0 pg/mL pour 4549dOx et IPLA 4549) - Augmentation de la production de IL-10 (environ 20 vs 1500 pg/mL pour Bb-12), de TNF-α (environ 0 vs 5000 pg/mL pour IPLA 4549) et de IFN-γ (environ 50 vs 7000 pg/mL pour 4549 dOx)
---	---	--	--	---	---------------------------	--	--

<p>Mokrozub</p> <p>The role of beneficial bacteria wall elasticity in regulating innate immune response</p> <p>2015</p>	<p>Évaluer le potentiel de deux souches de <i>B. animalis</i> à influencer la réponse immunitaire des macrophages par la production d'azote, d'espèces réactives à l'oxygène et de cytokines</p>	<p><i>B. animalis</i> VKL</p> <p><i>B. animalis</i> VKB</p>	<p>Production de NO/NO₂</p> <p>Activité bactéricide oxygène dépendante</p> <p>Production des cytokines IFN-γ et IL-12</p>	<p>Macrophages provenant de la cavité péritonéale de la lignée de souris Balb/c</p>	<p>Microscope à force atomique</p> <p>Test NBT (nitroblue tetrazolium recovery)</p> <p>Test ELISA</p>	<p>Production de NO/NO₂ par les macrophages MOI 1:100</p> <p>Activation de l'activité bactéricide oxygène dépendante des macrophages MOI 1:100</p> <p>Quantification de la production de cytokines IFN-γ et IL-12 MOI 1:100</p>	<p>Les différentes souches de <i>B. animalis</i> induisent :</p> <ul style="list-style-type: none"> - augmentation de la production de NO/NO₂ (en quantité plus importante pour VKB) - augmentation de l'activité bactéricide oxygène dépendante par les 2 souches en proportion équivalente <p>Augmentation de la production de IFN-γ (60.2 \pm 1.1 pg/mL vs 72.3 \pm 2.4 pour la souche VKL / 77.7 \pm 4.0 pour VKB) et diminution de la production de IL-12 (11.0 \pm 0.5 vs 5.0 \pm 0.2 pour VKL 3.0 \pm 0.4 pour VKB) par les macrophages à des quantités peu significatives</p>
<p>Ashraf</p> <p>Lactic acid bacteria and probiotic organisms induce different cytokine profile and regulatory T cells mechanisms</p> <p>2014</p>	<p>Etudier le potentiel des différentes souches de probiotiques à moduler la réponse immunitaire des PBMC via la production de cytokines et l'expression du marqueur CD25 des lymphocytes T</p>	<p><i>B. animalis</i> BB-12</p> <p><i>L. reuteri</i></p> <p><i>L. rhamnosus</i> GG 5434 (LG 5435)</p>	<p>Production des cytokines IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 (p70), IFN-γ, TNF-α et TGF-β</p> <p>Marqueurs CD25</p>	<p>Cellules sanguines périphériques mononuclées humaines</p>	<p>Cytométrie en flux</p> <p>Test ELISA</p>	<p>Quantification de la production des cytokines IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 (p70), IFN-γ, TNF-α et TGF-β en pg/mL au MOI 1:1</p> <p>Expression du marqueur CD25 par les lymphocytes T en % au MOI 1:1</p>	<p>Augmentation de la production des cytokines :</p> <ul style="list-style-type: none"> - IL-2 : environ 15 pg/mL pour <i>L. reuteri</i> vs 20 pour la souche BB-12 vs 115 pour la souche GG - IL-4 : environ 25 pg/mL pour <i>L. reuteri</i> vs 30 pour la souche BB-12 vs 70 pour la souche GG - IL-10 : environ 700 pg/mL pour <i>L. reuteri</i> vs 1 000 pour la souche GG vs 2 000 pour la souche BB-12 - IL-12 (p70) : environ 100 pg/mL pour <i>L. reuteri</i> vs 310 pour la souche BB-12 vs 520 pour la souche GG - IFN-γ : environ 600 pg/mL pour <i>L. reuteri</i> vs 2 000 pour la souche BB-12 et 2 500 pour la souche GG - TNF-α : environ 3 600 pg/mL pour les souches <i>L. reuteri</i> et BB-12 vs 3 800 pour la souche GG - TGF-β : environ 7 000 pg/mL pour la souche BB-12 vs 9 000 pour la souche GG vs 10 000 pour <i>L. reuteri</i> <p>Augmentation de l'expression du marqueur CD25 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 3,24 % pour le groupe contrôle vs 8,84 % pour <i>L. reuteri</i> vs 10,37% pour la souche GG vs 12,24% pour la souche BB-12

<p>Hidalgo-Cantabrana</p> <p>Whole fractions from probiotic bacteria induce in vitro Th17 responses in human peripheral blood mononuclear cells</p> <p>2018</p>	<p>Evaluer la capacité de <i>L. rhamnosus</i> GG à moduler la réponse immunitaire des PBMC via la production de cytokines</p>	<p><i>L. rhamnosus</i> GG</p>	<p>Production des cytokines IL-1 β, IL-10, IL-17, IL-22 et TNF-α</p>	<p>Cellules sanguines périphériques mononuclées humaines</p> <p>2x10⁶ cellules/mL</p>	<p>Th1/Th2/Th9/Th17/Th22/Treg Cytokine 18-Plex Human ProcartaPlex™ Panel and the Luminex® xMap Technology</p>	<p>Quantification de la production des cytokines IL-1β, IL-10, IL-17, IL-22 et TNF-α</p>	<p>Augmentation de la production des cytokines :</p> <ul style="list-style-type: none"> - IL-1β : environ 0 pg/mL pour le groupe contrôle vs 350 pg/mL pour la souche GG - TNF-α : environ 5 pg/ mL vs 35 pg/mL pour la souche GG - IL-22 : environ 0 pg/mL vs 400 pg/mL pour la souche GG <p>=> <i>L. rhamnosus</i> GG induit la réponse Th17 des PBMC</p>
---	---	-------------------------------	---	--	---	---	--

Mécanismes d'action des probiotiques dans des modèles parodontaux *in vitro* : revue de littérature / **ROUTIER Arthur.**- p.124 ill.23 ; réf.141.

Domaines : Parodontologie ; Microbiologie

Mots clés Rameau: Probiotiques ; Parodontopathies ; Lactobacilles ; Bifidobacterium

Mots clés FmeSH: Probiotiques ; Maladies parodontales ; *Lactobacillus reuteri* ; *Lactobacillus rhamnosus* ; *Bifidobacterium animalis*

Résumé de la thèse

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés dans des posologies adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte. Ces bactéries ont montré leur efficacité en santé générale et notamment dans le maintien de l'équilibre du microbiote intestinal. La cavité buccale étant le deuxième écosystème le plus représenté de l'organisme, il semble nécessaire d'agir sur le maintien de l'équilibre microbien dans le cadre de pathologies infectieuses comme la maladie parodontale. Quand est-il de l'usage des probiotiques en parodontologie ? Quelles souches bactériennes sont principalement utilisées ? Par quels mécanismes d'action agissent-ils pour contribuer au maintien de la santé parodontale ?

Cette revue de littérature a pour but d'informer les praticiens sur l'intérêt grandissant des probiotiques dans notre domaine d'activité et de comprendre les mécanismes d'actions par lesquels les probiotiques, en particulier *L. reuteri*, *L. rhamnosus* et *B. animalis*, agissent dans des modèles parodontaux *in vitro*.

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Guillaume PENEL

**Assesseurs : Madame le Docteur Alessandra BLAIZOT
Monsieur le Docteur Kevimy AGOSSA
Madame le Docteur Marie DUBAR**