



Contrôle des probiotiques

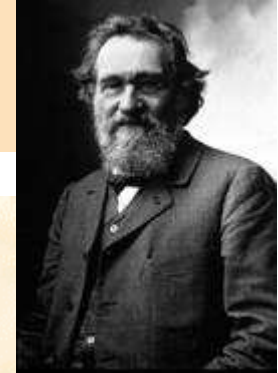
SCL - Laboratoire de Rennes

Brigitte THIMOLEON

SOMMAIRE

- **Rapide historique**
- **Définitions**
- **Propriétés**
- **Réglementation**
- **Enquêtes - Analyses**
- **Premiers constats sur enquête en cours**

Rapide Historique



- Le chercheur russe Metchnikoff, prix Nobel 1908 est convaincu que les bactéries lactiques ont des propriétés bienfaisantes sur la santé induisant une plus grande longévité (livre publié en 1907).
- Le terme « **probiotiques** » fut à l'origine introduit par Lilly et Stiwell en 1965 .

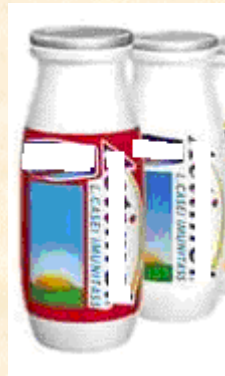
SOMMAIRE

- **Rapide historique**
- **Définitions**
- **Propriétés**
- **Réglementation**
- **Enquêtes - Analyses**
- **Premiers constats sur enquête en cours**

Probiotiques : Définitions



- **Microorganismes vivants** qui, administrés en **quantités adéquates**, sont **bénéfiques** pour la **santé** de l'hôte (FAO/OMS-octobre 2001).
- Dans les compléments alimentaires, la notion de **probiotiques** est associée à la notion de **prébiotiques**.



- **Symbiotique : probiotiques + prébiotiques**

Au sujet de la classification

- La classification d'un micro-organisme
 - genre
 - espèce
 - parfois sous-espèce (subsp)
Ex : *Lactobacillus casei subsp rhamnosus*
- L'identité de la souche est très importante.
Les propriétés d'un probiotique sont portées par une souche donnée, non pas par l'espèce et encore moins par le genre.
Ex : *Lactobacillus acidophilus LA 401*
- Les souches probiotiques doivent être déposées dans une collection de cultures reconnue à l'échelon international.

Principaux probiotiques

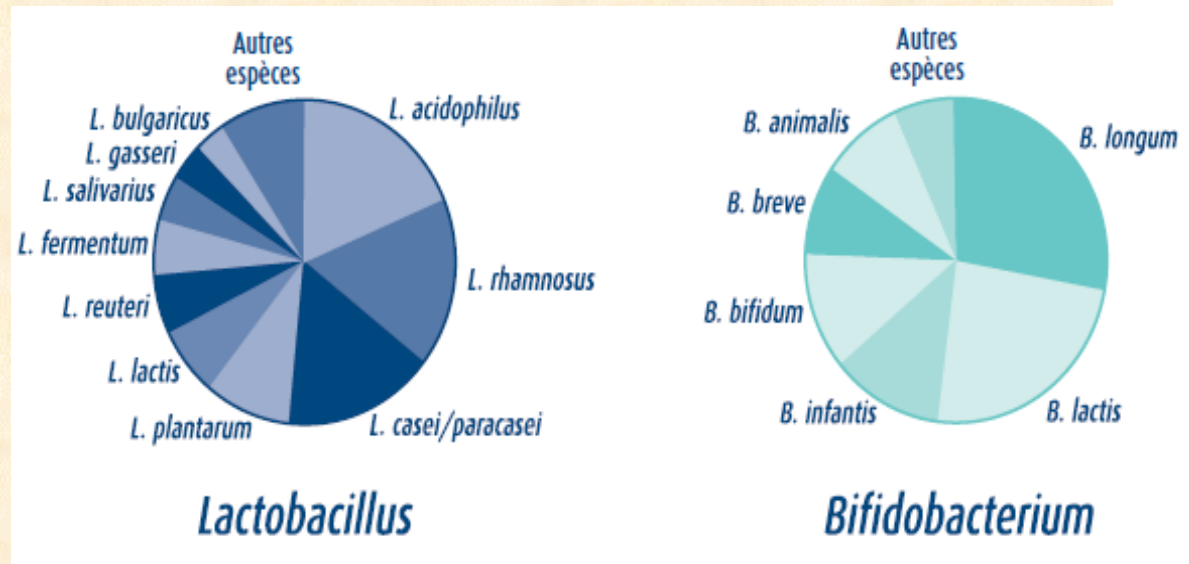
- Les bactéries lactiques:

- *Lactobacillus*
- *Lactococcus*
- *Streptococcus*
- *Bifidobacterium*
- *Propionibacterium*

- Les levures

- *Saccharomyces*
- *Kluyveromyces*

- Certaines espèces de *Bacillus*



(Source : Lettre de la mission scientifique de Syndifrais N°33 - Publications relatives aux probiotiques)

Les bactéries lactiques

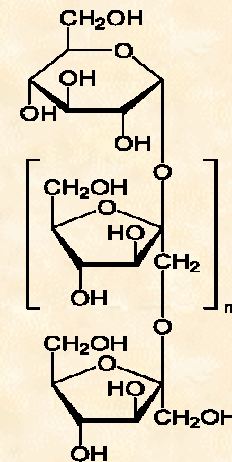
- Les bactéries lactiques et les bifidobactéries auraient vu le jour il y a 3 milliards d'années.
 - Elles ont un rôle déterminant dans de nombreux produits fermentés (les yaourts, les laits fermentés dont le kéfir, les fromages, la choucroute...).
 - Elles colonisent le tube digestif des animaux et de l'homme.
 - Les bifidobactéries sont largement dominantes dans le microbiote intestinal du nourrisson.



Les supports des probiotiques : prébiotiques

- **Prébiotiques** : Fibres alimentaires solubles non digestibles par les enzymes de l'intestin humain qui **favorisent la croissance** des bactéries intestinales et concourent par ce biais à maintenir l'équilibre de l'écosystème intestinal et à prévenir les troubles intestinaux.

- Inuline: mélange de polysaccharides
- FOS : Fructo-oligosaccharide
- Lactulose: diholoside (galactose-fructose)
- GOS : Galacto-oligosaccharides



SOMMAIRE

- Rapide historique
- Définitions
- Propriétés
- Réglementation
- Enquêtes - Analyses
- Premiers constats sur enquête en cours

Propriétés des probiotiques (1)

Recommandations à satisfaire pour obtenir l'appellation « probiotiques » selon l'AFSSA (Février 2005)

- Etre vivants jusqu'à la date d'utilisation optimum indiquée (DLUO)
La viabilité du probiotique doit être assurée par :
 - Une bonne méthode de dessiccation,
 - Un enrobage assurant la protection,
 - Des conditions de stockage adéquates : la stabilité des probiotiques durant le stockage est inversement liée à la température,
 - De bons procédés de réhydratation



© Can Stock Photo - csp1246093

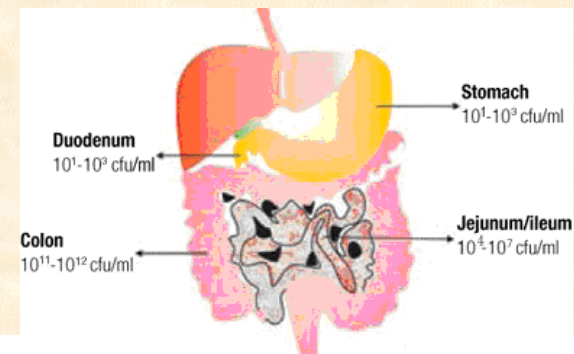
11

Propriétés des probiotiques (2)

- Etre en quantité suffisante, soit de 10^9 à 10^{11} UFC/ jour (Avis de l'AFSSA février 2005)
 - pour survivre lors du passage dans l'estomac
 - pour proliférer dans l'intestin.

Le côlon humain :

- 10^{12} UFC/g de matière fécale dont 400 à 1000 espèces différentes de micro-organismes.
- un microbiote intestinal spécifique à chaque individu



cfu = colony-forming unit.

Propriétés des probiotiques (3)

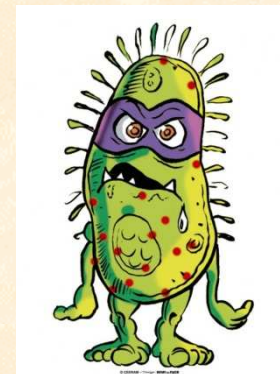
- Présenter une parfaite innocuité pour le consommateur et l'environnement :

Selon l'approche QPS (Qualified Presumption of Safety) ou GRAS (Generally Recognised as Safe) : Présomption conditionnelle d'innocuité ou présomption d'innocuité reconnue

L'innocuité est évaluée en fonction de 4 critères:

- la définition du groupe taxonomique (établissant l'identité du groupe)
- les connaissances disponibles (résistance aux antibiotiques)
- les éventuelles inquiétudes en matière de sécurité (pathogénicité)
- l'utilisation finale prévue.

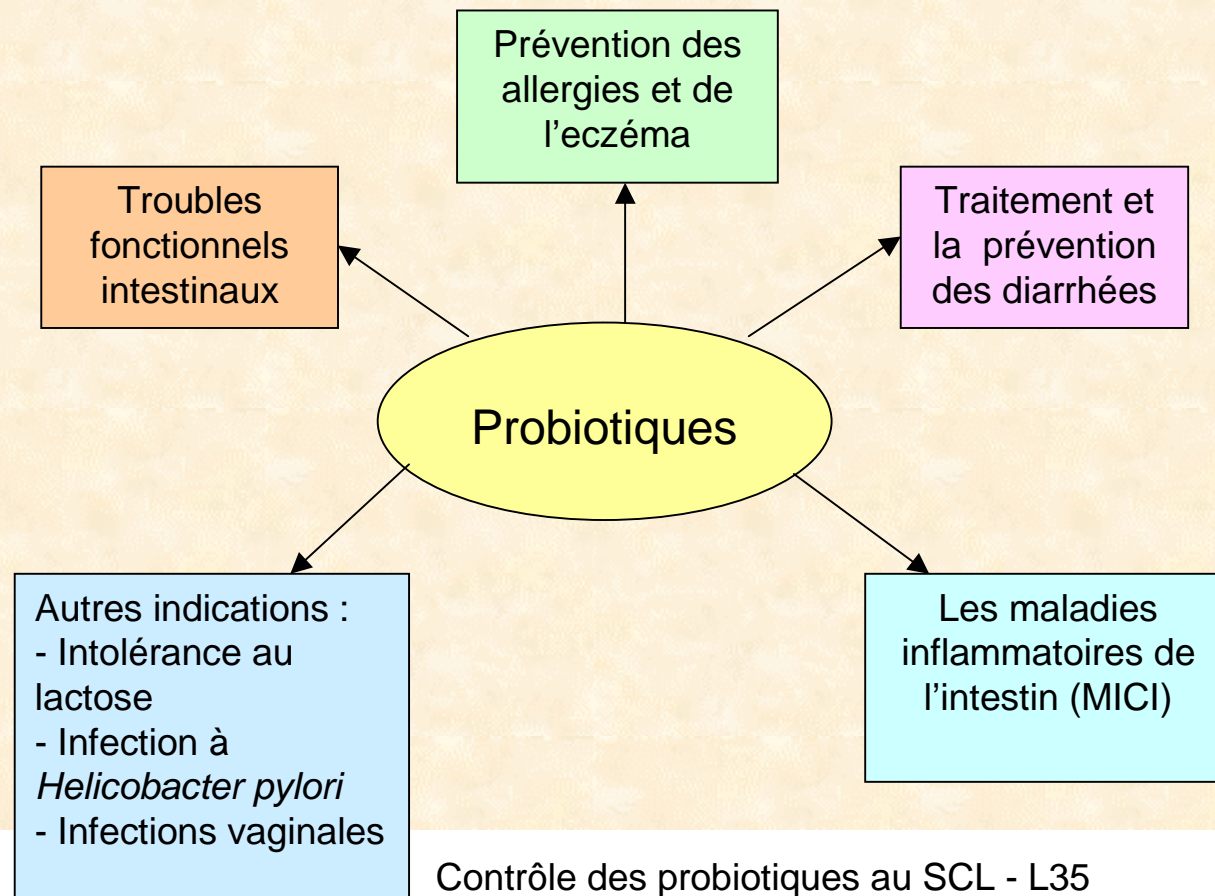
*Recommandations de l'AFSSA du 22 nov 2002 :
Tableau + arbre décisionnel pour l'évaluation de
l'innocuité d'une souche bactérienne nouvelle
ou modifiée*



Propriétés des probiotiques (4)

- Avoir un effet bénéfique sur l'hôte

Effets bénéfiques prouvés par des études scientifiques mais en lien avec une souche donnée:



SOMMAIRE

- Rapide historique
- Définitions
- Propriétés
- Réglementation
- Enquêtes - Analyses
- Premiers constats sur enquête en cours

Réglementation

- Règlement CE 178/2002 instituant l'AESA et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires
- Les conditions de mise sur le marché des probiotiques sont définies en fonction de leur application : médicamenteuse, alimentaire ou zootechnique.
- Les probiotiques :
 - ingrédients à but physiologique dans les compléments alimentaires (alimentaire)
 - additifs pour l'alimentation animale (zootechnique)

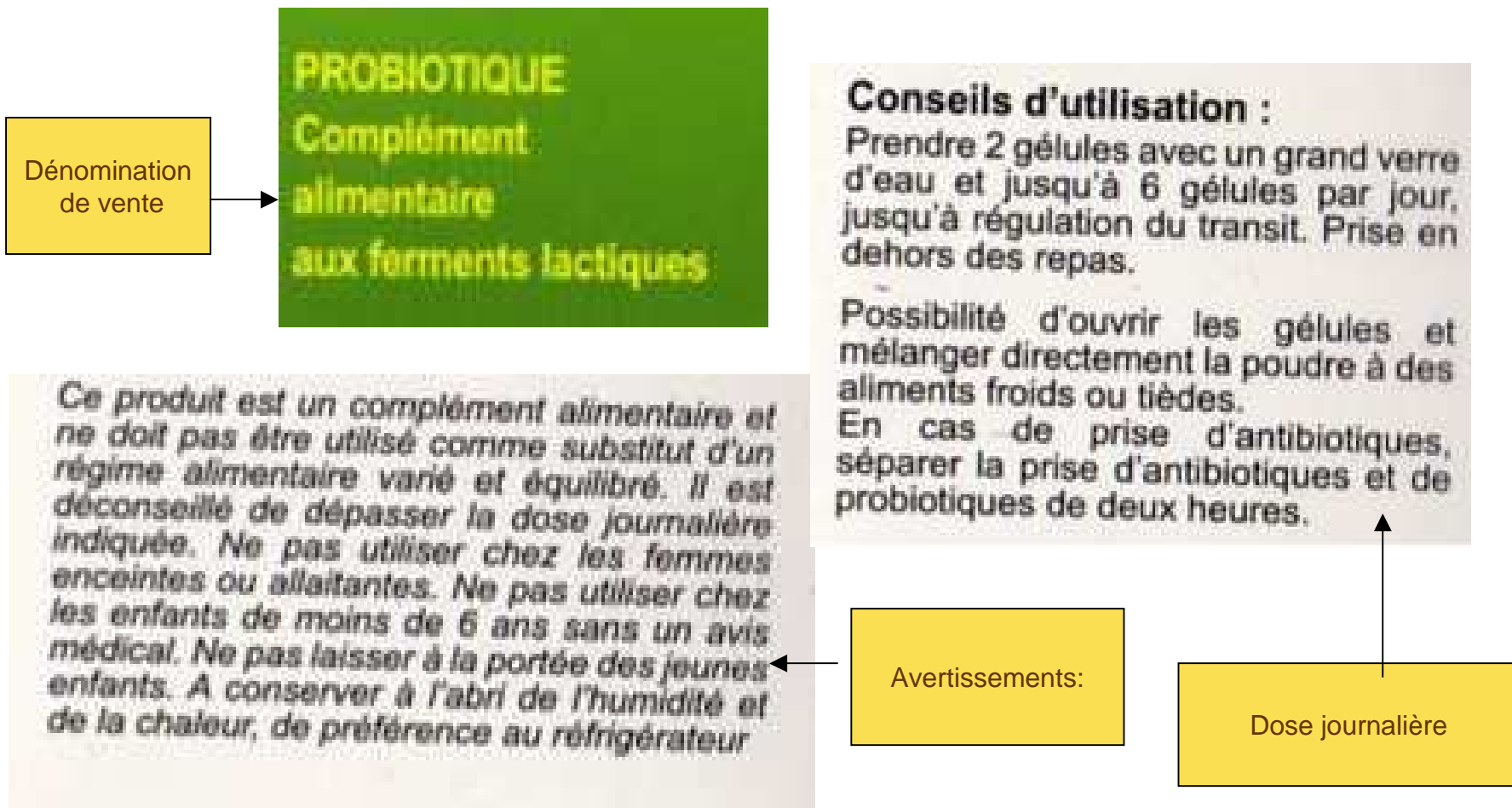
Règles générales d'étiquetage (1)

Décret N°2006-352 du 20 mars 2006

Tout complément alimentaire mis sur le marché après le 26 mars 2006 doit être déclaré à la DGCCRF.

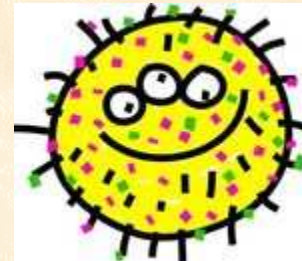
- Dénomination de vente : Complément alimentaire à base de...
- Dose journalière ainsi que les quantités présentes dans le produit, par dose journalière recommandée
- Avertissements:
 - Ne pas dépasser la dose journalière recommandée
 - Tenir hors de portée des enfants
 - Ne se substitue pas à un régime alimentaire varié
- Les allégations thérapeutiques sont toujours interdites (propriétés de prévention, de traitement, de guérison..)

Règles générales d'étiquetage (2)



Allégations de santé – une question de preuves scientifiques

- Selon le règlement (CE 1924-2006), les exploitants du secteur alimentaire doivent soumettre les demandes d'autorisation d'allégation de santé à l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (AESA).
- AESA fournit les avis scientifiques à la Commission européenne qui statue sur l'autorisation de l'allégation de santé.



SOMMAIRE

- **Rapide historique**
- **Définitions**
- **Propriétés**
- **Réglementation**
- **Enquêtes - Analyses**
- **Premiers constats sur enquête en cours**

Les enquêtes et analyses (1)

- Le laboratoire de Rennes analyse des échantillons provenant de l'alimentation animale et de l'alimentation humaine depuis une quinzaine d'années.
- Les méthodes d'analyse sur les aliments des animaux, normalisées en décembre 2009, ont permis au SCL-L35 de développer la section Probiotiques.

NF EN 15784 : *Bacillus ssp* présumé,
NF EN 15785 : *Bifidobacterium ssp*,
NF EN 15786 : *Pediococcus ssp*,
NF EN 15787 : *Lactobacillus ssp*,
NF EN 15788 : *Enterococcus faecium*,
NF EN 15789 : souches probiotiques de levures.



Les enquêtes et analyses (2)

- Les compléments alimentaires à base de probiotiques (Enquête 1998)
- Composition et étiquetage des yaourts et laits fermentés selon le décret N°88-1203 du 30 décembre 1988 (Enquête 2008)
- Les bactéries lactiques de l'emmental (Enquête 2011)
- Identification et dénombrement des probiotiques dans les compléments alimentaires (Enquête en cours 2^{ème} semestre 2011)



Les enquêtes et analyses (3)

- Résultats de l'enquête sur les compléments alimentaires à base de probiotiques en 1998
sur 31 produits analysés : 71 % non satisfaisants
- Causes de non-conformité:
 - Microflore non ou insuffisamment revivifiable (27 échantillons)
 - Teneur déclarée trop faible pour qu'un effet positif soit avéré (2 échantillons)
 - Présence de levures non mentionnées (2 échantillons)

Analyse des probiotiques (1)

- Choix de la mise en culture diffère selon le métabolisme des probiotiques annoncés sur l'étiquetage:
 - Le type respiratoire (anaérobie ou aérobie)
 - La température de croissance optimale (incubation à 30°C, 37°C ou 44°C)
 - Durée de l'incubation variant de 24h à 72h



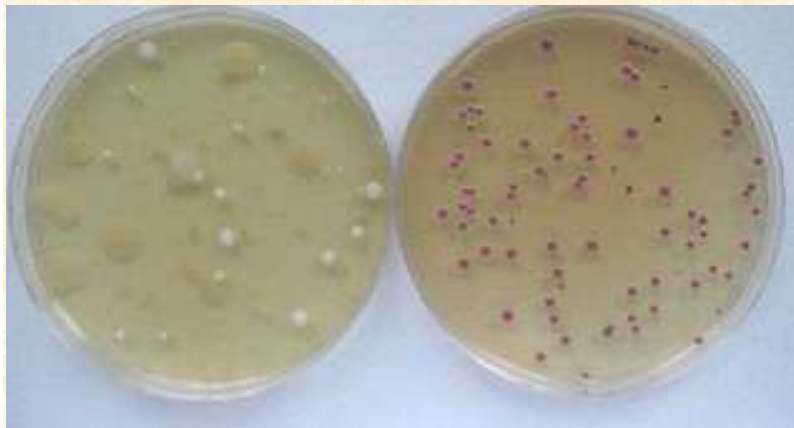
Analyse des probiotiques (2)

- Les milieux utilisés varient selon les probiotiques annoncés
 - MRS additionné de *1ml de TTC à 1% pour la différenciation des bactéries complémenté ou non de 1ml de cystéine à 0,5 g/l* pour les lactobacilles et les bifidobactéries
 - GGC pour les levures
 - BEA pour les entérocoques
 - M17 pour les coques



Analyse des probiotiques (3)

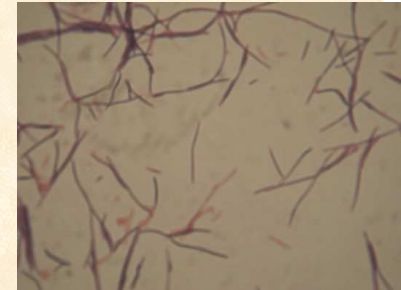
- Dénombrement des colonies, résultat exprimé en UFC /g



Analyse des probiotiques (4)



- Les colonies sont isolées et identifiées par leurs caractères distinctifs :
 - leur forme (coloration de Gram)
 - les tests biochimiques par galerie API (Analytical Profil Index) 50CHL et API 20A
- Le laboratoire peut par ce procédé identifier le genre, parfois l'espèce.



SOMMAIRE

- **Rapide historique**
- **Définitions**
- **Propriétés**
- **Réglementation**
- **Enquêtes - Analyses**
- **Premiers constats sur enquête en cours**

Enquête 2011 – Premiers constats (1)

- Les conditionnements sont corrects :
 - Gélules
 - Pilules
 - Sachets
 - Flacons avec réservoir
 - Flacons de poudre



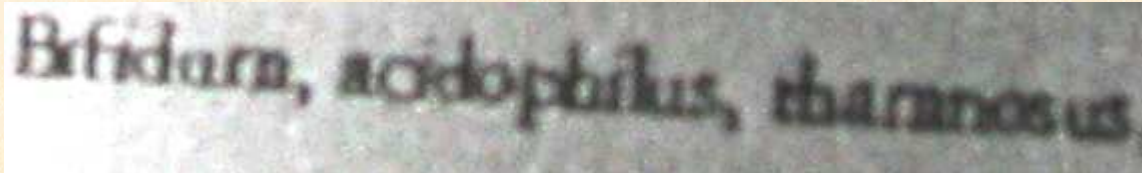
Enquête 2011 - Premiers constats (2)

- Les durées de conservation « A consommer de préférence avant le » de 2 à 3 ans – la viabilité est-elle garantie ?
- Les quantités de probiotiques sont :
 - parfois exprimées en mg, cette expression n'est pas une unité reconnue pour dénombrer les germes,
 - non retrouvées.



Enquête 2011 - Premiers constats (3)

- Les probiotiques identifiés et annoncés ne sont pas en adéquation
- Les noms ne respectent pas toujours la nomenclature
- L'identité de la souche n'est pas toujours mentionnée
- Allégations de santé (du ressort des services d'enquête)



Bifidum, acidophilus, tharinosus

Avenir des analyses au laboratoire de Rennes

- Les limites de l'analyse : Les tests phénotypiques nous permettent d'identifier le genre, l'espèce au plus.
Exemple : Les bifidobactéries → connaissance nécessaire des espèces
- Avenir : Méthodes moléculaires préconisées actuellement pour l'identification des probiotiques
- Néanmoins mise en culture → bactéries vivantes
- Bibliographie en cours

QUESTIONS - REPONSES

Je vous remercie de votre attention

