

Chapitre III : Eléments de microbiologie du tube digestive

I. La microflore digestive de l'homme

Chez un homme sain, les tissus de surface (peau et muqueuses) sont toujours en contact avec les micro-organismes de l'environnement et sont rapidement colonisés par certaines espèces microbiennes. On appelle microflore normale (ou microbiota) le mélange de micro-organismes que l'on trouve régulièrement dans un site anatomique donné.

Ce microbiote et son hôte humain sont un exemple de symbiose mutualiste (coopération entre différents types d'organismes impliquant un avantage pour chacun) et de commensalisme.

Le tube digestive comprend principalement : la cavité buccale, l'estomac, l'intestin grêle et le gros intestin, ces deux derniers représentent l'intestin qui contient la plus importante des microflores, appelée microflore intestinale..

La microflore intestinale est en interrelation permanente avec les aliments et l'organisme humain, l'ensemble constituant un écosystème complexe. Indispensable au bon fonctionnement de l'organisme.

1. La cavité buccale

La microflore normale de la cavité buccale comprend des organismes capables de résister à une élimination mécanique en adhérant à différentes surfaces comme les gencives et les dents. Ceux qui en sont incapables sont éliminés par le passage mécanique du contenu de la cavité buccale vers l'estomac où ils sont détruits par l'acide chlorhydrique. La desquamation continue des cellules épithéliales élimine également les micro-organismes. Les micro-organismes de l'environnement proche colonisent la cavité buccale humaine dans les heures suivant la naissance.

A l'origine, la microflore comprend surtout les genres *Streptococcus*, *Neisseria*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Lactobacillus* et également quelques levures. La plupart des micro-organismes envahissant, au début sont des aérobies et des anaérobies obligatoires.

Lorsque les premières dents apparaissent, les anaérobies (*Prevotella* et *Fusobacterium*) prédominent. *Streptococcus parasangis* et *S. mutans* se fixent sur l'émail des dents, *S. salivarius* se fixe sur les surfaces épithéliales. La présence de ces bactéries contribue à l'apparition de la plaque dentaire, des caries, des gingivites et des parodontites.

2. L'oropharynx

On trouve *Staphylococcus aureus* et *S. epidermidis* en grand nombre colonisant cette région. Cependant les bactéries présentes les plus importantes sont les différents streptocoques alpha hémolytiques (*S. oralis*, *S. mileri*, *S. gordonii*, *S. salivarius*) un grand nombre de diphtéroïdes

et de petites coques Gram négatifs apparentés à *Neisseria meningitidis*. Les amygdales portent une microflore similaire avec un accroissement des micrococci et des anaérobies.

3. L'estomac

En raison du pH très acide (2-3) du contenu gastrique, la plupart des microorganismes sont tués. En conséquence, l'estomac contient habituellement moins de 10 bactéries viables par ml de fluide gastrique. Ce sont surtout des représentants du genre *Sarcina*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, et des levures telles que *Candida*. Des micro-organismes peuvent survivre s'ils passent rapidement à travers l'estomac, ou s'ils sont résistants au pH gastriques (les mycobactéries). Si le pH augmente, la microflore de l'estomac reflète vraisemblablement celle de l'oropharynx en plus des bactéries anaérobies et aérobie Gram -.

4. Origine et développement des microbiotes intestinaux

Le microbiote d'un individu se constitue dès sa naissance, au **contact de la flore vaginale** après un accouchement par voie basse, ou au **contact des microorganismes de l'environnement** pour ceux nés par césarienne. La colonisation bactérienne a lieu de façon progressive, dans un ordre bien précis : les premières bactéries intestinales ont besoin d'oxygène pour se multiplier (bactéries aérobies : entérocoques, staphylocoques...). En consommant l'oxygène présent dans l'intestin, elles favorisent ensuite l'implantation de bactéries qui ne prolifèrent qu'en absence de ce gaz (bactéries anaérobies : *Bacteroidetes*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*...).

Les résidants du côlon des nourrissons alimentés au sein sont des membres du genre Gram positif *Bifidobacterium*, car le lait humain contient un disaccharide d'hexosamines que les souches de *Bifidobacterium* exigent comme facteur de croissance.

Chez les nourrissons alimentés artificiellement, les *Lactobacillus*, également, des Gram-positifs, prédominent en raison de l'absence du facteur de croissance dans le lait reconstitué.

Lors de l'ingestion de nourritures solides, de la génétique, du niveau d'hygiène, des traitements médicaux reçus et de l'environnement, les colonisateurs initiaux sont progressivement remplacés par une microflore Gram négative typique pour atteindre finalement la composition de la microflore de l'adulte.

5. La microflore de l'intestin grêle

L'intestin grêle est divisé en 3 régions anatomiques : le duodénum, le jéjunum et l'iléon. Le duodénum (les premiers 25 cm de l'intestin grêle) contient peu de micro-organismes en raison

de l'influence combinée des sucs acides de l'estomac et de l'action inhibitrice de la bile et des sécrétions pancréatiques. Les coques et les bacilles Gram positifs constitue une majeure partie de la microflore. On trouve occasionnellement *Enterococcus faecalis*, des lactobacilles, des corynébactéries et la levure *Candida albicans* dans le jéjunum. Dans la partie distale de l'intestin grêle (l'iléon) la microflore acquière progressivement les caractéristiques de celle du côlon. C'est dans l'iléon que le pH devient alcalin. De ce fait, les bactéries Gram négatives anaérobies et les membres des *Enterobacteriaceae* commencent à s'y établir.

6. La microflore du gros intestin ou côlon

Le côlon contient la population microbienne la plus importante du corps. Les comptages microscopiques des selles approchent 10^{12} organisme/g de poids humide. Plus de 400 espèces différentes ont été isolée de la matière fécale humaine. Le côlon peut être considéré comme une grande cuve de fermentation car la microflore est composée principalement de bactéries non-sporulantes Gram négatives anaérobies et de bacilles Gram positifs sporulants et non-sporulant.

La plupart des micro-organismes sont anaérobies et représentatifs de nombreuses espèces différentes. Plusieurs études ont montré que le rapport des bactéries anaérobies aux bactéries anaérobie facultatives est approximativement de 300 à 1. Même la plus abondante de celles-ci, *Escherichia coli*, ne représente pas plus de 0.1% de la population totale.

En plus d'un grand nombre de bactéries, le côlon peut contenir la levure *C. albicans*. Certains protozoaires, comme *Trichomonas hominis*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana* et *Iodamoeba butchlii*, sont des commensaux inoffensifs communs.

Plusieurs processus physiologique tendent à déplacer la flore microbienne à travers le colon ce qui permet à un adulte d'excréter journallement environ 3×10^{13} micro-organismes. Ces processus incluent le péristaltisme et la segmentation, la desquamation des cellules épithéliales sur lesquelles les micro-organismes sont fixés et le flux continu de mucus emportant les micro-organismes qui y adhèrent.

Pour maintenir l'homéostasie de la microflore, le corps doit continuellement remplacer les micro-organismes perdus. La population bactérienne du côlon humain double habituellement une à deux fois par jour. Dans des conditions normales, la communauté microbienne résidente est autorégulée. La compétition et le mutualisme entre les différents micro-organismes et entre les micro-organismes et leur hôte permettent de maintenir un *statu quo*. Cependant, si le milieu intestinal est perturbé, la flore peut changer fortement.

Ces facteurs perturbant incluent le stress, les variations d'altitudes, la privation de nourriture, les organismes parasites, la diarrhée et l'utilisation d'antibiotiques ou probiotiques.

7. Rôles du microbiote intestinal

Certains auteurs suggèrent de considérer le microbiote en tant qu'entité ou qu'organe métabolique associé à l'organisme de leur porteur ; un organe composé d'un nombre d'organismes pouvant atteindre 10^{13} individus, dominés par des bactéries anaérobies, et pouvant comprendre 500 à environ 1 000 espèces dont le génome collectif est estimé contenir 100 fois plus de gènes que le génome humain. On peut distinguer trois grands effets du microbiote intestinal humain :

a/ Effets digestifs: Le microbiote intestinal assure son propre métabolisme en puisant dans nos aliments (notamment parmi les fibres alimentaires de polysaccharides végétaux)). Dans le même temps, ces micro-organismes jouent un rôle direct dans la digestion : • ils assurent la fermentation des substrats et des résidus alimentaires non digestibles via la fermentation colique (fonction de digestion) qui produit des acides gras volatils ; ces gaz fermentaires ne couvrent que 5 à 10 % (et non 80 % comme chez les ruminants) des besoins énergétiques totaux. • ils facilitent l'assimilation des nutriments grâce à un ensemble d'enzymes dont l'organisme n'est pas pourvu. • ils assurent l'hydrolyse de l'amidon, des polysaccharides... • ils participent à la synthèse de certaines vitamines (vitamine K, B12, B8) • ils régulent plusieurs voies métaboliques : absorption des acides gras, du calcium, du magnésium...

b/ Effets physiologiques : Le microbiote agit en outre sur le fonctionnement de l'épithélium intestinal : modifications histologiques, l'épaisseur et le renouvellement de la muqueuse de l'intestin, la taille des villosités et de la bordure en brosse, l'angiogenèse sont co-régulés par le microbiote.

c/ Effets immunitaires :

Le microbiote intestinal participe en effet au fonctionnement du système immunitaire intestinal, ce dernier est indispensable au rôle barrière de la paroi intestinale, soumise dès la naissance à un flot d'antigènes d'origine alimentaire ou microbienne. Ainsi, des bactéries comme *Escherichia coli* luttent directement contre la colonisation du tube digestif par des espèces pathogènes, par phénomène de compétition et par production de substance bactéricides (bactériocines). Parallèlement, dès les premières années de vie, le microbiote est nécessaire pour que l'immunité intestinale apprenne à distinguer espèces *amies* (commensales) et pathogènes.

Quelques espèces bactériennes symbiotiques ont montré une capacité à prévenir le développement de maladies inflammatoires. Le microbiote contient également des microorganismes capables de susciter l'inflammation sous certaines conditions. Le microbiote a donc la possibilité de commander des réponses pro- et anti-inflammatoires. La composition du microbiote intestinal pourrait être liée à son bon fonctionnement

II. La microflore digestive des ruminants

1. Définitions

Les Ruminants comportent le bétail, les bisons, mouton, chèvre, antilope, cerf, chevrotain, girafe, chameau etc.

Les Ruminants ce sont des mammifères herbivores polygastriques dont la digestion prégastrique a totalement ou partiellement lieu en remastiquant les aliments après leurs ingestions. Ils sont aussi caractérisés par leurs membres qui ne possèdent que deux doigts. La rumination est une fonction physiologique caractéristique des ruminants correspondant au retour des aliments du rumen vers la bouche pour y être mâchés et imprégnés de salive. Il existe cependant d'autres animaux, appelés ruminants (avec une minuscule), n'appartenant pas au sous-ordre des *Ruminantia* mais qui ruminent aussi, comme les Tylopoda (Tylopoïdes).

2. Le microbiote du rumen

Les digestions ruminales sont réalisées par des Bactéries, des protozoaires, des Archées et des Champignons. Ces microorganismes dégradent les glucides en acides gras volatils, transforment une partie des protéines ingérées, et hydrolysent les triglycérides et autres esters, puis assurent l'hydrogénation de la majorité des acides gras insaturés. Selon la nature du glucide fermenté, on différencie deux types de bactéries. Les bactéries amylolytiques, dont le substrat privilégié est l'amidon, synthétisent essentiellement du propionate et préfèrent les pH inférieurs à 6. Les bactéries fibrolytiques s'attaquent quant à elles surtout aux glucides pariétaux pour donner majoritairement de l'acétate et du butyrate, et affectionnent les pH supérieurs à 6.

2.1. Bactéries

Les bactéries du rumen représentent 10^{10} organismes/ml de liquide ruminal et plusieurs centaines d'espèces ont été caractérisées à ce jour. En volume, elles représentent jusqu'à 50 % de la biomasse microbienne totale. Elles sont une source importante de protéines microbiennes, qui fournissent au ruminant 75 à 80 % des protéines métabolisables, ainsi que la production d'enzymes qui digèrent les fibres (cellulose, hémicellulose), l'amidon et les sucres.

Les bactéries correspondent à environ la moitié de la biomasse microbienne du rumen. Les trois quarts de ces bactéries sont fixés sur des particules alimentaires. Elles sont constamment éliminées par prédation des protozoaires ruminiaux ou évacués vers le feuillet et le reste du tube digestif. Néanmoins, ces pertes sont compensées par une croissance régulière de la population bactérienne.

Les bactéries du rumen sont généralement classées selon leur capacité à dégrader certains substrats et à les utiliser pour leur survie. En particulier elles sont souvent distinguées en fonction de leur activité glucidolytique : fibrolytique (cellulolytique et hémicellulolytique) et amylolytique.

➤ **Les bactéries fibrolytiques:**

Adhèrent aux particules fibreuses et synthétisent des enzymes actives sur les glucides pariétaux (cellulose, hémicelluloses et pectines). Cette population se développe mieux avec un pH supérieur ou égal à 6,5.

❖ **Cellulolytiques**

- Bacteroides succinogenes*
- Ruminococcus albus*
- Ruminococcus flavefaciens*
- Butyrivibrio fibrisolvens*

❖ **Hémicellulolytiques**

- Bacteroides ruminicola*
- Butyrivibrio fibrisolvens*

➤ **Les bactéries amylolytique**

Les principales espèces amylolytiques (digérant l'amidon) préfèrent des pH inférieurs à 6, ce sont :

- Streptococcus bovis*
- Ruminobacter amylophilus*
- Succinomonas amylolytica*
- Selenomonas ruminantium*
- Prevotella ruminicola*.

La protéolyse chez les ruminants est assurée en grande partie par les bactéries amylolytiques (et certaines bactéries fibrolytiques) qui exercent cette fonction.

Les lipides sont soumis à deux types de réactions qui s'enchaînent : la lipolyse des esters d'acides gras suivie par la biohydrogénation des acides gras insaturés.

- La lipolyse est principalement réalisée par *Anaerovibrio lipolytica*, et certains représentants du genre *Butyrivibrio*.
- La biohydrogénation ruminale est complexe : elle se divise en plusieurs étapes successives d'isomérisations et de réductions et elle nécessite l'intervention de plusieurs enzymes synthétisées par des espèces différentes. Les Bactéries impliquées dans ce phénomène ne sont pas encore très bien connues si ce n'est celles appartenant au genre *Butyrivibrio*.

Autres espèces bactériennes sont aussi observées: bactéries lactiques (ex: Propionobactéries).

2.2. Protozoaires

Les protozoaires ruminiaux (comme *Endotinium caudatum* ou *Epidinium ecaudatum*) sont des organismes eucaryotes unicellulaires microscopiques. Ils sont de taille variable, 20 à 100 fois plus grands que les bactéries mais 10^4 fois moins nombreux. Les protozoaires ciliés sont des organismes plus grands que les bactéries et représentent 10^6 organismes/ml de liquide ruminal, bien qu'ils pèsent jusqu'à 50 % de la biomasse microbienne totale. Ils ont diverses activités :

- Les protozoaires cellulolytiques et hémicellulolytiques digèrent les particules végétales.
- Différents protozoaires ont un rôle positif dans la dégradation de l'amidon (mais moins rapide que celui des bactéries).
- D'autres protozoaires peuvent consommer l'acide lactique, limitant ainsi les risques d'acidose Certains types de protozoaires sont capables d'éliminer l'oxygène de telle sorte qu'ils ont un effet stabilisant sur l'anaérobiose.

Cependant, la plupart d'entre eux dégradent les protéines très efficacement et libèrent de l'ammoniac. Ainsi, ils utilisent une partie des protéines qui représentent près de 25 % des protéines microbiennes disponibles pour l'animal.

Les protozoaires ciliés produisent de grande quantité d'hydrogène, qui est un substrat pour les méthanogènes. Les espèces ciliées sont des prédateurs pour d'autres micro-organismes du rumen. En effet, une seule cellule protozoaire peut avaler jusqu'à plusieurs milliers de bactéries en une heure, de sorte qu'ils jouent un rôle très important dans la stabilité de la population microbienne du rumen.

2.3. Champignons

Les champignons du rumen représentent entre 8 et 10 % de la biomasse microbienne et sont strictement anaérobies. Ils appartiennent principalement aux genres *Neocallimastix*, *Piromyces* et *Caecomyces*. - Ils jouent un rôle essentiel dans la digestion des fibres grâce à la production de rhizoïdes filamenteux qui envahissent les tissus végétaux et grâce à leurs activités enzymatiques fibrolytiques. Cette action physique sur la paroi des cellules végétales permet de faciliter la digestion de certains végétaux et aide à libérer des polysaccharides liés à la lignine permettant d'augmenter la concentration d'énergie digestible pour le microbiote du rumen.

2.4. Les Archées

Au sein du microbiote ruminal, figurent également des Archées méthanogènes qui utilisent le dihydrogène produit par le métabolisme bactérien en conditions anaérobies pour réduire le dioxyde de carbone en méthane. Cette réaction est nécessaire car la présence en excès de dihydrogène inhiberait les fermentations et donc le fonctionnement du rumen.

On observe les souches productrices de méthane (ex: *Methanobacterium formicicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*).

Dans le gros intestin ce sont principalement les bactéries acétogènes qui remplissent cette fonction.

Les Archées ne participent pas directement à la digestion ruminale. Elles forment une population peu abondante et peu diversifiée et encore peu connue.