

Chapitre 4 : Les éléments de microbiologie du tube digestif

1. Le microbiote digestif de l'homme

L'ensemble des micro-organismes (bactéries, virus, parasites, champignons) non pathogènes (dits commensaux) vivant en symbiose avec notre organisme constitue le microbiote.

Plusieurs parties du corps humain sont colonisées, dont le nombre de micro-organismes qu'héberge l'intestin est de environ 10^{14} micro-organismes présents, appartenant à plus de 1 000 espèces différentes, l'intestin est l'organe qui en contient le plus. Trois groupes de bactéries définissent principalement le microbiote intestinal humain : *Firmicutes* (Gram positif, le plus important), *Bacteroidetes* (Gram négatif) et *Actinobacteria*. Il joue un rôle important sur le plan digestif, métabolique, immunitaire et neuropsychiatrique. D'ailleurs, les fonctions physiologiques essentielles qu'il remplit lui ont permis d'être qualifié de "nouvel organe" par les spécialistes.

1.1. Constitution du microbiote intestinal

1.1.1. A la naissance

Le microbiote intestinal se constitue majoritairement à la naissance, au contact du microbiote vaginal et intestinal lors d'un accouchement par voie basse ; on retrouve alors une population aéro-anaérobie facultative composée essentiellement de staphylocoques, d'entérocoques et d'entérobactéries fécaux de la mère ; ou du microbiote cutané et de l'environnement chez les enfants nés par césarienne d'où une acquisition retardée des groupes bactériens précédemment cités. L'enfant rencontre tout d'abord les bactéries de l'environnement tels que les micro-organismes aéro- et manuportés par le personnel soignant et l'entourage : *Staphylococcus* à coagulase négative (*Staphylococcus epidermidis*, *haemolyticus*, ou *hominis*), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp.. La colonisation par *Clostridium difficile* est également amplifiée.

1.1.2. Allaitement et alimentation

La colonisation bactérienne se fait progressivement, dans un ordre bien précis, dont la flore aérobie et aéro-anaérobie facultative primo-installée (entérocoques, staphylocoques...) consomme l'oxygène présent au niveau digestif, ce qui favorisent l'implantation des bactéries anaérobies (*Bacteroidetes*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*...) dans la première semaine de vie.

Les Gram positif du genre *Bifidobacterium*, sont les résidents du côlon des nourrissons alimentés au sein sont, 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 à cause de l'absence du facteur de croissance dans le lait infantile.

À partir de 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.

Les rouages bien huilés du microbiote peuvent toutefois se voir déréglés par de nombreux facteurs : alimentation inadaptée ou déséquilibrée, infections, traitements médicamenteux, stress, etc.

1.2. Répartitions du microbiote digestif

1.2.1. La cavité buccale

La cavité buccale est colonisée dès les premières heures de la naissance par les micro-organismes de l'environnement ; à l'origine on trouve *Streptococcus*, *Neisseria*, *Actinomyces*, *Veillonella*, et *Lactobacillus* et quelques levures. Dont la majorité sont des bactéries aérobies et anaérobies stricte. A l'apparition de la première dent et la nature du sillon gingivale, les anaérobies prédominent (*Porphyromonas*, *Prevotella*, et *Fusobacterium*).

Streptococcus parasanguis et *S. mutans* s'adhèrent sur l'émail des dents pendant leur développement. *S. salivarius* se fixent sur les surfaces épithéliales de la bouche et des gencives et colonise la salive.

Les micro-organismes de la microflore normale de la cavité buccale s'adhèrent à différentes surfaces (gencive et dents) résistant ainsi à l'élimination mécanique. Ceux qui sont fragiles sont éliminés par le passage du contenu de la cavité buccale vers l'estomac, ou à cause de la desquamation continu des cellules épithéliales.

1.2.2. L'estomac

De nombreux micro-organismes sont éliminés de la cavité buccale dans l'estomac. En raison des valeurs de pH très acides (2 à 3) du contenu gastrique, la plupart des micro-organismes sont tués. En conséquence, l'estomac contient généralement moins de 10 bactéries viables par millilitre de liquide gastrique. Il s'agit principalement de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* et de levures telles que *Candida* spp. Les micro-organismes peuvent survivre s'ils traversent rapidement l'estomac ou si les organismes ingérés avec de la nourriture sont particulièrement résistants au pH gastrique (par exemple, les mycobactéries)

1.2.3. L'intestin grêle

L'intestin grêle est divisé anatomiquement en 3 régions : 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. Dans le jéjunum on trouve occasionnellement *Enterococcus faecalis*, des lactobacilles, des corynébactéries et la levure *Candida albicans*. 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.

1.2.4. Le gros intestin - côlon

Le côlon contient la population microbienne la plus importante du corps et il peut être considéré comme une grande cuve de fermentation car la microflore est composée principalement des anaérobies, des bactéries Gram négatives et de Gram positive, de forme non-sporulantes et sporulantes.

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 journellement 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.

Le corps doit continuellement remplacer les micro-organismes perdus afin maintenir l'homéostasie de la microflore. La population bactérienne du gros intestin double habituellement une à deux fois par jour. Dans des conditions normales, la communauté microbienne résidante 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.

1.3. Rôles du microbiote intestinal

1.3.1. Effets digestifs

Le microbiote intestinal assure son propre métabolisme en puisant dans nos aliments (les fibres alimentaires de polysaccharides végétaux). Cependant, ces micro-organismes jouent un rôle direct dans la digestion où :

- ❖ Ils assurent la fermentation des substrats et des résidus alimentaires non digestibles via la fermentation colique qui produit des acides gras volatils ; ces gaz fermentaires ne couvrent que 5 à 10 % 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...

1.3.2. Effets physiologiques

Le microbiote agit en outre sur le fonctionnement de l'épithélium intestinal par des 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.

1.3.3. Effets immunitaires

Le microbiote intestinal fait partie intégrante des facteurs de défense immunitaire intestinal, ce dernier est indispensable au rôle barrière de la paroi intestinale, exposée dès la naissance à un flot d'antigènes d'origine alimentaire ou microbienne. De ce fait, des bactéries telle que *Escherichia coli* défendent directement contre la colonisation du tube digestif par des espèces pathogènes, en entrant en compétition et en sécrétant des substances bactéricides (bactériocines).

D'ailleurs, le microbiote est nécessaire dès les premières années de vie, pour que l'immunité intestinale apprenne à différencier entre espèces *amies* (commensales) et pathogènes.

Quelques espèces bactériennes symbiotiques ont pu prévenir le développement de maladies inflammatoires. Le microbiote contient également des micro-organismes 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.

2. La microflore digestive des ruminants

2.1. Définitions

Les ruminants sont le groupe de mammifères herbivores le plus diversifié sur Terre aujourd'hui, dont on cite les bovins, les cerfs, les wapitis, les bisons, les buffles d'eau, les chameaux, les moutons, les chèvres, les girafes et les caribous. Ces animaux passent beaucoup de temps à ruminer un bol d'herbes régurgité et partiellement digérées.

Le tube digestif des Ruminants, dont la digestion pré gastrique a totalement ou partiellement lieu en remastiquant les aliments après leurs ingestions, est caractérisé par la présence de trois pré-estomacs non sécrétoires (successivement le rumen, le réticulum "bonnet" et l'omasum "feuillet") En amont d'un estomac sécrétoire (l'abomasum "caillette") comparable à l'estomac des monogastriques (Fig .4).

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.

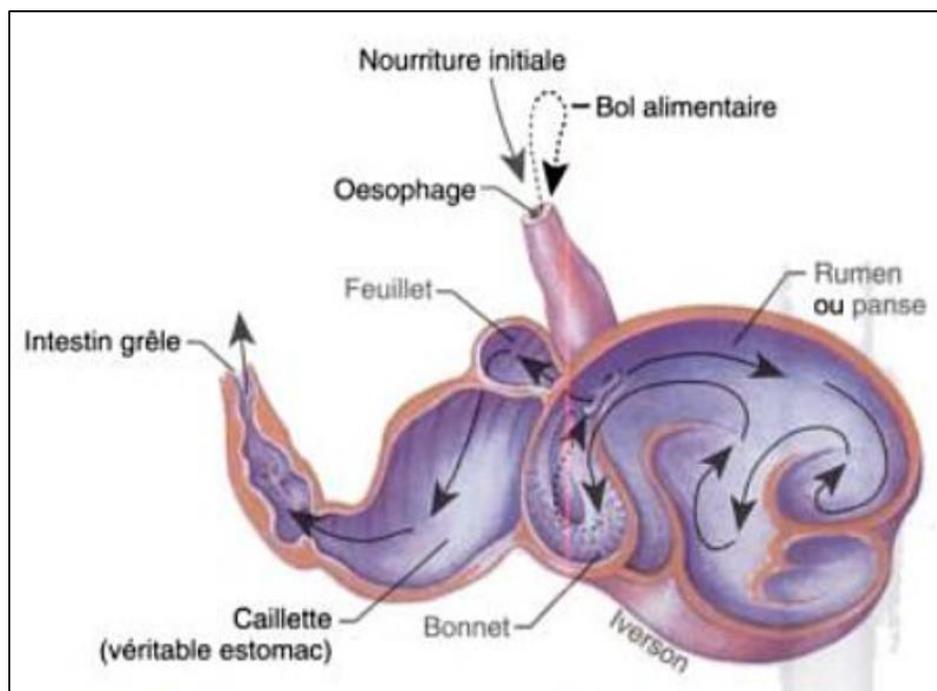


Figure 4 ! L'estomac d'un ruminant [18]

2.2. Le microbiote du rumen

A la naissance, le tube digestif des ruminants est stérile. Cependant, il est rapidement colonisé par une communauté abondante et diversifiée de micro-organismes. Les premiers colonisateurs sont des bactéries aérobies et anaérobies facultatives, issues de l'environnement et de la mère, rapidement supplantés par des micro-organismes anaérobies qui s'installent selon une séquence bien déterminée pour constituer le microbiote de l'adulte.

Les digestions ruminales sont réalisées par des Bactéries, des protozoaires, des Archées et des Champignons. Ces micro-organismes 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.

2.2.1. Bactéries

Les bactéries constituent la communauté microbienne la plus abondante dans le rumen. Elles sont généralement retrouvées à 10^{11} cellules/mL de contenu et représentent environ 40% de la biomasse microbienne. Elles représentent une grande source de protéines microbiennes, qui fournissent aux ruminants 75 à 80 % des protéines métabolisables, ainsi que la production d'enzymes qui digèrent les fibres (cellulose, hémicellulose), l'amidon et les sucres.

Les trois quarts de ces bactéries sont fixés sur des particules alimentaires. Elles sont constamment éliminées par prédation des protozoaires ruminiaux ou éliminées vers le feuillet et le reste du tube digestif. Toutefois, 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.

a. Les bactéries fibrolytiques:

Adhèrent aux particules fibreuses et synthétisent des enzymes actives sur les glucides pariétaux (cellulose, hémicelluloses et pectines) pour donner majoritairement de l'acétate et du butyrate. 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*

b. Les bactéries amylolytique

Les principales espèces amylolytiques privilègent l'amidon comme substrat et synthétisent essentiellement du propionate, elles 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).

2.2.2. Protozoaires

Les protozoaires sont retrouvés à 10^5 - 10^6 individus/ml, et peuvent représenter jusqu'à 50% de la biomasse ruminale. Ils sont prédateurs des bactéries et ainsi considérés comme des régulateurs de la population bactérienne et ont un rôle primordial dans le recyclage de l'azote des bactéries.

Les protozoaires ruminants (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. 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.

2.2.3. Champignons

Les champignons ruminiaux apparaissent singuliers au sein du règne des *Fungi*. En effet, ils sont anaérobies stricts et ont exclusivement été isolés du tractus gastro-intestinal de mammifères et de reptiles herbivores.

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.

2.2.4. Les Archées

Les archées retrouvées dans les écosystèmes digestifs sont essentiellement anaérobies et 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 formicum*, *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.

