

CHAPITRE 4 : ELEMENTS DE MICROBIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF DE L'HOMME ET DES RUMINANTS

I. MICROBIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF DE L'HOMME

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, la microflore intestinale devrait être mieux connue grâce aux nouvelles techniques d'exploration.

1. REPARTITION TOPOGRAPHIQUE DE LA FLORE DIGESTIVE

La répartition de la flore varie selon les segments du tube digestif. Elle dépend de la teneur du milieu en oxygène, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments disponibles et de la vitesse du transit (rapide de la bouche au caecum, plus lent ensuite). Globalement il existe un gradient croissant oral-aboral :

- dans l'estomac, du fait d'un pH bas, la flore est quasi inexistante (inférieure à 10^3 UFC/g) / (UFC = Unités Formant Colonies).

- dans l'intestin grêle, on observe une variation quantitative (duodénum 10^3 - 10^4 UFC/g, jéjunum 10^4 - 10^6 UFC/g, iléon 10^6 - 10^8 UFC/g) et qualitative : diminution progressive des bactéries aérobies au profit des bactéries anaérobies strictes. Il y a peu de bactéries dans l'intestin grêle où elles ne jouent pratiquement aucun rôle,

- dans le côlon, le transit, très fortement ralenti, est à l'origine d'une stase d'où l'augmentation importante de la population bactérienne (de 10^9 à 10^{11} UFC/g). C'est une véritable chambre de fermentation, siège de très nombreuses biotransformations des aliments non assimilés au niveau du grêle. Le côlon est la seule zone colonisée de façon permanente : la flore microbienne essentiellement anaérobie est dense et active, produisant localement de nombreux métabolites.

Les bactéries présentes dans le tube digestif sont des xénobiotiques qui, n'étant pas reconnues par l'hôte, devraient être rejetées. Or, cette masse bactérienne énorme est tolérée et est même responsable d'une stimulation non spécifique du système immunitaire. La seule stase ne permet pas de l'expliquer : il est vraisemblable que les souches bactériennes possèdent des capacités d'adhésion soit aux mucines, soit aux cellules coliques par des systèmes spécifiques (adhésines) ou non spécifiques (liaisons ioniques, liaisons hydrogène).

2. COMPOSITION CLASSIQUE D'UNE FLORE INTESTINALE HUMAINE

On peut définir de façon "simpliste" une flore normale par l'ensemble des espèces présentes dans l'écosystème de façon constante et capables de s'y multiplier dans les conditions environnementales du tube digestif (Figure 1). Mais il existe de très grandes variations dans les résultats publiés, selon les modes de prélèvement, les méthodes microbiologiques, la présence éventuelle de bactéries d'origine alimentaire, la physiologie intestinale et le contexte environnemental. On est loin de connaître toutes les espèces et leurs différents types, donc de bien appréhender les variations de flore induites par les modifications de régime alimentaire, les bactéries exogènes, les substances antibiotiques...

Les bactéries habituellement présentes dans l'intestin grêle appartiennent aux genres : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, et à quelques espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* à des

concentrations faibles jusqu'à l'iléon où elles apparaissent dominées par des espèces anaérobies à Gram négatif appartenant au genre *Bacteroides*.

Dans le côlon, il faut distinguer 4 types de flore :

- ❖ **Flore dominante** ($N > 10^9$ UFC/g) exclusivement anaérobie : *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*,
- ❖ **Flore sous dominante** ($10^6 > N > 10^8$ UFC/g) : différentes espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* (surtout *E.coli*) et les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter*,
- ❖ **Flore résiduelle** ($N < 10^6$ UFC/g) : bactéries en transit ou réprimées par la flore résidente,
- ❖ **Flore fécale** : facilement accessible pour l'analyse, elle renferme de nombreuses espèces mortes et n'est pas représentative des différentes niches écologiques de l'écosystème microbien digestif. L'analyse de la flore fécale ne donne qu'une vue très limitée de l'écosystème mais permet de retrouver des souches pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'hôte.

Tableau 1 : ÉTABLISSEMENT DE LA FLORE INTESTINALE

| | |
|---|---|
| <p>A la naissance, le tube digestif est normalement stérile mais il est très rapidement colonisé par les bactéries de l'environnement direct (flore de la mère, notamment) pour atteindre une population comprise entre 10^9 et 10^{11} UFC/g au bout de 48 h dans le côlon. Phénomène complexe, encore mal connu, relativement spécifique à chaque espèce animale, la colonisation s'effectue différemment, selon que l'enfant est né par voie basse ou par césarienne.</p> | <p>Chez le nourrisson, la flore microbienne présente une grande variabilité : prédominance de <i>Bifidobacterium</i> chez la majorité des enfants nourris au sein ou prédominance de <i>Lactobacillus</i> chez les enfants en allaitement artificiel.</p> <p>Chez l'enfant de 1 à 4 ans, parallèlement à la diversification alimentaire, on observe une modification progressive de la flore qui tend vers celle de l'adulte et que l'on qualifie de "flore normale". Mais peut-on réellement parler de flore normale ?</p> |
|---|---|

3. RÔLES DE LA FLORE INTESTINALE HUMAINE

a/ Effets digestifs

Des modifications anatomiques et histologiques liées à la présence de la microflore sont mises en évidence en comparant ce qui se passe chez l'animal conventionnel par rapport à l'animal axénique (dépourvu de germes). C'est ainsi que l'on constate que :

- ❖ L'absence de flore entraîne un ralentissement du transit intestinal et une dilatation du caecum (effet sur la motricité),
- ❖ La vitesse de renouvellement cellulaire et l'index mitotique sont significativement réduits chez l'animal axénique (effet sur la trophicité).

b/ Effets nutritionnels

• bénéfiques pour l'hôte

- production d'acides gras à chaîne courte diminuant la synthèse hépatique du cholestérol; l'un d'eux, l'acide butyrique, est la principale source d'énergie de la muqueuse colique,
- dégradation des hydrates de carbone non absorbés (amidon, pectine, glycoprotéines) aboutissant à la production d'acides organiques assimilables par l'hôte (acétate, propionate, butyrate) et de gaz (CO₂, H₂),
- hydrolyse des lipides alimentaires non absorbés grâce aux lipases bactériennes et à la conjugaison des acides biliaires primaires, indispensable pour une bonne absorption des graisses,
- dégradation de certaines protéines et de certains acides aminés (tryptophane), permettant la récupération de l'azote,
- apport vitaminique : certaines bactéries anaérobies facultatives (*E.coli*, *E.aerogenes*) sont capables de synthétiser in vitro un large éventail de vitamines (biotine, riboflavine, acide pantothénique, pyridoxine et vitamine K). Des bactéries anaérobies strictes (*C.butyricum*, *Veillonella sp.*) sont capables de synthétiser la vitamine B12, d'une grande utilité pour la croissance locale bactérienne. Il n'existe pas de données précises sur l'utilisation de ces vitamines par l'hôte, notamment par l'homme.

• défavorables pour l'hôte :

- métabolisme glucidique : les activités de type β -glucuronidase libèrent à partir des β -glucuronides des aglycones à pouvoir cancérogène,
- métabolisme azoté : la dégradation par la microflore des nitrates et des amines secondaires aboutit à la production de nitrosamines cancérogènes,
- métabolisme des xénobiotiques : possibilité d'inactivation de médicaments (inactivation de la digoxine par *Eubacterium lentum*) ou de production de métabolites toxiques. Ainsi les myrosinases d'origine bactériennes, capables d'hydrolyser les glucosinolates des crucifères (choux, choux de bruxelles, navets...) peuvent être responsables de diarrhées. De même, après consommation importante et prolongée de choux, les métabolites dérivés de la 5-vinyl-oxazolidine-2-thione (goitrine) sont responsables d'une diminution importante de la captation de l'iode par la thyroïde.

c/ Protection contre l'infection

Elle s'exerce d'abord par l'effet de barrière exercé par la flore résidente vis-à-vis des bactéries exogènes ("résistance à la colonisation"), par élimination totale de la souche exogène (effet drastique), ou par maintien de la souche exogène en sous-dominance (effet permissif). Les mécanismes expliquant ces phénomènes, mal connus, sont étroitement liés aux souches anaérobies strictes dominantes de la flore résidente.

La flore digestive stimule aussi l'immunité locale, comme l'ont montré les comparaisons du statut immunitaire des animaux conventionnels et axéniques.

Ces deux effets peuvent, dans certaines conditions, être augmentés par quelques souches bactériennes probiotiques en transit (bactéries lactiques).

II. MICROBIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF DES RUMINANTS

La fonction digestive des ruminants est caractérisée par l'existence d'une micropopulation très diversifiée, résidant dans les préestomacs, notamment dans le rumen.

1/ ANATOMIE DU TUBE DIGESTIF

Le tube digestif des ovins est similaire à celui des autres ruminants, il est constitué de trois parties inégales : l'estomac, l'intestin grêle, le gros intestin.

1-1/ Estomac:

C'est la portion digestive comprise entre l'oesophage et l'intestin. Elle occupe les 3/4 de la cavité abdominale. Elle est constituée de quatre compartiments: le rumen (panse), le réseau (réticulum), le feuillet (omasum), la caillette (abomasum) qu'est considérée comme l'estomac vrai (figure1). Le volume et le poids de l'estomac varient avec le niveau d'ingestion, la composition de la ration et le comportement alimentaire.

1-1-1/ Panse ou rumen :

Il occupe la partie gauche de l'abdomen. C'est un sac volumineux représentant 85 à 90% du volume de l'estomac et de 70 à 75% du volume totale de l'appareil digestive.

La paroi du rumen est formée d'une tunique musculaire qui constitue l'essentiel de sa masse. Ce sont les contractions de ces muscles qui assurent le brassage continu des aliments. Le rumen est tapissé d'une muqueuse assurant l'absorption des nutriments solubles. Les différentes poches du rumen communiquent par un bourrelet de deux saillies qui est la goutte oesophagienne.

1-1-2/ Réseau ou réticulum :

Il est déposé en avant de la panse, contre le diaphragme. Sa paroi intérieure est tapissée d'alvéoles ressemblant à des rayons d'abeilles recouvertes de papilles cornées. Ces alvéoles augmentent la surface de contact avec les aliments. Ils jouent un rôle majeur dans la circulation et le tri, ne laissant passer vers le feuillet que les particules alimentaires suffisamment fragmentées, les autres particules étant retenues dans la panse où elles subiront la rumination et la dégradation microbienne. C'est la raison pour laquelle le rumen et le feuillet sont considérés comme un seul organe appelé réticulo-rumen.

1-1-3/ Feuillet ou omasum :

C'est un réservoir grossièrement sphérique, plus volumineux que le réseau. Sa paroi intérieure est tapissée de très nombreuses lamelles muqueuses. Semblables aux feuilles d'un livre, d'où son nom. Ces lamelles, déposées parallèlement au passage des aliments assurent la filtration des particules alimentaires et l'absorption de l'eau et des minéraux du contenu digestif, avant leur arrivée dans la caillette.

1-1-4/ Caillette ou abomasum :

Elle est de forme allongée, repliée en crêtes spiralées. L'épithélium luminal est constitué de cellules sécrétrices qui produisent du mucus, de l'acide chlorhydrique et de la pepsine (pH:2-3). Elle se termine par le pylore qui la relie au duodénum.

1-2/ Intestins :

1-2-1/ Intestin grêle :

Il est divisé en duodénum, jéjunum et iléon. Sa muqueuse est riche en villosités qui constituent une surface d'absorption et de sécrétion. Son développement dépend de l'alimentation et de l'espèce.

1-2-2/ Gros intestin :

Il est formé d'un réservoir allongé: Le caecum (0,75m), le colon (9m) qui s'enroule en spirale et d'une poche ovoïde allongée se terminant par l'anus qu'est le rectum.

2/ LA PHYSIOLOGIE DU TUBE DIGESTIF

2-1/ Rumination ou Mastication mérycique :

C'est l'acte par lequel les aliments sont ramenés du rumen dans la cavité buccale pour être soumis à une seconde mastication rendant les particules plus fines et à une deuxième salivation avant de retourner dans la panse pour y être fermentés. En effet, la rumination facilite l'action des fermentations microbiennes et la digestion de tous les composés alimentaires. Une fois le broyage mécanique terminé, les aliments se trouvent dans la panse où ils vont subir une deuxième digestion.

2-2/ Digestion :

La digestion met en jeu des phénomènes physiques (broyage, transit, ...) et des phénomènes dus à des sécrétions digestives ou à l'action de la population microbienne développée dans le tube digestif et qui permet à l'animal à la fois d'utiliser la cellulose des végétaux et d'assurer sa nutrition azotée en dégradant les composés azotés simples et de synthétiser les vitamines du groupe B et la vitamine K. Chez les ruminants, la caractéristique principale est que les aliments soient soumis à des actions microbiennes dans les pré-estomacs avant de subir l'action des enzymes du tube digestif. Ces phénomènes concernent principalement la partie antérieure du tractus digestif (réticulo-rumen) où les conditions physico-chimiques sont favorables à l'action des micro-organismes.

3/ LA MICROFLORE DU TUBE DIGESTIF :

1- Les bactéries :

La flore ruminale se caractérise par son extrême diversité, le nombre d'espèces bactériennes colonisant le rumen étant important, et présentant des activités enzymatiques variées. Le rumen d'un adulte contient environ 10^{10} cellules bactériennes /ml, les bactéries seules représentent environ 50% de la biomasse microbienne. Elle est composée essentiellement de bactéries anaérobies strictes non sporulées.

Parmi les principales espèces bactériennes : Cellulolytiques (*Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Butyrivibrio fibrisolvens*), Hémicellulolytiques (*Bacteroides ruminicola*, *Butyrivibrio fibrisolvens*), Amylolytiques (*Bacteroides amylophilus*, *Streptococcus bovis* (aérobie facultatif), *Bacteroides ruminicola*).

La colonisation du tractus digestif des ruminants par les bactéries est rapide. Dès le premier jour, les premières bactéries s'installent : *Escherichia coli* et des Streptocoques, alors que les bactéries cellulolytiques apparaissent au 4ème jour chez 75% des jeunes des ruminants. Celles-ci peuvent être regroupées selon le type de substrat rassemblant attaqué dans le rumen. Les substrats fermentés par les espèces bactériennes ruminales étant multiples, celles-ci peuvent donc être retrouvées dans différentes niches écologiques (dégradation de la cellulose, de l'amidon, de protéines, des lipides, utilisation de l'ammoniaque, des acides organiques, production de méthane ...etc).

2- Les protozoaires :

Les protozoaires sont des organismes eucaryotes cellulaires. On distingue 02 types dans le rumen : les flagellés et les ciliés. Les ciliés représentent près de la moitié de la biomasse microbienne et leur concentration varie de 10^4 à 10^6 cellules /ml, elle est distribuée entre les particules solides et la phase liquide. La majorité des protozoaires retrouvés dans le rumen appartiennent à l'embranchement des ciliés, et représentés par deux groupes. Les « holotriches », et les « entodiniomorphes ».

Au sein des Entodiniomorphidés, on retrouve un nombre important de genres : les genres *Entodinium* (un genre difficile à classer sur la base de l'aspect morphologique), *Eodinium* (dont l'espèce type est *Eodinium lobatum*), *Diplodinium*, *Eremoplastron*, *Eudiplodinium*...etc. Concernant les Holotriches, les genres rencontrés dans le rumen sont majoritairement *Isotricha* et *Dasytricha*.

Les Entodiniomorphes digèrent les parois cellulaires et les chloroplastes, des enzymes cellulolytiques étant retrouvées chez tous les protozoaires de cet ordre. Néanmoins, la présence de cellulases d'origine bactériennes ne permet pas d'apporter la preuve sans ambiguïté d'une origine ciliée plutôt que bactérienne. Les plus gros protozoaires peuvent également dégrader l'hémicellulose. D'autre part, les protozoaires jouent un rôle important dans l'hydrolyse de l'amidon en ingérant les granules d'amidon et les sucres solubles en diminuant de ce fait l'accessibilité de ces substrats aux bactéries amylolytiques.

Les interactions avec d'autres microorganismes sont nombreuses : les protozoaires ingèrent les bactéries endogènes et exogènes comme source de protéines pour leur synthèse cellulaire. Les protozoaires ne sont pas indispensables à la digestion mais leur présence améliorent la digestibilité, uniformisent la fermentation entre les repas.

3- Les champignons :

Les champignons du rumen n'ont été découverts que tardivement. La population fongique est estimée à 10^3 et 10^5 cellules /ml soit environ 10 % de la biomasse microbienne. Les zoospores s'attachent sur les particules des plantes déjà abimées. Le rhizoïde pénétrant dans les tissus par protéolyse. Les champignons trouvés dans le rumen sont anaérobies stricts, ce qui est tout à fait exceptionnel dans le groupe des champignons, ne possèdent pas de mitochondries, pas de cytochromes et assurent uniquement la fermentation de tissus cellulosiques. On décrit trois espèces qui sont *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* et *Sphaeromonas communis*.

L'activité protéolytique est assurée par des métallospores, ils hydrolysent l'extensine des parois. Ils contiennent beaucoup d'acides aminés, dont le contenu en adénine et en thymine est important, et à ce titre, les protéines des champignons sont très digestibles. Les champignons produisent une importante quantité de H_2 et sont donc associés, dans les réactions métaboliques, aux bactéries méthanogènes, bactéries consommatrices de dihydrogène. Les bactéries cellulolytiques diminuent l'activité des champignons. L'élimination des champignons diminue la digestibilité et augmente la proportion de propionate.

4- Les virus:

125 types morphologiques de bactériophages ont été observés dans le rumen. Leur rôle parmi la population microbienne n'est pas bien connu. Bien qu'ils lysent *Streptococcus bovis* et *Bifidobacterium thermophilus in vitro*.