

Z. Ernährungswiss. 14, 133-144 (1975)

Laboratoire d'Ecologie Microbienne - I.N.R.A. - C.N.R.Z. - Jouy-en-Josas

## La flore microbienne du tube digestif chez le monogastrique et son influence sur les métabolismes nutritionnels de l'hôte

R. Ducluzeau et P. Raibaud

Avec 1 figure

(Arrivé le 2 février 1975)

Le nombre des bactéries qui composent la microflore du tube digestif d'un mammifère est dix fois plus élevé que le nombre des cellules qui constituent les tissus de ce mammifère. Il y a dans un centimètre cube du contenu caecal d'un monogastrique dix fois plus de bactéries que de globules rouges dans un centimètre cube de son sang; la moitié du poids sec des feces d'un homme est constituée par des bactéries: ces quelques images montrent que le tube digestif représente, de loin, le biotope le plus riche en microorganismes que nous connaissions. L'abondance et la variété des populations microbiennes qui composent la microflore du tube digestif, l'importance pratique pour l'animal-hôte des interactions qui se créent entre ces populations bactériennes et la cavité digestive qui les contient, font de l'association entre un animal-hôte et la microflore de son tube digestif un des plus fascinants écosystèmes que l'on connaisse. Les relations entre les deux composants de l'écosystème, contenant et contenu, sont ici incomparablement plus intimes que dans la plupart des écosystèmes classiques. Sait-on en effet que cette énorme population bactérienne est répartie, voire étroitement fixée sur une muqueuse qui, grâce à ses replis, atteint une surface largement supérieure à la peau par laquelle l'animal entre en contact avec les autres éléments de son environnement? N'est-il pas naturel dès lors de constater que le puissant potentiel enzymatique représenté par la microflore est capable d'influencer la quasi totalité des métabolismes de l'hôte et au premier chef sa physiologie nutritionnelle?

### I - Les techniques de l'écologie microbienne du tube digestif

Il peut paraître étonnant que, malgré le rôle capital que l'on est amené à lui assigner dans le domaine nutritionnel, la microflore du tube digestif constitue certainement l'élément le moins bien connu et le moins bien maîtrisé de l'environnement animal et humain. La carence de nos connaissances dans ce domaine vient essentiellement des difficultés des techniques à mettre en œuvre pour analyser les relations écologiques entre les diverses populations de la microflore et entre la microflore et l'hôte.

En effet cette analyse ne peut être entreprise qu'à la condition impérative de disposer d'un indispensable outil: l'animal axénique, grâce auquel on peut dissocier le complexe animal hôte  $\rightleftharpoons$  flore microbienne.

Si l'idée d'obtenir des animaux axéniques a été émise par Pasteur il y a près de 90 ans, il a fallu attendre la dernière décennie pour que « ces genres de travaux se simplifiant par leur développement même », comme le prévoyait déjà le grand bactériologiste, on puisse disposer de façon relativement courante d'animaux dépourvus de microbes. L'animal axénique ensemencé avec une flore connue devient alors un animal « gnotoxénique »; s'il est porteur d'une seule souche bactérienne il est « monoxénique », de deux souches « dixénique », de nombreuses souches « polygnotoxénique ». L'animal élevé sans précautions d'isolement particulières et hébergeant donc une flore complexe et inconnue est, dans cette nomenclature, appelé animal « holoxénique ». En comparant un animal gnotoxénique à ses homologues axénique et holoxénique, il devient possible d'apprécier l'activité « in vivo » et l'action sur l'animal hôte des divers éléments de la flore qu'il héberge. Il reste ensuite à savoir si les effets mis ainsi en évidence continuent réellement à s'exercer au sein de la flore complexe d'un animal holoxénique.

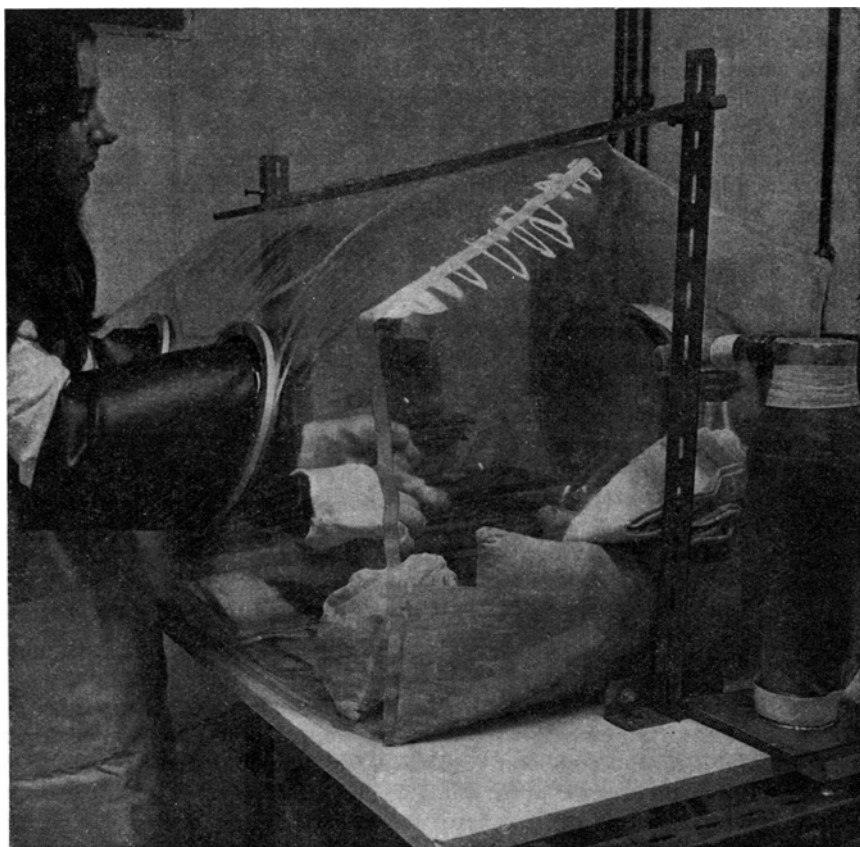


Fig. 1. Travail dans un isolateur de matière plastique contenant des souris axéniques.

Deux progrès considérables dans la technologie de l'élevage des animaux axéniques ont été à l'origine du développement de cette technique. Il s'agit d'abord de l'utilisation d'enceintes stériles en chlorure de polyvinyl appelées « isolateurs » ou « bulles ». Ces enceintes souples, transparentes, bon marché, peuvent facilement prendre toutes les formes désirées par les utilisateurs en fonction des animaux utilisés et de l'usage que l'on veut en faire. Le second progrès a été la possibilité de stériliser ces enceintes très rapidement et avec une grande sécurité à l'aide de l'acide péracétique. Cet acide vaporisé en aérosol libère très facilement de l'oxygène qui tue en moins de 20 minutes les spores bactériennes les plus résistantes, et laisse comme résidu de l'acide acétique, non toxique pour les animaux. Bien entendu cette stérilisation chimique n'est valable que pour des parois lisses et propres et le matériel utilisé dans les isolateurs ainsi que la nourriture des animaux continuent d'être stérilisés par des moyens classiques: chaleur sèche ou humide et souvent maintenant irradiation par les rayons gamma aux doses de 4 Mrads. La mise au point de filtres bactériens en fibres de verre ou en papier rend possible la stérilisation des grands volumes d'air nécessaires à la ventilation des isolateurs. Enfin pour certaines utilisations, en particulier médicales, on a mis au point des systèmes de transfert rapide permettant de passer sans délai des objets stériles d'une enceinte à une autre.

Qui dit écologie dit analyse différentielle quantitative des diverses populations interdépendantes dans un espace donné. Cet aspect de l'écologie microbienne s'oppose aux techniques classiques de la bactériologie médicale qui cherche seulement à isoler, pour l'identifier, telle espèce microbienne présumée pathogène. Dans une population complexe comme celle du tube digestif, les bactéries qui jouent le rôle le plus important ne sont pas forcément les plus abondantes mais, inversement, si les bactéries restent en nombre trop faible elles ne représentent plus un potentiel enzymatique suffisant pour qu'elles puissent influencer l'animal-hôte. Beaucoup plus que les « isolements » du bactériologiste médical, ce sont les « dénombrements sélectifs » qui constituent l'essentiel du travail de l'écologiste micobien. Il doit pour cela disposer d'un arsenal complexe de milieux de culture sélectifs permettant la croissance quantitative d'une espèce bactérienne sous dominante à l'exclusion des autres. Malheureusement de tels milieux de culture sont rares et ceux que nous possédons ne sont souvent qu'électifs c'est-à-dire qu'ils permettent de différencier les colonies d'espèces bactériennes différentes en nombre comparable, ou partiellement sélectifs c'est-à-dire diminuant seulement les populations bactériennes dominantes sans les éliminer. Il s'ensuit que la plupart des milieux sélectifs sont adaptés à une « niche écologique » donnée où règne un certain équilibre, mais sont difficilement transposables à d'autres. Finalement, malgré l'apparition constante de nouveaux bactéricides sélectifs en particulier antibiotiques, utilisés en combinaison avec des techniques sélectives physiques (pH, rH, température d'incubation), notre arsenal reste encore limité et bien des populations bactériennes sous dominantes du tube digestif échappent encore à nos investigations. Une des meilleures preuves de ce fait est que nous ne savons pas encore effacer les différences qui existent entre un animal axénique et un animal holoxé-

nique en inoculant au premier les bactéries que nous savons isoler du second. Inversement certaines populations bactériennes sont si facilement dénombrées, grâce à certains milieux aux propriétés sélectives exceptionnelles, que les bactériologistes sont tentés de leur attribuer un rôle physiologique hors de proportion avec la réalité. C'est le cas du célèbre *Escherichia coli*, pratiquement seul à croître sur un milieu contenant un sel biliaire (la gélose au désoxycholate) et qui, malgré son nom, est une bactérie peu abondante dans le colon de l'homme adulte. Enfin une difficulté supplémentaire intervient au niveau de la microflore du tube digestif. Une grande part des espèces qui la composent, et en particulier les plus abondantes, sont anaérobies strictes.

Les techniques d'anaérobiose alourdissent naturellement la réalisation des dénombrements, et le manque de connaissances fondamentales sur la physiologie de ces espèces rend difficile la mise au point des milieux sélectifs. Là encore, pourtant, des progrès techniques récents facilitent la tâche de l'écologiste. Dans le cas des bactéries qui ne croissent qu'en anaérobiose, mais ne sont pas tuées par l'exposition à l'air, des dénombrements peuvent être facilement effectués dans les tubes profonds de *P. Raibaud* à l'aide de milieux adaptés. Dans le cas des bactéries anaérobies strictes tuées par l'exposition à l'air, la totalité des manipulations, depuis le prélèvement, peuvent maintenant être faites dans des chambres anaérobies mises au point par *R. Freter* aux Etats Unis. Ces chambres, semblables à des isolateurs, sont remplies d'un mélange gazeux réducteur dans lequel on maintient une tension d'oxygène inférieure à 5 p.p.m. Malgré ces perfectionnements dans les techniques et les milieux de culture, il faut bien dire qu'il reste encore de nombreuses bactéries du tube digestif que nous ne savons faire croître que dans le tube digestif de la souris gnotoxénique, véritable tube de culture vivant.

Le dénombrement sélectif des bactéries ne donne naturellement qu'une idée partielle de l'équilibre des bactéries de l'écosystème. Pour avoir une idée de leur répartition géographique et des relations spatiales privilégiées qu'elles peuvent contracter avec certaines parties de la muqueuse, il faut avoir recours à la microscopie. La microscopie optique apporte quelques renseignements, mais la technique de choix est la microscopie électronique à balayage qui, bien que d'emploi récent dans ce domaine, a déjà apporté nombre de données nouvelles.

## II - L'équilibre de la microflore dans les différentes parties du tractus gastro-intestinal

De nombreuses analyses différentielles quantitatives de la microflore fécale des animaux et de l'homme, mais surtout la réalisation au Laboratoire d'Ecologie Microbienne de nombreux modèles expérimentaux de rats et souris gnotoxéniques, nous permettent aujourd'hui de définir quelques caractéristiques constamment retrouvées dans la microflore des monogastriques holoxéniques adultes.

L'estomac, premier niveau de stase chez le monogastrique, est le siège d'une prolifération bactérienne importante. Bien entendu les conditions acides qui y règnent le plus souvent, la présence d'oxygène apporté par la déglutition vont entraîner la sélection d'une population bactérienne

dominante acido-tolérante et anaérobie facultative, essentiellement *Lactobacillus* et *Streptococcus*. Il existe cependant dans l'estomac quelques bactéries sensibles à l'acidité et quelques bactéries anaérobies strictes ce qui prouve l'existence de niches écologiques à l'abri des conditions hostiles du milieu. La même observation peut être faite au sujet des bactéries anaérobies strictes trouvées sur les dents. Elles prolifèrent dans des micro-environnements très réducteurs dus à la prolifération active des bactéries anaérobies facultatives qui sont évidemment les plus abondantes, mais aussi souvent les plus nocives puisqu'à l'origine des caries.

Le cæcum et le colon, principaux niveaux de stase dans le tube digestif, représentent les segments intestinaux qui hébergent le nombre maximum de bactéries: de 1 à 3  $10^{10}$  bactéries par gramme de contenu fraîchement prélevé. La population bactérienne dominante est constituée d'espèces anaérobies strictes appartenant le plus souvent au genre *Bactéroïdes*, petits bacilles à gram négatif et incapables de sporuler. Les bactéries anaérobies strictes à gram positif sont aussi très abondantes dans ces segments: genres incapables de sporuler, comme les *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Catenabacterium*, *Peptostreptococcus*, ou capables de sporuler comme les *Clostridium*, *Plectridium*, *Inflabilis*. Les genres anaérobies facultatifs sont toujours 10 à 100 fois moins nombreux. Le plus fréquent des genres à gram positif est le genre *Streptococcus*. Le genre *Lactobacillus* est trouvé plus irrégulièrement, surtout chez l'homme. Les enterobactéries sont les plus fréquentes des bactéries anaérobies facultatives à gram négatif. Il est à noter que le potentiel d'oxydo-réduction du cæcum d'un axénique est nettement plus élevé que celui que l'on observe chez un holoxénique. C'est la prolifération bactérienne elle-même qui est responsable chez l'holoxénique de la diminution du potentiel d'oxydo-réduction du cæcum, ce qui permet ensuite le développement de certaines bactéries anaérobies très strictes. Enfin à ce niveau, on a observé chez le rat et la souris la présence d'un épais feutrage de bactéries anaérobies strictes appliqué sur la muqueuse.

Lorsque l'on passe, à travers la valvule iléocæcale, du cæcum à l'intestin grêle le faciès microbien change brusquement: Le nombre total de bactéries décroît rapidement au long de l'intestin grêle jusqu'à devenir très faible, quoique jamais nul, dans le duodénum. De plus la flore dominante est alors constituée d'espèces anaérobies facultatives, comme dans l'estomac. On a souvent été tenté d'attribuer aux sécrétions de sels biliaires dans le duodénum un grand rôle dans la limitation des proliférations bactériennes de l'intestin grêle. « In vitro » en effet, ces sels biliaires sont bactéricides à l'égard de nombreuses espèces bactériennes. Cependant, « in vivo » si l'on empêche la bile de s'écouler dans le tube digestif en créant une fistule urinaire du canal cholédoque, on n'observe pas l'augmentation importante du nombre des bactéries de l'intestin grêle à laquelle on aurait pu s'attendre. Le nombre total de bactéries n'augmente pas. Il y a bien une modification du faciès bactérien, mais toutes les bactéries inhibées « in vitro » par les sels biliaires ne prolifèrent pas de façon anormale, seuls quelques groupes augmentent comme certaines *Micrococcaceae* par exemple. C'est là un des nombreux exemples qui montrent combien il est aléatoire d'extrapoler « in vivo » un phénomène observé « in vitro », d'où

la nécessité d'expérimenter chez un animal gnotoxénique. Le facteur prépondérant pour expliquer la diminution du nombre des bactéries dans l'intestin grêle est le péristaltisme. Les substances qui ralentissent le péristaltisme sont capables de provoquer la prolifération de certaines bactéries. De plus, c'est dans les parties distales de l'intestin grêle, où le transit est plus lent, que l'on observe aussi les proliférations bactériennes les plus abondantes.

### III – La régulation de l'équilibre de la microflore

#### a) L'interaction entre bactéries

Lorsqu'on fait ingérer une souche bactérienne quelconque à un animal axénique, celle-ci s'établit dans le tube digestif en 12 à 24 heures dans la grande majorité des cas, c'est-à-dire qu'au bout de ce temps l'inoculum bactérien s'est multiplié et la population bactérienne atteint un niveau maximum le plus souvent compris entre  $5 \cdot 10^8$  et  $10^{10}$  bactéries par g de fèces, niveau qui restera stable aussi longtemps que l'animal restera monoxénique.

Si la souche bactérienne ne s'établit pas, c'est que les conditions physicochimiques du milieu digestif ne permettent pas sa croissance: température trop élevée pour les bactéries psychrophiles strictes, trop basse pour les thermophiles strictes, potentiel d'oxydo-réduction trop bas pour les souches aérophiles ou trop élevé parfois pour des souches anaérobies très strictes, facteurs nutritionnels indispensables qui ne sont pas apportés par l'alimentation ou au contraire facteurs bactéricides présents dans le tube digestif.

Lorsque l'on ensemence deux souches bactériennes ensemble, ou successivement, deux cas sont possibles: ou bien les deux bactéries se développent ensemble aussi bien que lorsqu'elles se trouvent seules et l'équilibre qui s'établit ainsi est généralement stable (cette observation s'oppose à la théorie du premier occupant qui voudrait que la première souche implantée occupe le terrain, et de ce fait interdise la prolifération de n'importe quelle autre bactérie introduite ultérieurement) ou bien une interaction apparaît entre les deux bactéries inoculées: l'une des bactéries l'emporte sur l'autre et éventuellement l'élimine totalement. Les mécanismes qui régissent l'équilibre entre ces deux bactéries, que l'on appelle mécanismes élémentaires, sont à ce jour rarement élucidés. Il peut s'agir soit de la production par l'une des bactéries d'une substance inhibitrice (antibiotique, acide organique) qui s'oppose au développement de l'autre bactérie, soit d'une compétition entre les deux bactéries pour un facteur limitant du contenu digestif. Ces mécanismes élémentaires dépendent aussi de l'environnement: tel *Lactobacillus* élimine une *Ristella*, à condition que l'hôte ingère de grandes quantités de lactose.

Souvent aussi, les mécanismes élémentaires observés in vitro dans un tube de culture diffèrent de ceux observés in vivo: *Streptococcus liquefaciens* lyse une souche de *Lactobacillus* dans un milieu gélosé mais co-existe in vivo sans interférence avec ce même *Lactobacillus* dans le tube digestif; *Micrococcus* inhibe un *Staphylococcus pyogenes* in vitro, mais est inhibé in vivo par ce même *Staphylococcus pyogenes*.

Lorsqu'on ensemence un nombre plus élevé de souches bactériennes chez un animal gnotoxénique, on peut constater qu'une modification de l'équilibre entre deux bactéries entraîne, par une réaction en chaîne, un changement de l'équilibre entre plusieurs bactéries. Ces modifications peuvent s'exercer par l'action directe des bactéries les unes sur les autres ou par l'intermédiaire de l'hôte et des conditions dans lesquelles il vit. L'observateur ne perçoit que le résultat de cet ensemble d'interactions que l'on désigne sous le terme de mécanismes intégrés. Chez un animal holo-xénique, ces mécanismes intégrés atteignent une complexité maximum. Ils sont en outre responsables d'un « effet de barrière » très puissant à l'égard de la plupart des bactéries exogènes qui pénètrent sans cesse dans le tube digestif. Selon les cas la microflore en équilibre dans le tube digestif peut soit détruire complètement les bactéries exogènes ingérées, soit arrêter leur développement, et on assistera alors à un simple transit passif de l'inoculum introduit.

Cet effet de barrière qui s'exerce à l'égard de nombreuses bactéries pathogènes, représente un des rôles utiles les plus importants de la microflore du tube digestif. On sait combien la perturbation incontrôlée de l'équilibre de la flore, à la suite de l'ingestion d'antibiotiques par exemple, peut avoir des effets désastreux en détruisant cet effet de barrière, et en permettant la multiplication de bactéries habituellement réprimées. Une autre conséquence de cet effet de barrière est la quasi impossibilité d'établir dans le tube digestif une souche bactérienne exogène donnée à titre thérapeutique: nous avons effectivement vérifié chez l'homme et les animaux, que l'ingestion de préparations commerciales de *Lactobacillus* est suivie d'une élimination passive de l'inoculum, sans multiplication in situ.

#### b) L'action de l'hôte et de son environnement sur l'équilibre de sa microflore

L'hôte exerce de multiples actions sur les bactéries qu'il héberge en maintenant une température relativement constante, du fait de l'anatomie propre de son tube digestif, en remaniant profondément les aliments qu'il ingère, créant ainsi un certain milieu nutritif auquel il imprime un transit déterminé, en excréant dans ce milieu nutritif des facteurs de croissance pour les bactéries, des métabolites bactéricides ou bactériostatiques, des agents de germination ou de sporulation ou encore certaines catégories d'anticorps. La nature et le rôle de tous ces agents sont dans la plupart des cas inconnus et nous avons vu, en étudiant la répartition des bactéries dans le tube digestif, que les idées a priori que l'on pouvait avoir sur tel ou tel de ces facteurs sont loin d'être toujours en accord avec les données expérimentales: l'expérimentation chez l'animal gnotoxénique reste l'unique voie d'approche pour comprendre l'importance de ces facteurs.

L'environnement de l'hôte intervient aussi, directement ou indirectement, sur les relations qui s'établissent entre l'hôte et sa flore bactérienne. Directement par les qualités nutritives et bactériologiques et la quantité des aliments liquides ou solides mis à la disposition de l'hôte, indirectement par tous les phénomènes qui ont une action sur les fonctions de l'hôte (la température ambiante, l'humidité, l'éclairement, etc.). L'action de l'aliment apparaît particulièrement importante. On connaît des bactéries dont

l'établissement chez l'axénique est conditionné par la nature de l'aliment. Nous avons également observé de nombreuses variations dans l'équilibre de microflore contrôlée chez des « gnotoxéniques » à la suite d'un changement de régime. Le régime intervient également sur le métabolisme de la flore: pour une même flore, des effets comme la production d'acides gras volatils, la réduction de volume du cæcum ou l'abaissement du potentiel d'oxydo-réduction varient fortement d'un régime alimentaire à un autre. Chez le jeune mammifère avant sevrage, c'est le lait de la mère qui conditionne la nature et la séquence d'implantation des bactéries. Chez le souriceau ou le raton nourri par leur mère, seules les bactéries anaérobies facultatives prolifèrent. La flore anaérobie stricte n'apparaît que lorsque l'animal commence à consommer un autre aliment que le lait maternel. Et on comprendra la finesse de ces régulations si l'on sait que le délai d'apparition de certaines bactéries chez le jeune varie si l'on change le régime de la mère. Le régime alimentaire apparaît donc comme une des armes les plus efficaces que nous possédions pour agir sur l'équilibre de la microflore du tube digestif. Malheureusement nous n'avons encore que trop peu d'informations objectives pour prévoir a priori quelles seront les conséquences d'un changement de régime sur un équilibre bactérien donné.

#### **IV – L'action de la microflore du tube digestif sur la physiologie nutritionnelle de l'hôte**

Le tractus digestif est la partie de l'animal-hôte directement exposée à l'action de la microflore du tube digestif, il est donc normal que les modifications des organes digestifs soient les plus spectaculaires lorsque l'on compare axénique et holoxénique. D'autre part, la complexité de la microflore du tube digestif est si grande qu'il est logique d'y rencontrer des microorganismes capables d'agir sur tous les éléments du régime ingéré: tous les métabolismes nutritionnels de l'hôte seront donc, à des degrés divers, affectés par la flore.

##### *1) Les modifications anatomiques du tube digestif*

Lorsqu'on ouvre l'abdomen d'un rongeur axénique, on est immédiatement frappé par l'énorme distension de son cæcum: celui-ci est 5 à 6 fois plus volumineux que celui d'un holoxénique. L'administration à un axénique de la microflore d'un holoxénique ramène le cæcum à son volume normal en quelques jours. Cependant nous ne connaissons aucune bactérie capable de produire à elle seule une réduction complète et durable du cæcum. Des associations de 4 à 6 bactéries isolées dans notre laboratoire se sont montrées efficaces chez le rat, mais leur activité dépend du régime ingéré par l'animal. Le mécanisme de cette distension cæcale reste encore inconnu. Pour les uns, elle serait liée à la présence dans le cæcum de métabolites alimentaires non dégradés qui rendraient impossible l'absorption de l'eau qui s'accumule dans cet organe; pour d'autres, on trouverait dans le cæcum des axéniques des enzymes exerçant un effet dépressif sur le tonus des fibres musculaires lisses de la paroi. La distension cæcale n'est cependant pas une caractéristique générale de vie en l'absence de bactéries puisqu'elle n'existe que chez les rongeurs axéniques.

Chez l'axénique, la muqueuse de l'intestin grêle ne présente pas l'état inflammatoire chronique qui est de règle chez l'holoxénique. La vitesse de



renouvellement de l'épithélium de la muqueuse est considérablement diminuée: l'index mitotique est par exemple deux fois plus faible chez le rat axénique que chez l'holoxénique. Au plan nutritionnel ce ralentissement a pour conséquence une importante diminution de la quantité d'azote endogène dont va disposer l'animal. Le transit gastro-intestinal est plus lent en l'absence de microflore, à tous les niveaux du tube digestif. Ce ralentissement, ainsi que la distension cœcale, s'accroissent avec l'âge et ce sont ces deux phénomènes conjugués qui, amenant finalement un arrêt à peu près complet du transit digestif, constitueront la cause principale de mortalité chez les rongeurs axéniques. Selon certains auteurs, cette mortalité intervient cependant, en moyenne, plus tard que chez les holoxéniques.

### 2) Métabolisme glucidique

Des résultats récents ont été acquis par notre groupe dans ce domaine peu exploré. Nous savons maintenant que la flore du tube digestif contribue d'un manière importante à la digestion de l'amidon chez le rat et surtout chez le poulet. Chez le poulet axénique par exemple les cæca contiennent encore de nombreux grains d'amidon non digérés, alors que chez l'holoxénique tout l'amidon du régime est dégradé. L'action amylolytique de la flore commence chez le poulet dès le jabot où la population de lactobacilles pourrait jouer un rôle important. Par ailleurs, on a observé que l'axénique peut synthétiser l'ensemble des disaccharidases nécessaires à la métabolisation de son régime glucidique. Il existe cependant une exception notable à cette règle: c'est le jeune porcelet axénique dont la muqueuse est dépourvue de lactase. Nourri de lait de vache il tombe rapidement en hypoglycémie, ce que l'on n'observe pas chez son homologue holoxénique qui est toujours porteur de bactéries capables d'hydrolyser de lactose. La supplémentation en glucose est donc une règle nutritionnelle essentielle chez le porcelet axénique.

### 3) Métabolisme azoté

Les bactéries du tube digestif sont capables de dégrader presque toutes les substances azotées présentes dans le tube digestif, qu'elles proviennent du régime alimentaire ou des tissus de l'hôte lui-même. Inversement elles synthétisent de nombreux produits azotés qui peuvent être réutilisés par l'animal. Bien entendu cette réutilisation de l'azote bactérien est moins intense chez le monogastrique dont la flore se multiplie surtout dans des régions du tube digestif situées postérieurement par rapport aux niveaux d'absorption, que chez les ruminants où le réservoir principal de la flore, le rumen, est situé avant les niveaux d'absorption. Toutefois, même chez les monogastriques, la réutilisation des métabolites bactériens possède une importance que la coprophagie n'explique pas complètement.

La microflore seule est à l'origine du métabolisme de certains composés azotés. C'est le cas de l'urée que l'on retrouve dans les fèces des axéniques dont les tissus sont dépourvus d'uréase. L'uréolyse est due à diverses bactéries qui synthétisent des uréases de propriétés physico-chimiques très différentes: par exemple certains lactobacilles peuvent exercer une action uréolytique dans l'estomac grâce à une uréase dont le pH optimum est 3, alors que l'uréolyse dans le cæcum peut être le fait d'autres bactéries

uréolytiques telles que *Actinobacillus* ou *Clostridium* dont les uréases sont actives à pH 7. Enfin une bactérie comme le *Proteus*, produisant une uréase très active « in vitro » se révèle sans action uréolytique « in vivo ». D'une façon générale il existe souvent des quantités plus grandes des principales enzymes secrétées par l'animal-hôte chez les axéniques que chez les holoxéniques, ce qui s'explique par l'absence de dégradation de ces protéines enzymatiques par les enzymes protéolytiques.

On connaît mal encore les modifications apportées par une flore dans les besoins en acides aminés d'un animal. Globalement on sait que le rat axénique excrète d'avantage d'azote par les fèces que les holoxéniques et que la composition de l'azote est naturellement très différente d'un animal à l'autre: il s'agit en effet surtout de corps microbiens chez l'holoxénique et d'azote endogène chez l'axénique. Enfin, on a constaté que le passage des acides aminés et de leurs métabolites du sang vers l'intestin grêle et le cæcum est très influencé par la présence d'une flore, sans que l'on comprenne encore le mécanisme de cette action.

#### 4) Métabolisme lipidique

De nombreuses études ont été faites concernant l'action de la flore sur le cholestérol et les sels biliaires. En effet ces substances synthétisées dans le foie, se déversent par la bile dans l'intestin grêle avant d'être réabsorbées. Au cours de ce cycle entéro-hépatique elles sont donc exposées à l'action de la flore. Les bactéries sont capables de faire subir de nombreuses transformations aux molécules de cholestérol et d'acides biliaires secrétées. Il s'ensuit que l'on trouvera dans les fèces de l'holoxénique des métabolites de ces produits bien plus nombreux et variés que chez l'axénique. Les conséquences en seront nombreuses: conséquences sur la régulation du cycle entéro-hépatique lui-même; c'est ainsi que la plupart des métabolites bactériens du cholestérol ou des sels biliaires sont moins bien réabsorbés que les molécules initiales. Conséquences fonctionnelles également: par exemple les sels biliaires déconjugués par les bactéries deviennent incapables de former des solutions micellaires avec les acides gras qui ne peuvent être absorbés que sous cette forme.

La digestibilité de la matière grasse dépend donc de la présence d'une flore: l'absorption apparente des lipides, surtout s'ils sont riches en acides gras insaturés, est plus faible chez l'axénique. Ce fait serait dû à une augmentation, en présence des bactéries, de la formation des savons insolubles, peu absorbables en raison même de leur insolubilité.

#### 5) Métabolisme vitaminique

La synthèse de vitamines par la flore du tube digestif est une des premières actions positives habituellement inscrites au crédit de cette flore. Il est de fait que dans certains cas, cette synthèse suffit à couvrir les besoins de l'animal-hôte. Les accidents hémorragiques dûs à l'avitaminose K apparaissent facilement chez les rats axéniques. Les rats holoxéniques se carencent en revanche difficilement, même si on ôte cette vitamine de leur ration. On a pu élever 6 générations de rats holoxéniques sans vitamine B<sub>12</sub> dans le régime, alors que des axéniques nourris du même régime montrent des troubles importants de la reproduction dès la pre-

mière génération. Notons au passage que ces troubles ne ressemblent en rien à ceux que l'on observe chez les animaux holoxéniques soumis aux artifices expérimentaux indispensables pour faire apparaître chez eux une carence en B<sub>12</sub>.

Toutefois pour certaines autres vitamines leur production par la flore ne couvre pas les besoins de l'hôte, soit parce que cette production est insuffisante, soit parce qu'elle a lieu sous une forme ou dans un lieu qui la rendent impropre à être absorbée et utilisée par l'organisme animal: c'est le cas de la thiamine ou de l'acide panthothénique.

### Conclusion

«La vie est-elle possible en l'absence de microorganismes?» se demandait Pasteur il y a presque un siècle. On serait tenté de répondre affirmativement puisque l'animal peut vivre axénique. Mais le maintien de la vie dans ces conditions est étroitement lié à la création artificielle d'un environnement très particulier autour de l'animal axénique.

Sa survie dépend de l'intégrité des barrières physiques qui le protègent de l'infection puisqu'il est privé de ses barrières microbiologiques et de l'essentiel de ses défenses immunitaires; sa survie dépend aussi d'un régime alimentaire très particulier qui lui apporte les métabolites bactériens dont il est privé. L'animal holoxénique qui a évolué avec sa flore est finalement devenu anatomiquement et physiologiquement si différent de celui qui est resté axénique qu'on peut à la limite donner raison à Pasteur et affirmer que l'animal tel que nous le connaissons n'existerait pas en l'absence de flore.

Certes, nous l'avons vu en particulier au niveau des métabolismes nutritionnels les effets de la flore sont loin d'être tous bénéfiques à l'hôte. Le nutritionniste comme le pathologiste ont donc tout intérêt à acquérir la maîtrise de l'équilibre de la microflore, permettant d'orienter le métabolisme de la population bactérienne au profit exclusif de l'hôte. Des tentatives empiriques ont déjà eu lieu dans ce sens: l'utilisation d'antibiotiques alimentaires, l'ingestion de souches bactériennes sélectionnées et surtout l'élevage d'animaux «specific pathogen free» (exemptes d'organismes pathogènes spécifiques) en sont des exemples. Mais les résultats de ces applications restent encore incertains car les modifications qu'elles entraînent dans la flore sont totalement imprévisibles. Nous avons vu que l'on était encore bien loin d'avoir inventorié les effets spécifiques de chacun des éléments de la flore. Toutefois nous possédons maintenant une méthodologie sûre pour mener à bien cet inventaire: c'est l'utilisation de modèles gnotoxéniques. C'est pourquoi l'association d'une espèce animale avec la flore qui lui est la plus favorable, ce que nous avons baptisé l'euxénisme, n'est plus aujourd'hui une vue de l'esprit, mais sera une réalité du futur.

### Résumé

Le but de cet article est de résumer nos connaissances actuelles concernant les relations écologiques entre les diverses populations microbiennes qui constituent la microflore du tube digestif et l'animal-hôte.

Des techniques nouvelles ont permis d'entreprendre l'analyse de ces relations: utilisation d'animaux «axéniques», dépourvus de bactéries et «gnotoxéniques» ensemencés avec des populations bactériennes connues; perfectionnements des techniques bactériologiques pour l'analyse différentielle quantitative des diverses populations bactériennes du tube digestif, en particulier dans le cas des espèces anaérobies strictes.

Quelques caractéristiques de l'équilibre entre les différentes populations bactériennes dans les différentes parties du tractus gastro-intestinal ont été décrites ainsi que quelques uns des mécanismes qui régulent cet équilibre. Ces mécanismes impliquent soit des interactions entre les bactéries, soit l'action de l'animal hôte et de l'environnement sur la microflore.

Enfin divers exemples de l'action de la microflore du tube digestif sur la physiologie nutritionnelle de l'hôte ont été présentés: action sur l'anatomie du tube digestif et sur les métabolismes glucidiques, azoté, lipidique et vitaminique.

### *Summary*

The purpose of the present article is to give a survey of present knowledge of the ecological relationships between the various bacterial populations composing the microflora of the digestive tract of the host animal.

Analysis of the relationships can be made with the aid of recent techniques: utilization of axenic animals (germ-free) and of gnotoxenic animals inoculated with known bacterial populations; perfecting of bacteriological techniques for the quantitative differential analysis of the various bacterial populations in the digestive tract, especially in the case of strictly anaerobic species. Some characteristics of the equilibrium between the various bacterial populations in the different segments of the gastro-intestinal tract have been described as well as some of the mechanisms which regulate this equilibrium. These mechanisms either imply interactions between bacteria or the action of the host animal and the environment on the microflora.

Lastly, various examples concerning the action of the microflora in the digestive tract on the nutritional physiology of the host animal are given; action on the anatomy of the digestive tract and on the metabolism of carbohydrates, proteins, lipids and vitamins.

### *Zusammenfassung*

Der vorliegende Artikel hat zum Ziel, unsere heutigen Kenntnisse über die ökologischen Beziehungen zwischen den verschiedenen Bakterienpopulationen, die die Magen-Darm-Flora bilden, und dem Wirtstier zusammenzufassen.

An Hand neuer Techniken konnte die Untersuchung dieser Beziehungen vorgenommen werden: Verwendung „axenischer“ (keimfreier) Tiere und „gnotoxenischer“, d. h. mit bekannten Bakterienpopulationen beimpfter Tiere; Verbesserung der bakteriologischen Techniken für die quantitative Differenzanalyse der verschiedenen Bakterienpopulationen im Verdauungskanal, insbesondere der streng anaeroben Arten.

Einige Eigenschaften des Gleichgewichtes zwischen den verschiedenen Bakterienpopulationen in den verschiedenen Abschnitten des Magen-Darm-Kanals wurden beschrieben sowie auch einige Mechanismen, die dieses Gleichgewicht steuern. Diese Mechanismen setzen entweder Wechselwirkungen zwischen den Bakterien oder eine Auswirkung des Wirtstieres und der Umwelt auf die Bakterienflora voraus.

Schließlich werden einige Beispiele der Wirkung der Magen-Darm-Flora auf die Ernährungsphysiologie des Wirtes dargelegt: Wirkung auf die Anatomie des Verdauungskanals und auf den Stoffwechsel der Kohlenhydrate, des Stickstoffes, der Fette und der Vitamine.

L'adresse de l'auteur:

R. Ducluzeau, Laboratoire d'Ecologie Microbienne, I.N.R.A. – C.N.R.Z.,  
78 Jouy-en-Josas