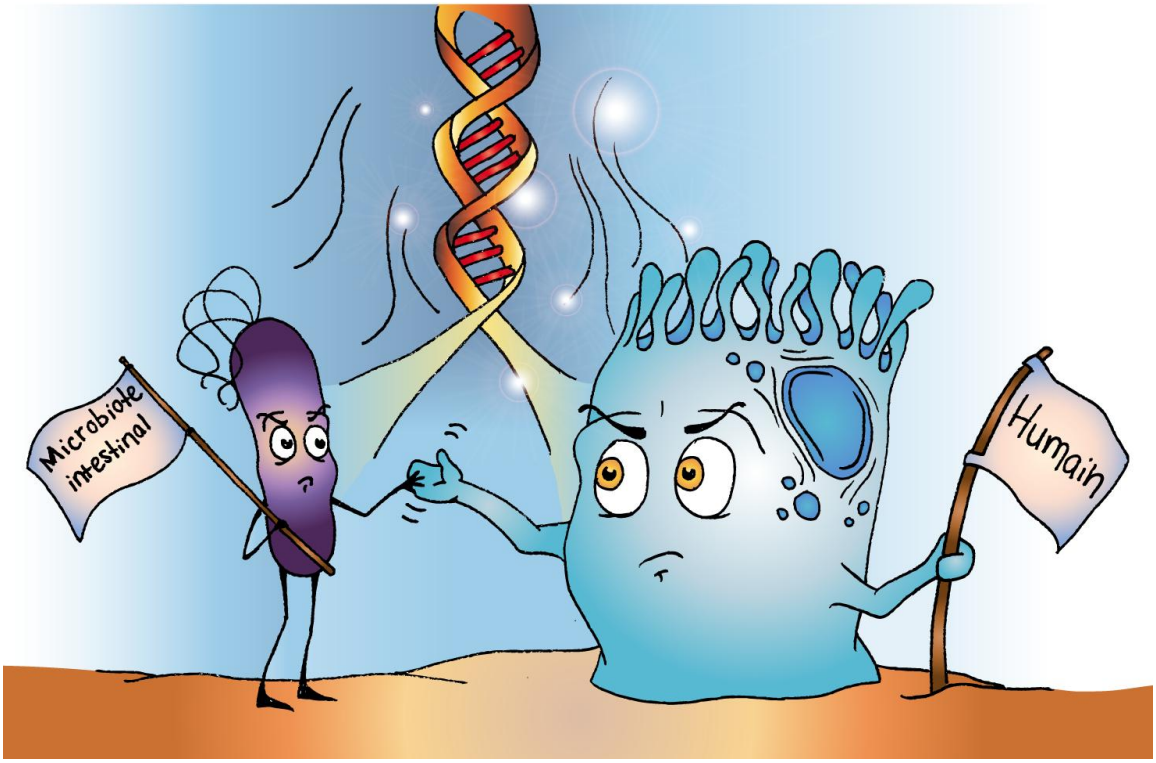
Module 11
Le microbiote intestinal



11.1.	QU'EST-CE QUE LE MICROBIOTE INTESTINAL?	2
11.2.	CARACTÉRISTIQUES DU MICROBIOME INTESTINAL	4
11.3.	MÉTHODES D'ANALYSE	5
11.4.	LE MICROBIOTE INTESTINAL DANS LE MAINTIEN DE LA SANTÉ	6
11.4.1.	La fonction métabolique	7
11.4.2.	Un rôle de protection	7
11.4.3.	Le maintien de la structure de l'épithélium intestinal	8
11.5.	LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LE DÉVELOPPEMENT DE LA MALADIE	8
11.5.1.	L'obésité	8
11.5.2.	Rôle dans les maladies inflammatoires du tube digestif	11
11.5.3.	Axe intestin-cerveau	12
11.5.4.	La flore intestinale comme agent thérapeutique	16
11.6.	COMMENT MODULER LA FLORE INTESTINALE?	17
11.6.1.	La diète	18
11.6.2.	Les antibiotiques	18
11.6.3.	Les transferts fécaux	18
11.6.4.	Les probiotiques et les prébiotiques	18
11.7.	LE CHAMP D'ÉTUDES S'ÉLARGIT TOUJOURS	21
CONCLUSION		21
BIBLIOGRAPHIE		22

11.1. Qu'est-ce que le microbiote intestinal?

Le **microbiote** intestinal peut être défini comme l'ensemble des microorganismes peuplant notre système digestif. Vous pouvez voir, à la **Figure 1**, une représentation de l'intérieur des intestins dans laquelle on peut noter la quantité impressionnante de repliements : une fois « déplié », le tractus intestinal forme une surface de plus de 300 m^2, soit un peu plus que la surface d'un terrain de tennis.

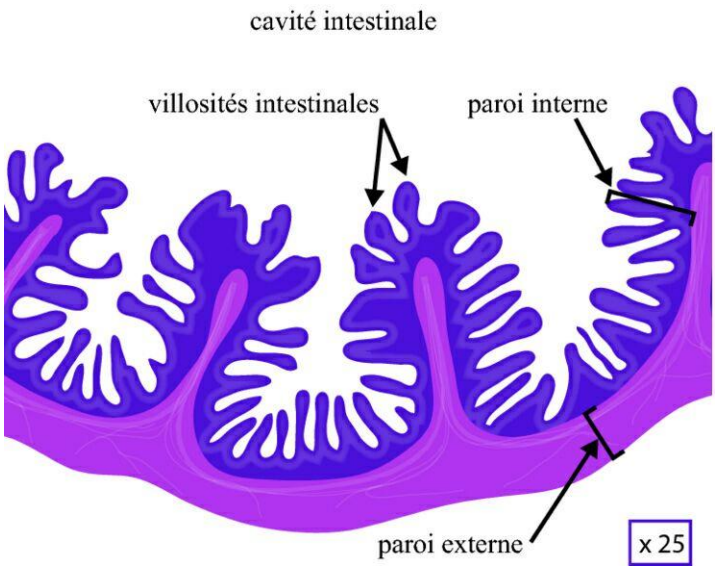


Figure 1 : *Repliements de la muqueuse de l'intestin permettant de maximiser les surfaces et les échanges. Ce qui est montré est une vue en coupe d'une partie de l'intestin. (Source : https://webclasse.wordpress.com/tag/villosite/)*

L'intestin des mammifères est probablement l'écosystème le plus densément peuplé de la planète puisqu'on y retrouve un peu plus de 10^{14} microorganismes. Cette flore comprend des bactéries, des archées, des organismes eucaryotes et des virus, bien que les bactéries y soient largement majoritaires. On en retrouve en effet plus de cent mille milliards (10^{14}) dans le tractus digestif, ce qui représente de 1 à 1,5 fois plus de cellules bactériennes que toutes les cellules qui composent notre corps. La **Figure 2** vous donne un aperçu de la quantité et de l'identité de quelques-uns des microorganismes qui peuplent notre système digestif dans les différents secteurs du tractus. Cet assemblage microbien est complexe et les bactéries y interagissent aussi bien entre elles qu'avec leur **hôte**.

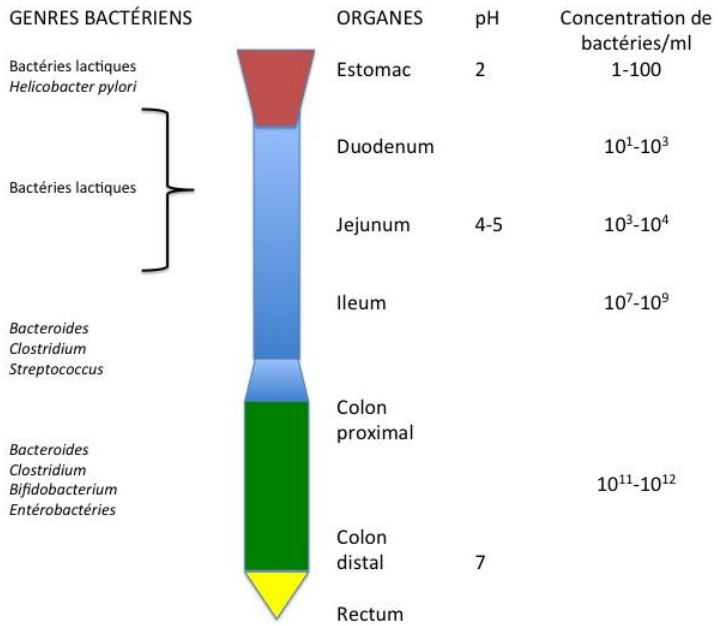


Figure 2 : *Schéma simplifié du tractus digestif avec ses principales caractéristiques microbiologiques. (Inspiré de : http://www.probionov.com/fr/human-microbiome/the-intestinal-microbiota/)*

Au fil des études réalisées depuis 2010, on estime que le total des **espèces** bactériennes retrouvées dans les intestins des humains de la planète pourrait avoisiner les 4000 espèces différentes alors que chacun d'entre nous pourrait en héberger jusqu'à 300-400. Quatre-vingt-dix-neuf pour cent (99 %) de la flore bactérienne intestinale de chaque individu se retrouve concentrée dans 30-40 espèces différentes. Cette flore est **anaérobie** stricte à 99 % (donc ne tolère pas la présence d'oxygène). Jusqu'à tout récemment, on était incapable d'en cultiver plus de 10 % en laboratoire. Ces chiffres se sont légèrement améliorés, mais ne dépassent pas encore 50 %.

Les différents genres bactériens ne sont pas présents uniformément dans tout le système digestif. Cette distribution reflète les changements d'environnement : par exemple, l'estomac est très acide, alors que l'intestin a un **pH** près de la neutralité. Ainsi, on retrouve dans l'estomac des microorganismes très résistants à l'acide comme les **bactéries lactiques** et *Helicobacter pylori*, des bactéries qui produisent elle-même de l'acide! Dans l'intestin, ces bactéries sont remplacées par d'autres **genres** comme *Escherichia*, *Clostridium* ou différents bacilles qui sont sensibles à l'acide, mais qui montrent une excellente croissance en absence d'oxygène.

Jusque vers le milieu des années 2000, le terme microbiote intestinal ainsi que les rôles qu'il pouvait jouer dans le corps humain étaient totalement inconnus. C'est ce que nous allons tenter de démystifier au cours des prochaines pages en vous parlant de l'importance du microbiote intestinal dans le maintien de notre santé, en démontrant les effets de son débalancement dans certaines pathologies et en explorant quelques avenues de recherche visant à le contrôler.

11.2. Caractéristiques du microbiome intestinal et comparaisons avec l'hôte

Si le microbiote représente la diversité des espèces microbiennes présentes dans le tractus intestinal, le **microbiome** représente la diversité génétique de ce même environnement. C'est grâce à l'avènement des méthodes moléculaires d'étude de la flore microbienne, qu'on vous a présentées au **Module 4** de ce cours, qu'on peut aujourd'hui commencer à comprendre la complexité du microbiote et du microbiome intestinal. Une grande étude réalisée en 2014 à l'aide de 1000 volontaires a démontré que le microbiome intestinal détaillé de ces volontaires pourrait contenir jusqu'à 10 millions de **gènes** différents avec, en moyenne, 1,5 million de gènes hébergés par chaque individu. On se rappelle qu'un gène est un fragment d'ADN contenant l'information, la recette, nécessaire à la synthèse d'une protéine ou d'un ARN structural, et que l'ADN humain en contient un peu plus de 20,000. On arrive donc à la conclusion qu'un individu héberge 75 fois plus de gènes bactériens que de gènes humains. C'est ce qui a conduit les chercheurs à proposer la théorie de l'**hologénome** et de l'**holobionte**.

Cette théorie veut que les organismes évoluent de concert avec leur flore intestinale et ne forment en réalité qu'une seule et même entité, l'holobionte représenté par un groupe de gènes : l'hologénome. L'importance de ce concept est d'autant plus d'actualité qu'on ne cesse de mettre en évidence des rôles du microbiote sur une quantité de fonctions physiologiques humaines qui vont de la reproduction au contrôle de l'humeur. Oui, oui, de l'humeur!

Cette diversité d'espèces bactériennes présente sur et dans notre corps (microbiote) ainsi que l'énorme réservoir de gènes qu'elles abritent (microbiome) ont conduit les chercheurs à s'interroger sur leurs rôles dans le maintien de la santé et le développement de la maladie chez leurs hôtes. C'est ainsi que plusieurs grands projets ont été initiés. Un exemple, le « *Human microbiome project* », parrainé par le *National institute of Health* (NIH) américain, est en cours depuis 2007, regroupe plus de 30 centres de recherche et 250 chercheurs, et vise à décoder le **génome** du microbiote humain à 5 sites différents sur le corps : nez, bouche, peau, système digestif et système uro-génital. Toutes les données générées par ce projet sont publiques et peuvent être utilisées par tout chercheur ou groupe de recherche intéressé (http://commonfund.nih.gov/hmp/index).

Notre flore intestinale performe des activités métaboliques diverses ressemblant aux activités des organes du corps : on dit de la flore intestinale qu'elle est un organe oublié possédant plusieurs fonctions métaboliques, immunologiques et endocriniennes capables d'influencer la santé physique et mentale de son hôte. Il ne faudrait pas oublier finalement que l'environnement intestinal est très riche en **neurones**, ce qui facilitera la « conversation » entre l'intestin et le cerveau comme on le verra plus loin dans le texte. En fait, on estime à 200 millions le nombre de neurones présents dans l'intestin soit autant que dans le cerveau d'un chien. Alors, si on dit que nos pitous sont intelligents, on doit considérer que nos intestins le sont aussi… à leur manière.

11.3. Méthodes d'analyse

Lorsqu'on veut étudier la composition en bactéries d'un environnement quel qu'il soit, la première méthode qui nous vient à l'esprit est celle de la culture des microorganismes (**Module 4**). On obtient alors sur un milieu **gélosé** ou dans un milieu liquide une culture de bactéries à partir de laquelle on peut séparer les différents microorganismes présents, les caractériser et, éventuellement, les identifier.

On sait maintenant que ces méthodes ne récupèrent pas toutes les espèces de bactéries présentes dans les différents environnements étudiés. Selon la provenance des échantillons, on récupèrera aussi peu que 0,1 % ou autant que 50 % des espèces bactériennes présentes. Évidemment, ces réponses partielles n'étaient pas satisfaisantes, mais elles étaient les seules disponibles jusqu'à peu. Le développement exponentiel des **méthodes moléculaires** depuis le début du XXIième siècle a conduit à une prolifération de données expérimentales (**Module 4**) et permis de répondre à de nombreuses questions que se posaient les chercheurs.

Dans l'étude de l'interaction entre le microbiote et son hôte, les scientifiques ont aussi eu recours à des modèles animaux, particulièrement celui des petits rongeurs. On utilise beaucoup les souris **axéniques** ou « *germ-free* ». Ce sont des souris « stériles » (sans microbes) nées par césarienne dans des conditions de stérilité totale, élevées en isoloir stérile et nourries et abreuvées avec des aliments et de l'eau stériles.

La **Figure 3** nous montre un exemple de ces isoloirs qui sont composés d'une enceinte fermée ne contenant que du matériel sans bactéries, virus ou cellules microscopiques eucaryotes et dans lequel même l'air est filtré pour en enlever toutes les particules biologiques. Les seuls organismes vivants sont les souris qui, on le rappelle, sont dépourvues de microorganismes, sur ou dans elles.

On peut alors fournir des flores microbiennes connues, même des flores humaines, à ces souris et étudier l'effet de ces différentes flores sur la physiologie des animaux. Ces souris, qui ont reçu une flore connue, sont appelées **gnotobiotes**. Nous verrons que c'est grâce à ce genre d'études que les premières relations entre la flore et l'hôte ont été élucidées.

Les modèles animaux sont fréquemment utilisés pour des raisons :

- Éthiques : il est moins compliqué d'avoir l'autorisation des comités d'éthiques pour travailler avec des souris qu'avec des humains,
- Pratiques : on peut garder plusieurs centaines de souris en cage dans une petite pièce,
- Économiques : l'utilisation des petits animaux en particulier n'est pas très onéreuse,
- De reproductibilité : on peut utiliser des animaux possédant une génétique similaire et les garder dans des conditions standardisées d'environnement comme de nourriture, ce qui réduit le nombre de paramètres pouvant avoir une incidence sur l'expérimentation.

Figure 3 : *Enceintes spéciales pour l'élevage des souris axéniques (Source : https://thewalklab.com/projects/germfreegnotobiotics)*

11.4. Le microbiote intestinal dans le maintien de la santé

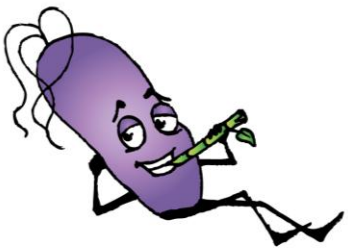
On savait, depuis le milieu des années 1980, que les bactéries étaient capables de communiquer entre elles grâce à des signaux chimiques. C'est ce qu'on a appelé la détection de quorum ou, sous son appellation la plus connue, le ***quorum sensing*** (**Module 10**). On a découvert, au début des années 2000, que les microorganismes du tube digestif produisaient des **molécules** de conformation similaire aux molécules de signalisation produites par le corps humain, et qu'ils possédaient des récepteurs capables de lier les molécules humaines. Vice-versa, les cellules eucaryotes de notre corps possèdent également des récepteurs capables de reconnaitre des molécules de signalisation bactériennes. Il y avait donc une possibilité de dialogue entre notre flore intestinale et son hôte, c'est-à-dire nous.

À titre d'exemple, on a démontré que les molécules chimiques responsables du *quorum sensing* étaient capables, entre autres, d'influencer la réponse immunitaire et de participer à l'**apoptose** de nos cellules, un phénomène de mort cellulaire programmée. À l'inverse, on a démontré que des molécules que notre corps produisait en abondance, l'adrénaline et la noradrénaline, pouvaient induire des **facteurs de virulence** et jouer sur la **motilité** et le *quorum sensing* des bactéries de l'intestin. C'est à partir de ces premières observations que l'étude de l'effet de notre microbiote s'est amorcée.

On sait maintenant qu'il existe trois rôles potentiels de la flore intestinale dans le maintien de la santé. Ces trois rôles ont comme objectifs finaux de faire en sorte que notre intestin souffre le moins possible d'inflammation, de conserver une **muqueuse** intestinale bien étanche et en santé, de fournir un bon système de défense contre les microorganismes **pathogènes** et de produire un **système immunitaire** mature.

11.4.1. La fonction métabolique

C'est une fonction que l'on connait depuis longtemps. La flore intestinale produit des vitamines et synthétise certains **acides aminés** essentiels (les blocs avec lesquels sont construites les **protéines**) que l'humain est incapable de produire (Annexe 1). De plus, elle se nourrit de **substrats** non-digestibles pour l'humain et les transforme en **acides gras** à courtes chaines (particulièrement le butyrate que nous verrons plus loin). Ces acides gras sont essentiels comme source d'énergie pour la croissance des cellules épithéliales de la muqueuse. Cette flore intestinale est responsable de près de 10 % de notre apport calorique quotidien en nous fournissant des molécules utilisables à partir de substrats qu'on serait incapables de digérer autrement.



Un exemple extrêmement convaincant du rôle de la flore intestinale dans l'apport calorique est celui du panda. Lorsqu'on a décodé le génome de cet animal, on n'a retrouvé aucun gène permettant l'utilisation de **cellulose** comme nourriture. Et de quoi le panda se nourrit-il au quotidien? Du bambou, un végétal composé presque exclusivement de cellulose!! En fait, 99 % de l'apport calorique du panda provient de cette plante. Comment concilier ces deux constats? Les chercheurs ont découvert que les intestins des pandas contenaient effectivement des bactéries similaires à celles présentes chez les herbivores. Parmi ces microorganismes, treize espèces appartiennent à une famille connue pour dégrader la cellulose, et sept se sont avérées être uniques aux pandas. Ce sont donc les bactéries de la flore intestinale du panda qui lui permettent de survivre à sa diète de bambou…

11.4.2. Un rôle de protection

La flore microbienne produit des molécules **antimicrobiennes** et occupe la **niche écologique** intestinale, ce qui empêche l'implantation d'espèces pathogènes. Cette flore active aussi notre système immunitaire et régule la production de molécules anti-inflammatoires qui assurent la bonne santé de notre muqueuse intestinale. Les fonctions immunitaires ne se développent pour l'essentiel que sous l'influence du microbiote. Les souris élevées dans un environnement stérile (*germ-free*) possèdent des systèmes immunitaires très immatures. Les sites d'induction de la réponse immunitaire, situés sous l'**épithélium** intestinal, ne se forment qu'en présence du microbiote intestinal. Le microbiote intestinal n'influence pas que le système immunitaire intestinal : les signaux immunologiques qu'il active dans l'intestin parviennent à l'ensemble de l'organisme et sont présents même dans le système nerveux central (cerveau et moelle épinière).

11.4.3. Le maintien de la structure de l'épithélium intestinal

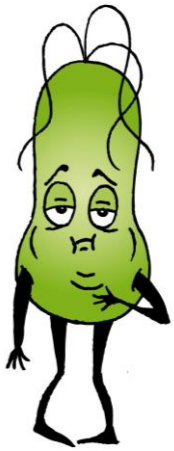
Le **butyrate**, un acide gras produit par les bactéries suite à la dégradation de substrats non-digestibles par l'être humain, est essentiel à la croissance et à la différenciation des cellules épithéliales qui forment la muqueuse de l'intestin. Il est aussi, reconnu depuis peu que le butyrate possède des effets modulateurs sur l'activité des **macrophages**, des cellules immunitaires capables de se nourrir de bactéries, en les rendant faiblement réactifs à la flore intestinale normale, donc moins susceptibles de réagir contre les bactéries du microbiote sain.

11.5. Le microbiote intestinal et le développement de la maladie

Lorsque les premiers résultats démontrant une différence entre les flores de gens sains et de gens malades sont apparus, la première question qui s'est posée est la suivante : est-ce que ce débalancement est la cause de la maladie ou sa conséquence? On a eu du mal à y répondre jusqu'à ce que des études chez les animaux de laboratoire confirment que la modulation de la flore intestinale pouvait conduire à la guérison. Différents facteurs peuvent influencer la composition de la flore intestinale. On n'a qu'à penser à la diète, à l'hygiène, au style de vie, aux traitements antibiotiques ou à différents médicaments. Une flore microbienne altérée ou modifiée (on appelle ce phénomène la **dysbiose**) peut conduire à des problèmes d'hyper-immunité (une réaction excessive du système immunitaire) ou d'**immunodéficience**, à de l'inflammation chronique ou au syndrome métabolique (embonpoint abdominal, élévation des **triglycérides**, hypertension, faible taux de bon cholestérol et, chez la personne à jeun, haut taux de sucre dans le sang). Cette dysbiose a été associée à l'apparition de certaines maladies.

Nous allons maintenant vous présenter quelques maladies ou syndromes dans lesquels le rôle de la flore intestinale a été étudié.

11.5.1. L'obésité



C'est dans ce domaine que les premiers résultats montrant un effet de la flore intestinale sur la santé ont d'abord été mis en évidence. Il existe une race de souris susceptible de développer l'obésité. L'analyse de la flore bactérienne intestinale de ces souris a établi que la flore microbienne était différente dans des souris normales minces et dans les souris obèses. Les souris normales possédaient un rapport faible entre les bactéries du groupe des Firmicutes et celles du groupe des Bacteroidetes (rapport F/B faible) alors que les souris obèses étaient directement à l'opposé (rapport F/B élevé). Firmicutes et Bacteroidetes forment deux de la trentaine d'embranchements phylogénétiques bactériens connus (**Module 3**). Voir l'encadré ci-dessous pour une synthèse rapide de la **taxonomie** bactérienne, c'est-à-dire la classification des bactéries en groupes hiérarchiques.

Un peu de taxonomie bactérienne

Toutes les espèces bactériennes connues sont divisées taxonomiquement en une trentaine de grands groupes appelés embranchements ou « phyla » (phylum au singulier). Les organismes procaryotes (bactéries et archées) font partie du domaine *Procaryotae* (les **procaryotes**) dans lequel il existe deux règnes : *Bacteria* et *Archaea*. Par la suite, on descend jusqu'à l'espèce comme le démontre l'exemple ci-dessous, qui représente la classification de l'espèce bactérienne la plus connue et étudiée, *Escherichia coli*.

- Domaine : *Procaryotae*
  - règne : *Bacteria*
    - embranchement : *Proteobacteria*
      - classe : *Gammaproteobacteria*
        - ordre : *Enterobacteriales*
          - famille : *Enterobacteriaceae*
            - genre : *Escherichia*
              - espèce : *Escherichia coli*

C'était intéressant, mais pas autant que les résultats expérimentaux qui ont suivi. En effet, si on ajoute la flore intestinale de souris normale à une souris axénique (souris *germ free*), elle demeure d'un poids normal alors que si on transfère la flore intestinale d'une souris obèse à une souris axénique en tout point identique à la précédente, elle devient obèse. On a trouvé là la première preuve que le débalancement de la flore intestinale était la cause de l'embonpoint et pas sa conséquence. Depuis, le même genre de résultat a été obtenu chez l'humain.

Pourquoi la flore des gens obèses les rend-elle obèses? Plusieurs raisons sont invoquées : on savait les Firmicutes mieux adaptées à extraire les calories de la nourriture, ce qui, dans une perspective historique, fait plein de sens. Nos ancêtres ne mangeaient pas toujours à leur faim et devaient extraire toute l'énergie présente dans leur alimentation, alors qu'aujourd'hui le réfrigérateur n'est jamais bien loin! De fait, une personne obèse qui arrive à perdre du poids (plus de 6 % de son poids) verra le rapport Firmicutes/Bacteroidetes de sa flore diminuer pour se stabiliser au niveau de celui d'une personne mince. On est allé plus loin dans la compréhension du rapport obésité-flore quand on a démontré récemment qu'en plus d'une extraction des calories plus efficace, deux autres mécanismes entraient en ligne de compte :

1. Un rôle de la flore intestinale dans la signalisation de l'inflammation, un élément clé du développement du syndrome métabolique (qui consiste, on le rappelle, en un embonpoint abdominal, une élévation des triglycérides, de l'hypertension, un faible taux de bon cholestérol et un taux de sucre dans le sang (à jeun) élevé).
2. Le rôle central de la flore microbienne dans la régulation de l'axe intestin-cerveau (phénomène de satiété) dont nous reparlerons sous peu.

Ces trois mécanismes sont résumés dans la **Figure 4**.

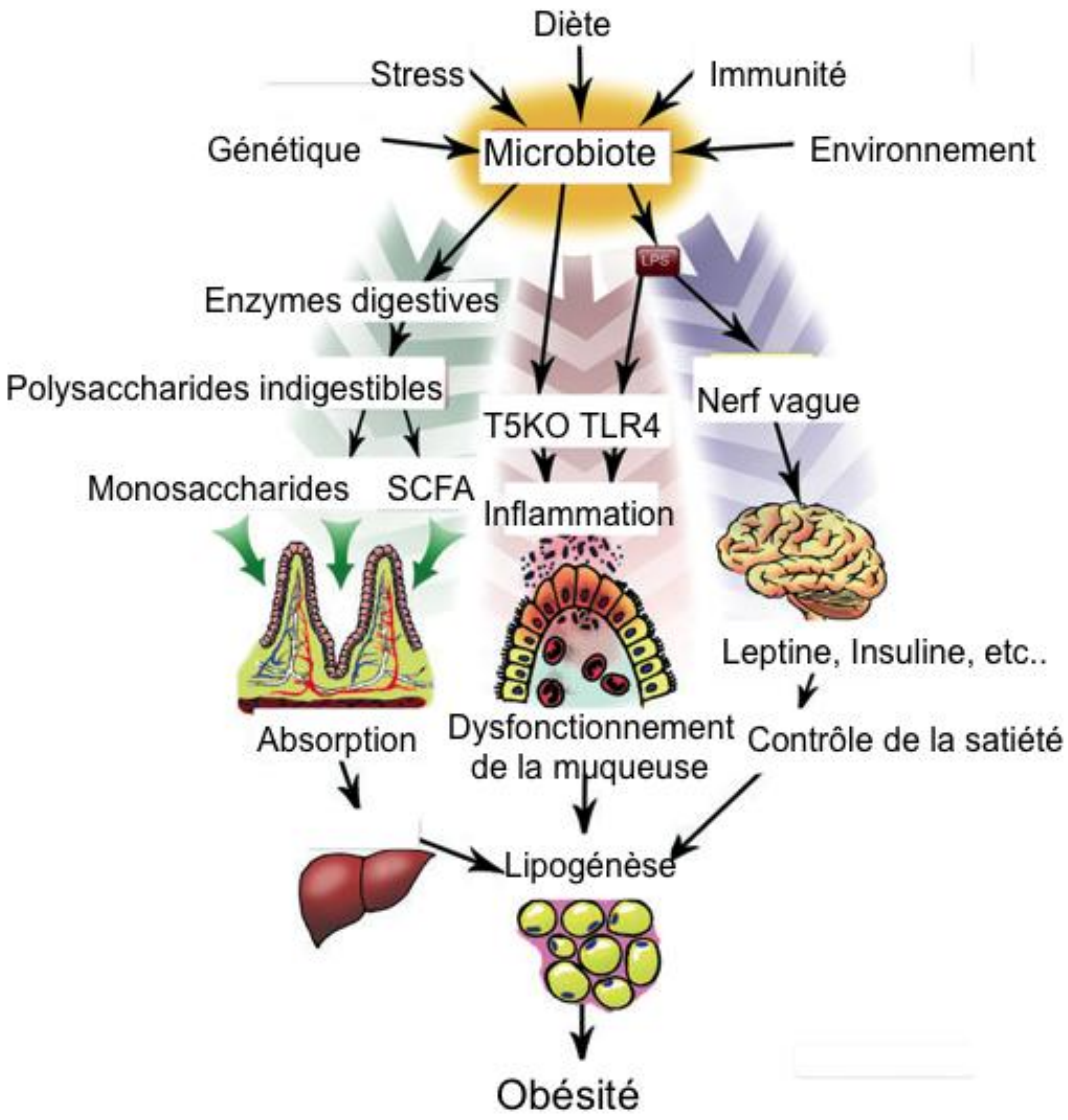


Figure 4 : *Différents facteurs peuvent influencer le microbiote intestinal, ce qui peut entrainer l'obésité via trois voies : la voie de l'absorption, alors que les enzymes digestives bactériennes fournissent des monosaccharides et des acides gras à courtes chaînes (SCFA) dans la lumière intestinale ; la voie inflammatoire, puisqu'on sait maintenant que la modulation des cellules immunitaires de l'intestin par des produits métaboliques bactériens induit une inflammation légère mais constante de la muqueuse intestinale (via les récepteurs T5KO et TLR4); et l'axe intestin-cerveau où l'information fournie par le microbiote transite jusqu'au cerveau par le nerf vague et influe sur la production de substances reliées au contrôle de la satiété. (Adapté de : Tehrani, A.B. et al. 2012. Obesity and its associated disease: a role for microbiota? Neurogastroenterol Motil. 24(4):305-11)*

Il faut toujours conserver en mémoire cependant que la flore microbienne n'est pas l'unique responsable des problèmes de surpoids de notre société. L'alimentation joue un rôle crucial et on démontre aussi de plus en plus de composantes génétiques dans ce phénomène.

Antibiotiques et obésité

Plusieurs études épidémiologiques[1] ont été lancées au cours des dernières années afin de vérifier l'impact de traitements antibiotiques chez les enfants dans le développement de l'obésité. Les premiers résultats obtenus suggèrent que l'utilisation massive d'**antibiotiques** au cours des dernières décades pourrait être responsable de l'augmentation de la prévalence de l'obésité observée de nos jours. Afin de mettre le tout en perspective, il faut savoir qu'on dénombre plus de 49 millions de prescriptions pédiatriques d'antibiotique par année aux États-Unis dont 10 millions sont estimées sans véritable besoin. Des chercheurs du Royaume-Uni ont suivi 22000 enfants pendant 4 ans afin de voir si la prise d'antibiotiques en bas âge était susceptible de causer de l'obésité chez ces mêmes enfants plus tard. Les résultats de l'étude soulèvent un sérieux questionnement puisqu'on a noté une augmentation relative de 25 % des cas d'obésité à 4 ans lorsque l'enfant a reçu plus de 3 traitements avant l'âge de 2 ans. Pour le moment, les chercheurs expliquent cette augmentation par l'induction d'une dysbiose dans la flore intestinale des enfants causée par la prise d'antibiotique répétée. Pour étayer leur conclusion, les chercheurs ont aussi démontré que la prise d'antibiotique chez des animaux axéniques en bas âge ne provoquait aucune prise de poids à l'âge adulte (puisque ces souris n'ont aucune flore microbienne à débalancer) contrairement à la prise de poids notée chez les animaux sains qui ont reçu des antibiotiques à répétition en bas âge.

11.5.2. Rôle dans les maladies inflammatoires du tube digestif

Les toutes premières études de l'effet potentiel du microbiote intestinal sur le développement de la maladie ont été faites sur des maladies intestinales. On se disait que l'effet du microbiote, s'il en avait un, risquait de s'exprimer dans son environnement immédiat puisqu'on était loin de se douter, à cette époque, que la flore intestinale pouvait avoir un effet distant. Plusieurs maladies peuvent être incluses dans ce groupe, mais deux principales ont été étudiées plus en détail : la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse. Dans la grande majorité des cas de maladies inflammatoires intestinales, c'est d'abord la muqueuse intestinale qui est attaquée. Mais pourquoi a-t-on soupçonné un rôle de la flore intestinale dans le développement de ces maladies?

Les premières évidences sont venues de trois éléments :

1. Les malades étaient souvent soulagés de leurs symptômes lorsqu'ils devaient, pour d'autres raisons, prendre des antibiotiques.

[1] Qu'est-ce qu'une enquête épidémiologique? Il en existe plusieurs sortes, mais celle qui nous intéresse ici est dite analytique. Il s'agit d'études recherchant les causes d'une maladie et qui visent habituellement à proposer et/ou vérifier des hypothèses de liens de cause à effet.

2. La colonisation par la flore microbienne était nécessaire au développement de la maladie chez plusieurs modèles animaux.
3. La flore intestinale des personnes atteintes de ce genre de maladie était très différente de la flore intestinale des personnes n'en souffrant pas.

On sait aussi que les personnes développant ces maladies ont aussi des prédispositions génétiques qui les rendent plus vulnérables. Plusieurs études ont finalement conduit à la proposition d'un mécanisme de développement de l'inflammation intestinale :

1. Le premier élément déclencheur est l'apparition d'un débalancement de la flore intestinale, la dysbiose, où on note l'apparition de bactéries productrices de H_2S (le gaz responsable de l'odeur des œufs pourris…) et la diminution progressive des bonnes bactéries productrices de butyrate (un composé dont on a déjà parlé et qui est essentiel au maintien de l'intégrité de la muqueuse intestinale).
2. Cette diminution de la production de butyrate à cause de la production de H_2S conduit à une dégradation de l'étanchéité de la muqueuse intestinale.
3. Cette augmentation de la perméabilité de la muqueuse facilite le passage des bactéries à travers la muqueuse, ce qui initie une réponse du système immunitaire qui, chez certains individus, sera excessive à cause de prédispositions génétiques.
4. On induit alors un cercle vicieux d'inflammation qui conduit au développement de la maladie.

Les chercheurs se concentrent donc maintenant à trouver des moyens pour éviter la dysbiose ou pour permettre un retour à l'équilibre en espérant mettre un frein au développement de la maladie.

11.5.3. Axe intestin-cerveau

Depuis 2010, on a démontré de nouvelles voies de signalisation et confirmé le rôle de la flore intestinale dans de nombreuses pathologies. Ces études ont commencé lorsque des chercheurs ont constaté que des souris dont l'alimentation était enrichie d'un **probiotique** (microorganismes vivants qui, lorsqu'ingérés en quantité suffisante, sont réputés pour avoir un effet bénéfique sur l'hôte) semblaient plus calmes que le groupe contrôle ne recevant pas de probiotique. Afin de vérifier si cette observation était fondée, ils ont imaginé l'expérience suivante : on divise une série de souris parfaitement identiques en deux groupes. L'un reçoit le probiotique et l'autre pas. On soumet les deux groupes à un stress et on mesure leur réponse en dosant une hormone de stress, le cortisol. L'observation de départ a été confirmée par les résultats puisqu'on a démontré une baisse très significative de cette hormone de stress dans les souris traitées avec le probiotique.

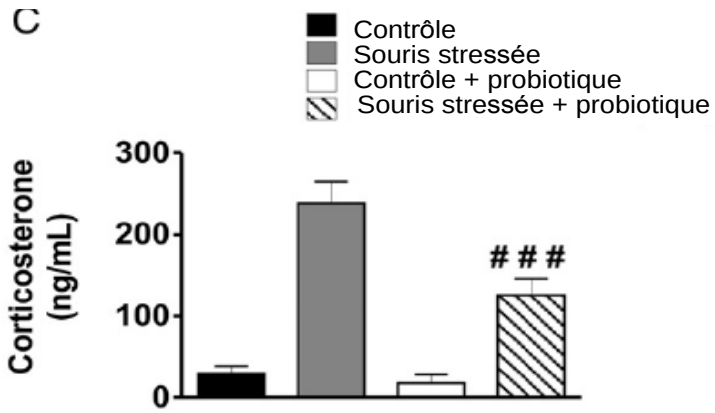
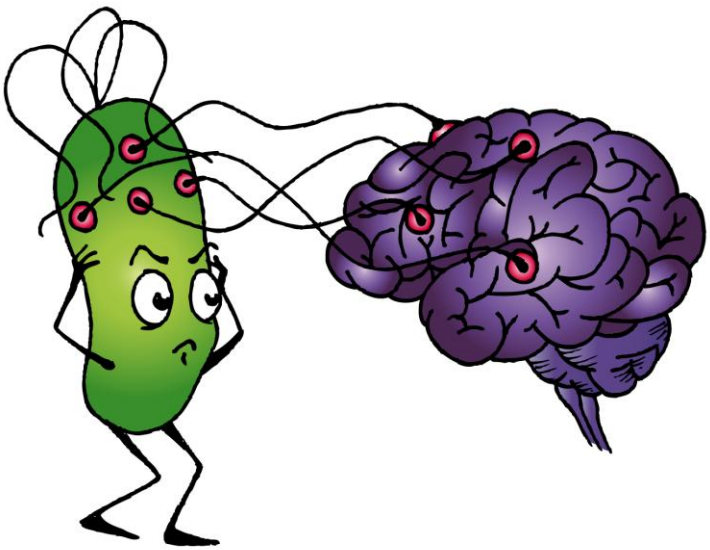


Figure 5 : *Effet d'un probiotique (Lactobacillus rhamnosus) sur le niveau de stress. On note une diminution significative de la concentration de l'hormone de stress dans le sang de la souris stressée à laquelle on a ajouté un probiotique dans l'eau. (Source : Bravo, J.A. et al. 2011. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. PNAS. 108(38):16050-5)*

On a voulu savoir par la suite de quelle façon la flore bactérienne « communiquait » avec le cerveau puisque la réponse au stress est modulée par des récepteurs sur les cellules du cerveau. Une des hypothèses intéressantes était que le nerf vague pouvait être impliqué. Ce nerf part du cerveau et ses dernières ramifications l'amènent à l'intestin. Pour confirmer le rôle de ce nerf, les chercheurs ont encore une fois séparé les souris en deux groupes : dans le premier, on ouvre l'abdomen des souris et on leur coupe le nerf vague. Dans le deuxième, on ouvre aussi l'abdomen des souris, mais on les referme sans en couper le nerf vague. Chacun des deux groupes est ensuite sous-divisé en deux : un sous-groupe reçoit le probiotique et l'autre pas. Les résultats sont très concluants : la coupure du nerf vague conduit à l'annulation des effets de l'ingestion du probiotique démontrant que c'est bien la voie de transmission de l'information.



Voici un autre exemple qui illustre parfaitement jusqu'où peut aller l'effet de la flore intestinale via ce lien intestin-cerveau. En 2016, une équipe de l'Université Baylor aux États-Unis a confirmé un lien entre le microbiote intestinal et certains symptômes reliés aux troubles du spectre de l'autisme (TSA). Ils ont basé leur projet sur des évidences épidémiologiques qui suggéraient que l'exposition du fœtus à l'obésité maternelle avant sa naissance augmente le risque de développer des troubles reliés à l'autisme dans la vie des bébés. On sait depuis un certain nombre d'années que la diète riche en gras modifie le microbiote intestinal de la mère qui est transmis à l'enfant. Est-ce que le microbiote pourrait être responsable de certains troubles reliés à l'autisme? Pour compléter le portrait, les personnes présentant un TSA ont également souvent des troubles intestinaux associés (entre 25 et 84 % des cas selon la sévérité du TSA). Un ensemble de travaux a réussi à mettre en évidence un lien entre la dysbiose du microbiote et les troubles du spectre autistique.

L'équipe du Dr Costa-Mattioli à Baylor a effectué un travail remarquable sur des souris pour démontrer qu'une diète riche en gras :

1. conduit à l'obésité, ce dont on pouvait se douter un peu,
2. conduit à une modification de la flore et à des troubles reliés à l'autisme, ce qui était moins évident,
3. que les troubles se transmettent à la descendance, ce qui était encore moins évident.

Ils ont d'abord constaté, sans grande surprise, que la diète riche en gras (HFD) conduit à une augmentation de poids et à une augmentation de la masse graisseuse des souris, comme le montre la **Figure 6**, par comparaison avec des souris nourries avec une diète normale (RD).

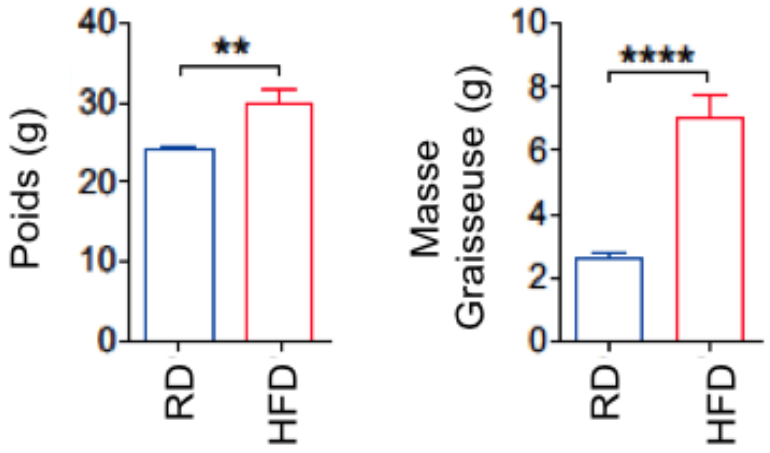


Figure 6 : *Prise de poids et de masse graisseuse des souris traitées avec une diète riche en matières grasses (HFD) en comparaison d'une diète normale (RD). (Source : Buffington, S.A. et al. 2016. Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. Cell. 165(7):1762-1775)*

C'est par la suite que ça devient vraiment très intéressant. Dans un premier temps, ils ont vérifié la sociabilité des souris issues des mères soumises à un régime normal (RD) ou de mères soumises à un régime riche en gras (HFD). La **Figure 7A** montre très bien la différence de sociabilité entre les deux groupes.

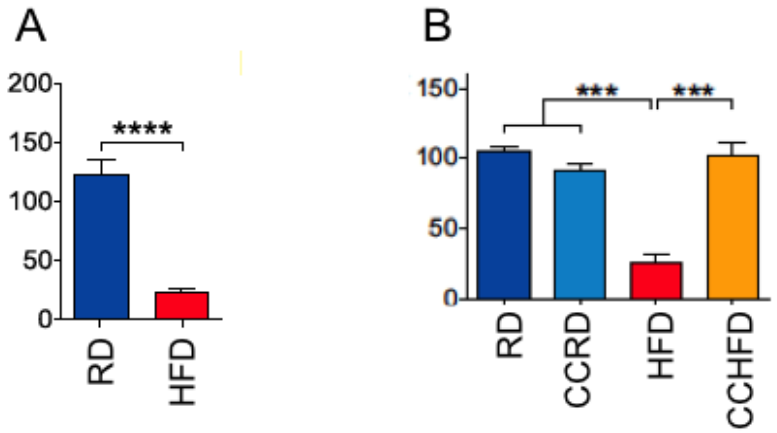


Figure 7 : A. *Les souriceaux nés de mères nourries avec une diète riche en matières grasses (HFD) possèdent un indice de sociabilité beaucoup plus faible que les souriceaux de mères nourries avec une diète régulière (RD) même si ces souriceaux sont tous nourris avec une diète régulière.* ***B.*** *Effet du co-chambrage sur l'indice de sociabilité. Souriceaux de mères nourries avec une diète régulière élevés dans des cages ne contenant que ce type de souris (RD) ou partageant leur cage avec souriceaux nés de mères nourries avec une diète riche en matières grasses (CCRD), souriceaux nés de mères nourries avec une diète riche en matières grasses élevées dans des cages ne contenant que ce type de souris (HFD) ou partageant leur cage avec des souriceaux issus de mères nourries avec une diète régulière (CCHFD). (Source : Buffington, S.A. et al. 2016. Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. Cell. 165(7):1762-1775)*

Ils ont ensuite comparé les microbiotes intestinaux de ces animaux et ont noté des différences très significatives entre les deux. Afin de vérifier l'effet du microbiote, ils ont alors décidé de faire « co-chambrer » des souris HFD et des souris RD. Pourquoi? Les souris sont **coprophages** (mangent leurs excréments) et « partageront » ainsi leurs microbiotes intestinaux ce qui pourrait peut-être modifier leur comportement.

Les résultats de la **Figure 7B** illustrent le résultat de ce co-chambrage. Des souris à diète normale partageant leur cage avec d'autres souris à diète normale possèdent un indice de sociabilité autour de 100 (Barre marine de la Figure 7B). Cet indice ne change pas significativement quand ces souris sont co-chambrées avec des souris à diète riche en matière grasse (barre bleu clair de la Figure 7B). Les souris à diète riche en matière grasse ont un indice de sociabilité très faible, autour de 15, (barre rouge de la Figure 7B) lorsque co-chambrées avec des souris de diète identique. Par contre, et c'est là le résultat intéressant, des souris à diète riche en matière grasse co-chambrée avec des souris à diète normale retrouvent rapidement un niveau de sociabilité associé aux souris à diète normale (barre orangée de la Figure 7B). Par coprophagie, elles auraient donc acquis des espèces bactériennes provenant de souris à diète normale, ce qui aurait modifié leur comportement. Quand les chercheurs ont comparé les flores microbiennes de ces souris nourries avec une

diète riche en matières grasses avant et après leur passage dans des cages avec des souris nourries avec une diète normale, ils ont réalisé que ces souris avaient, après l'épisode de co-chambrage, une flore intestinale identique à celle des souris nourries avec une diète normale.

Ils sont allés plus loin en identifiant les espèces bactériennes présentes dans l'intestin des animaux nourris avec une diète normale et celles des souris nourries avec une diète riche en matières grasses. Ils ont trouvé une douzaine d'espèces présentes dans le premier cas, mais absentes dans le second. Ils ont posé l'hypothèse que c'était l'absence de ces souches bactériennes dans l'intestin des souris nourries avec une diète riche en matières grasses qui provoquait la baisse de l'indice de sociabilité. On vous passe les détails expérimentaux, mais sachez qu'à la fin de l'étude, on avait identifié « **la** » souche bactérienne responsable de la différence de comportement des souris nourries avec les deux diètes. Le simple fait d'ajouter cette bactérie à l'alimentation des souris nourries avec une diète riche en matière grasse inverse les effets de la diète sur le comportement des souris. L'étude des effets de cette bactérie, *Lactobacillus reuteri*, a permis de découvrir que sa présence dans l'intestin permet d'augmenter la concentration d'ocytocine dans le sang, une hormone clé dans le développement des interactions sociales.

Au cours de cette étude, les scientifiques ont donc réussi à établir un lien clair entre bactéries intestinales, obésité et comportement social. Qui plus est, ils ont démontré que traiter des animaux présentant ces symptômes rappelant les TSA avec certaines espèces microbiennes qui leur font défaut pouvait inverser certains de leurs déficits de comportements sociaux. Par contre les autres symptômes anxieux associés aux TSA ne sont pas améliorés par cette addition. Le microbiote n'est donc pas le seul responsable des traits autistiques, mais pourrait permettre d'améliorer la situation des gens ayant un TSA.

En conclusion, une dysbiose du microbiote pourrait jouer un rôle dans le développement de plusieurs pathologies, comme l'obésité, la dépression et les troubles du spectre de l'autisme dont nous venons de parler, mais également dans la sclérose en plaques, l'anxiété, la douleur et certains problèmes cardiovasculaires.

11.5.4. La flore intestinale comme agent thérapeutique

Les transplants fécaux, plus poétiquement appelés « infusions probiotiques humaines », permettent tout simplement de remplacer la flore intestinale malade par une flore intestinale provenant d'une personne saine. Cette pratique n'est pas récente puisqu'elle a été introduite dans l'arsenal thérapeutique des médecins dans les années 1950, souvent pour traiter des problèmes infectieux chez les patients. L'arrivée massive des antibiotiques à cette époque a fait en sorte que cette approche a été mise de côté jusqu'à tout récemment. Suite à l'apparition massive de souches résistantes aux antibiotiques au cours des deux dernières décennies, on pourrait assister à une inversion de popularité de ces deux approches.

Les transplants fécaux sont particulièrement efficaces pour traiter les personnes souffrant d'infections récidivantes à *Clostridium difficile* (maintenant renommée *Clostridioides difficile*), responsable de plusieurs **infections nosocomiales** (**Module 8**). Cette infection n'est pas banale puisqu'on en dénombre pas moins de 500 000 cas par année aux États-Unis. Elle est responsable de près de 30 000 morts et, bien qu'on puisse la traiter avec des antibiotiques, 25-30 % des gens qui ont subi une infection à ce microorganisme souffriront d'une ou de plusieurs récidives au cours des années subséquentes.

Une étude publiée en 2016 concernant le suivi à long terme de 14 patients ayant reçu un transfert fécal pour éliminer les infections récurrentes à *C. difficile* a démontré que l'infection était généralement réglée en moins de 2-3 jours, que les patients retrouvent une flore intestinale plus diversifiée (bien que cette restauration de la flore puisse prendre jusqu'à un an) et qu'ils ne souffrent plus de rechutes ou de récidives. De plus, si vous avez à passer par l'hôpital et savez que vous aurez à subir un ou plusieurs traitements aux antibiotiques pendant votre séjour, rien ne vous empêche, avec la collaboration du personnel médical, de vous faire un don de matières fécales alors que vous êtes en pleine santé, don qui sera congelé et pourra être utilisé pour vous refaire une santé intestinale au cas où vous seriez victime d'une infection à *C. difficile*.

En 2014, la *Food and Drug Administration* (FDA) a approuvé l'utilisation de transplants fécaux pour améliorer l'état des patients souffrant de la maladie de Crohn ou de colite ulcéreuse. Les premiers résultats obtenus pour la colite ulcéreuse sont encourageants alors qu'on a observé une rémission clinique pour 42 % des patients.

Un petit bémol pour terminer. On commence à noter des voix discordantes dans le monde scientifique. Le microbiote est unique à chaque personne et les transferts fécaux changent complètement sa composition. Considérant les rôles de plus en plus importants et de plus en plus diversifiés que semble jouer le microbiote intestinal dans le maintien de la santé, il faudra vérifier, à l'aide d'études bien structurées, l'absence sur le long terme d'effets collatéraux de ce transfert fécal sur les individus qui le recevront.

11.6. Comment moduler la flore intestinale?

Il est maintenant clair que le débalancement de la flore intestinale est associé à un nombre grandissant de maladies ou syndromes. La logique veut maintenant qu'on s'intéresse aux différentes façons de moduler cette flore intestinale et de voir si on peut renverser les situations problématiques.

Il existe quatre façons de moduler cette flore :

11.6.1. La diète

Nous n'en parlerons pas outre mesure sinon pour dire que certaines études récentes sont parvenues à démontrer que des diètes particulières pouvaient mener à des microbiotes particuliers. Ces études prouvent le rôle important que pourraient avoir les prébiotiques (dont nous reparlerons) dans l'alimentation au cours des prochaines années.

11.6.2. Les antibiotiques

Bien que les traitements antibiotiques à large spectre aient conduit à toutes sortes de problèmes liés à l'apparition des phénomènes de résistance, l'utilisation d'antibiotiques ou de peptides antimicrobiens (surtout des **bactériocines**) à spectre étroit semble une nouvelle stratégie prometteuse pour contrôler le contenu de la flore intestinale. Par exemple, la vancomycine (un antibiotique) module la flore intestinale, ce qui conduit à une diminution du gain de poids et un abaissement du taux de glucose sanguin et des triglycérides.

11.6.3. Les transferts fécaux

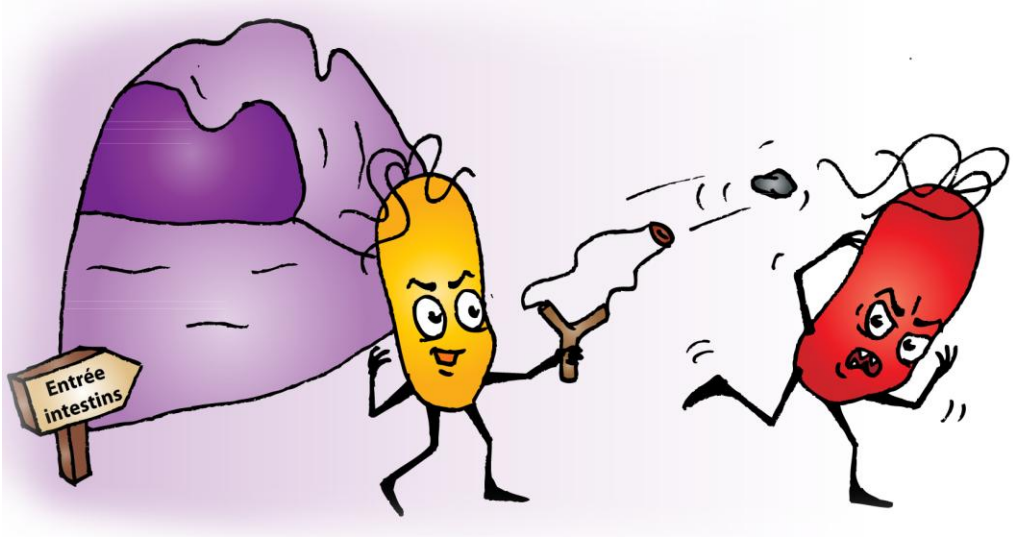
Vous savez maintenant de quoi il s'agit.

11.6.4. Les probiotiques et les prébiotiques

Un probiotique est défini par Santé Canada comme étant « un microorganisme **vivant** qui, lorsque consommé en quantité suffisante, procure un effet bénéfique sur la santé de l'hôte ». De plus, il doit contenir une ou des souches microbiennes définies, sélectionnées et caractérisées avec un minimum de 10^9 bactéries vivantes par portion. Un **prébiotique** est un nutriment favorisant la croissance des probiotiques dans l'intestin.

Depuis quelques années, les études sur l'impact des probiotiques sur la flore intestinale se multiplient et, puisqu'elles sont multifactorielles, deviennent de plus en plus difficiles à interpréter, d'autant plus que chaque groupe de recherche utilise des souches différentes et souvent brevetées, de telle sorte qu'il est difficile de comparer les études entre elles. Les probiotiques et, par la bande, les prébiotiques, possèdent quatre mécanismes d'action potentiels sur l'amélioration de la santé humaine.

1. Le premier est appelé « interférence avec les agents pathogènes ». Les bactéries probiotiques vont effectivement adhérer efficacement sur la muqueuse intestinale en empêchant les bactéries pathogènes de le faire. Elles vont aussi produire localement des bactériocines, des substances antibiotiques capables de s'attaquer à ces mêmes bactéries pathogènes. Finalement, les probiotiques vont naturellement compétitionner avec les agents pathogènes pour la nourriture disponible.



2. Le deuxième mécanisme joue directement sur la santé de la membrane intestinale en améliorant son étanchéité. Ça peut se faire de différentes façons, par exemple via la production de butyrate que nous avons vu à la **Section 11.4.3**.

3. Certains probiotiques semblent aussi avoir un effet sur le système immunitaire, que ce soit via la production de protéines avec une action potentiellement anti-inflammatoire, ou via la régulation de certaines cellules du système immunitaire.

4. Plusieurs expérimentations sur les animaux ont clairement démontré que les probiotiques pouvaient avoir un effet non négligeable sur le système nerveux en produisant des molécules capables d'envoyer des signaux au cerveau (neurotransmetteurs) et d'y moduler la synthèse ou l'expression de plusieurs messagers chimiques influençant l'humeur.

On a ainsi démontré au cours des dernières années que la prise de probiotiques pouvait améliorer l'état de patients souffrant de plusieurs pathologies telles que les infections récidivantes à *Clostridium difficile*, la colite ulcéreuse ou le syndrome du côlon irritable.

Parmi les études les plus prometteuses publiées au cours des années 2010 et les suivantes, on peut donner en exemples:

1. L'étude de la prise de probiotiques sur le **métatranscriptome** (étude des **ARN messagers** responsables de la synthèse des protéines à un moment très précis). Cette étude a été faite chez des humains en comparant des couples de jumeaux identiques à qui on ajoutait un probiotique ou un **placebo** dans l'alimentation. On a noté une différence importante dans le métatranscriptome des deux groupes, particulièrement dans l'expression de différentes **enzymes** reliées au métabolisme des sucres.

2. Un groupe italien a démontré, en laboratoire, que l'addition de pré- et de probiotiques modifiait considérablement la production de **métabolites** de la flore intestinale en augmentant, entre autres, la production de butyrate qui est un élément important de la santé de la muqueuse intestinale.

3. L'addition d'un probiotique à l'alimentation d'un groupe d'individus au régime a conduit à une baisse de poids significative des individus faisant partie du régime additionné de probiotiques, effet qui a perduré même après la fin du régime. Malheureusement, dans ce cas, seules les femmes, pour des raisons qu'on ignore encore, bénéficiaient de cet effet.

4. On peut aussi noter l'introduction d'une nouvelle catégorie de probiotiques en 2015 appelée « psychobiotiques » puisque de nombreuses études ont prouvé que l'ingestion de probiotiques pouvait diminuer les niveaux d'anxiété dans des modèles animaux.

Comme on peut le constater, il s'agit d'un domaine en pleine effervescence auquel il faut ajouter l'effet des prébiotiques qui favorisent le développement et le maintien des populations probiotiques, car ces dernières sont les seules à pouvoir les utiliser pour se nourrir. Ce sont, on le répète, des études complexes puisqu'elles doivent toujours associer le probiotique, le microbiote et l'hôte. C'est d'ailleurs cette interaction entre les trois entités qui intéresse de plus en plus les chercheurs. On a qualifié cette interaction d'**interactome** comme le démontre la **Figure 8**.

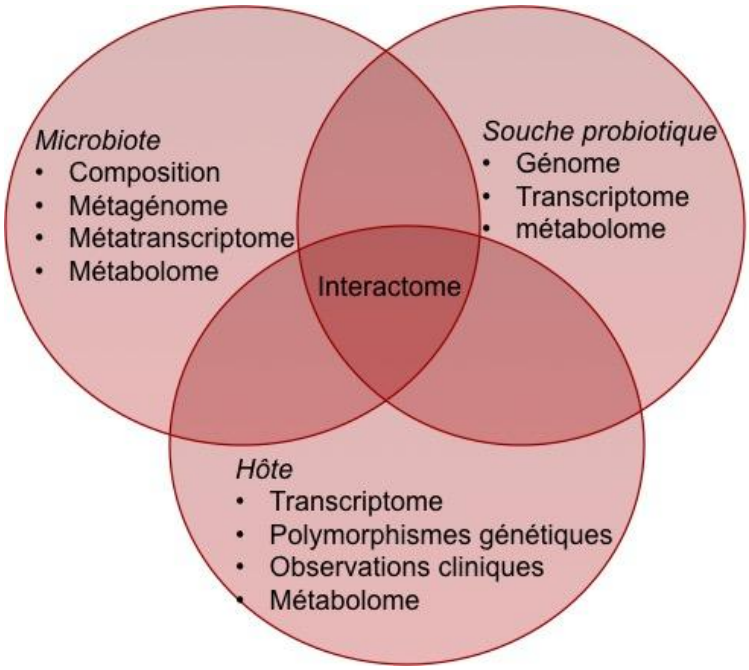
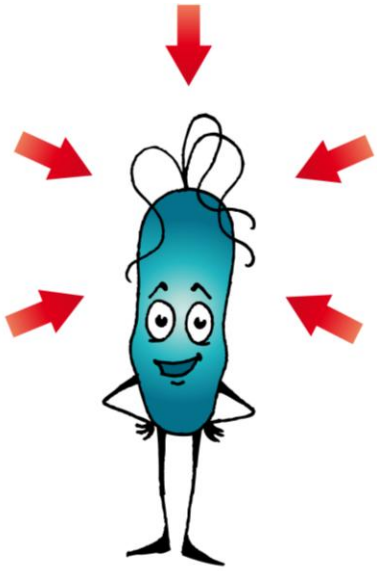


Figure 8 : *Interaction entre les trois composantes dans l'étude de l'effet des probiotiques. (Traduit de : Bisanz, J.E. et Reid, G. 2011. Unraveling how probiotic yogurt works. Sci Transl Med. 3(106):106ps41)*

11.7. Le champ d'études s'élargit toujours

Le rôle de notre microbiote est présentement investigué dans une multitude de contextes et la liste qui suit n'est pas exhaustive, mais indicatrice du rôle central que joue notre flore intestinale dans le maintien de la santé et le développement de la maladie :

- Infections virales,
- Sévérité des infarctus,
- Préférences sexuelles (et non orientation sexuelle!),
- Traitement de certains cancers,
- Développement de certains cancers,
- Développement de la sclérose en plaques,
- Asthme/Allergies,
- Acné,
- Maladies auto-immunes,
- Carie dentaire,
- Dépression et anxiété,
- Diabète,
- Eczéma,
- Ulcères gastriques.



Conclusion

Le débalancement de la flore intestinale a clairement été associé à des problèmes de santé et son rétablissement s'est souvent révélé curatif chez les patients affectés de différentes pathologies. Une chaire d'excellence en recherche du Canada (CERC) sur le microbiote intestinal dysmétabolique (relatif au mauvais fonctionnement du métabolisme) a d'ailleurs été accordée en 2015 à l'Université Laval via deux de ses principaux centres de recherche que sont l'Institut sur la nutrition et les aliments fonctionnels (INAF) et le Centre de recherche de l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (CRIUCPQ). Cette chaire a pour but d'étudier le rôle du microbiote intestinal sur l'obésité et les maladies cardiométaboliques (maladies métaboliques, comme le diabète ou l'obésité, souvent associées à des maladies ou problèmes cardiovasculaires). Plusieurs dizaines de millions de dollars seront investis dans cette chaire au cours des prochaines années.

Bibliographie

- Abbott, A. 2016. Scientists bust myth that our bodies have more bacteria than human cells. Nature. DOI : 10.1038/nature.2016.19136

- Tehrani, A.B. *et al*. 2012. Obesity and its associated disease: a role for microbiota? Neurogastroenterol Motil. 24(4):305-11

- Bravo, J.A. *et al*. 2011. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. PNAS. 108(38):16050-5

- Buffington, S.A. *et al*. 2016. Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. Cell. 165(7):1762-1775

- Bisanz, J.E. et Reid, G. 2011. Unraveling how probiotic yogurt works. Sci Transl Med. 3(106):106ps41

Annexe 1 : Importance du microbiote intestinal dans le métabolisme

La capacité à synthétiser les vingt acides aminés principaux du vivant varie grandement d'un organisme à l'autre. Alors que la plupart des bactéries et des plantes synthétisent les vingt, les mammifères n'en produisent qu'une dizaine, les plus simples à synthétiser. Ceux-ci sont appelés **acides aminés non essentiels** (ceux en bleu dans le tableau).

Acide aminé	Nombre de réactions nécessaires pour sa synthèse
Alanine	1
Aspartic acid	1
Glutamic acid	1
Asparagine	2
Glutamine	2
Serine	5
Glycine	6
Proline	6
Cysteine	7
Threonine	6
Valine	9
Isoleucine	13
Leucine	14
Lysine	14
Methionine	17
Arginine	24
Histidine	27
Phenylalanine	29
Tyrosine‡	30
Tryptophan	33

Les **acides aminés essentiels** (ceux en rouge) sont plus complexes à synthétiser. Il peut sembler étrange que la tyrosine, qui demande 30 étapes pour sa synthèse, ne soit pas essentielle. Cependant, chez les mammifères, cet acide aminé est produit en une seule étape à partir de la phénylalanine, un acide aminé qui, lui, est essentiel.

On présume qu'au cours de leur évolution, les animaux ont perdu la capacité de synthétiser les acides aminés essentiels, probablement parce que ces voies étaient énergétiquement coûteuses et que les composés étaient déjà accessibles dans la nourriture. Bref, lorsqu'une recette (un gène) n'est pas utilisée, cette recette peut être perdue. Cela laisse de la place dans le génome pour d'autres recettes. Ainsi, puisque nous pouvons obtenir la plupart des acides aminés à partir de notre alimentation ou encore via notre microbiote intestinal, nous avons perdu les recettes de plusieurs acides aminés. Le rôle de notre flore intestinale est particulièrement important pour la synthèse de l'histidine : les bactéries intestinales en produisent suffisamment pour suffire à nos besoins sans apport alimentaire.