

## Chapitre 13

# Microbiote et immunité intestinale

1. Système immunitaire intestinal
2. Présentation du microbiote intestinal
3. Fonctions du microbiote intestinal

La muqueuse intestinale offre une très grande surface d'échanges avec l'extérieur, notamment pour l'absorption des nutriments. Elle héberge aussi un système de défense complexe permettant une protection vis-à-vis des nombreux agents pathogènes auxquels elle est exposée. **Le microbiote intestinal est composé d'une très grande quantité de micro-organismes tolérés par le système immunitaire intestinal et qui, adaptés à leur environnement, vivent en synergie avec leur hôte,** avec lequel ils ont coévolué depuis plusieurs millions d'années. Le microbiote intestinal joue un rôle majeur dans de nombreuses fonctions physiologiques du tractus gastro-intestinal.

## Système immunitaire intestinal

### Organisation

Le système immunitaire intestinal comporte une grande variété de types cellulaires. **On peut schématiquement séparer l'immunité intestinale en une composante innée** constituée des cellules épithéliales et des cellules présentatrices de l'antigène, **et une composante adaptative** constituée des lymphocytes. La composante adaptative peut elle-même être séparée en sites inducteurs et en sites effecteurs de la réponse. Les sites inducteurs sont essentiellement les plaques de Peyer et les follicules lymphoïdes isolés. Les sites effecteurs sont les cellules immunitaires qui peuplent toute la hauteur de la muqueuse. Les plaques de Peyer, les ganglions lymphatiques mésentériques et l'appendice sont des structures identifiables macroscopiquement. Apparentés aux plaques de Peyer, les nodules lymphoïdes isolés constituent des structures plus petites mais très nombreuses, réparties dans tout le tube digestif, avec une prédominance dans l'iléon. Il existe par ailleurs un tissu lymphoïde diffus tapissant de façon plus ou moins dense la lamina propria sous-épithéliale.

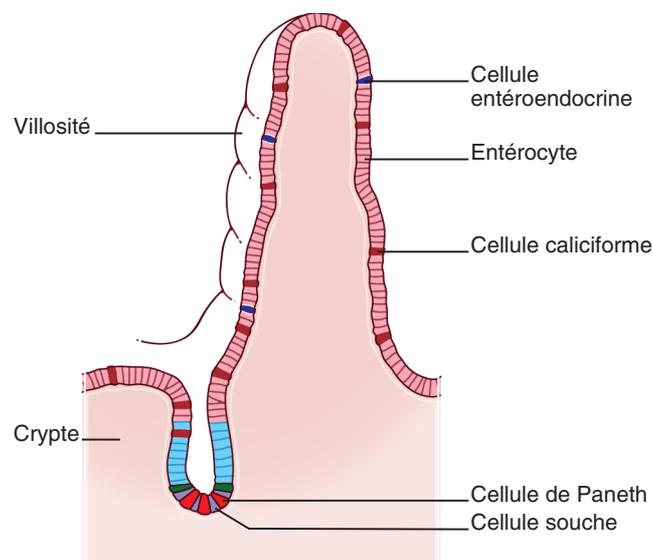
## Immunité innée

### Épithélium intestinal

L'épithélium intestinal a la délicate fonction d'absorber les nutriments tout en étant une ligne de défense vis-à-vis des agressions potentielles de l'environnement. **Cette barrière est à la fois physique et chimique.** La composante physique est constituée de deux éléments principaux : (i) les **jonctions serrées** qui sont des jonctions étanches entre les cellules épithéliales empêchant la diffusion de molécules et de pathogènes, et (ii) la **couche de mucus** qui est fabriquée par les cellules caliciformes. L'épaisseur de la couche de mucus varie le long du tube digestif et est maximale dans l'iléon terminal et surtout le côlon. Le renouvellement rapide des cellules épithéliales participe aussi au maintien physique de la barrière. La composante chimique est constituée principalement de molécules antimicrobiennes (les défensines par exemple) qui sont **synthétisées essentiellement par les cellules épithéliales** et qui détruisent ou inhibent la croissance des bactéries et/ou levures. Certains de ces peptides antimicrobiens sont synthétisés de manière constitutive et d'autres sont inductibles (principalement par des composés microbiens via certains récepteurs de l'immunité innée). Toutes les cellules épithéliales synthétisent des molécules antimicrobiennes, mais certains types cellulaires en font une spécialité. C'est le cas des cellules de Paneth qui sont **situées au fond des cryptes intestinales** (figure 13.1) et qui **synthétisent certains de ces peptides antimicrobiens de manière exclusive.**

Figure 13.1 : Types cellulaires de l'épithélium d'une villosité intestinale

Illustration : Carole Fumat



### Récepteurs de l'immunité innée

**Les motifs associés aux pathogènes** (pathogen associated molecular pattern, PAMP) **sont des motifs moléculaires qui sont propres aux micro-organismes et conservés à l'intérieur d'une classe microbienne.** Le lipopolysaccharide (LPS), l'ARN double brin et la flagelline qui sont présents respectivement dans les bactéries à Gram négatif, les virus à ARN et les bactéries flagellées en sont des exemples. **Il existe des récepteurs reconnaissant ces motifs** (pattern recognition receptor, PRR) **qui constituent les récepteurs de l'immunité innée.** Ces récepteurs sont exprimés dans les cellules présentatrices de l'antigène et, pour certains, dans d'autres cellules immunitaires et dans les cellules épithéliales. Il en existe de différents types (figure 13.2). Les **Toll-like receptors** (TLR) sont les mieux caractérisés. Ce sont des **récepteurs transmembranaires** présents à la surface de la cellule

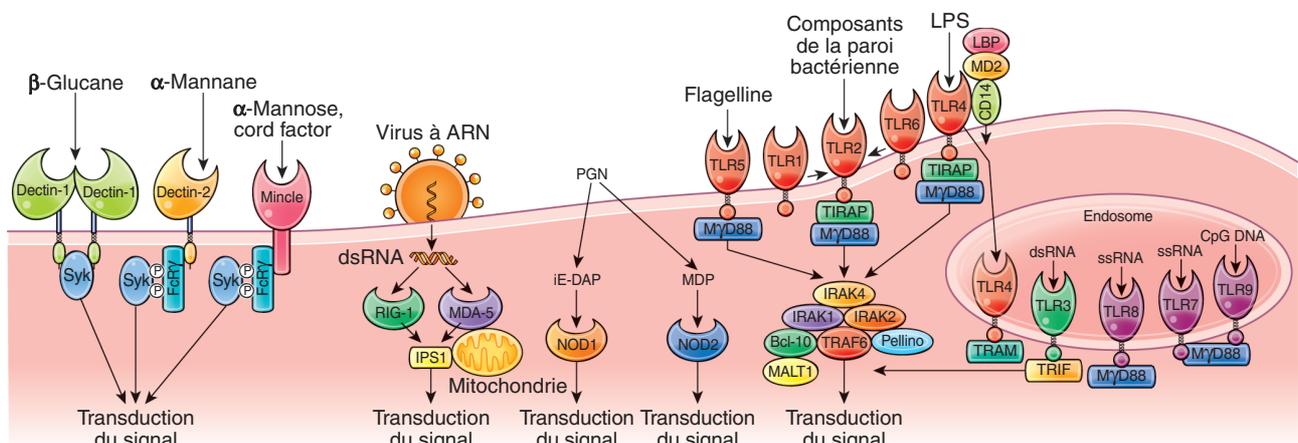
ou des endosomes. Il en existe dix chez l'homme et ils reconnaissent une grande variété de PAMPs bactériens, fongiques, parasitaires et viraux. Les **NOD-like receptors (NLR) sont une famille de plus de 20 récepteurs intracellulaires**. Leur principal rôle est la détection des PAMPs cytoplasmiques et des signaux de danger. Les **RIG-I-like receptors (RLR) sont une famille de trois récepteurs cytoplasmiques aux ARN viraux**. Enfin, les **C-type lectin-like receptors (CLR) sont une grande famille de récepteurs membranaires détectant des motifs hydrocarbonés (sucres) contenus principalement dans les parois fongiques**.

L'activation des PRRs induit une cascade de signalisation intracellulaire conduisant à l'activation et/ou la modulation de la réponse immunitaire. Au niveau des cellules épithéliales intestinales, l'activation des PRRs induit notamment la production de peptides antimicrobiens, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et le recrutement de polynucléaires neutrophiles et de macrophages.

Figure 13.2 : Principaux récepteurs de l'immunité innée (PRR)

dsRNA : ARN double brin ; ssRNA : ARN simple brin ; CpG DNA : motif de génome microbien ; PGN : peptidoglycane ; MDP : muramyl dipeptide ; iE-DAP : acide D-glutamyl-mésodiaminopimélique.

Illustration : Carole Fumat



dsRNA : ARN double brin  
 ssRNA : ARN simple brin  
 CpG DNA : motif de génome microbien  
 PGN : peptidoglycane  
 MDP : muramyl dipeptide  
 iE-DAP : acide D-glutamyl-mésodiaminopimélique

## Cellules présentatrices de l'antigène

Dans l'intestin, les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) sont présentes dans la lamina propria. On les distingue classiquement en cellules dendritiques et en macrophages. Néanmoins, **il existe dans l'intestin une grande variété de CPA avec des caractéristiques pouvant recouper à la fois celles des cellules dendritiques et des macrophages**. Parmi les fonctions principales des cellules dendritiques intestinales résidentes, on peut noter l'échantillonnage des antigènes luminaux (via des dendrites étendues entre les cellules épithéliales). **Ces cellules jouent le rôle d'intermédiaire entre immunité innée et immunité adaptative**.

## Immunité adaptative

### Capture des antigènes de la lumière intestinale

Les antigènes de la lumière intestinale peuvent être capturés de trois manières différentes : (i) par les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés, (ii) par les cellules dendritiques émettant des prolongements dans la lumière intestinale, et (iii) directement par les cellules épithéliales.

**Les plaques de Peyer et les nodules lymphoïdes isolés constituent les sites inducteurs majeurs de l'immunité adaptative intestinale. Leur épithélium particulier comporte des cellules épithéliales différenciées appelées cellules M présentant de nombreuses microvésicules et une forme particulière leur permettant un contact étroit avec des cellules dendritiques, des macrophages et des lymphocytes au niveau de leur membrane basale.** Ces cellules captent de façon sélective les microparticules, souvent antigéniques, qui parviennent à leur contact. Elles leur font traverser leur cytoplasme sous forme de vésicules (d'où l'aspect vacuolé de ces cellules) et les libèrent dans le microenvironnement immunocompétent sur lequel elles reposent. Les cellules lymphoïdes naïves T et B sont ainsi informées et sélectionnées, **les cellules B prolifèrent et constituent le centre germinatif des nodules solitaires ou les plus nombreux centres germinatifs des plaques de Peyer.** Les ganglions mésentériques de voisinage peuvent aussi contribuer à cette réponse immunitaire spécifique.

**Un sous-type de cellules dendritiques est capable de détecter les antigènes directement dans la lumière intestinale par des dendrites étendues dans la lumière, entre les cellules épithéliales.** Ces cellules migrent ensuite vers les ganglions mésentériques de voisinage.

Bien que cela représente une voie plus minoritaire, les cellules épithéliales peuvent aussi capter les antigènes et même les présenter directement aux lymphocytes par une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de type II.

### Réponse adaptative B

**Les lymphocytes B produits dans un nodule lymphoïde isolé, une plaque de Peyer ou un ganglion mésentérique** quittent ces structures par le système lymphatique efférent qui les draine, puis gagnent la circulation lymphatique et se déversent enfin par le canal thoracique dans la circulation systémique. Ces lymphocytes B activés **colonisent alors tous les territoires muqueux, par voie sanguine**, en quittant la circulation périphérique au niveau des veinules postcapillaires particulières qui irriguent ces tissus. Ces veinules à haut endothélium ou HEV (high endothelial venules) captent les cellules de par leurs propriétés d'adhésion spécifiques et leur permettent de gagner la lamina propria. **Les lymphocytes B activés quelques heures auparavant au contact de l'antigène terminent à ce niveau leur différenciation en plasmocytes et produisent des immunoglobulines A (IgA) spécifiques de cet antigène. Les IgA sécrétoires présentent la particularité de résulter de la combinaison d'IgA dimériques** (deux molécules d'IgA et une pièce de jonction ou pièce J) **synthétisées par les plasmocytes de la lamina propria des muqueuses et de la pièce sécrétoire** (encore appelée récepteur d'Ig polymériques) **élaborée dans les cellules épithéliales.** Leur association se fait lors d'un phénomène de transcytose dirigée permettant aux IgA dimériques captées par la pièce sécrétoire au niveau basolatéral des cellules épithéliales, d'être internalisées et libérées au pôle apical sous forme d'IgA sécrétoires complètes (figure 13.3). En tapissant la surface des muqueuses, elles peuvent capter les antigènes et empêcher leur entrée dans le tissu sous-jacent.

### Réponse adaptative T

Après présentation des antigènes par les CPA aux lymphocytes T résidents (principalement CD4<sup>+</sup>) de la lamina propria, les lymphocytes T sont activés. En fonction de l'environnement inflammatoire (notamment la présence de cytokines), les lymphocytes T naïfs prendront un phénotype pro-inflammatoire (ou effecteur) ou anti-inflammatoire (ou régulateur). Les cellules dendritiques ont un rôle majeur dans cette phase car elles vont intégrer l'ensemble des paramètres environnementaux et génétiques qui vont conduire à la réponse T. Parmi ces paramètres, des signaux d'induction de la tolérance peuvent provenir des cellules épithéliales et mésenchymateuses (par exemple TGF- $\beta$ , IL-10, TSLP), ou des signaux pro-inflammatoires (de danger) provenant des différents types cellulaires présents (par exemple TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-12, IL-6). En fonction de cet environnement, la réponse T sera soit effectrice, soit régulatrice.

Schématiquement, on distingue trois types de lymphocytes T effecteurs (figure 13.4) : (i) les Th1 qui dépendent de la présence d'IL-12 et d'IFN- $\gamma$ , des facteurs de transcription Stat1, Stat4 et Tbet, qui synthétisent de l'IL-2 et de l'IFN- $\gamma$  et qui sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes intracellulaires ; (ii) les Th2 qui dépendent de la présence d'IL-4, des facteurs de transcription Stat6 et Gata3, qui synthétisent de l'IL-4, IL-5 et IL-13 et qui sont impliqués dans la réponse aux infections parasitaires ; et (iii) les Th17 qui dépendent de la présence d'IL-6, de TGF- $\beta$  et d'IL-23, des facteurs de transcription Stat3 et ROR- $\gamma$ t, qui synthétisent de l'IL-17 et de l'IL-6 et qui sont impliqués dans la réponse aux infections bactériennes extracellulaires et fongiques.

Figure 13.3 : Transcytose des immunoglobulines A  
Illustration : Carole Fumat

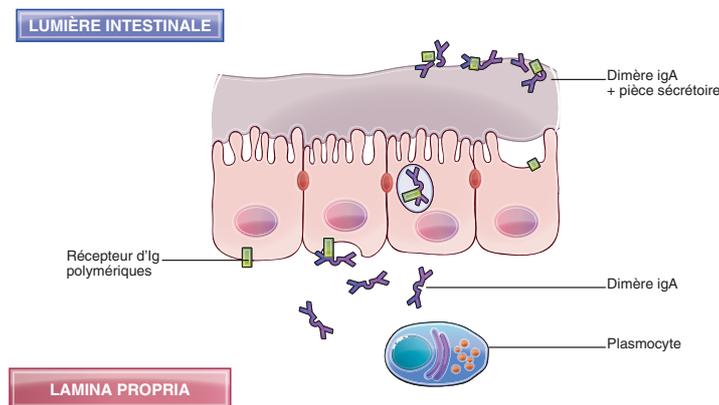
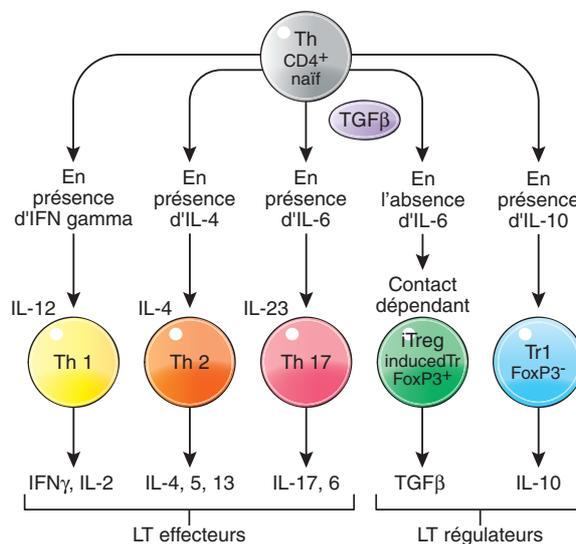


Figure 13.4 : Lymphocytes T effecteurs et régulateurs : différenciation et production cytokinique  
Illustration : Carole Fumat



**Il existe deux types principaux de lymphocytes T régulateurs dans l'intestin** (voir figure 13.4) : (i) **les T régulateurs induits** (iTreg) qui dépendent de la présence de TGF- $\beta$  (en l'absence d'IL-6), du facteur de transcription FoxP3, qui synthétisent du TGF- $\beta$  ; et (ii) **les T régulateurs 1** (Tr1) qui dépendent de la présence d'IL-10 et qui synthétisent de l'IL-10.

**Au niveau intestinal, il existe une activation des lymphocytes T de manière basale, même en l'absence d'infection. Cette activation est en grande partie sous la dépendance de bactéries du microbiote intestinal et jouerait un rôle dans le maintien de l'homéostasie intestinale. Il existe notamment un équilibre fin entre les populations Th17 et Treg. Lorsque cet équilibre est rompu, il peut en résulter une inflammation intestinale incontrôlée, comme c'est le cas par exemple dans la maladie de Crohn. Un autre exemple est représenté par une pathologie génétique appelée IPEX syndrome (immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) dans laquelle les patients ont un déficit des lymphocytes Treg lié à une mutation dans le gène codant pour FoxP3, et chez lesquels on observe souvent une inflammation intestinale sévère.**

## Autres cellules immunes intestinales

**Les lymphocytes T intraépithéliaux ou IEL** (intraepithelial lymphocytes) sont des cellules particulières des muqueuses. Elles sont au contact direct des cellules épithéliales, réparties le long des muqueuses à raison d'environ un IEL toutes les 10 à 20 cellules épithéliales dans l'intestin grêle. **Contrairement à la majorité des lymphocytes T de la lamina propria, les IEL expriment le marqueur CD8<sup>+</sup>.** Elles ont une activité cytotoxique et sont capables de produire des cytokines pro-inflammatoires comme l'IFN- $\gamma$ .

**Les cellules lymphoïdes innées** ont été récemment identifiées. **Elles ont certaines caractéristiques communes avec les lymphocytes T effecteurs, mais n'ont pas de récepteur T et ne sont donc pas spécifiques d'un antigène.** Il en existe plusieurs sous-types, correspondant à plusieurs profils de sécrétion cytokiniques. Ces cellules joueraient un rôle important dans la défense contre les infections et le maintien de l'homéostasie intestinale.

## Présentation du microbiote intestinal

La flore ou microbiote intestinal est l'ensemble des micro-organismes (principalement des bactéries) qui colonisent le tube digestif humain. **Un individu héberge  $10^{14}$  bactéries dans son tractus digestif alors qu'il ne contient « que »  $10^{13}$  cellules eucaryotes, soit dix fois moins de cellules eucaryotes que procaryotes. Pendant de très nombreuses années, le microbiote digestif n'a été que peu ou superficiellement étudié, car plus de 70 % des bactéries qui le composent ne sont pas cultivables par les méthodes classiques.** L'avènement de la biologie moléculaire a permis de commencer à l'étudier dans sa globalité et d'en décrire la grande diversité, en s'affranchissant des limites de la culture. Les bactéries sont généralement perçues comme néfastes pour la santé, car on les assimile toutes, à tort, à des pathogènes. Le microbiote intestinal représente une énorme biomasse possédant de très nombreuses fonctions utiles à l'hôte, ce qui le fait considérer par certains comme un « organe » caché. Le microbiote est adapté à son environnement, et il existe une relation étroite de mutualisme entre microbiote et hôte.

## Outils d'étude du microbiote intestinal

### Taxonomie bactérienne phylogénétique

Pour les bactéries, comme pour tous les êtres vivants, il existe une classification comportant plusieurs niveaux. Le règne (Procaryotæ) est le premier niveau de classification. Vient ensuite le domaine (Bacteria), le phylum, la classe, l'ordre, la famille, le genre et l'espèce. Les bactéries ont longtemps été classées selon des critères morphologiques et fonctionnels (capacités fermentaires des souches en culture par exemple). Cependant, ce type de classification est totalement inadapté à l'étude du microbiote intestinal car elle nécessite la culture in vitro des bactéries, alors qu'à peine 30 % des bactéries de ce microbiote sont cultivables. Plus récemment, une taxonomie bactérienne basée sur la séquence nucléique de certaines molécules, comme les ARN ribosomiques, a été développée. Cette taxonomie phylogénétique se fonde sur la distance génétique qui existe entre les différentes espèces bactériennes et reflète les liens de parenté évolutive entre micro-organismes contemporains. **Pour l'analyse phylogénétique des bactéries du microbiote intestinal, c'est l'ARN de la petite sous-unité du ribosome bactérien (ARNr 16S) qui est le plus largement utilisé.**

La molécule d'ARNr 16S est ubiquitaire (présente dans toutes les bactéries) ; elle est présente en nombreux exemplaires dans chaque bactérie, et donc naturellement amplifiée ; elle possède une structure primaire mosaïque avec des régions conservées (communes à l'ensemble du domaine Bacteria), des régions variables (communes aux bactéries d'un groupe bactérien) et des régions hypervariables (spécifiques d'une espèce). L'ARNr 16S a conservé une relation structure/fonction stable au cours de l'évolution, et une taille suffisante pour permettre des comparaisons couvrant toute la diversité du monde vivant.

### Méthodes d'étude du microbiote

Afin de déterminer la composition du microbiote intestinal, plusieurs méthodes moléculaires existent. Leur principe consiste à déterminer, de manière directe ou indirecte, la séquence des ARNr 16S bactériens. Avec la généralisation des techniques de séquençage à haut débit, on peut maintenant directement séquencer une zone du gène codant pour l'ARNr 16S et ainsi déterminer la composition du microbiote avec une précision pouvant aller parfois jusqu'à l'espèce (plus souvent le genre). Si l'on veut aller plus loin dans la caractérisation du microbiote, on peut utiliser une approche métagénomique qui consiste à séquencer l'ensemble de l'ADN microbien du microbiote (et pas seulement le gène codant pour l'ARNr 16S). Cela permet de déterminer les gènes microbiens qui le composent et donc de mieux caractériser les micro-organismes présents et leurs fonctions. Récemment, des approches de métatranscriptomiques ont été décrites, permettant de séquencer non plus l'ADN, mais l'ARN microbien et donc d'avoir un inventaire des gènes microbiens transcrits à un temps donné.

À côté des acides nucléiques, il est aussi possible d'étudier le protéome ou le métabolome du microbiote, qui constituent respectivement l'ensemble des protéines et des métabolites du microbiote.

## Établissement après la naissance

Le tractus digestif du nourrisson à la naissance est dépourvu de bactérie. **La colonisation microbienne débute dès la naissance.** En l'absence des mécanismes immunitaires sophistiqués de l'adulte, le tube digestif du nouveau-né est un environnement particulièrement permissif et les niveaux de population y atteignent rapidement  $10^{11}$  bactéries par gramme de selles. La colonisation suit néanmoins un schéma relativement organisé, sous la dépendance de facteurs exogènes et

endogènes. Les facteurs exogènes incluent l'exposition aux micro-organismes d'origine maternelle (fécale, vaginale et cutanée) et environnementale, mais aussi l'alimentation et parfois l'antibiothérapie, qui peut avoir des effets perturbateurs majeurs. Des études récentes indiquent également que des composants bactériens issus du microbiote maternel sont transportés au nouveau-né par l'intermédiaire du lait maternel. Ainsi, même collecté de façon aseptique, le lait de femme n'est pas stérile. Les facteurs endogènes incluent l'ensemble des sécrétions du tube digestif et les produits des premiers micro-organismes colonisateurs, qui conditionnent globalement la physicochimie du biotope. Les bactéries anaérobies qui dominent le microbiote intestinal de l'adulte font partie des premiers microbes rencontrés lors d'une naissance par voie basse. Elles ne se développeront cependant en dominance dans l'intestin que lorsque les bactéries anaérobies facultatives auront consommé l'oxygène présent. Ce premier relais d'espèces s'opère durant les heures qui suivent la naissance. Des relations antagonistes gouvernent ensuite progressivement le relais d'espèces en dominance **conduisant vers l'âge de 2 à 4 ans à un microbiote stable au plan fonctionnel**. Les bactéries anaérobies strictes dominent les bactéries anaérobies facultatives dans le côlon distal et les selles par un facteur de 1 000 environ.

## Composition

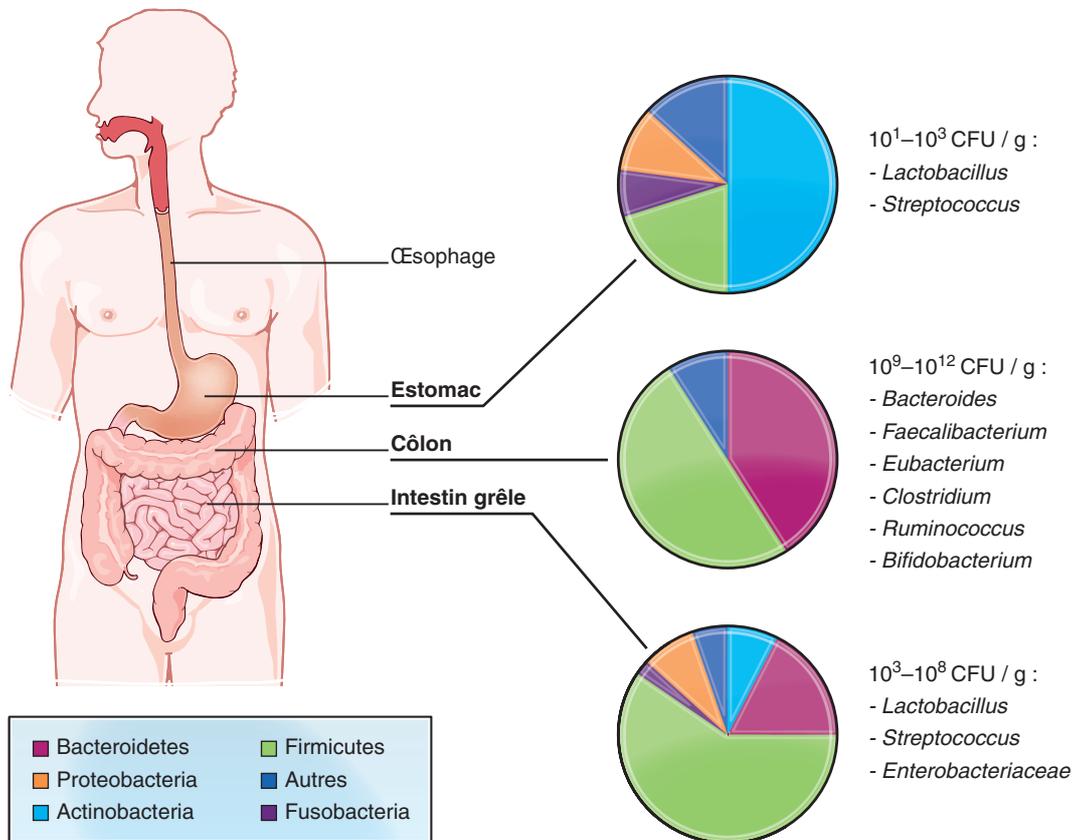
On estime aujourd'hui que chaque individu adulte héberge en dominance dans son tube digestif un millier d'espèces bactériennes différentes. **La densité bactérienne atteint son maximum dans le côlon distal avec  $10^{11}$  à  $10^{12}$  bactéries par gramme de contenu**. L'utilisation d'outils moléculaires a montré que **la plus grande partie (deux tiers environ) des espèces dominantes observées dans le microbiote fécal d'un individu lui sont propres**. Cependant, l'analyse en taxa (genres bactériens et/ou grands groupes phylogénétiques) fait ressortir l'existence de composantes récurrentes, retrouvées chez tous les individus. **Trois phyla bactériens, Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria rassemblent la plus grande part des bactéries fécales dominantes (figure 13.5)**. Le *phylum* des Firmicutes (bactéries à Gram positif) est toujours fortement représenté. Il comprend tout d'abord le groupe dit *Eubacterium* rectale – *Clostridium* coccoides qui est souvent le plus important (14 à 31 % des bactéries totales en moyenne suivant les études). Ce groupe est composé d'espèces bactériennes appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrovibrio*. Le *phylum* des Firmicutes comprend également le groupe *Clostridium* leptum, avec notamment les espèces *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*, groupe qui est aussi très souvent dans la dominance (16 à 22 % en moyenne). Les Bacteroidetes sont représentés par les genres apparentés à Bacteroides (*Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*). Ils sont toujours présents et partagent la dominance avec les groupes précédents (9 à 42 % des bactéries totales suivant les études). Le *phylum* Actinobacteria est moins systématiquement détecté en dominance mais il représente en moyenne quelques pourcents des bactéries totales. On y trouve les bifidobactéries (0,7 à 10 %) et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium* (0,3 à 3,7 % en moyenne). Les entérobactéries sont plus rarement observées dans le microbiote fécal dominant (en moyenne 0,4 à 1 %), de même que les lactobacilles et streptocoques (2 %).

Si l'on reconnaît ainsi des caractéristiques très conservées en termes de composition au niveau des phyla et grands groupes phylogénétiques, au niveau des espèces, la caractéristique principale semble être la présence de nombreuses espèces sujet-spécifiques. **Ceci laisse penser que le microbiote d'un individu lui est propre et qu'il existe au plan fonctionnel une interchangeabilité entre les espèces**. Les données récentes de métagénomique vont dans ce sens, en montrant que les fonctions portées par les gènes du microbiote sont similaires d'un sujet à l'autre.

**Figure 13.5 : Composition et densité du microbiote intestinal**

La concentration en micro-organismes augmente entre la bouche et le côlon. Les bactéries constituent la grande majorité des micro-organismes du microbiote intestinal.

Illustration : Carole Fumat



Modifié d'après Dave et al. Translational research 2012

## Propriétés

### Diversité

Le microbiote intestinal de chaque être humain est composé de plusieurs centaines d'espèces bactériennes différentes dont le pool de gènes est 100 à 150 fois supérieur à celui du génome humain. Le microbiote intestinal est donc porteur d'une très grande diversité d'espèces bactériennes et de fonctions potentielles. Chaque individu a un microbiote intestinal différent en termes d'espèces bactériennes. Néanmoins, certaines espèces présentes chez la majorité des individus semblent représenter les piliers du microbiote. Par ailleurs, malgré cette diversité interindividuelle en termes de composition de bactéries, les fonctions portées par le microbiote sont globalement conservées entre les individus.

### Stabilité et résilience

Une fois le microbiote mis en place, et si les conditions environnementales ne changent pas, la composition en grands groupes bactériens et en espèces dominantes est stable dans le temps. En revanche, les populations sous-dominantes, minoritaires, peuvent varier. Des facteurs

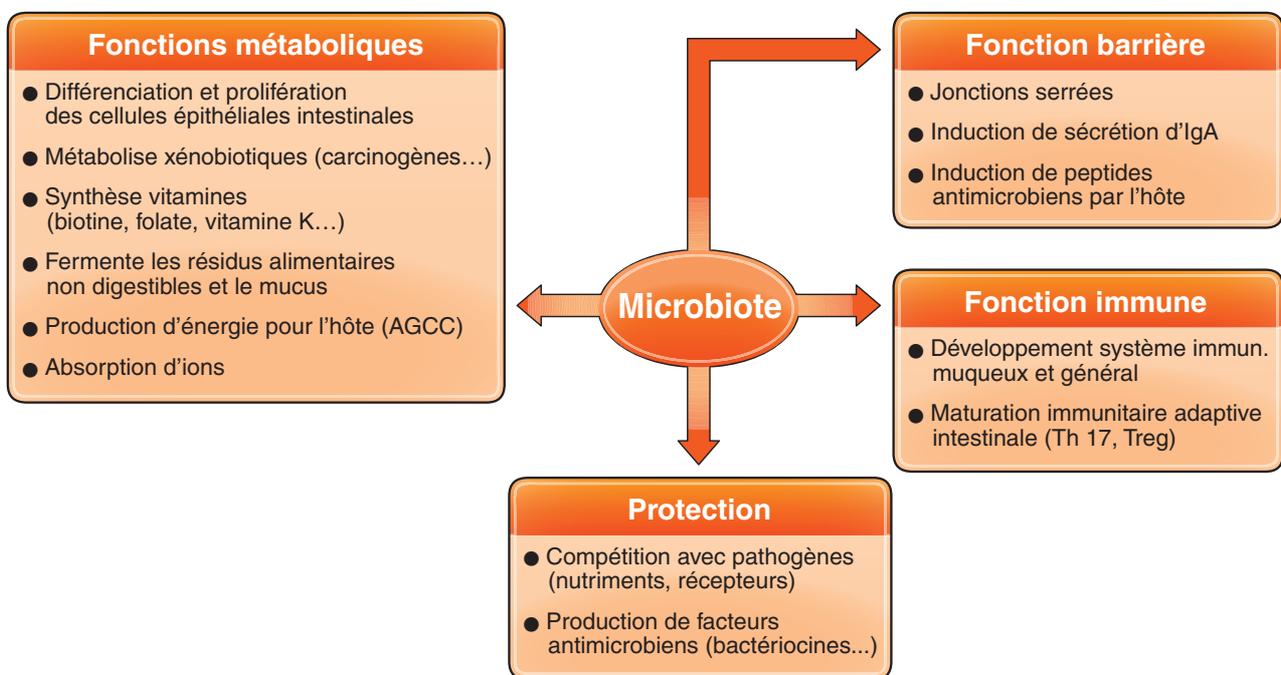
environnementaux peuvent induire des changements majeurs. C'est le cas de prises d'antibiotiques, de changement dans le régime alimentaire ou encore d'infections intestinales.

## Fonctions du microbiote intestinal

La présence permanente d'une importante biomasse bactérienne exerce des effets physiologiques dont les répercussions pour l'hôte sont, pour la plupart, bénéfiques. **Parmi les grandes fonctions du microbiote, la fermentation des substrats disponibles au niveau du côlon, le rôle de barrière à la colonisation par les micro-organismes pathogènes, le développement et la maturation du système immunitaire intestinal et les interactions avec les cellules épithéliales ont des rôles essentiels pour le maintien de la santé de l'hôte** (figure 13.6).

Figure 13.6 : Principales fonctions du microbiote vis-à-vis de l'hôte

Illustration : Carole Fumat



### Fonction de protection et de barrière

L'effet de barrière est un effet protecteur du microbiote intestinal non seulement vis-à-vis des bactéries pathogènes exogènes, mais également vis-à-vis de bactéries présentes dans l'intestin en faible quantité et potentiellement délétères si leur concentration augmente. Les mécanismes de l'effet de barrière sont de plusieurs ordres. Il existe une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre les bactéries pathogènes et les bactéries commensales qui sont plus adaptées à l'écosystème intestinal. Par ailleurs, la production par les cellules épithéliales d'une grande partie des peptides antimicrobiens jouant un rôle majeur dans la défense contre les agents pathogènes est induite par le microbiote. Les bactéries du microbiote produisent également des bactériocines aux propriétés antibiotiques. Enfin, le microbiote stimule la production des IgA sécrétoires et renforce les jonctions serrées entre les cellules épithéliales.

## Fonctions métaboliques

L'influence principale du microbiote sur le métabolisme de l'hôte provient du métabolisme bactérien des composés présents dans le côlon et en particulier du métabolisme des sucres, des gaz et des protéines.

### Métabolisme des glucides

**La quantité de glucides fermentescibles** (présents dans les céréales, les fruits et les légumes) **arrivant au côlon varie de 10 à 60 grammes par jour** selon les individus et leur régime alimentaire (voir chapitre 12 « Digestion »). **Différents groupes bactériens du microbiote colique humain participent à la dégradation anaérobie de ces substrats.** Les groupes bactériens ont des activités complémentaires leur permettant de former une chaîne trophique conduisant à la transformation des polysides en métabolites fermentaires. La première étape de cette transformation est l'hydrolyse des polymères glucidiques en fragments de petite taille (oses, oligosides...). Elle est assurée par des bactéries dites « fibrolytiques » possédant plusieurs types d'hydrolases (notamment polysaccharidase et glycosidase) non produites par les cellules eucaryotes humaines. Les bactéries glycolytiques peuvent ensuite participer à la deuxième phase consistant à transformer les glucides produits. La majorité des espèces utilisent la glycolyse pour convertir les glucides en pyruvate qui sera lui-même transformé en produits finaux de la fermentation, les acides gras à chaîne courte (acétate, propionate, butyrate). Néanmoins, certaines espèces bactériennes produisent des métabolites intermédiaires (notamment lactate, formate, succinate) qui sont transformés par d'autres espèces bactériennes en produits finaux de la fermentation. L'acétate, le propionate et le butyrate sont des acides gras à chaîne courte qui sont rapidement absorbés par l'épithélium colique et sont métabolisés localement, mais aussi à distance. Ils apportent de l'énergie et stimulent l'absorption colique de sodium. L'acétate passe dans le sang et fournit de l'énergie à l'ensemble de l'organisme (ce qui est utile chez les sujets atteints de maladies de l'intestin grêle avec malabsorption). **Le butyrate est le principal nutriment des colonocytes ; il exerce des propriétés d'immunomodulation locale.** Les acides gras à chaîne courte participent à la stimulation des lymphocytes T régulateurs dans la muqueuse intestinale.

### Métabolisme des gaz

**L'hydrogène est un des gaz majoritairement formé par la fermentation, et de grandes quantités en sont produites quotidiennement dans le côlon** (environ 300 ml par gramme de substrat fermenté). L'efficacité de la fermentation dépend de la capacité de l'écosystème à éliminer cet hydrogène. Son excrétion peut se faire soit par les émissions de gaz rectaux soit par voie pulmonaire. Néanmoins, **la plus grande partie de l'hydrogène est transformée in situ par des bactéries du microbiote colique** dites hydrogénotrophes. Trois principaux types de transformation sont possibles. Les archaea méthanogènes, présents dans le microbiote colique de 30 à 50 % des adultes, produisent du méthane à partir de l'hydrogène. Il existe d'autres voies hydrogénotrophes, notamment chez les sujets non méthano-excréteurs. L'acétogénèse réductrice permet aux espèces acétogènes de synthétiser de l'acétate à partir d'hydrogène et de dioxyde de carbone. Enfin, la sulfato-réduction est utilisée par les bactéries sulfato-réductrices (dont le genre prédominant est *Desulfovibrio*) pour former des sulfures qui sont potentiellement délétères pour le colonocyte.

### Métabolisme des protéines

**Les protéines sont la principale source d'azote dans le côlon, et les bactéries coliques doivent donc être capables de les hydrolyser afin de disposer de l'azote et du carbone qui leur sont nécessaires.** Un grand nombre de bactéries coliques possèdent une activité protéasique permettant l'hydrolyse des protéines en petits peptides. Ces peptides peuvent être directement métabolisés par certaines espèces bactériennes permettant la libération d'acides aminés libres qui seront utilisés par

d'autres bactéries incapables d'assimiler des peptides. Certaines bactéries utilisent les acides aminés comme source d'énergie principale et ne fermentent pas les glucides alors que d'autres utilisent les acides aminés uniquement comme sources d'azote. Parmi les nombreuses réactions chimiques nécessaires à la fermentation des acides aminés, la voie réductrice de désamination est la plus empruntée par les bactéries du microbiote colique. Cette chaîne de réactions aboutit à la formation d'acides gras à chaînes courtes (acétate, propionate, butyrate), d'ammoniac et de nombreux autres composés comme des phénols, des acides dicarboxyliques et des acides gras ramifiés (isobutyrate et isovalérate notamment). Les composés phénoliques et indoliques (toxiques), issus de la dégradation des acides aminés aromatiques (tyrosine, tryptophane et phénylalanine) sont absorbés et détoxifiés par les cellules coliques, puis excrétés dans les urines. L'ammoniac est également absorbé dans le côlon, il passe dans la circulation portale pour atteindre le foie où il est transformé en urée qui sera éliminée par voie urinaire. L'ammoniac est aussi une source majeure d'azote pour les bactéries du microbiote colique qui l'utilisent pour la synthèse d'acides aminés. Ainsi, la synthèse protéique bactérienne, stimulée par la fermentation des glucides, permet la diminution de la concentration colique d'ammoniac.

Dans les situations cliniques de défaillance hépatique (cirrhose décompensée par exemple), le foie ne métabolise plus l'ammoniac qui passe donc dans la circulation sanguine systémique et peut avoir des effets toxiques, notamment sur le système nerveux central. L'ammoniac serait en partie responsable de l'encéphalopathie hépatique. Dans cette situation, des traitements visant à diminuer l'ammoniémie en diminuant son absorption colique se sont d'ailleurs révélés efficaces.

## Métabolisme des lipides

**Les lipides de la lumière colique proviennent de trois origines : les lipides arrivant du tractus intestinal d'amont** (5 à 8 grammes par jour en condition physiologique), **les lipides provenant de la désquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens**. Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés (notamment par hydrolyse, oxydation, réduction et hydroxylation) dans le côlon par les bactéries du microbiote. Le cholestérol colique, qui provient pour la majorité de la bile et pour le reste de l'alimentation et de la désquamation des cellules épithéliales intestinales, est transformé en coprostanol par le microbiote, avec une efficacité très variable d'un sujet à l'autre. Le coprostanol n'est pas absorbé et est donc éliminé dans les fèces.

Les acides biliaires sont un produit de transformation du cholestérol par le foie. Ils sont également conjugués, ce qui a pour conséquence une amphiphilie accrue. Quatre-vingt-quinze pour cent des acides biliaires sécrétés dans la bile sont réabsorbés dans l'iléon terminal par des transporteurs actifs spécifiques puis retournent au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile (cycle entérohépatique des acides biliaires). Seuls 5 % des acides biliaires sécrétés dans la bile parviennent au côlon et y sont métabolisés (notamment par déconjugaison, oxydation et épimérisation) par les bactéries du microbiote en acides biliaires secondaires. La déconjugaison rend les acides biliaires plus hydrophobes, ce qui favorise leur absorption passive. Les acides cholique et chénodésoxycholique (acides biliaires primaires) sont majoritaires chez l'homme et sont transformés par 7  $\alpha$ -déshydroxylation par les bactéries du microbiote colique en acides désoxycholique et lithocholique (acides biliaires secondaires) qui pourraient avoir des effets carcinogènes sur la muqueuse colique.

Les hormones stéroïdes et des xénobiotiques suivent les mêmes voies métaboliques avec conjugaison hépatique, déconjugaison bactérienne colique et circulation entérohépatique.

**Le métabolisme humain est influencé par le microbiote intestinal. Ainsi, l'administration d'un microbiote de sujet sain mince à des patients atteints de syndrome métabolique induit une amélioration du métabolisme de l'hôte avec une diminution de l'insulinorésistance.**

## Fonctions immunitaires

La grande majorité des informations sur les fonctions immunitaires du microbiote proviennent des études comparatives entre des souris axéniques (stériles, sans microbiote) et leurs homologues élevées classiquement en animalerie. Ces travaux ont démontré le **rôle essentiel joué par le microbiote dans le développement et la maturation du système immunitaire**, et donc sur ses fonctions. Les animaux axéniques ont en effet de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, nombre de lymphocytes intraépithéliaux réduits, déficit en certaines populations lymphocytaires T, sécrétion intestinale d'immunoglobulines A réduite, concentration d'immunoglobulines sériques et production de cytokines limitées. Les anomalies observées ne se limitent cependant pas à l'épithélium intestinal puisque la rate et les ganglions lymphatiques des animaux axéniques sont non structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées. L'ensemble de ces anomalies peuvent être « réparées » en quelques semaines en inoculant un microbiote de souris conventionnelle à ces souris axéniques. **Certaines bactéries stimulent particulièrement les populations Th17 intestinales alors que d'autres stimulent les lymphocytes T régulateurs. La composition du microbiote joue donc un rôle majeur dans l'équilibre entre Th17 et Treg, indispensable au maintien de l'homéostasie intestinale.**

### **Exemple de l'implication du microbiote intestinal en physiopathologie humaine : la colite à *Clostridium difficile***

Les infections à *Clostridium difficile* (voir aussi chapitre 4 « Côlon ») représentent une cause majeure de diarrhée et de morbidité en milieu hospitalier. Elles surviennent essentiellement dans les suites d'une antibiothérapie. *Clostridium difficile* est une bactérie à Gram positif anaérobie sporulée très répandue dans l'environnement. Ce micro-organisme se présente soit sous une forme végétative très sensible à l'oxygène, soit sous une forme sporulée thermostable et très résistante.

Approximativement 3 % des adultes sains sont des porteurs asymptomatiques de cette bactérie. La transmission de *C. difficile* se fait par voie oro-fécale, la bactérie étant le plus souvent sous forme sporulée, ce qui lui permet de traverser l'acidité gastrique sans encombre avant d'atteindre l'intestin grêle puis le côlon où elle pourra reprendre une forme végétative.

La première condition pour induire une infection à *C. difficile* est une altération du microbiote intestinal qui est le plus souvent liée à un traitement antibiotique. Les perturbations du microbiote intestinal sont associées à une diminution de l'effet de barrière réalisé par le microbiote lui-même, protégeant contre la colonisation par les pathogènes intestinaux. Par ailleurs, les perturbations du microbiote intestinal induisent aussi une altération de la production de peptides antimicrobiens par les cellules épithéliales et immunitaires de l'hôte, jouant également un rôle important dans la défense contre les pathogènes. Lorsque les conditions sont réunies, les souches toxigènes de *C. difficile* émergent et produisent les toxines A et/ou B, responsables de la symptomatologie.

Cette infection est classiquement traitée par antibiotiques mais une approche par transplantation de flore, consistant à remplacer le microbiote anormal par celui d'un donneur « sain », a récemment été validée.