



HAL
open science

Microbiote digestif des volailles

Irène Gabriel

► **To cite this version:**

| Irène Gabriel. Microbiote digestif des volailles. Master. Master 2 DeQPA, 2019, 88 p. hal-02790899v1

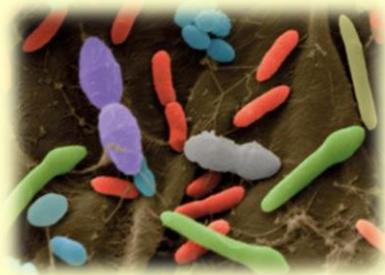
HAL Id: hal-02790899

<https://hal.inrae.fr/hal-02790899v1>

Submitted on 5 Jun 2020 (v1), last revised 8 Oct 2021 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Microbiote digestif des volailles



Irène Gabriel

Equipe AliSE (Alimentation et Systèmes d'Élevage)

UMR BOA (Biologie des Oiseaux et Aviculture)
INRA Centre Val de Loire
Nouzilly





Microbiote digestif des volailles

1. Microbiote digestif

1.1. Composition

1.2. Facteurs modulant le microbiote

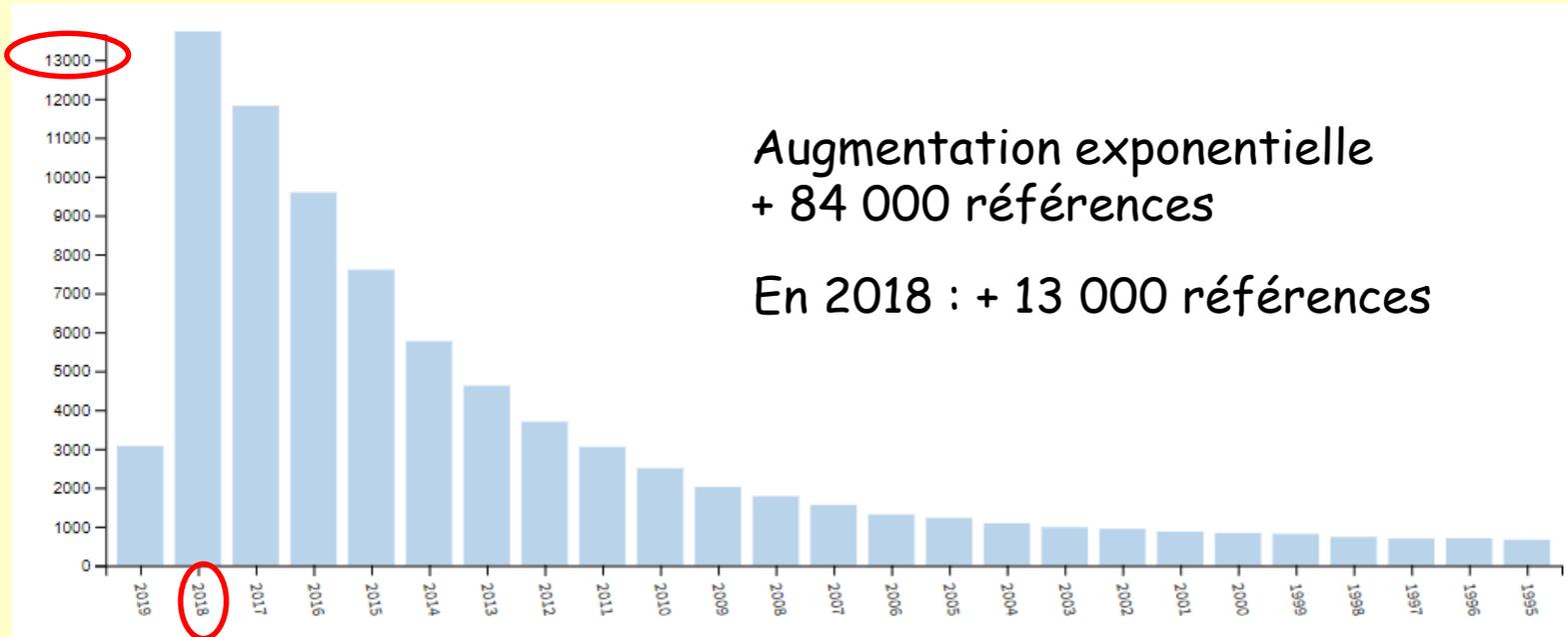
1.3. Effets du microbiote sur l'animal

1.4. Modes d'action du microbiote

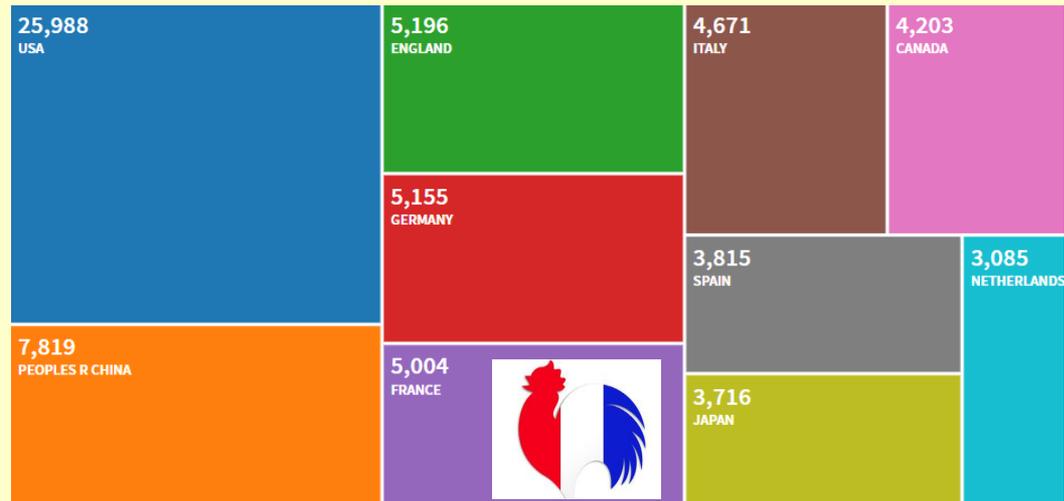
2. Facteurs alimentaires pouvant moduler le microbiote digestif

Développement des travaux publiés sur le microbiote

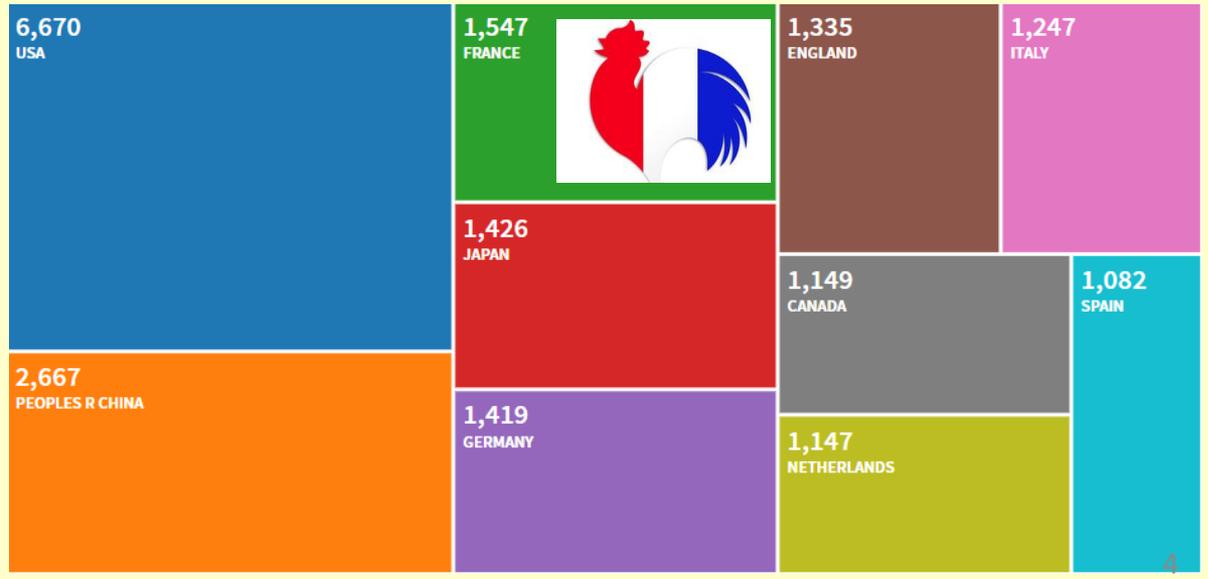
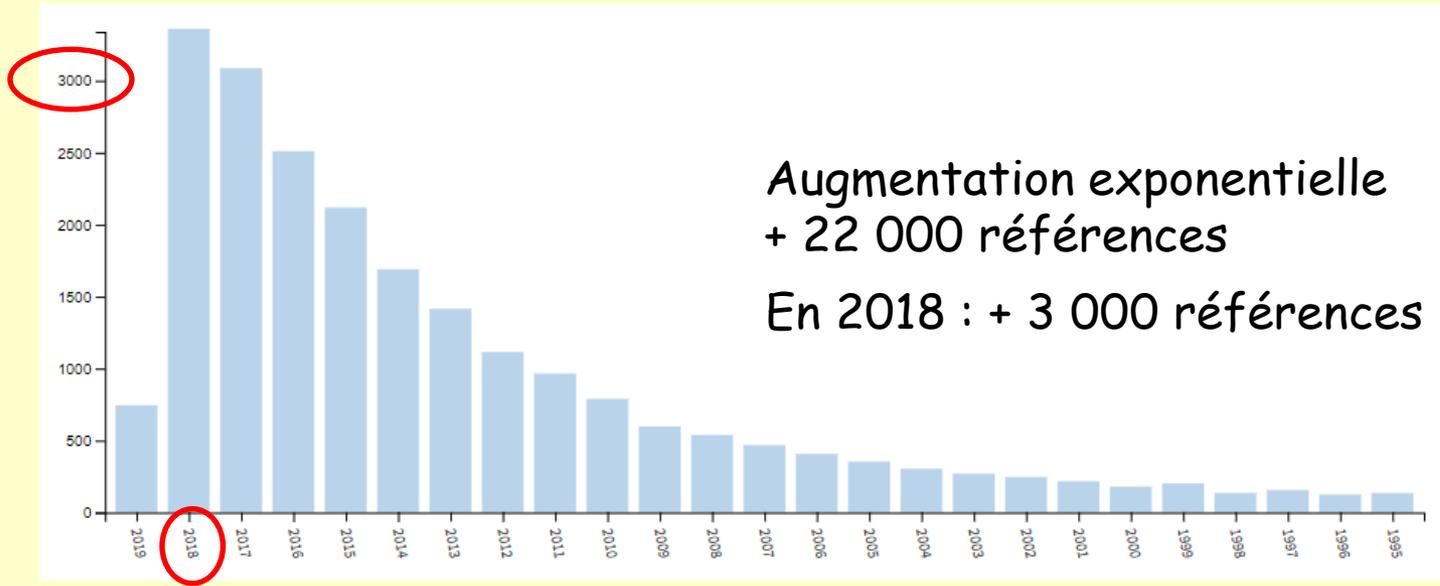
Tous les travaux sur le microbiote

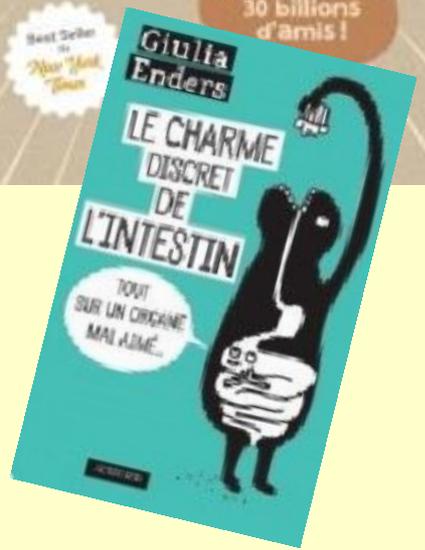
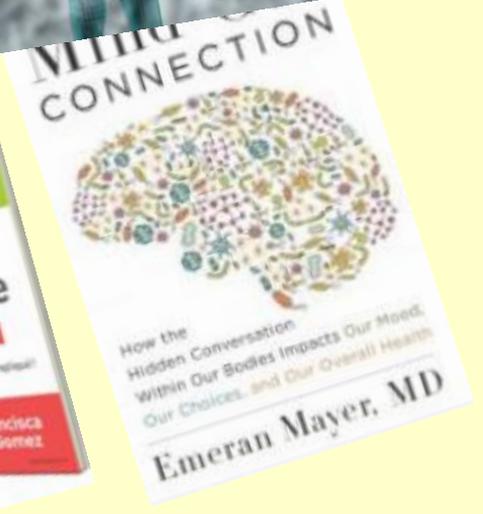
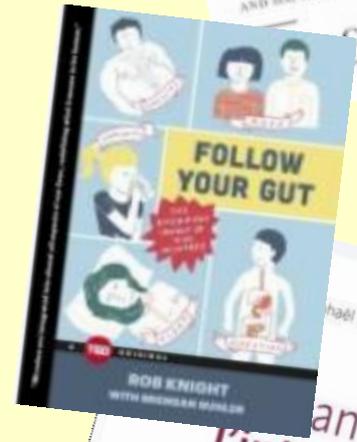
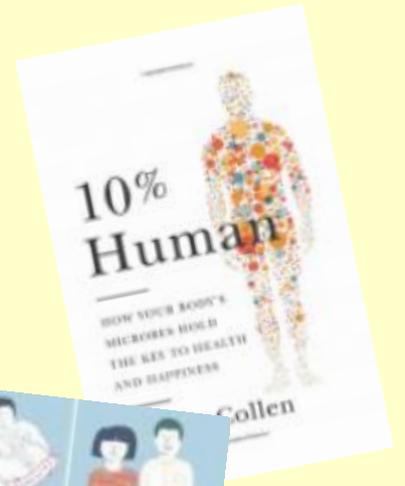
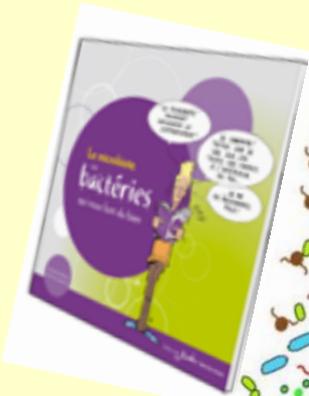


Web of Science
TOPIC: (Microbiota or
microflora or microbiome)

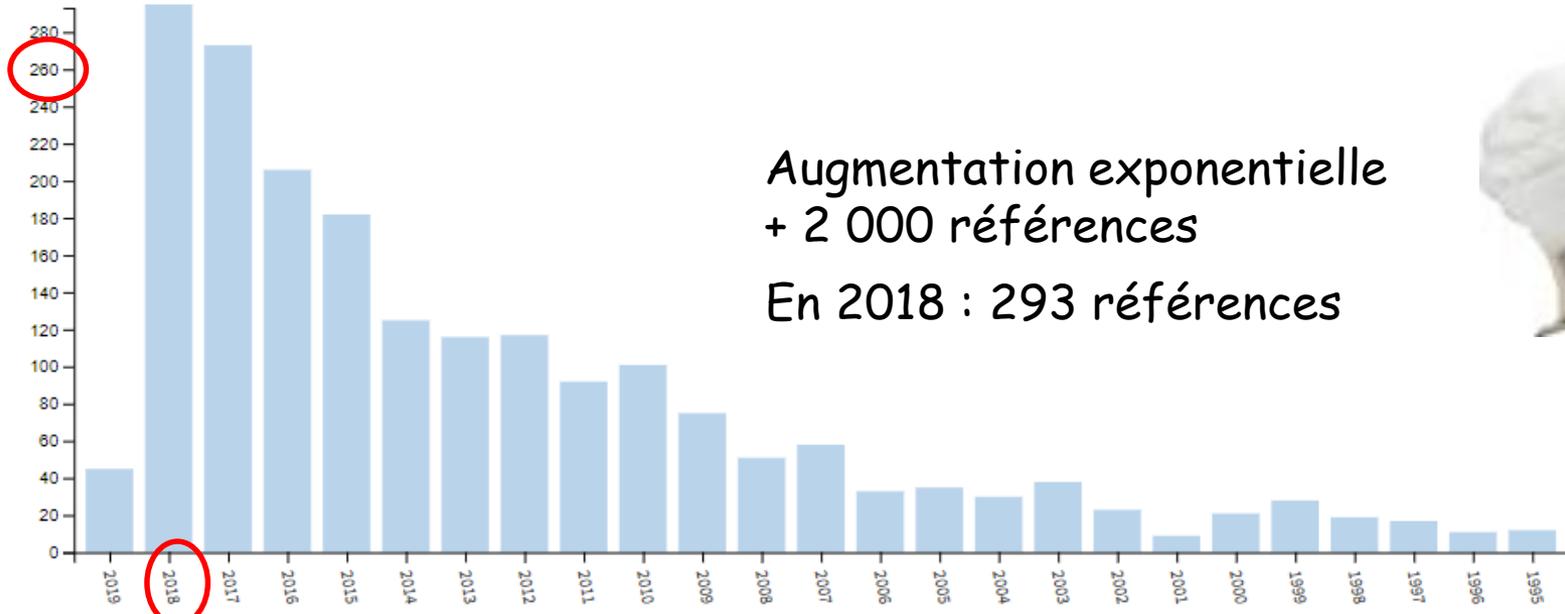


Travaux sur le microbiote DIGESTIF chez l'HOMME / modèle MURIN



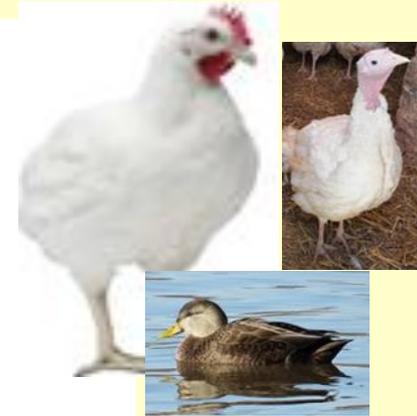


Travaux sur le microbiote digestif chez les oiseaux dont VOLAILLES



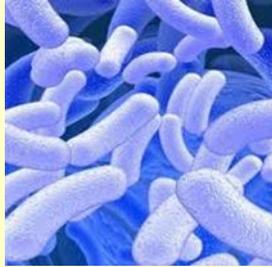
Augmentation exponentielle
+ 2 000 références

En 2018 : 293 références



1. Microbiote digestif

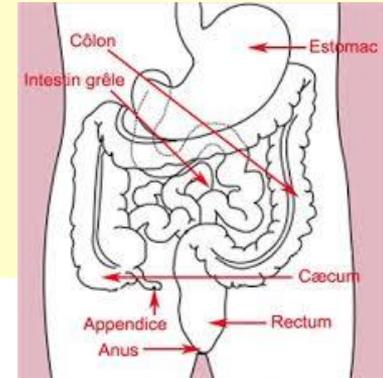
1.1. Composition du microbiote digestif des volailles



Appareil digestif du poulet

Appareil digestif court → Temps de transit rapide
Mouvements de rétroperistaltisme

Homme



Jabot
pH=4,47-4,54
2h45-4h

Suc pancréatique
Sels biliaires

Proventricule
pH= 4,33-4,51
20-50 min

Gésier
pH=2,46-2,79

Duodénum
pH=5,68-6,07

Jéjunum
pH=5,72-6,00

Intestin grêle
1h-1h15

Iléon
pH=6,18-6,50

Caeca
pH=5,60-5,83
Vidange
1-2 fois /j

Rectum
pH=6,08-6,58
30 min

Cloaque

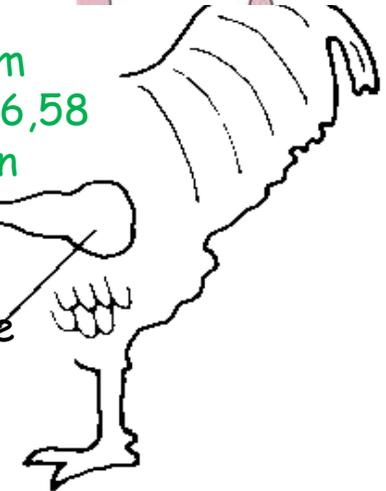


Fig : D'après Moran (1982)
pH : d'après Farner (1942)
Tps transit : d'après Sklan et al (1975)

Organismes présents dans le TD des oiseaux

Eucaryotes

Cestodes

Railletina (intestin grêle)
Davainea (duodénum)



Nématodes

Heterakis gallinarum : petit ver nématode blanchâtre (caeca)
 Capillaires (jabot, intestin grêle)
Acuarria : *A. spiralis* et *A. nasata* (jabot, gésier)
Ascaridia galli



Heterakis gallinarum



Capillaires



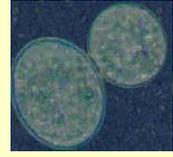
Acuarria



Acaridia galli

Protozoaires

Ex : Coccidies Eimeria

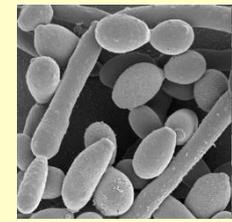


Eimeria

Champignons

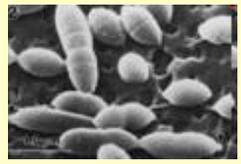
Levures

Ex : *Candida albicans*



Candida albicans

Archées



Methanobrevibacter



Procaryotes

BACTERIES



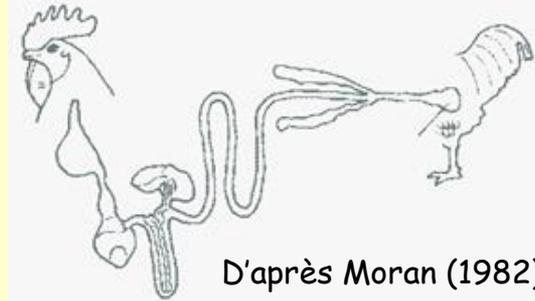
Virus

10^{10} / mm^3 (Homme : Lepage, et al, 2008)

Bactériophages (Letarov et Kulikov, 2009; Reyes et al, 2012)



Les microorganismes du TD des oiseaux



Intestin grêle

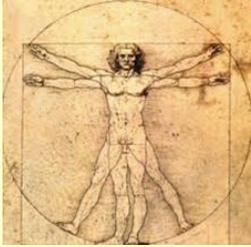
Caeca

	Kim et Mundt, 2011*	Danzeisen et al, 2011	Sergeant et al, 2014
Bactéries	92%	97,1%	97,8%
Archées	0,4%	2,1%	0,04%
Eucaryotes	4,2%	0,5%	2,1%
Virus	3,8%	0,3%	0,1%

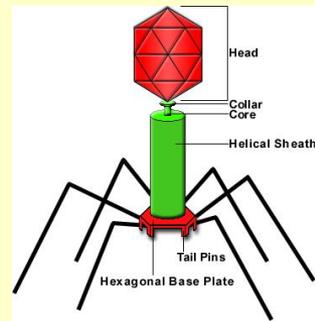
*50% de séquences assignées

*47% de séquences assignées

Virus Virôme (Métagénome viral)

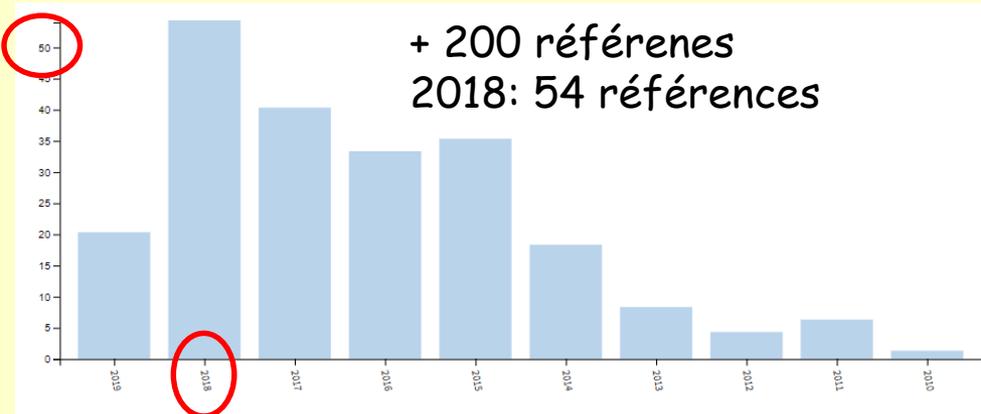


Peu abondant : 0,1% des microorganismes
 Essentiellement des **bactériophages** et des **inconnus**
Relation Bactérie / Virus : Proie / Prédateur
 Impliqué dans la **régulation** du microbiote bactérien
 Pourrait porter des fonctions bénéfiques pour l'hôte



Bases de données très incomplètes

(Minot et al, 2013; Glendinning et Free, 2014; Norman et al, 2014; Cadwell et al, 2015; Foca et al, 2015)



7 publications

Peu abondant : 0,1-3,8% des microorganismes
Virus d'eucaryotes

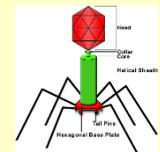
Virus à ARN* (RT-PCR), Virus à ADN (PCR)
 (Pantin-Jackwood et al, 2008; Poulet, Dinde)

Virus à ARN* (pyroséquençage) (Day et al, 2010; Dinde)

* Responsables de pathologies entériques et de maladies de production en aviculture

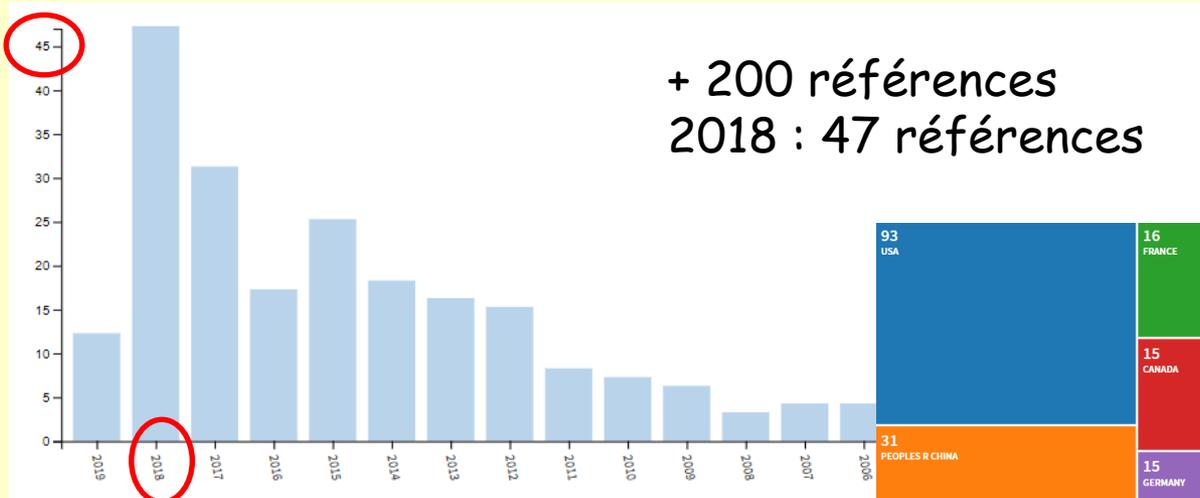
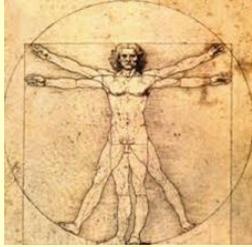
Virus faisant partie du microbiote commensal (Lima, et al. 2017, 2019)

Bactériophages



Champignons (Fungi)

Mycobiome



En 2018 : quelques publications

Scupham, A. J., et al. 2007; Hume, M. E., et al. 2012;
Lin, J., et al. 2013; Sokol, I., et al. 2017, 2018

Hume et al (2012)

Pyroséquencage ADNr 28S

23 espèces
(2 sem)



8 espèces
(3 sem)



http://ag.arizona.edu/PLP/alternaria/online/picture_library/alternaria/japonica/pages/2172002.htm



<http://extension.umaine.edu/ipm/ipddl/plant-disease-images/embellisia-pathogen-images/>



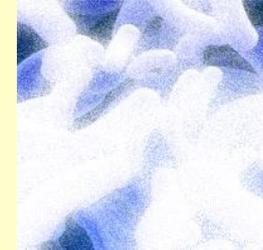
<http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/espece.php?idE=102>

Microbiote bactérien : Evolution des approches d'études

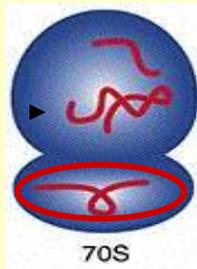


Approches
culturales

Une grande majorité non facilement cultivable (70-90%)



Approches indépendantes de la culture
Méthodes moléculaires basées sur un marqueur bactérien (ADNr 16S)



Méthodes qualitatives

5S
23S Empreintes moléculaires (DGGE, SSCP, ...)

Méthodes quantitatives

16S Hybridation in situ par fluorescence (FISH)
PCR quantitative

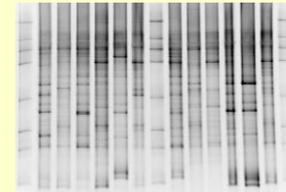


Image plus précise

+ Récemment : Séquençage à haut débit d'amplicons de l'ADNr 16S
Pyroséquençage (Next Generation Sequencing, NGS)

Illumina MiSeq , HiSeq ...

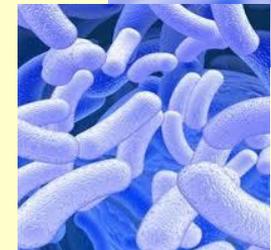
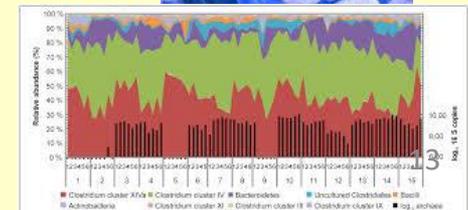
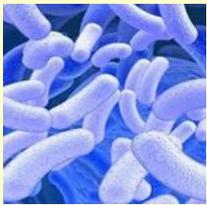


Image encore plus précise





Microbiote bactérien digestif du poulet

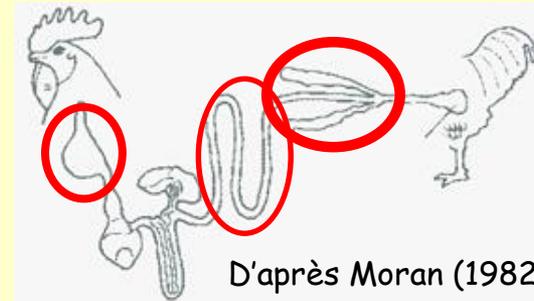


Contenus digestifs

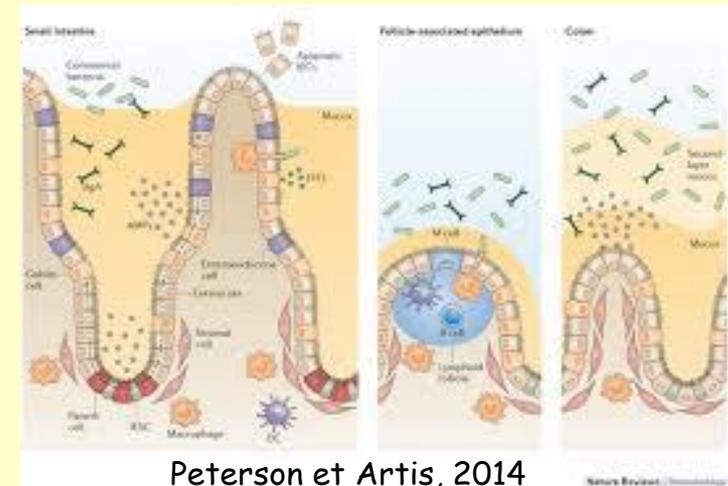
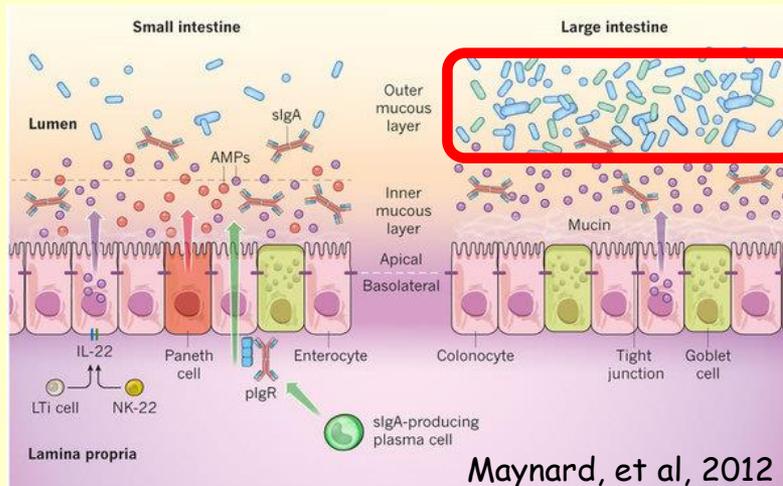
Le + étudié

Importance quantitative

1. Caeca
2. Jabot
3. Intestin grêle



Mucus digestif



Composition du microbiote du mucus

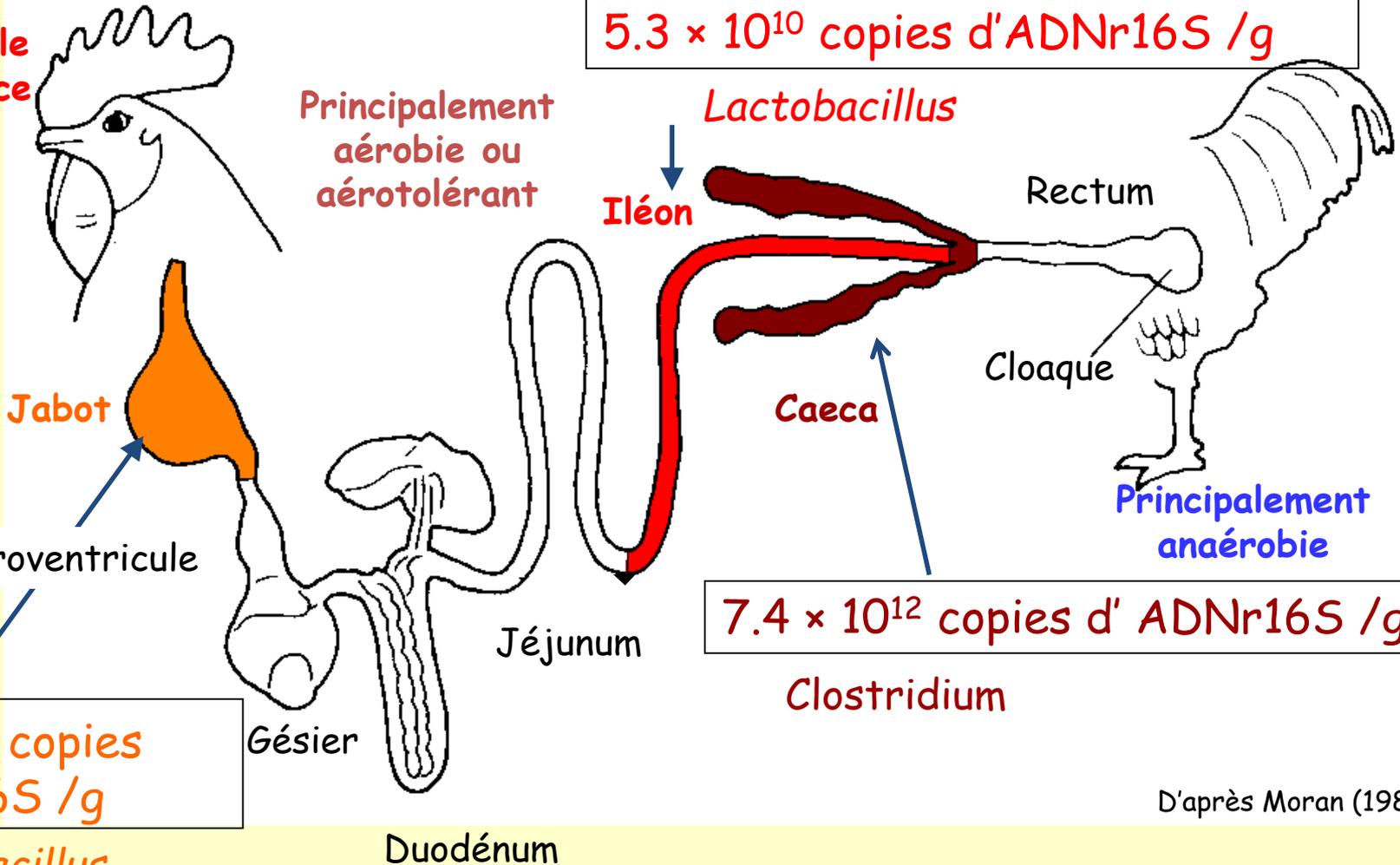
≠

Composition du microbiote des contenus

Microbiote digestif le long du tractus gastrointestinal

Souche commerciale à croissance Rapide 3 sem

Contenus digestifs



5.5×10^{11} copies d'ADNr16S /g

Lactobacillus

5.3×10^{10} copies d'ADNr16S /g

Lactobacillus

7.4×10^{12} copies d'ADNr16S /g

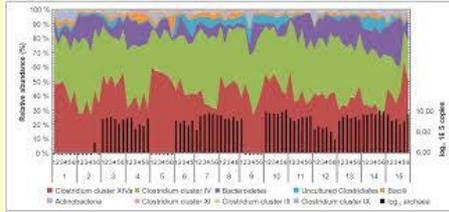
Clostridium

D'après Moran (1982)

Guardia et al. (2011)

Evolution du microbiote digestif avec l'âge (1)

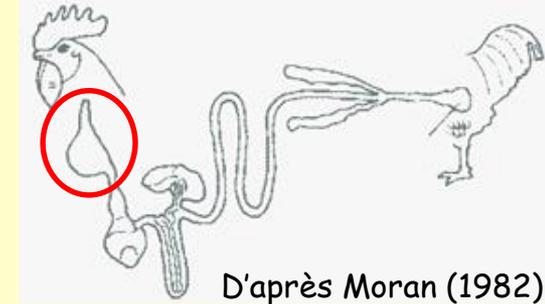
Souche commerciale à croissance Rapide



Abondance relative (%)
(Séquençage 16S)

JABOT

Contenus digestifs



D'après Moran (1982)

Phylum	Famille	Age (j)					
		8	15	22	25	29	36
Firmicutes		97,4	97,8	98,3	98,3	98,4	97,4
	Lactobacillaceae	97,4	96,7	96,1	97,6	96,4	94,2
	Planococcaceae	ND	1,0	2,2	0,6	1,8	1,7
	Staphylococcaceae	ND	ND	0,1	0,02	0,1	1,1
Actinobacteria	Corynebacteriaceae	ND	ND	0,03	0,02	0,2	0,9

ND: non détectable

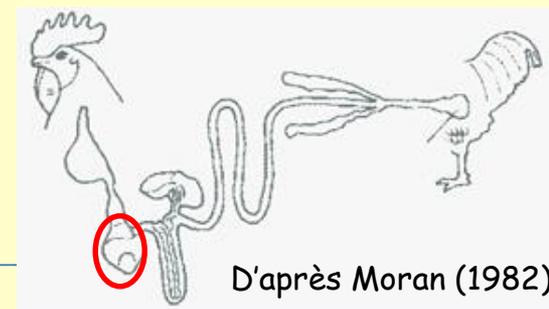
Ranjitkar et al (2016)

Evolution du microbiote digestif avec l'âge (2)

Abondance relative (%)

GESIER

Contenus digestifs



Phylum	Famille	Age (j)					
		8	15	22	25	29	36
Firmicutes		88,9	98,1	91,1	90,0	88,9	86,9
	Lactobacillaceae	64,2	86,5	63,8	62,3	60,9	58,4
	Lachnospiraceae	10,3	2,7	5,5	4,8	4,3	2,3
	Ruminococcaceae	9,3	3,8	6,2	8,8	8,7	4,7
	Enterococcaceae	2,8	0,1	1,3	1,3	0,8	1,2
	Clostridiaceae	0,6	1,3	1,3	1,4	2,5	3,3
	Planococcaceae	0,01	3,4	11,4	9,3	9,5	9,5
	Staphylococcaceae	ND	ND	0,2	0,4	0,8	4,8
Proteobacteria		10,6	1,4	5,7	4,8	3,4	2,4
Bacteroidetes		0,2	0,4	1,3	2,4	3,2	0,8
Actinobacteria		0,2	0,1	1,4	1,3	2,9	9,5
Tenericutes		0,1	0,1	0,4	1,3	1,1	0,3

ND: non détectable

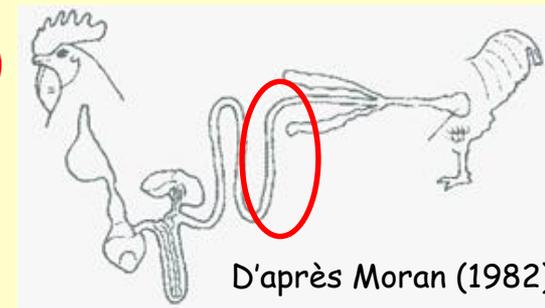
Ranjitkar et al (2016)

Evolution du microbiote digestif avec l'âge (3)

Abondance relative (%)

ILEON

Contenus digestifs



Phylum	Famille	Age (j)					
		8	15	22	25	29	36
Firmicutes		97,7	93,8	97,4	97,1	96,4	97,2
	Lactobacillaceae	61,3	65,9	72,6	73,3	67,3	67,7
	Enterococcaceae	25,3	0,6	2,2	2,4	1,8	0,9
	Lachnospiraceae	6,1	11,3	3,5	1,4	1,6	2,3
	Clostridiaceae	4,7	16,7	11,7	12,0	18,4	19,3
	Ruminococcaceae	2,0	3,1	1,7	1,3	2,4	1,3
	Streptococcaceae	1,2	0,1	0,7	1,7	2,5	4,7
	Planococcaceae	0,0	1,5	6,2	5,1	3,2	1,5
Proteobacteria		2,2	5,4	0,6	1,0	1,0	0,6
Actinobacteria		0,1	0,02	1,4	1,1	1,1	1,7

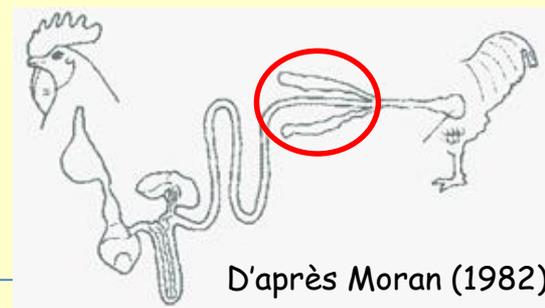
ND: non détectable

Evolution du microbiote digestif avec l'âge (4)

Abondance relative (%)

CAECA

Contenus digestifs



Phylum	Famille	Age (j)					
		8	15	22	25	29	36
Firmicutes		93,4	96,3	71,6	70,1	57,5	75,4
	Lachnospiraceae	39,1	35,0	27,3	20,1	19,5	22,7
	Ruminococcaceae	29,5	43,9	32,5	37,6	28,4	36,1
	Lactobacillaceae	17,5	7,8	3,1	3,1	2,2	3,3
	Streptococcaceae	2,7	0,01	0,3	0,4	0,7	1,5
	Erysipelotrichaceae	2,01	1,1	1,7	1,8	1,5	3,2
	Enterococcaceae	1,7	0,1	0,1	0,04	ND	0,02
	Clostridiaceae	0,7	5,7	4,3	4,3	3,1	4,8
	Catabacteriaceae	ND	ND	0,4	0,6	0,4	1,2
	Oscillospiraceae	ND	ND	0,8	0,4	0,2	1,0
	Peptostreptococcaceae	ND	2,1	0,6	0,8	0,7	0,3
Proteobacteria		6,3	0,6	0,2	0,7	0,2	0,2
Bacteroidetes		0,1	1,8	23,6	21,2	35,7	20,2
Tenericutes		0,1	1,1	4,3	7,7	6,3	3,7

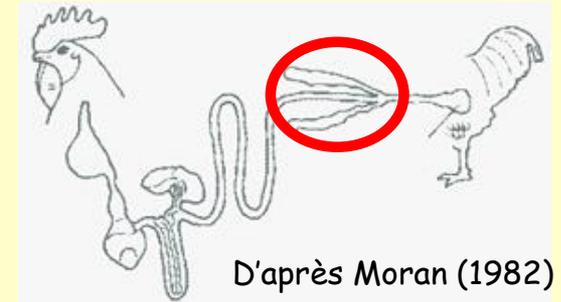
ND: non détectable

Ranjitkar et al (2016)

Caractéristiques de la composition du microbiote digestif du poulet (1)

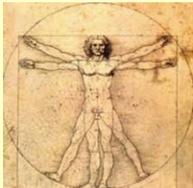
Un grand nombre

Principalement dans les **caeca**



Estimation (Ross, 3 semaines) : $7,7 \times 10^{12}$ bactéries

Homme 10^{14} cellules procaryote (Intestin : 1,5 à 2 kg)
(10^{13} cellules humaines)



300 fois plus que le nombre d'étoiles dans la voie lactée



<http://emf.fr/17935/la-voie-lactee/>

Caractéristiques de la composition du microbiote digestif du poulet (2)

Très grande diversité



Σ Différentes études → + 900 OTU (Wei et al, 2013)

OTU: Operational Taxonomique Unit

Approche métagénomique : + 30 000 OTU (Gao et al, 2017)

≈ 9-14 000 OTU / individus

8-10 000 espèces / individus

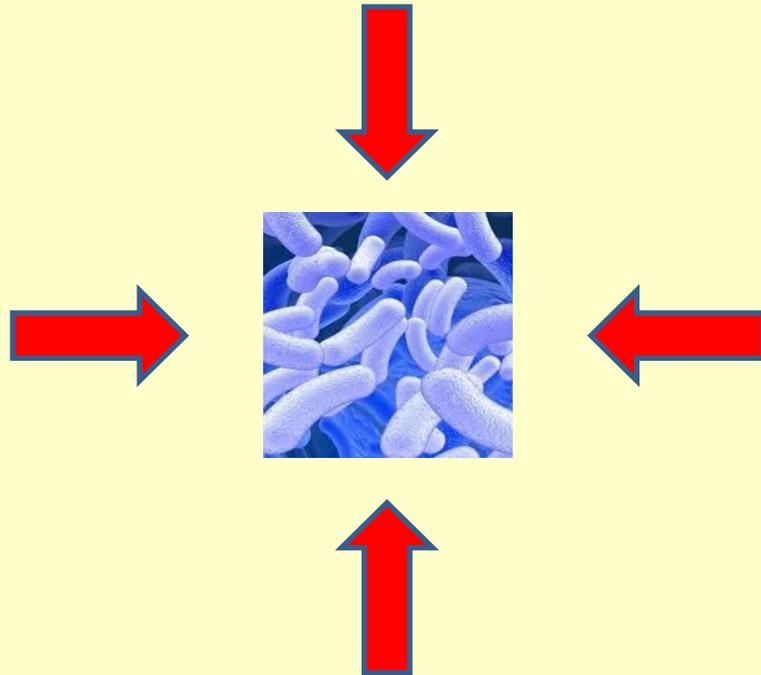
Variabilité
individuelle
importante

Rq: Malgré cette grande diversité, seuls **certains phyla*** sont bien représentés (Principalement **Firmicutes**; Bacteroidetes, Proteobacteria)
→ **Forte sélection d'espèces** adaptées aux **environnements digestifs**

* Actuellement : 30 phyla dans le domaine Bacteria
(List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN))

1. Microbiote digestif

1.2. Facteurs modulant le microbiote



Facteurs modulant le microbiote (1)

Microbiote dans l'appareil digestif de l'embryon ?

Idée générale habituelle

Embryon stérile

Animaux axéniques

Présence de bactéries

Binek et al (2000); Kizerwetter-Swida et Binek (2008)
Pedroso (2009); Bohorquez (2010); Pedroso et al (2016)
Ilina et al (2016); Ding J et al (2017)

→ Controverse

Roto et al (2016)

Quantités faibles : Groupe bactérien le plus important
Enterococcus sp. : $1,3 \times 10^5$ UFC / g
dans le contenu caecal d'embryons de 20 jours
(Kizerwetter-Swida et Binek, 2008)

Diversité non négligeable : Bohorquez (2010); Pedroso et al (2016),
Ilina et al (2016); Ding J et al (2017)

Facteurs modulant le microbiote (2)

- Environnement des 1^{er} jours : Contact avec les premières bactéries

Eclosoir, coquilles d'œufs

Manipulations humaines

Boîtes de transport

Aliment / Eau des premiers jours

Litière

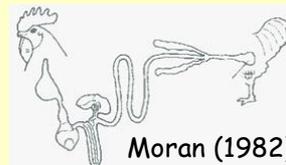
- Age :

Augmentation quantitative

Augmentation de la complexité



- Segments digestifs



Facteurs modulant le microbiote (3)



- Matières premières de l'aliment (Glucides (Fibres), lipides, protéines, minéraux, oligominéraux, vitamines, ANF)
- Structure de l'aliment / Traitements technologiques
- Anticoccidiens
- Additifs alimentaires (Antibiotiques, alternatives aux AFC)
- Eau



- Environnement d'élevage

Densité d'élevage

Type de litière

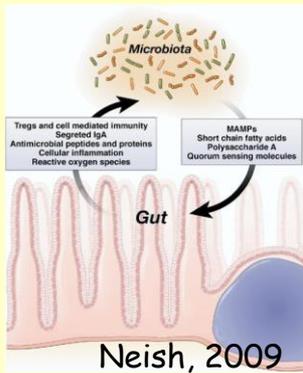
Température

Programme lumineux



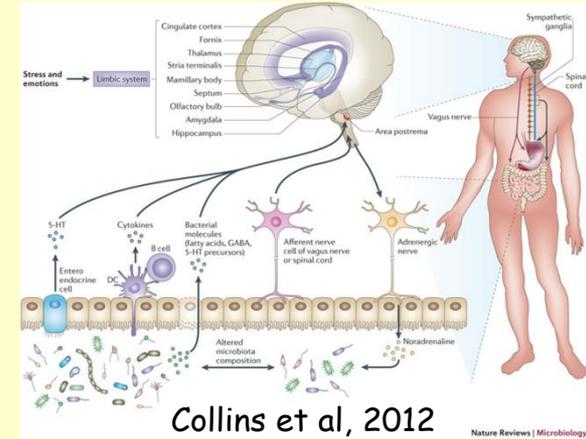
Facteurs modulant le microbiote (4)

- Système immunitaire



- Système nerveux

Interactions
Microbiote
Intestin
Cerveau



- Génétique de l'hôte



Gènes impliqués
dans l'immunité



Facteurs intrinsèques et extrinsèques modulant le microbiote

Eau

Environnement:

- Densité d'élevage
- Température
- Type de litière

Microbiote de l'embryon ?

Age

Système immunitaire

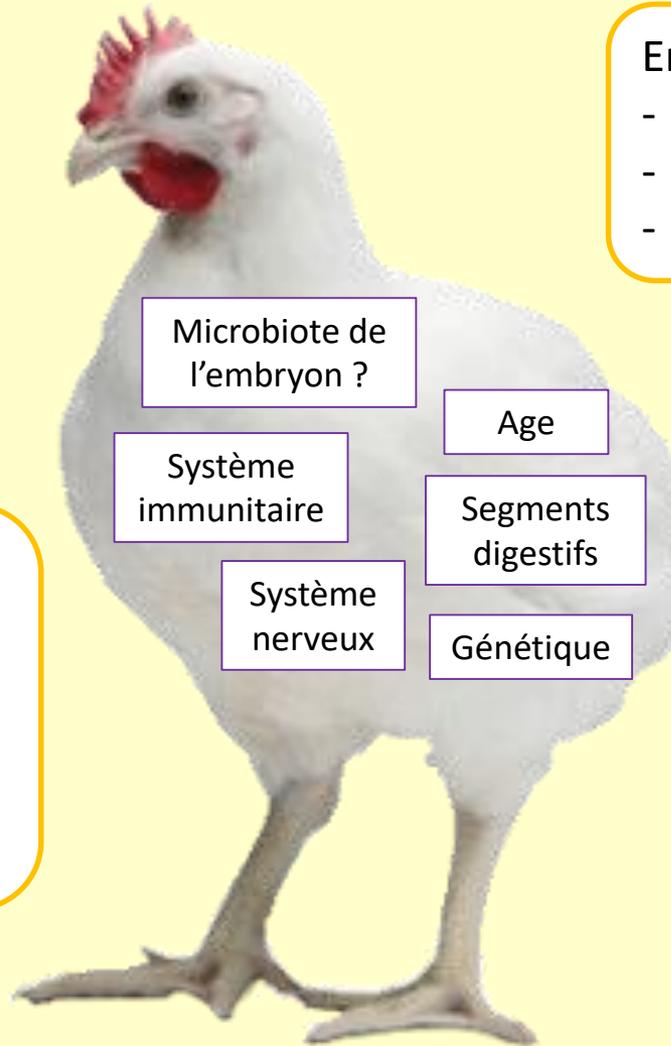
Segments digestifs

Système nerveux

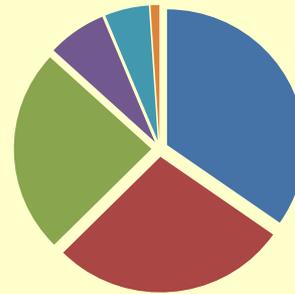
Génétique

Alimentation:

- MP
- Structure et traitement techno.
- Anticoccidiens
- Additifs alimentaires



Hiérarchie entre ces différents facteurs ?



- Factors 1
- Factors 2
- Factors 3
- Factors 4
- Factors 5
- Factors 6

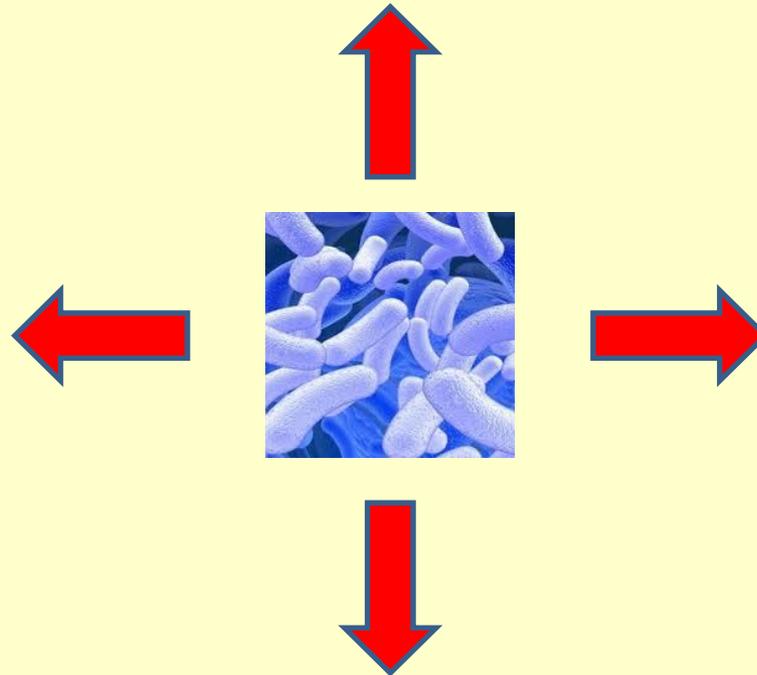
Nombreux facteurs modulant le microbiote

Colonisation initiale
Evolution ultérieure

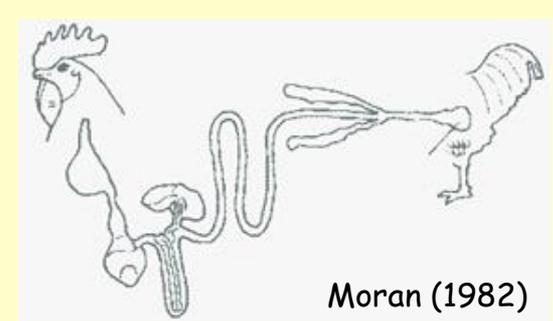
➔ Variabilité entre les individus

1. Microbiote digestif

1.3. Effets du microbiote

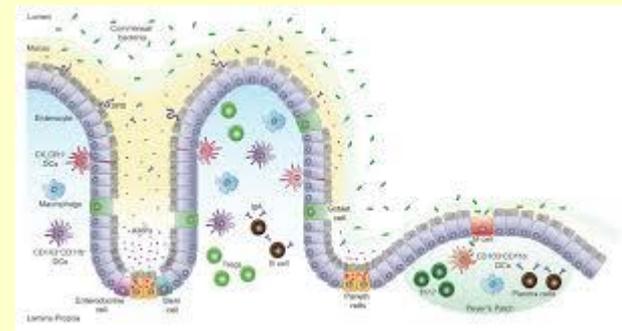
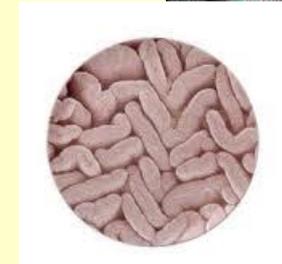
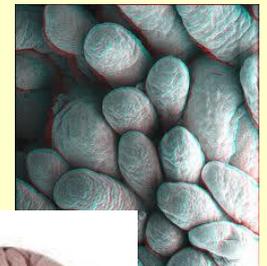


Sur la physiologie digestive



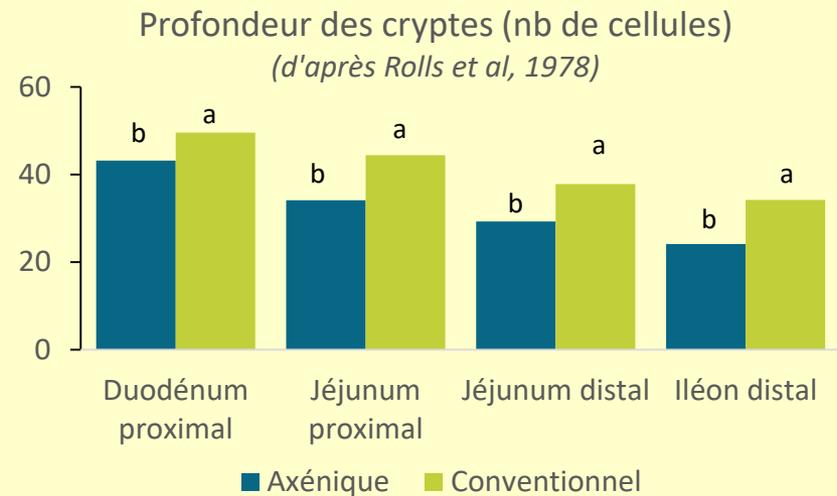
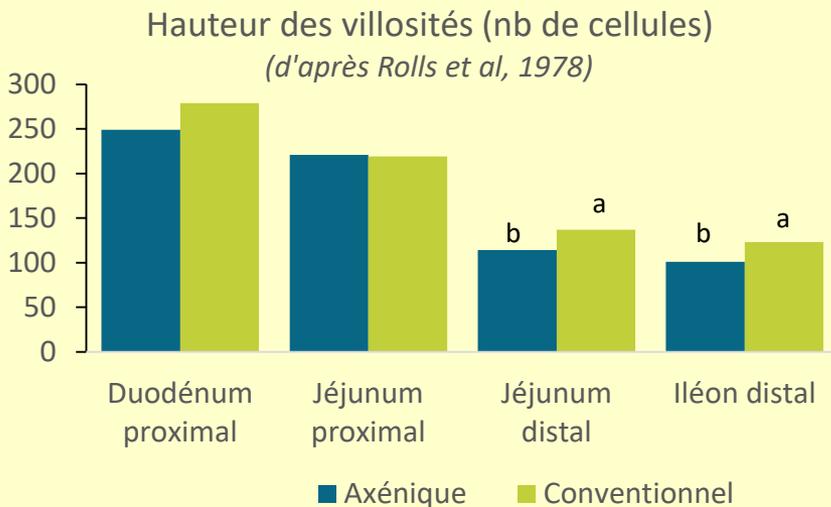
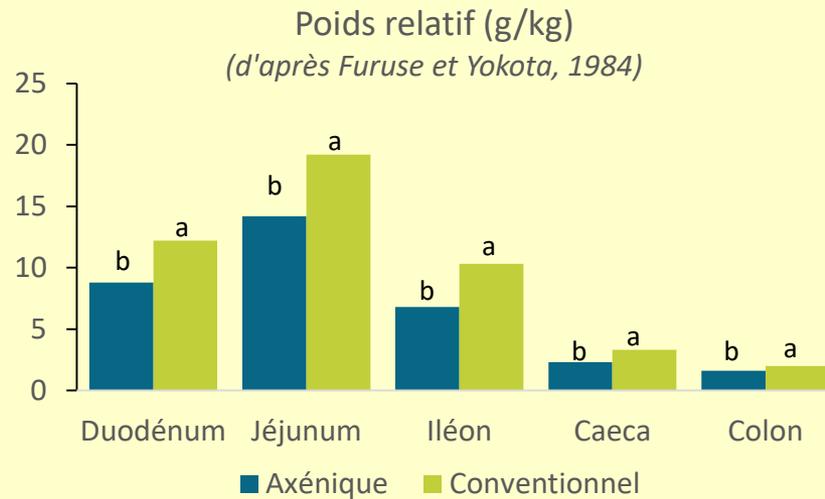
Microbiote digestif → Appareil digestif

- * Morphologie, renouvellement cellulaire
- * Fonctions digestives
- * Production de mucus
- * Motricité gastro-intestinale
- * Sensibilité viscérale

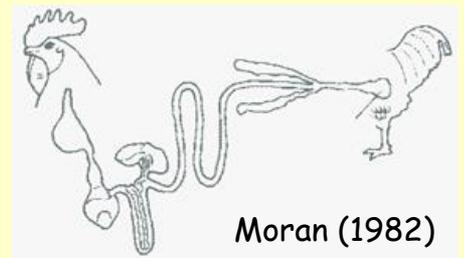


Muniz et al, 2012

Développement et morphologie intestinale



Sur la digestion



Jabot Hydrolyse bactérienne de l'amidon
(Bolton, 1965; Ivorec-Szylit, 1971; Szylit et al 1980; Champs et al 1981)

Intestin grêle

Compétition avec l'hôte

Hydrolyse de composants non hydrolysables par l'hôte

Enzymes déconjugant les sels biliaires

Caeca Fermentation des composés non digérés (Mead, 1997)
Métabolisme bactérien de l'acide urique

→ Acides gras à chaîne courte (AGCC) → Absorption
3-4% voire 10-12% de l'apport énergétique
(Jozefiak et al., 2004)

→ NH₃ → Absorption → Aa non essentiels
(Vispo and Karasov, 1997)

Bactéries possèdent des **enzymes** impliquées dans :

- la dégradation des polysaccharides
- la production d'AGCC
- le métabolisme des protéines, acides aminés et N

Métagénomique (Qu et al, 2008; Sergeant et al, 2014)

Métabolomique
(Polansky et al, 2015)

Enzymes bactériennes dégradant les glucides

Approche
moléculaire

Métagénomique

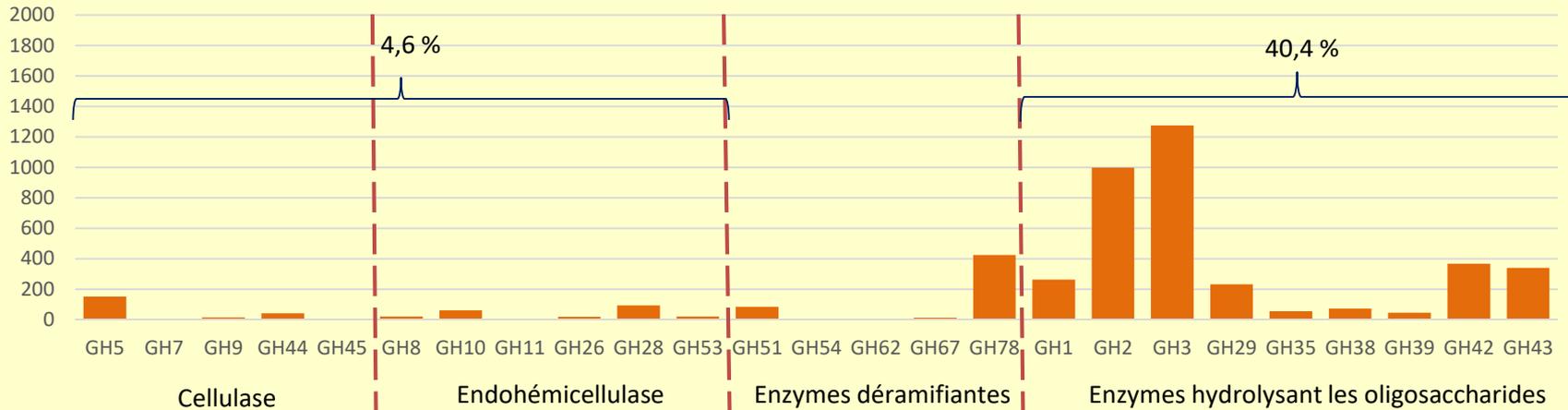
Familles de Glycoside Hydrolases (GH)

Caeca de poulet (1 animal)

(d'après Sergeant et al, 2014)

Nb total de séquences codantes : 595 178

Nb de gènes contenant des domaines de GH : 9 033 **% de GH : 1,52%**

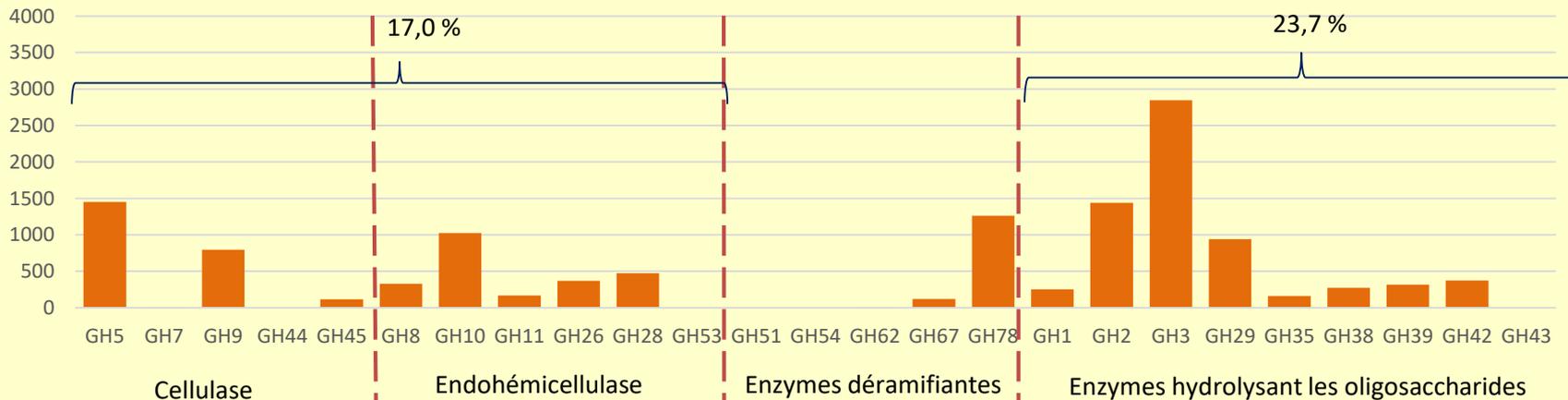


Rumen de bovin (2 animaux)

(d'après Hess et al, 2011)

Nb total de séquences codantes : 2 547 270

Nb de gènes contenant des domaines de GH : 27 755 **% de GH : 1,09%**



Sur la santé digestive

Effet barrière

Protection contre les microorganismes **pathogènes**

Système immunitaire

Développement du système immunitaire adaptatif (\neq inné) au niveau intestinal (Kaspers et al, 2015)



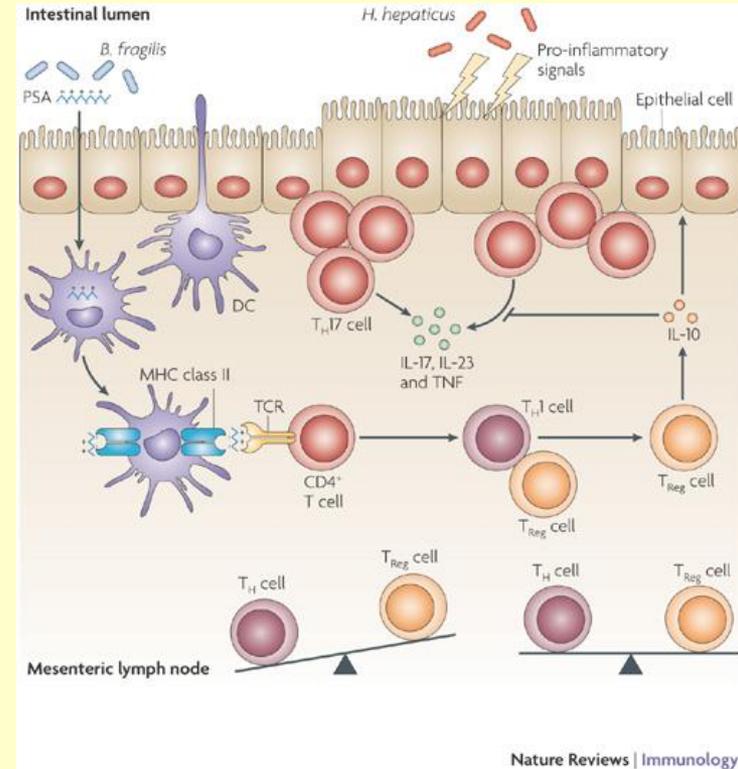
Stimulation du système immunitaire (Ismail and Hooper, 2005; Sharma et al., 2010)

→ Etat d'inflammation modérée permanente (Klasing et al., 1991)

Production de **substances néfastes**

Indole, scatole / Mercaptans d'éthyl et de méthyl
Toxines

Détoxification de certains composants



Nature Reviews | Immunology

Round et Mazmanian, 2009

Sur la physiologie extra-digestive

Métabolisme énergétique : Engraissement
(Backed et al., 2004; Cani et al., 2007)



Métabolisme protéique :
+ 6-8% des synthèses protéiques (Muramatsu et al., 1987)
Foie (métabolisme et détoxification des produits bactériens) : +25%
Intestin (Organe avec un fort renouvellement) : + 45%



Augmentation des besoins énergétiques (Furuse and Okumura, 1994)

Modification du métabolisme lipidique (Zhao et al., 2013)

Métabolisme osseux

(Ohlsson et Sjogren, 2015; Hernandez et al., 2016; Yan et Charles, 2017)

Fonction de reproduction

(Koren et al, 2012; Tremellen et Pearce, 2012; García-Gómez et al, 2013)

Systeme nerveux central (Lyte, 2010; Diamond et al., 2011)

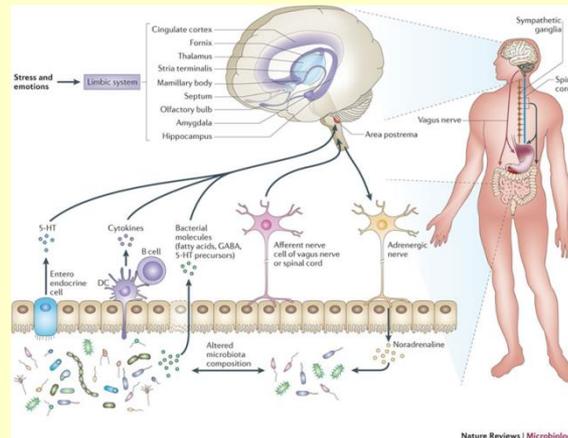
Interactions Microbiote / Intestin / Cerveau

Anxiété

Crumeyrolle-Arias et al (2014)

Autisme

Luna et al (2016)



Collins et al, 2012

Sérotonine

O' Mahony et al, 2014

Effets du microbiote

Sur la physiologie digestive

Sur la digestion

Sur la santé digestive

Sur la physiologie extra-digestive



Conséquences sur les performances de croissance



Effets du microbiote digestif

Effets négatifs



Compétition avec les enzymes de l'hôte dans l'intestin grêle

Enzymes déconjugant les sels biliaires

Stimulation du système immunitaire → Coût métabolique

Production de substances toxiques



Effets positifs



Effet barrière

Développement / Stimulation du système immunitaire

Hydrolyse de l'amidon dans le jabot

Fermentation caecale (Energie issue des composants non digestibles)

Vision simpliste du microbiote digestif

Bactéries néfastes	E. coli Clostridium C. perfringens
Bactéries bénéfiques	Lactobacilles Bifidobactéries



≠ **Réalité plus complexe** Dépend des souches et de leur fonctions chez l'animal

E. coli	Toutes les souches d' E. coli n'ont pas un effet néfaste ... souches de probiotiques ...
Clostridium	Principalement non pathogènes, voire bénéfiques Classification complexe ... Evolution permanente de la classification des bactéries Exemple de quelques groupes importants de part leurs effets potentiels Groupe I : beaucoup de pathogènes ... mais pas seulement (Ex : Candidatus Savagella (SFB)) ... Groupe IV (reclassé dans les Ruminococcaceae) : Groupe C. leptum → Butyrate ... Groupe XIV : Sous groupe XIVa Famille Lachnospiraceae : Groupe C. Coccoides Effets bénéfiques ou néfastes
C. perfringens	Peut aussi être détecté en grand nombre dans l'intestine d'animaux sains (Ficken and Wages, 1997, Engberg et al., 2002, Pedersen et al., 2003) Certaines souches pathogènes
Lactobacilles	Effet stimulateur de l'immunité Déconjugaison des sels biliaires Production d'acide lactique : effet néfaste ?



Effet du microbiote digestif

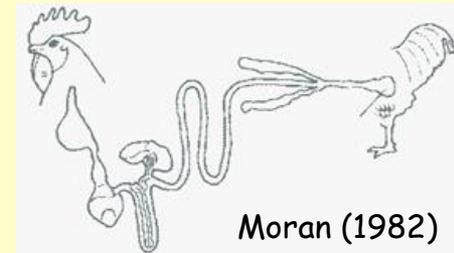
**CONCLUSION : MICROBIOTE OPTIMAL
MICROBIOTES OPTIMAUX ...**

Dépend de l'objectif



Efficacité digestive

Conversion des composants non digestibles par l'hôte
en composants utilisables par l'hôte



Performances de croissance

Meilleur rapport effets bénéfiques / effets néfastes

Ex : Stimulation de l'immunité pour protéger l'hôte
sans inflammation excessive

Ex : Métabolisme optimal



1. Microbiote digestif

1.4. Modes d'action du microbiote



Hypothèses des mécanismes impliqués de l'effet du microbiote digestif sur la physiologie animale

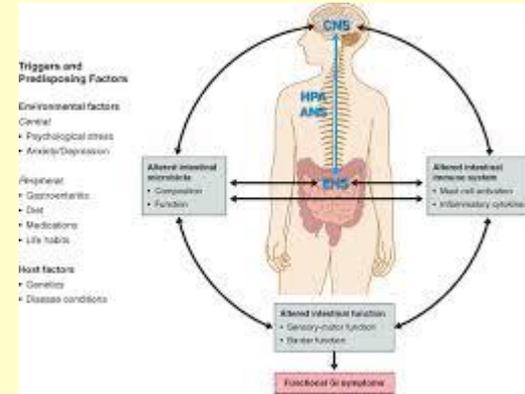
Interactions
Microbiote / Intestin / Cerveau



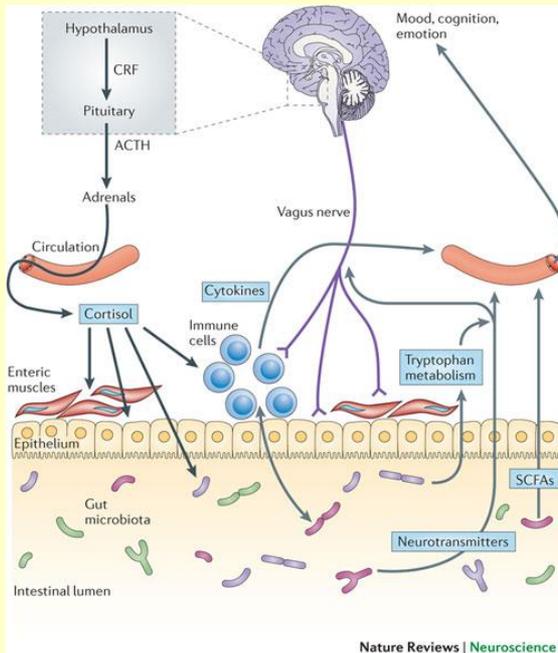
Microbiote digestif

Produits microbiens
(Protéines, peptides, métabolites)
± modifiés par l'animal (co-métabolites)

Voies
Nerveuses
Humorales
Immunitaires
Métaboliques
(Moloney et al, 2014)

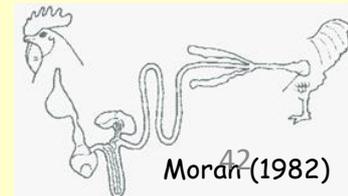
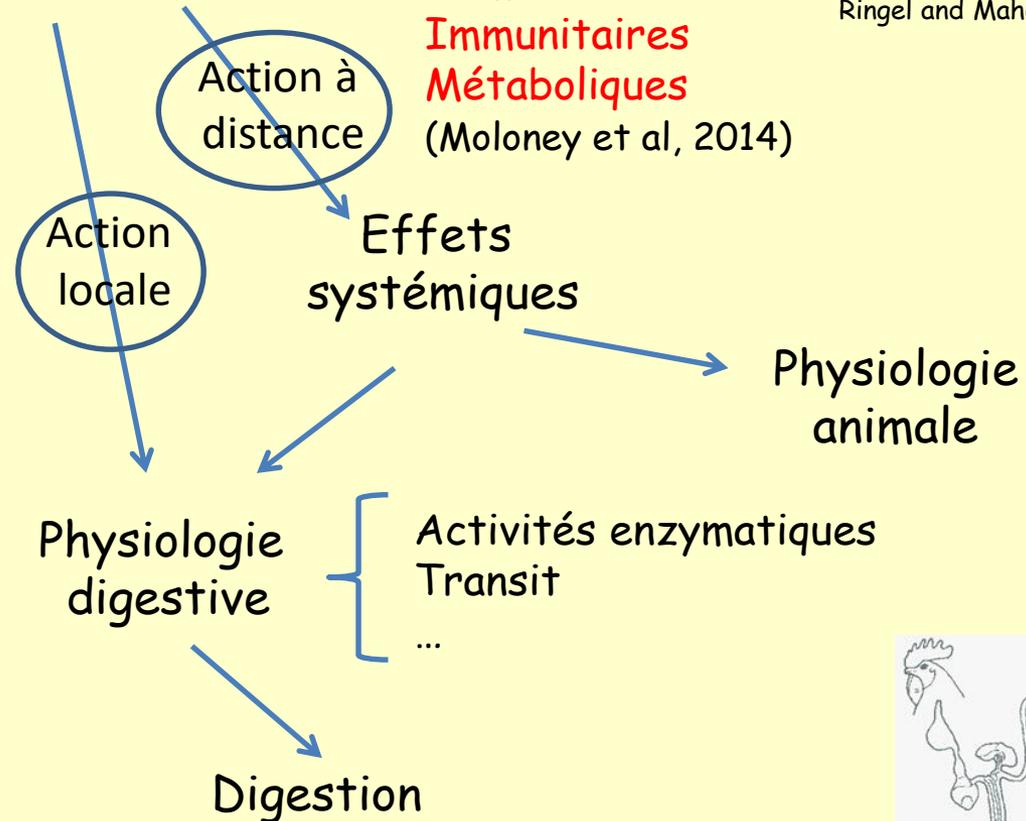


Ringel and Maharshak (2013)



Nature Reviews | Neuroscience

Cryan et Dinan, 2012



Moran (1982)

Effet de produits bactériens (AGCC*) sur l'animal

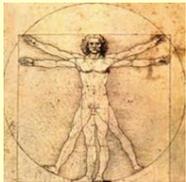
Mécanismes d'action

* Acides gras à chaîne courte

Récepteurs membranaires d'AG sur l'épithélium intestinal ...

... cellules immunitaires, tissus adipeux, cellules pancréatiques, foie, muscle

Récepteurs d'acides gras libres (FFAR) ou GPR



AGCC : FFAR2 / FFAR3
AGCM, AGCL : FFAR1
AGCM : GPR84
AGCL spécifique : FFAR4



FFAR2 like
FFAR3 like ? ...

Mielenz 2017

Récepteur couplé à une protéine G (GPCR)

→ Signalisation moléculaire

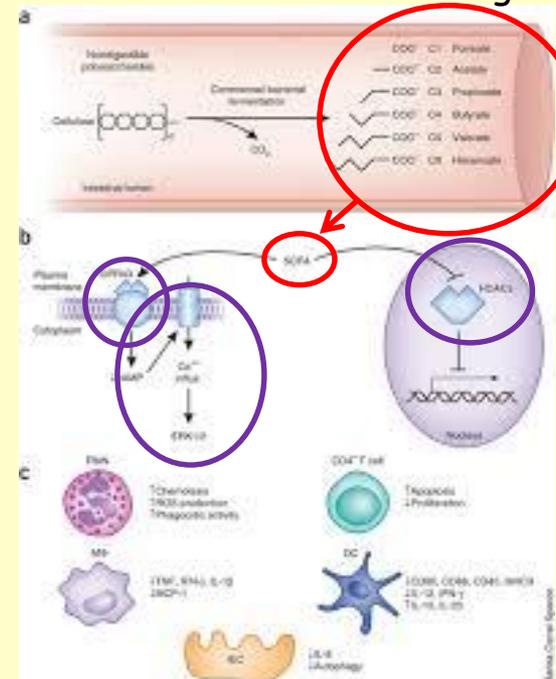


Au niveau de l'ADN :

Inhibition d'histone-désacétylases (HDAC)

→ Régulation de l'expression des gènes

AG dans les contenus digestifs



Brestoff et Artis (2013)

Microbiote digestif

Considéré comme un **ORGANE** du TD (Lyte, 2010)

Utilise des nutriments; Produit des métabolites

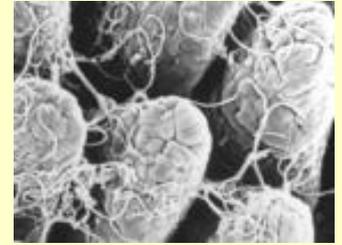
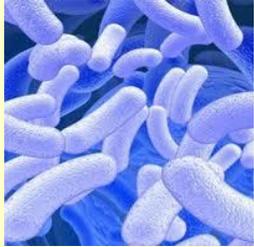
Capacité métabolique équivalente au foie

Reconnait et synthétise des hormones neuroendocrines

Interagit avec le système nerveux du TD

Produit de la biomasse cellulaire comme l'épithélium digestif

Endocrinologie
microbienne



INTERACTIONS microbiote digestif / hôte

Le microbiote digestif et l'hôte **co-évoluent** après leur premier contact

Relation de type **mutualiste** (à l'équilibre)

Le microbiote + les cellules de l'hôte :

Super-organisme (supra-organisme)

(Lederberg, 2000; Glendinning et Free, 2014)

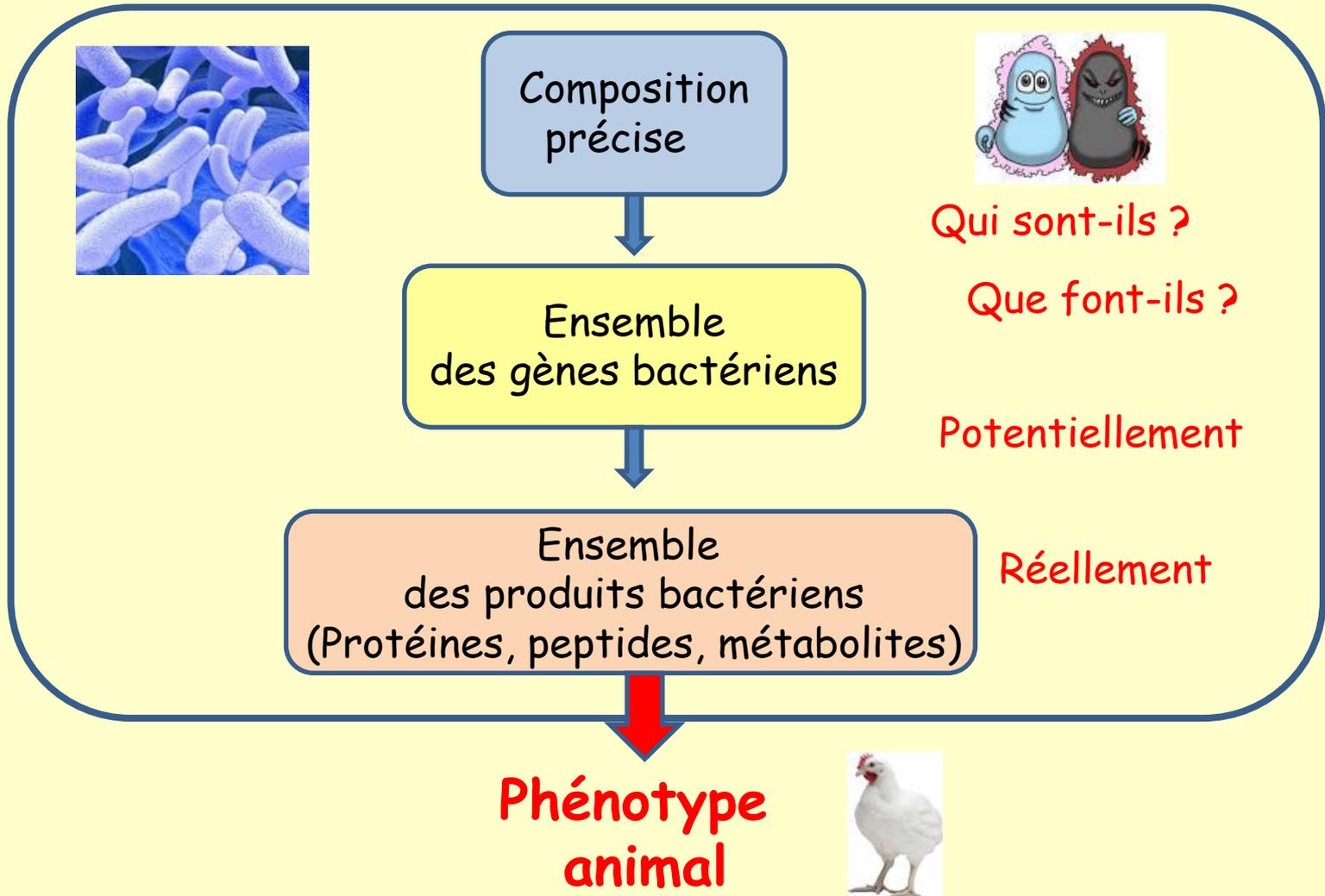
→ **Holobionte**



Microbiote digestif : Etat actuel des connaissances et perspectives



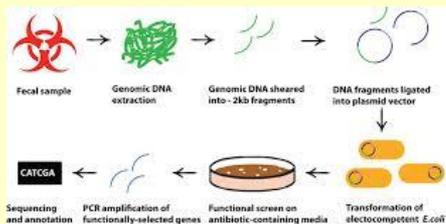
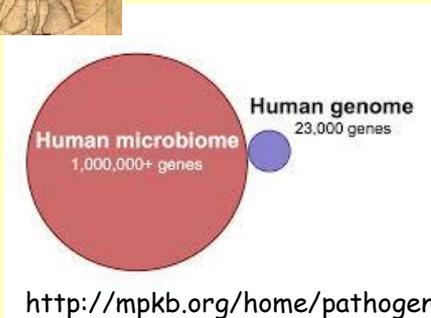
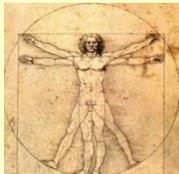
Microbiote digestif : Composition et FONCTIONS



Etude des fonctions du microbiote

Méta
génomique

Fonctions potentielles : l'ensemble des gènes bactériens



Moore et al, 2011



Metagenomics of the Human Intestinal Tract



Noyau fonctionnel
(Qin et al, 2010)

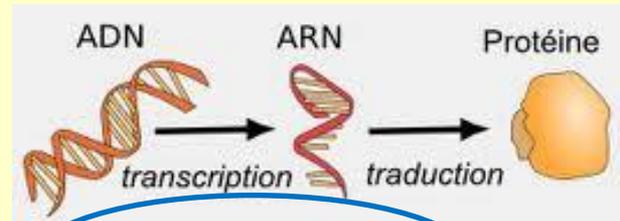
Prédiction de fonctions à partir de l'ADNr 16S
(Waite et Taylor, 2014; Reed et al, 2015)



Métagénomique

Lu et al, 2007; Qu et al, 2008; Danzeisen et al, 2011;
Sergeant et al, 2014; Mancabelli et al, 2016; Gao et al, 2017;

Catalogue MetaChick (2015-2017) Huang et al (2018)



Métaprotéomique

Fonctions réelles :

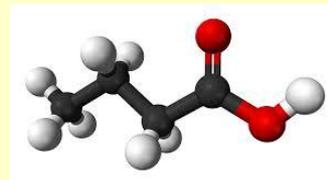
Ensemble des protéines bactériennes

Tang et al, 2014; Polansky et al, 2015; Tilocca et al, 2016

Et l'étape finale :

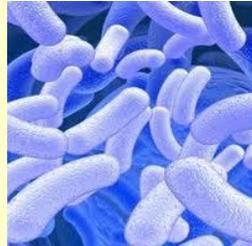
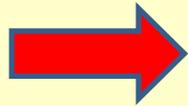
Ensemble des métabolites digestifs

Bailey, 2010; Gabriel et al, 2015; Beauclercq et al, 2018



Méta
bolomique

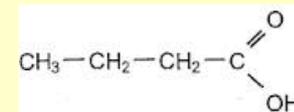
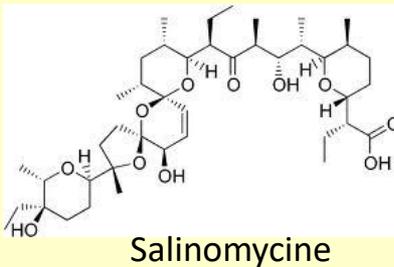
2. Facteurs alimentaires pouvant moduler le microbiote digestif



2. Facteurs alimentaires pouvant moduler le microbiote digestif



- 2.1. Matières premières
- 2.2. Structure de l'aliment
Traitements technologiques
- 2.3. Anticoccidiens
- 2.4. Additifs alimentaires





Aliment

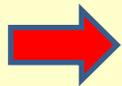


→ Composants indigestibles

→ **Substrats** pour la croissance du microbiote



Utilisation des **substrats** variable selon les différentes **bactéries**



L'aliment a un **fort impact potentiel**
sur la composition du microbiote digestif

2.1. Matières premières

Céréales (Glucides)

Sources / niveau de protéines

Lipides

Minéraux

Céréales (Glucides)

Polysaccharides non amylacés solubles dans l'eau

Seigle / Maïs

↑ Comptage des bactéries anaérobies Wagner et Thomas (1978)

Blé, orge / Maïs

↑ Comptage de bactéries Mathlouthi et al (2002)

Blé, orge, seigle / Maïs

→ Clostridium perfringens Annett et al (2002), Jia et al (2009)

Orge, avoine, blé / Régime commercial

Changement du microbiote dominant (Seq 16S) Ludvigsen et al (2016)

Rq : L'environnement modifie le microbiote non-dominant

Régimes riches en fibres

Drêches, son de blé / Maïs, soja

Changement du microbiote (Seq 16S) Walugembe et al (2015)



Fibres et microbiote

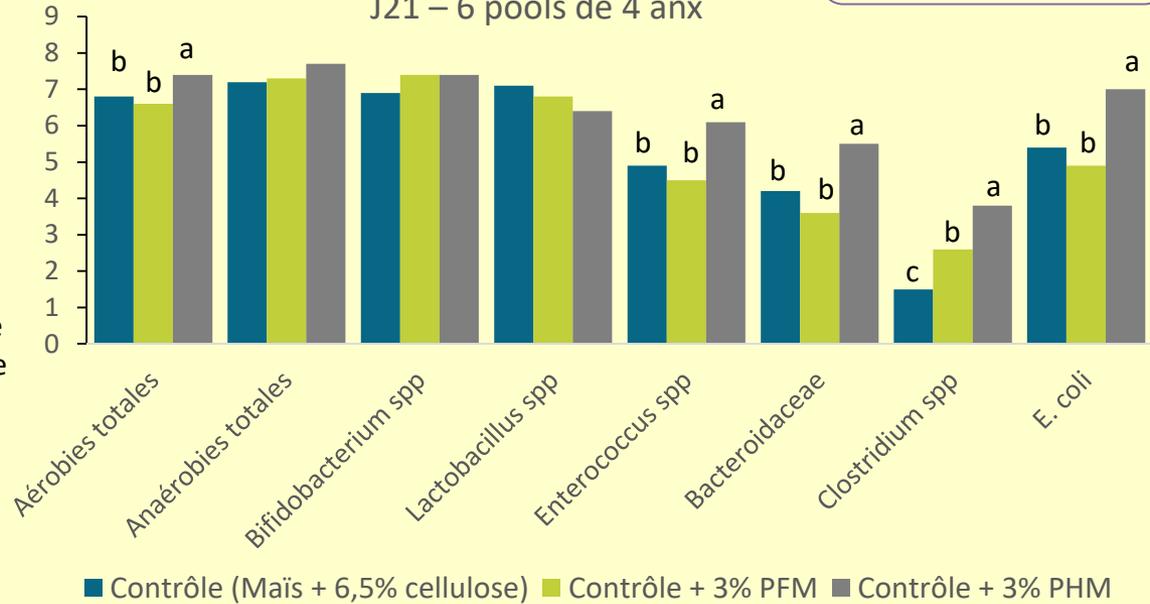
Approche par comptage

PNA modèles (isolés)

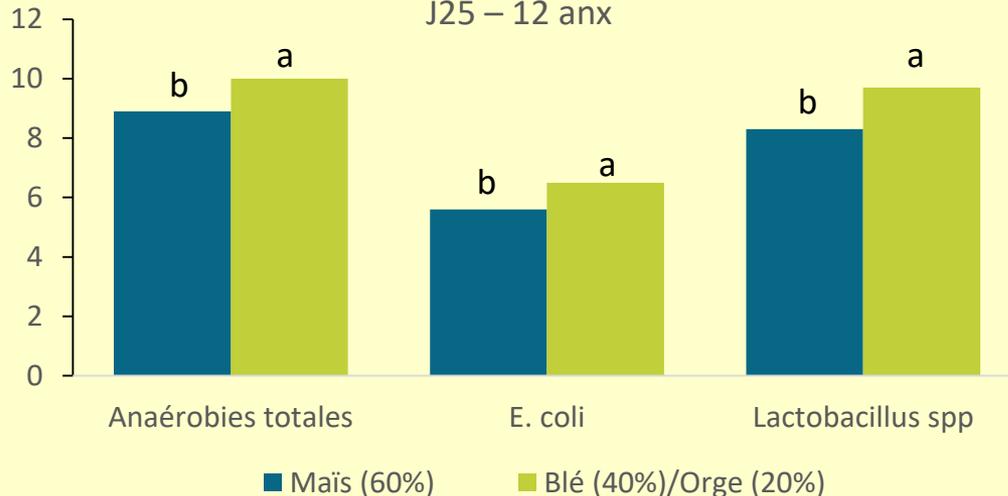
PNAh : polysaccharides non amylacés hydrosolubles

PFM : Pectine de citron faiblement méthylée
PHM : Pectine de citron hautement méthylée

Iléon (Log UFC / g)
d'après Langhout et al. (1999)
J21 – 6 pools de 4 anx



Caeca (Log UFC / g)
d'après Mathlouthi et al. (2002)
J25 – 12 anx



MP riches en PNAh
Blé/Orge vs Maïs

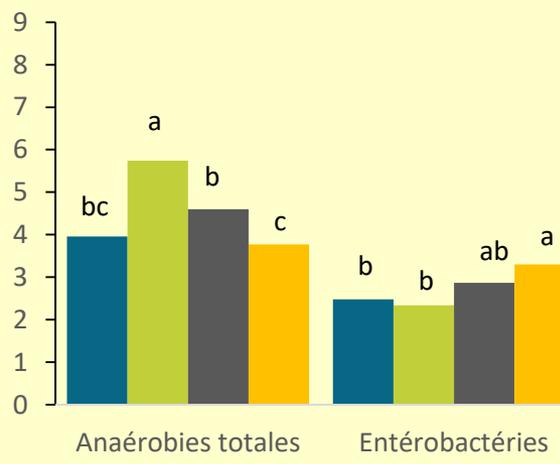
Fibres solubles →
Augmentation du microbiote

Fibres et microbiote

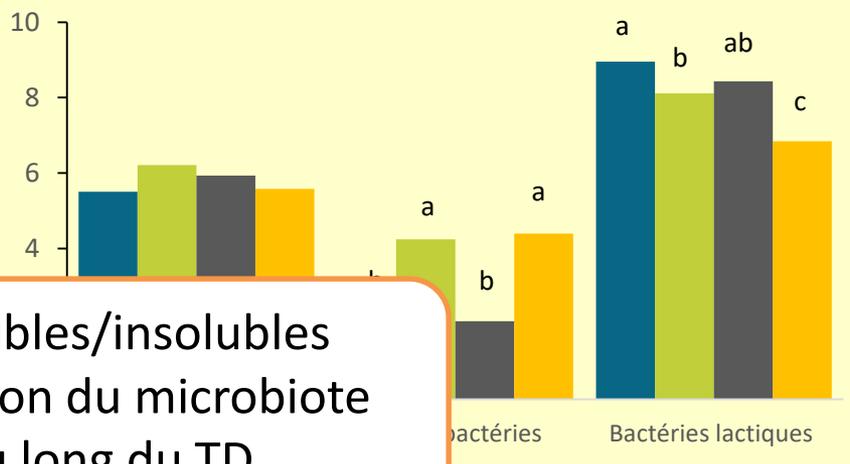
Approche par comptage

Incorporation de PNA modèles (3%) dans des régimes J10 – 4 anx (d'après Shakouri et al, 2006)

Duodénum (Log UFC / g)

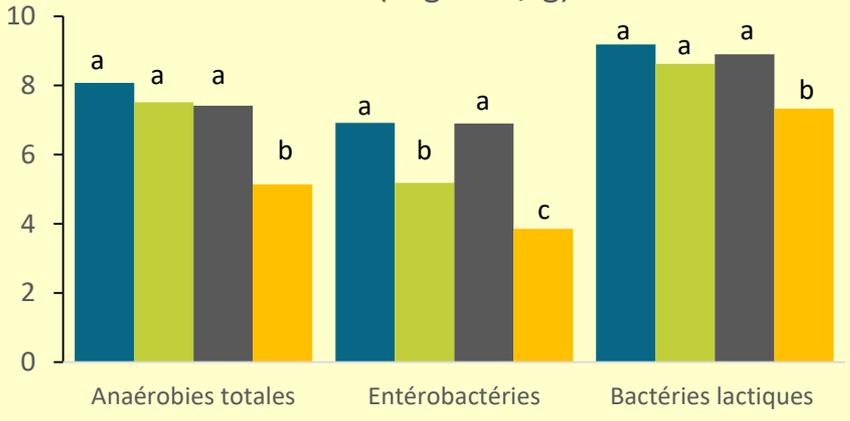


Jéjunum (Log UFC / g)

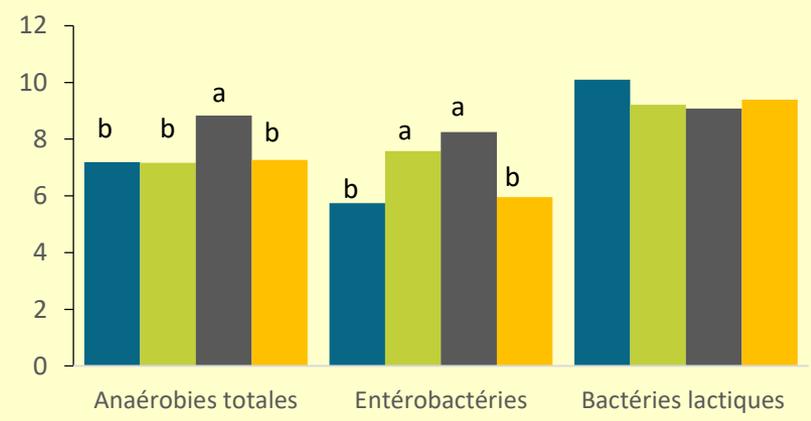


Fibres solubles/insolubles
 → Modulation du microbiote
 Tout au long du TD

Iléon (Log UFC / g)



Caeca (Log UFC / g)



■ Contrôle ■ Pectine ■ CMC ■ Cellulose

■ Contrôle ■ Pectine ■ CMC ■ Cellulose

CMC : Carboxyméthyl cellulose

Fibres et microbiote

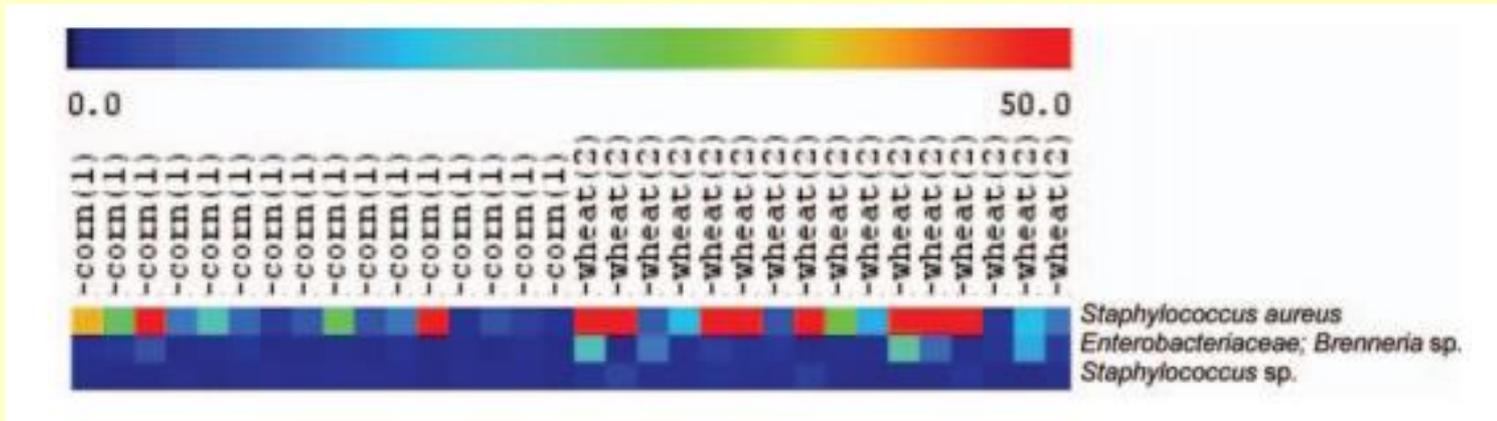
Approche
moléculaire

Puce (370 sondes)

Effet d'un régime « Blé » par rapport à un régime « maïs » sur le microbiote **iléal**
J34 – 16 anx (van der Hoeven-Hangoor et al., 2013)

Régime « maïs » : maïs (65%)

Régime « blé » : blé (41,5-45,8%), seigle (6,5%), colza (6,5%)



Groupes bactériens présentant des différences significatives

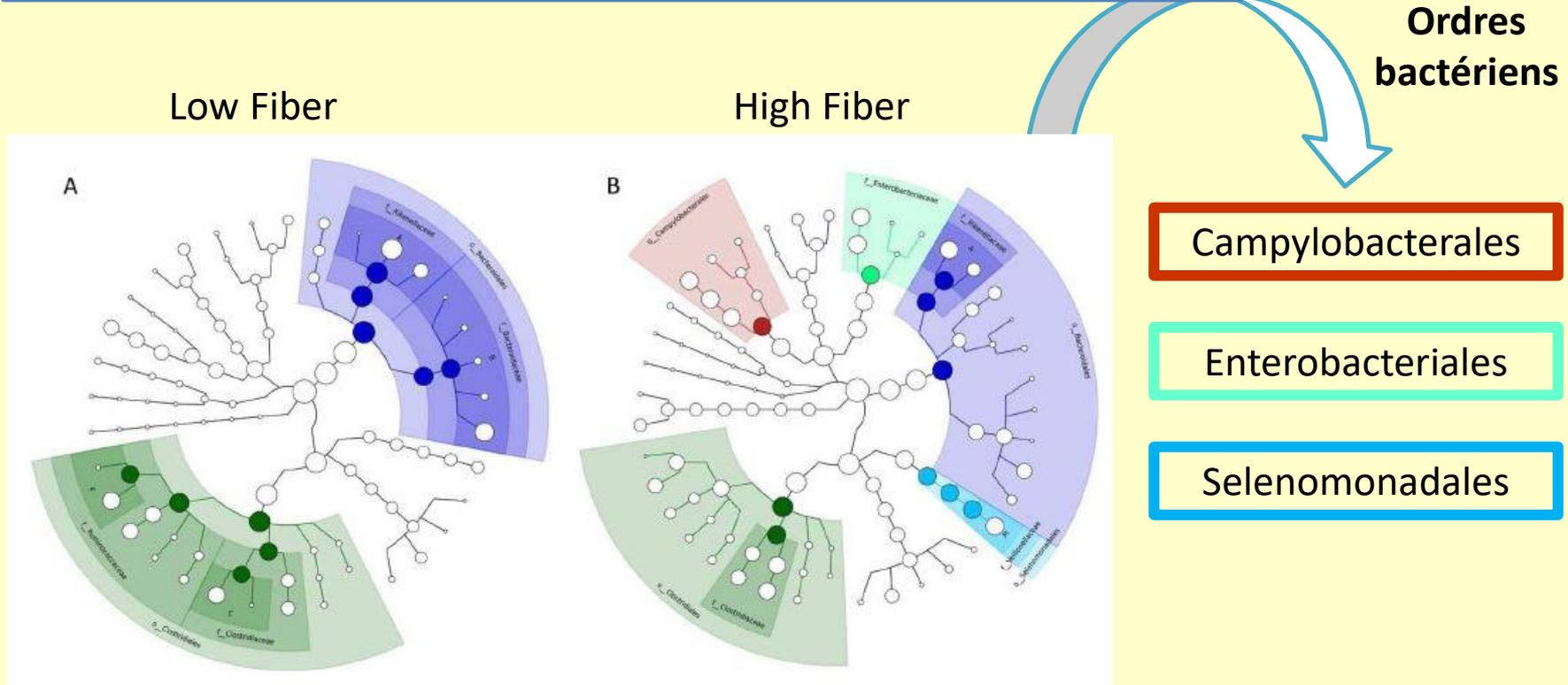
Fibres → Enrichissement de 3 groupes
bactériens avec le régime « Blé »

Fibres et microbiote

Approche moléculaire

Séquençage 16S

Faible en fibres (maïs-tourteaux de soja) vs haut en fibres (son de blé et drêches; 6-8%) : microbiote **caecal** J21 - 1 pool de 11 poulets (Walugembe et al. 2015)

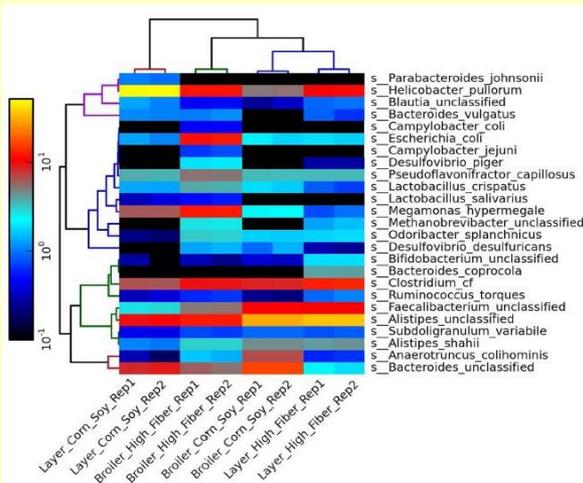


Fibres → Modifications de la présence de certains ordres bactériens par rapport au régime contrôle

Fibres et microbiote

Faible en fibres (maïs-TS) vs haut en fibres (son de blé et drêches; 6-8%) : Microbiote **caecal** J21 - 1 pool de 11 anx
(Walugembe et al. 2015)

Genres/ Espèces bactériennes



25 espèces bactériennes les plus
abondantes

	Lignée croissance		Lignée pondeuse	
	Low Fiber	High Fiber	Low Fiber	High Fiber
Helicobacter pullorum	5,3	12,2	51,8	11,2
Megamonas hypermegale	2,3	12,7	6,3	0,9
Faecalibacterium	11,3	5,3	2,9	10,8
Bacteroides	17,5	7,1	10,3	7,3
Campylobacter coli	NA	0,5	NA	NA
Campylobacter jejuni	0,1	0,7	NA	NA
Escherichia coli	1,9	12,4	1,2	1,9

Fibres → Modification du microbiote
Différence d'effet des fibres selon la génétique

Sources et niveau de protéines (1)



Farine de poisson / Soja (Protéines* : 40%)

→ *C. perfringens* Drew et al (2004)

Farine de poisson (Protéines* : 33%) / Régime contrôle (Protéines* : 21.5%)

Changement du microbiote (Seq 16S) Wu et al (2014), Stanley et al (2014)

Farine de poisson / Soja (Protéines* : 23%)

→ *C. perfringens* Drew et al (2004)

Teneur en protéines de l'aliment : 40% vs 23% (Farine de poisson ou Soja)

→ *C. perfringens* Drew et al (2004)

* Teneur en protéines de l'aliment

Sources et niveau de protéines (2)



Colza / Soja

Modification des AGCC et des amines biogènes
Qaisrani et al (2014)



Tournesol / Soja

↓ AGCC dans les caeca (Dinde)

Juskiewicz et al (2010)



Rq : Soja

Fortes concentrations d'oligosaccharides de la famille du raffinose

→ Pourrait stimuler les fermentations bactériennes Zdunczyk et al (2015)



Sources et niveau de protéines (3)



Farine de graines de lupin



Changement de composition bactérienne (Comptages) Rubio et al (1998)

Farine de graines de pois

Pois (15%) / Contrôle (soja)

Modification du microbiote (Empreinte moléculaire; T-RFLP)

↑ Quantité d'AGCC

Czerwinski et al (2010)



Teneur en pois (15 à 30%)

↓ Butyrate dans les caeca

Konieczka et al (2014)

Farine fermentée de graines de coton / Soja

Modification de composition bactérienne (Comptages) Sun et al (2013)

Lipides

Source de lipides : Animale / Végétale



Suif de boeuf / Huile de soja

Modification du microbiote (Comptages)

Danicke et al, 1999

Saindoux et suif / Huile de soja

→ ↑ *C. perfringens* Knarreborg et al (2002)

Saindoux / Huile de soja

↑ Acides organiques totaux Jozefiak et al (2014)

Acides gras à chaine moyenne / Huile de soja, graisse animale

Changement du microbiote (Micropuce) Van der Hoeven-Hangoor et al (2013)

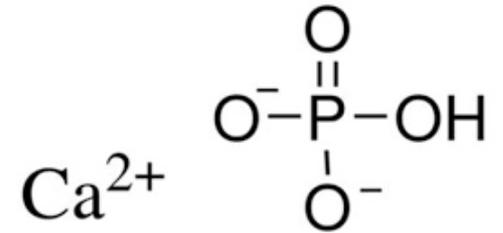
Acides gras ω -3 (acide alpha-linolénique) (Huile de graine de lin)

Changement du microbiote (Seq 16S) Lee et al (2016)

Minéraux



Teneur en Ca et P digestible



Changement de la composition bactérienne (Comptages)
Modification des fermentations (AGCC)

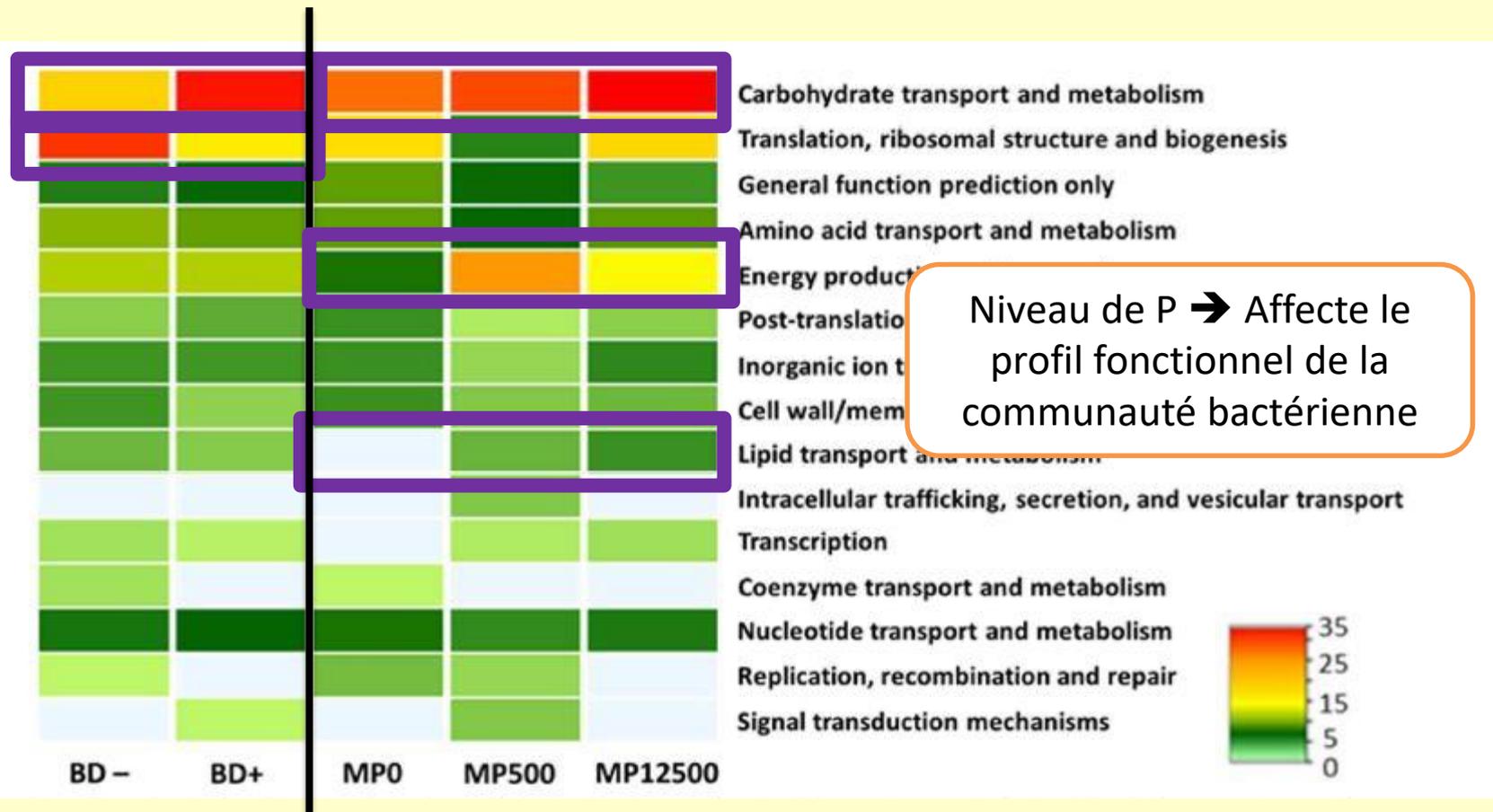
Ptak et al (2015)

Minéraux

Approche
moléculaire

Métabolomique

BD – (P issu des MP → 0,45% P) ;
BD + (supplémentation phosphate → 0,54 % P) ;
MP0 ; MP 500 ; MP 12 500 (0 - 500 - 12 500 U phytase/kg)
Microbiote **caecal** – J25 – 2 pools de 4 anx (*Tilocca et al., 2016*)



2.2. Structure de l'aliment : Taille des particules



Graines entières de blé / Blé broyé



↓ *Salmonella typhimurium*

Bjerrum et al (2005)

↓ *C. perfringens*

Engberg et al (2004)



Changement de la composition bactérienne (Comptages)

Gabriel et al (2003), Engberg et al (2004), Bjerrum et al (2005), Gabriel et al (2008)

Broyage grossier / Broyage fin

Changement de la composition bactérienne (Comptages) Singh et al (2014)

Changement de fermentation (↓ Acides gras à chaine branchée)

Qaisrani et al (2014)

2.2. Traitements technologiques



Traitements thermiques

Changement de la composition bactérienne (Comptages)
Modification des fermentations (AGCC)

Boroojeni et al (2014)

Granulation

Changement de la composition bactérienne (Comptages)
Modification des fermentations (↑ AGCC)

Engberg et al (2002)



↑*S. typhimurium* Huang et al (2006)
Modification des fermentations (↑ AGCC)

Extrusion

Modification des fermentations (AGCC) Konieczka et al (2014)

Modulation du microbiote par l'aliment

Matières premières

- Céréales (glucides)
- Sources / niveau de protéines
- Lipides
- Minéraux

Structure de l'aliment : Taille des particules

- Graines entières / Graines broyées
- Broyage grossier / fin

Traitements technologiques

- Traitements thermiques
- Granulation
- Extrusion

2.3. Anticoccidiens

Anticoccidiens ionophores

Narasine

↓ *C. perfringens* dans les caeca

Ludvigsen J et al (2016)

Monensine

Modification du microbiote iléal (Empreinte moléculaire)

Lu et al (2006)

Modification du microbiote caecal (Seq 16S)

Danzeisen et al (2011)

2.4. Additifs alimentaires

Nombreux additifs étudiés* chez les volailles

* Faisant l'objet de publications référencées dans les bases de données Web of Science, PubMed

Acides organiques

Glucides (Prébiotiques, 'Fibres', MOS)

Probiotiques et symbiotiques

Enzymes : Digestives (Polysaccharidase, Phytase, protéases)

Plantes et extraits de plantes

Acides aminés

Vitamines

Argile

Charbon

Minéraux, oligoéléments

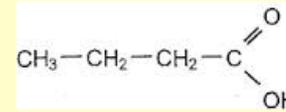
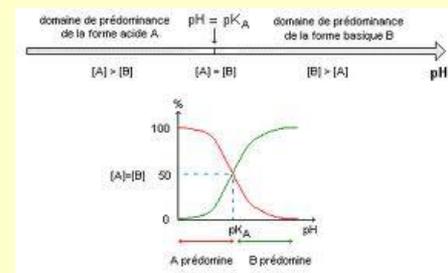
Bactériocine

Bactériophage et enzymes dérivées (Endolysine, ...)

Peptides antimicrobiens

...

Acides Gras à Chaine Courte (AGCC; $\leq C5$)



Condition acide ($pH < pK_a$) : **Forme non dissociée**

pK_a entre 3,7 et 4,9

R-COOH

Contact bactérie - acide prolongé

→ Traverse les bicouches lipidiques

Dans la cellule bactérienne : pH + alcalin

→ **Dissociation** : $R-COO^- + H^+$

→ $\left\{ \begin{array}{l} H^+ \rightarrow \text{Acidification du cytoplasme} \\ R-COO^- \rightarrow \text{Accumulation dans la cellule} \end{array} \right.$

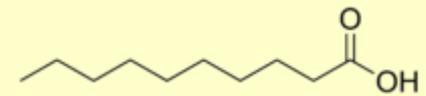
→ Perturbation de la physiologie et du métabolisme des bactéries

→ Inhibition de la croissance / Mort cellulaire

Rq : Adaptation bactérienne : $\downarrow pH \rightarrow \downarrow R-COO^-$

Hypothèses des mode d'action sur les bactéries

Acides Gras à Chaine Moyenne (AGCM, C6-C12)

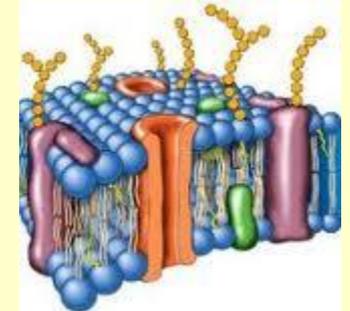


Cible principale : membrane cellulaire

Structure amphiphile → Détergent

→ Perturbation de la chaîne de transport d'électrons et des phosphorylation oxydatives (ATP)

→ Interférence avec la production d'énergie dans la cellule



<http://lesdefinitions.fr/membrane-cellulaire>

Autres modes d'action

Augmentation de la fluidité et perméabilité membranaire

Inhibition d'activités enzymatiques

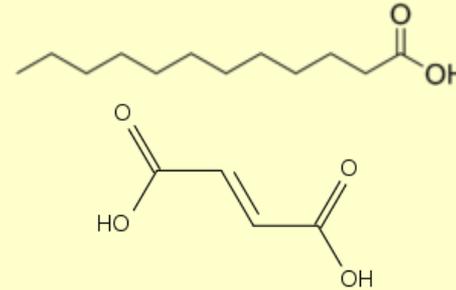
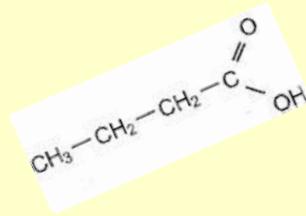
Détérioration de l'absorption de nutriments

Génération de produits toxiques (peroxydation et auto-oxydation)

→ Inhibition de la croissance / Lyse des cellules bactériennes

L'effet des acides gras dépend de

Acide gras



pKa

Longueur de chaîne

Présence, nombre, position et orientation des doubles liaisons

Concentration

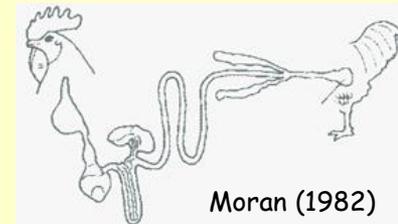
Animal

Etat physiologique

Milieu digestif

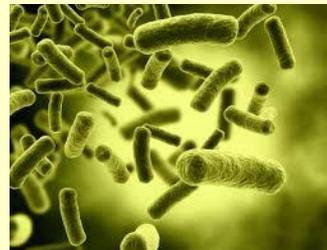
pH (pouvoir tampon des aliments)

Temps de transit (temps d'exposition)



Bactéries

Sensibilité



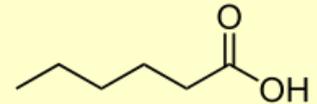
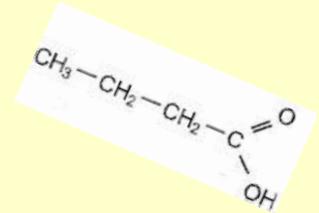
Amélioration de l'efficacité des acides organiques

Propriétés antimicrobiennes

Forme de présentation

Protection par imprégnation ou encapsulation

→ Intestin grêle / Caeca



Synergie Plusieurs AGCC et/ou AGCM

→ + Faibles concentrations



2.4. Additifs alimentaires

Les différents additifs étudiés* chez les volailles

* Faisant l'objet de publications référencées dans les bases de données Web of Science, PubMed

Acides organiques

Glucides (Prébiotiques, 'Fibres', MOS)

Probiotiques et symbiotiques

Enzymes : Digestives (Polysaccharidase, Phytase, protéases)

Plantes et extraits de plantes

Acides aminés

Vitamines

Argile

Charbon

Minéraux, oligoéléments

Bactériocine

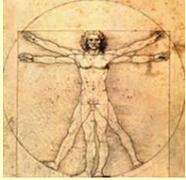
Bactériophage et enzymes dérivées (Endolysine, ...)

Peptides antimicrobiens

...

Probiotiques

Produits d'exclusion compétitive



Pharma(co)biotique
(Shanahan et al, 2009; Caselli et al, 2013)



Concept initial de Metchnikoff (1907) : Homme
Nurmi et Rantala (1974) : Poulet



Kéfir

Définition de Fuller (1989) : Homme et animaux

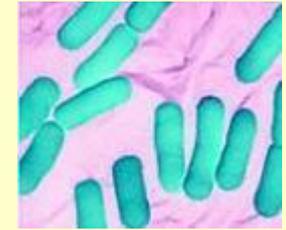
Définition de l'OMS et de la FAO (2001) / Recommandations (2002)

Micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés
en quantité suffisante,
exercent des effets positifs sur la santé de l'hôte

Minimum de 30×10^9 UFC
(Khan et Naz, 2013)



Propriétés générales



Avoir un / des effet(s) bénéfique(s) sur l'hôte

Non pathogène (GRAS : Generally Recognized as Safe)

Pas d'effets secondaires néfastes; Pas de résistances aux antibiotiques

Capable de survivre au traitement et au stockage

Capable de survivre dans l'appareil digestif :

Résistant aux acides, à la bile, et aux sécrétions pancréatiques

Capacité d'adhésion au tractus digestif ou autre mécanisme



Utilisation chez les volailles

Dans l'aliment
Eau de boisson

In ovo
Spray sur les œufs, poussins
Cloaque

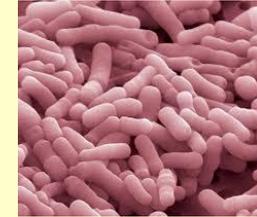
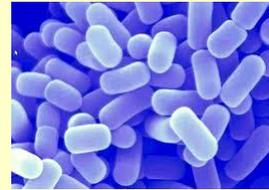
Résistance
aux traitement
thermiques
(granulation)

Présentation Libre ... encapsulée

Microorganismes fréquemment utilisés

Bactéries

Lactobacillus
Bifidobacterium



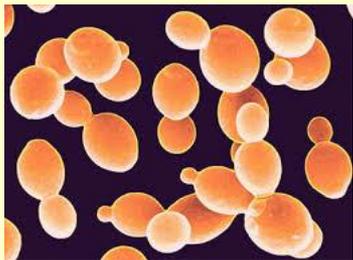
Espèces productrices de lactate

Bacteroides
Enterococcus
Lactococcus
Leuconostoc
Pediococcus
Propionibacterium
Streptococcus

Mélange de types bactériens

Bactéries formant des spores

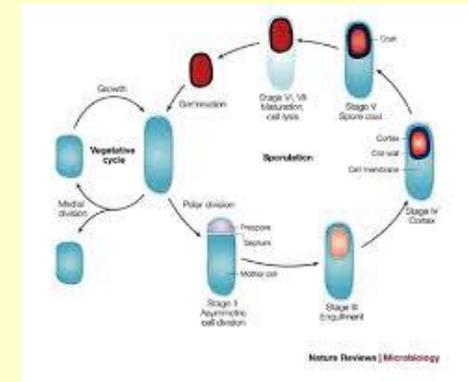
Bacillus : B. subtilis, B. cereus



Levures

Saccharomyces
Aspergillus oryzae

<http://news.ifr.ac.uk/2014/03/mysteries-of-the-yeast/>



<http://www.devbio.biology.gatech.edu/>

Mécanismes d'action potentielle des probiotiques

Mécanismes largement répandus

Amélioration du microbiote

Effet barrière

Exclusion compétitive de pathogènes

Compétition pour les nutriments /récepteurs

Création d'un environnement physiologique restrictif

Production d'AGCC

Péroxyde d'hydrogène

Diminution du pH/ Potentiel redox

Modification de la structure et fonctionnalité digestive

Mécanismes fréquents

Fonction des espèces

Synthèse de vitamines

Antagonisme direct

Métabolisme des sels biliaires

Activités enzymatiques

Renforcement de la barrière intestinale

Mécanismes rares

Fonction des souches

Production de composants bioactifs

Ex: bactériocine

Effets immunologiques

Effets endocrinologiques

Effets neurologiques

2.4. Additifs alimentaires

Les différents additifs étudiés* chez les volailles

* Faisant l'objet de publications référencées dans les bases de données Web of Science, PubMed

Acides organiques

Glucides (Prébiotiques, 'Fibres', MOS)

Probiotiques et symbiotiques

Enzymes : Digestives (Polysaccharidase, Phytase, protéases)

Plantes et extraits de plantes

Acides aminés

Vitamines

Argile

Charbon

Minéraux, oligoéléments

Bactériocine

Bactériophage et enzymes dérivées (Endolysine, ...)

Peptides antimicrobiens

...

Plantes et extraits de plantes



Nombreux travaux



Base de données en élevage

Institute for Ethnobotany and Zoopharmacognosy (IEZ) (Pays Bas) Aout 2005

http://www.ethnobotany.nl/nieuwe_pagina_1.htm

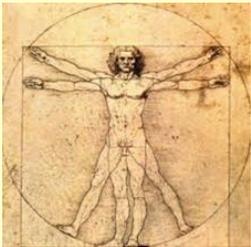
Bases de données en santé Humaine

eBASIS : BioActive Substances in Food Information System (Européen)

<http://ebasis.eurofir.org/Default.asp>

Phenol Explorer (INRA; International)

<http://www.phenol-explorer.eu/>



Howe, D., M. Costanzo, et al. (2008). "Big data: The future of biocuration." *Nature* 455(7209): 47-50

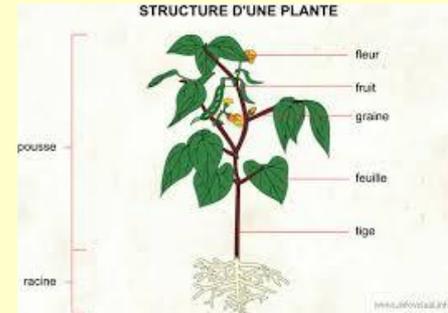
Composition chimique

Très forte variabilité

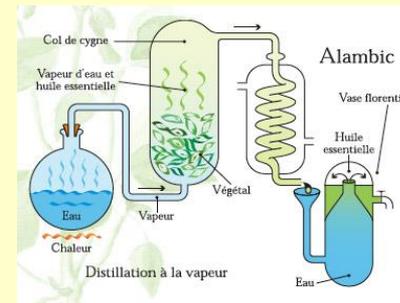
Inhérente à la plante



Génétique
Technique agronomique

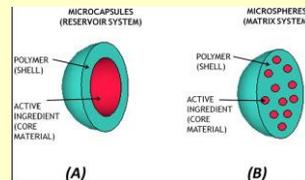


Traitements de la plante



Conditions de conservation (volatilité de ces composants)

Galénique



Fabrication des aliments



Composition chimique

Complexité des produits à base de plantes

Très grande diversité de molécules

6 catégories

(Scalbert et al 2011)

Glucides

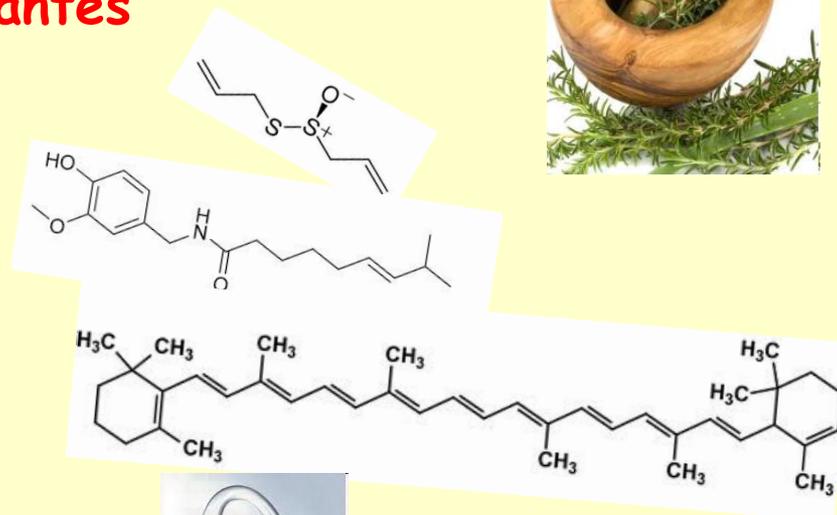
Acides organiques et lipides

Composés azotés

Alcaloïdes

Phénols

Terpénoïdes



Complexité des huiles essentielles

7 catégories

(Malecky 2008)

Monoterpènes (C10) (+900)

Sesquiterpènes (C15) (+3 000)

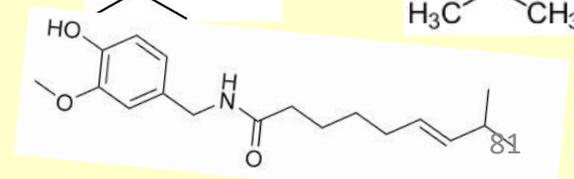
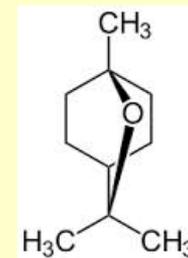
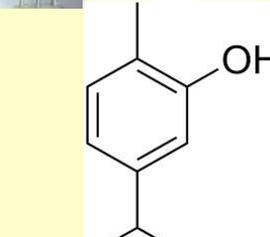
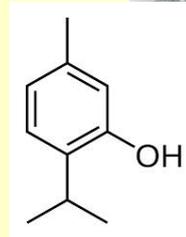
Diterpènes (C20) (+2 700)

Sesterpènes (C25) (+150)

Triterpènes (C30) (+1 700)

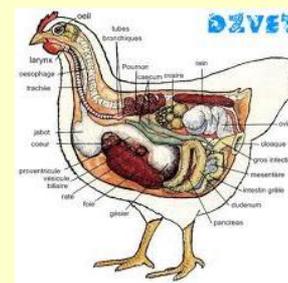
Tétraterpènes (C40)

Polyterpènes (+8 molécules d'isoprène)

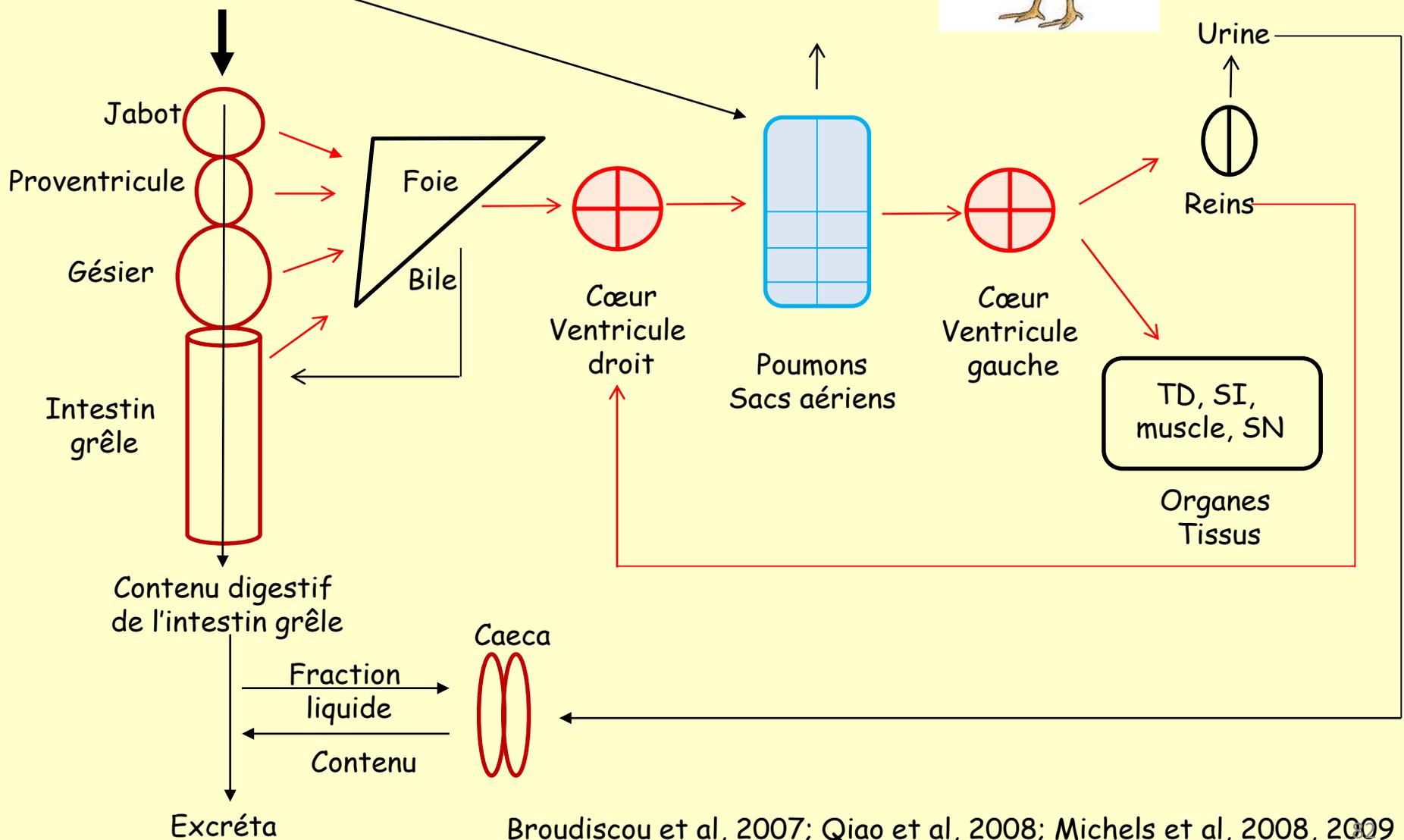


➔ Très grande variabilité de composition chimique

Devenir potentiel dans le corps

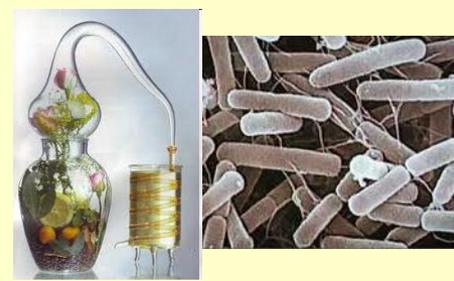


Phytomolécule



Hypothèse des modes d'action des plantes et extraits de plantes sur les microorganismes

Exemple des huiles essentielles sur les bactéries In vitro



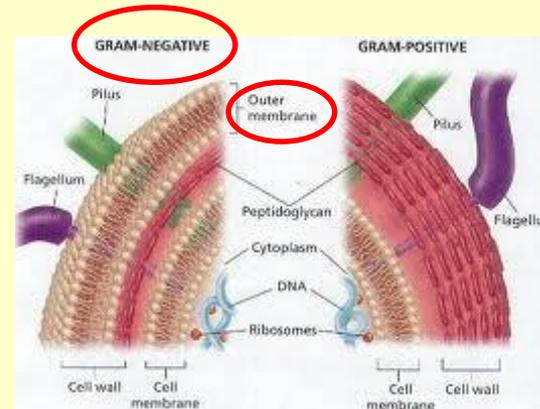
Effets négatifs sur la croissance des bactéries du TD

(Dorman et Deans, 2000; Ouwehand et al, 2010)

Plus particulièrement
sur les bactéries
à Gram +

Fonction des molécules

Gram -
Certaines
sensibles



Gram +
Certaines
insensibles

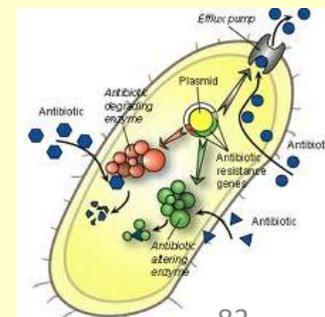
Mécanismes d'actions moléculaires très variables
(Membranes, intra-cellulaire, quorum sensing, production de toxines ...)

Augmentation de la sensibilité par l'ajout de substances affectant
la membrane externe (Griffin et al, 2001)

Stimulation de la croissance de certaines bactéries
(Ouwehand et al, 2010)

Rq : Création de résistance chez les bactéries

Molécule seule ... Mélanges complexes



Propriétés des HE dépendent de

Composants principaux

Pas de relation simple entre structure et fonction

Différences d'activité entre isomères / stéréo-isomères

Phénomènes de **synergie** / antagonisme

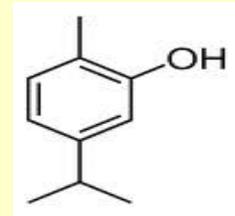
Composants mineurs (Wang et al, 2008)

Modulation de l'activité des composants principaux (Bakkali et al, 2008)

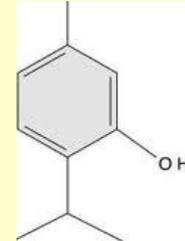
Composés non déterminés

→ **HE complètes plus efficaces** que la somme de leurs composants majoritaires (Gill et al, 2002 ; Mourey et Canillac, 2002)

Carvacrol



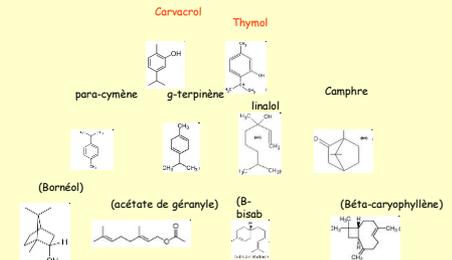
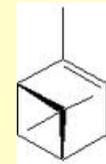
Thymol

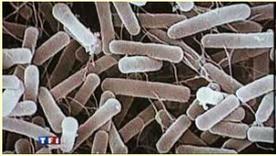


1,8-cinéole



α -pinène





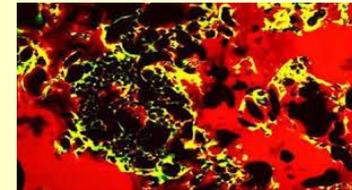
Effets sur le microbiote digestif (1)

Dépendent de plusieurs facteurs

Matrice complexe des contenus digestifs (riche en MO)

→ Concentration inhibitrice + élevée que *in vitro*

Ex: Carvacrol dans une matrice alimentaire (Kim et al, 1995)
1.5% au lieu de 0.1% *in vitro*

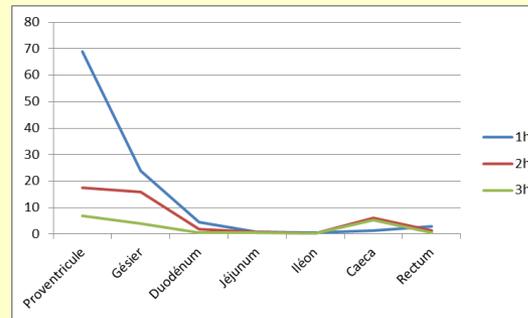


<http://www.gepea.fr>

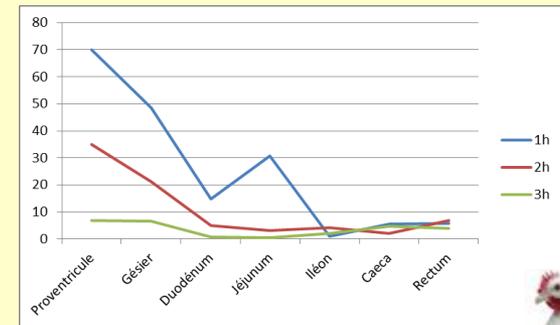
Absorption

Taux de rétention du carvacrol
(5 ou 29 mg / g d'aliment ou sous
forme de microparticules)
(Zhang et al, 2014)

Dans l'aliment



Encapsulé



Temps de transit Intestin grêle : environ 1h - 1h15
Caeca : long (Vidange 1 à 2 fois/j)

Reflux urinaire

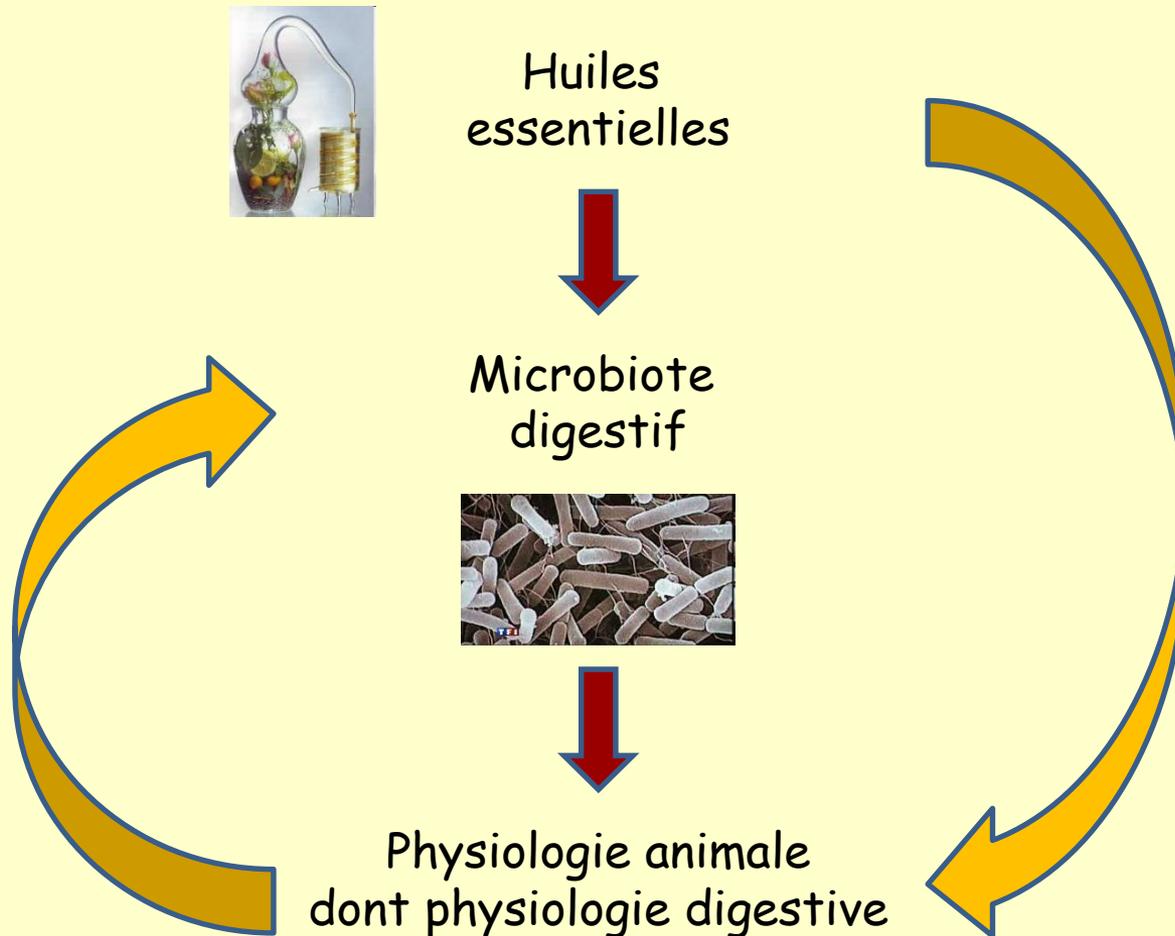


Modifications + importantes dans les caeca par rapport à l'intestin grêle
(Tiihonen et al, 2010; Guardia et al, 2011)

Action dépendante de la composition des microbiotes (Intestin grêle ≠ caeca)



Effets sur le microbiote digestif (2)



Effets des additifs rapportés dans la littérature

Seuls ou en combinaison (synergie)

Résultats



Performances de croissance

Ingéré

Croissance

Indice de consommation

Mortalité

Santé digestive (dont **microbiote**)

Immunité

Qualité des produits

Réponses variables

Effets bénéfiques

Absence d'effet

Effets néfastes

Effets sur le microbiote
Pas d'effet sur l'animal

Selon les conditions

Produit Composition / Dose / Mode d'administration

Animal Génétique, sexe / Age / Etat physiologique

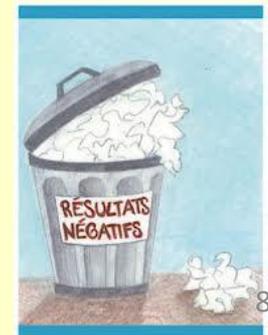
Environnement d'élevage

Alimentation



Biais de publication

Résultats positifs



En résumé ...

Microbiote digestif :
un équilibre complexe

