Extrait de : Impact du régime alimentaire sur la dynamique structurale et fonctionnelle du microbiote intestinal humain Julien J. Tap – Thèse 2009 – Texte intégral : <https://hal.inrae.fr/tel-02824828/document>

« 2 DIVERSITE DU MICROBIOTE INTESTINAL HUMAIN

2.1 Détecter l’incultivable

À partir du milieu des années 1980, Carl Woese a révolutionné le domaine de la microbiologie grâce à des comparaisons phylogénétiques fondées sur les ARN ribosomaux délimitant les trois branches principales de la vie (Woese, 1979, 1987).

Aujourd'hui, les analyses fondées sur le séquençage des ARNr restent une méthode de microbiologie, utilisée non seulement pour étudier la diversité microbienne, mais aussi comme une méthode d'identification et de taxonomie moléculaire des bactéries au jour le jour (Amann et al., 1995). Enfin, la définition du phylotype (ou espèce détectée par outils moléculaires) sur la base de séquences codant pour le gène de l’ARNr 16S a été et demeure une norme pour les études de diversité des microorganismes.

En ce qui concerne le microbiote intestinal humain, les études basées sur l’inventaire moléculaire du gène codant pour la sous-unité 16S de l’ARN ribosomal ont montré que plus de 70 % des séquences étaient issues de bactéries non cultivées (Suau et al., 1999; Eckburg et al., 2005). Près des deux tiers étaient spécifiques de chaque individu. Etonnamment, bien que chacun possède un microbiote qui lui est propre, plus de 95% des séquences sont assignées seulement aux Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria et Proteobacteria.

Les deux premiers phyla se partagent la grande majorité de l’écosystème (Suau et al., 1999; Eckburg et al., 2005).

2.1.1 Les Firmicutes

Le phylum des Firmicutes (bactéries à Gram positif à faible G+C %) est toujours fortement représenté. Il représente en général les trois quarts des espèces détectées par séquençage et la moitié des bactéries du microbiote intestinal. La très grande majorité des espèces des Firmicutes appartient à la classe des Clostridii tandis que moins de 5 % sont membres des classes des Mollicutes et des Bacillii (Eckburg et al., 2005). La majorité des Clostridii appartient au groupe Clostridiales XIV dit « Clostridium coccoides ». Il comprend des espèces bactériennes appartenant aux genres Eubacterium, Butyrovibrio, Roseburia, Dorea et Lachnospira. Avec d’autres outils moléculaires que le séquençage, ce groupe peut représenter jusqu’à 30 % des bactéries du microbiote intestinal (Sghir et al., 2000; Rigottier-Gois et al., 2003c). Le phylum des Firmicutes comprend également le groupe Clostridiales XV dit « Clostridium leptum », avec notamment les espèces Faecalibacterium prausnitzii, Ruminococcus albus et R. flavefaciens, qui dominent quant à elles très largement le microbiote quand on réalise du séquençage. Néanmoins, avec l’utilisation de sondes moléculaires spécifiques, ce groupe ne représenterait en moyenne que 22 % des bactéries du microbiote (Lay et al., 2004). Les autres Clostridii sont membres des groupes III, IV, IX (Acidaminococcaceae), XI, XIII, (Peptostreptococcus), XV, avec aussi d’autres phylotypes inclassables. (Eckburg et al., 2005) Par ailleurs, si la taxonomie des grandes divisions semble faire consensus (i.e. phylum et classe), le classement des Clostridii en sous-groupes peut prêter à confusion. De plus en plus, les études utilisent le classement par famille pour illustrer la biodiversité du microbiote, où les Lachnospiraceae, Clostridiaceae et Ruminococacae dominent le phylum des Firmicutes (Frank et al., 2007). Ces changements de taxonomie sont liés à l’utilisation du séquençage, qui apporte une résolution plus importante par rapport aux anciennes classifications phénotypiques.

2.1.2 Les Bacteroidetes

Les Bacteroidetes représentent selon les études de 10 % à 40 % du microbiote, avec toutefois un nombre d’espèces détectées plus restreint comparé aux Firmicutes (Suau et al., 1999; RigottierGois et al., 2003c; Eckburg et al., 2005). Les Bacteroidetes sont représentés par les espèces apparentées aux genres Bacteroides, Prevotella et Porphyromonas. Le tiers des séquences assignées au phylum Bacteroidetes est représenté par Bacteroides vulgatus. Le phylum des Bacteroides est très variable d’un individu à l’autre en termes d’abondance et de répartition des espèces, notamment dans le genre Prevotella (Eckburg et al., 2005). Même si par rapport aux Firmicutes, on dénombre moins de Bacteroides, il semble que leur activité métabolique soit très importante (Rigottier-Gois et al., 2003b).

2.1.3 Les Actinobacteries

Quelle que soit la méthode utilisée, le phylum Actinobacteria est moins systématiquement détecté en dominance chez les sujets adultes et représente en séquences moins de 1% des bactéries totales (Rigottier-Gois et al., 2003a; Eckburg et al., 2005). On y trouve les bifidobactéries et les bactéries du groupe Collinsella–Atopobium. Bien souvent, les espèces détectées forment des singletons, c'està-dire des espèces que l’on ne détecte qu’une seule fois par inventaire moléculaire (Eckburg et al., 2005). Julien Tap – Thèse de doctorat de l’université Pierre et Marie Curie 17

2.1.4 Les Proteobacteries

Le phylum Proteobacteria est plus rarement observé dans le microbiote fécal dominant, si bien que l’espèce Escherichia coli est rarement détectée en dominance chez les individus (Eckburg et al., 2005). Les études basées sur le séquençage du gène codant pour la sous-unité 16S du ribosome ont permis de décrire la diversité du microbiote avec une grande finesse. Les critiques de cette méthode sont liées au fait qu’il existe un nombre différent de copies de ce gène en fonction des espèces, et que certaines espèces peuvent être surestimées par rapport à d’autres. De plus, la diversité nucléotidique existant entre les paralogues questionne aussi cette approche. Néanmoins, la plupart des paralogues dans un génome ont une diversité inférieure à 1% (un nucléotide différent pour cent nucléotides comparés), ce qui rend possible l’utilisation d’un seuil de 2% pour séparer les espèces entre elles (Acinas et al., 2004). D’autre part, parmi les groupes dominants du microbiote intestinal, le nombre de paralogues par espèce est compris entre quatre et sept copies (4,14 en moyenne pour les Bacteroidetes et 6,3 copies en moyenne pour les Firmicutes d’après la base de données rrnDB3 ), ce qui conduirait à une surestimation des Firmicutes (Lee et al., 2009). »