

ACTIVITÉ MÉTABOLIQUE DE LA FLORE TOTALE ISOLÉE DE L'INTESTIN DE PORC

RÔLE DES DIFFÉRENTES ESPÈCES MICROBIENNES

M. C. MICHEL

*Service de Biochimie et de Nutrition,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas.*

SOMMAIRE

1° La flore microbienne, isolée des diverses parties du tractus gastro-intestinal du porc, présente constamment une importante activité catabolique à l'égard des acides aminés, qu'elle peut désaminer et décarboxyler.

2° Cette activité subit d'importantes variations, suivant la localisation anatomique de la flore et suivant les individus, ainsi que d'après les saisons.

3° L'activité catabolique microbienne s'exerce également à l'égard des glucides, avec formation d'acides volatils ; l'urée produit de l'ammoniac et la choline de la triméthylamine.

4° La plupart des espèces qui composent la flore microbienne du porc sont susceptibles de désaminer l'arginine (entérobactéries, streptocoques, lactobacilles hétérofermentaires). Seuls les lactobacilles homofermentaires ne possèdent pas cette propriété.

5° L'activité catabolique microbienne au niveau intestinal provoque une perte d'énergie, ainsi que l'apparition de substances toxiques (NH_3 en particulier), dans le sang de la veine porte.

INTRODUCTION

Le tractus intestinal du porc renferme des quantités importantes de microorganismes. Bien que l'existence de ces derniers soit connue depuis longtemps, ce n'est que récemment que la localisation, l'identification et la numération d'une partie des espèces qui composent la flore microbienne intestinale ont été effectuées. Les résultats obtenus par divers auteurs varient suivant les conditions expérimentales et les milieux d'isolement utilisés. WAHLSTROM et al (1950-1952), dans une étude de la flore fécale du porcelet, identifient de 10^8 à 10^{11} lactobacilles et levures par gramme. Pour BRIDGES et al (1952, 1953), la flore fécale dominante du porcelet de 1 à 9 semaines est constituée de coliformes, Shigella, Protéus et staphylocoques. Différentes variations dans le nombre total des germes ont été mises en évidence par QUINN et al. (1953, 1953 a), en fonction des conditions d'alimentation et d'environnement. Ces recherches limitées à la flore fécale ont été étendues par BRIDGES et al (1954,

1955), par LARSON et HILL (1953, 1955) et par RAIBAUD, MOCQUOT et CAULET (1957 *a, b, c*). Les résultats obtenus par ces derniers auteurs sont assez cohérents et montrent que la flore dominante, dès l'estomac et jusqu'au rectum, est constituée de lactobacilles, de streptocoques et d'anaérobies (de 10^8 à 10^{10} par gramme de contenu humide). Les coliformes sont toujours présents et leur nombre, de 10^4 à 10^8 , croît de l'estomac au rectum. Le nombre des levures, des clostridia et des *Proteus* varie très largement d'un animal à l'autre.

Si le nombre total des germes viables ne subit pas de variations importantes le long du tractus, nous avons en revanche constaté que le poids sec microbien, qui comprend à la fois les germes viables et ceux en cours d'autolyse, augmente très largement de l'estomac au rectum. L'influence de cette flore totale dans les processus métaboliques intestinaux est assez mal connue. Son rôle anabolique, telle la synthèse de diverses vitamines, a été démontré chez diverses espèces, en particulier chez les ruminants (cf NAJJAR-BARETT, 1945). En revanche, on est beaucoup moins bien renseigné sur les activités cataboliques de la flore à l'égard des substances ingérées par l'hôte et de leurs produits de digestion. On ne connaît pas non plus le rôle exact joué par certaines espèces sous-dominantes (clostridia, levures, *Protéus*). Afin de préciser certains aspects des rapports entre l'hôte et sa flore microbienne intestinale, nous avons entrepris une étude des propriétés biochimiques de la flore complexe et d'espèces microbiennes isolées du tractus digestif du porc. Le résultat cherché est la meilleure connaissance du rôle de la flore intestinale dans le métabolisme de l'hôte, dans les cas normaux et pathologiques.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

A. — ISOLEMENT DE LA FLORE INTESTINALE.

Dès l'abattage de l'animal, le contenu du tractus digestif est prélevé. Des parties aliquotes des fractions suivantes : 1° estomac ; 2° duodénum-jejunum ; 3° iléon ; 4° caecum ; 5° colon près du caecum ; 6° colon près du rectum, sont diluées au 1/10 dans du sérum physiologique. Après homogénéisation, la suspension est filtrée sur gaze, puis on laisse sédimenter les fines particules alimentaires pendant 15 minutes. La suspension microbienne est décantée puis centrifugée (20 mn à 6 000 g). Le culot microbien est lavé (sérum physiologique), recentrifugé, et finalement repris par le même liquide par un volume correspondant à la moitié du volume de départ.

B. — MESURE DE L'ACTIVITÉ CATABOLIQUE DES SUSPENSIONS.

La suspension microbienne concentrée est diluée dans le substrat choisi et incubée à 37°C.

Les différentes substances, dosées par les méthodes indiquées et à divers intervalles de temps pour déterminer la cinétique de la réaction, sont les suivantes :

Substrat	Substances dosées	Méthode
Acides aminés (1).....	$\left\{ \begin{array}{l} \text{N (NH}_3\text{)} \\ \text{CO}_2 \\ \text{H}_2\text{S} \end{array} \right.$	Conway (a) — Microdiffusion de H ₂ S et dosage iodométrique.
Choline	Triméthylamine	Conway (b)
Cétoacides	$\left\{ \begin{array}{l} \text{CO}_2 \\ \text{Cétoacides} \end{array} \right.$	Conway (c) Friedmann
Glucose.....	$\left\{ \begin{array}{l} \text{glucose} \\ \text{acide lactique} \\ \text{acides volatils} \end{array} \right.$	Mendel (2) Barker et Summerson Conway (d)

Pour la propagation des germes, on utilise les milieux suivants :

1° Pour la culture de la flore totale, des bactéries lactiques et des streptocoques, le bouillon suivant (3) : extrait de viande 5 g — peptone 3 g — autolysat de levure 10 g — glucose 20 g — H₂O 1 000 ml.

2° Un milieu de composition suivante : peptone 5 g — extrait de levure 3 g — NaCl 3,5 g — PO₄H₂K 1,32 g — PO₄HK₂ 3,68 g glucose 2 g — H₂O 1 000 cm³, pour la culture des entérobactéries, cocci, Protéus.

Le pH des milieux obtenus est d'environ 6. Stériliser 20 mn à 120°C.

RÉSULTATS OBTENUS

A. — CATABOLISME DES ACIDES AMINÉS.

Une des propriétés cataboliques les plus répandues parmi la flore intestinale du porc concerne le catabolisme des acides aminés, et spécialement la désamination de ces derniers.

Le tableau 1 indique les pourcentages de désamination de différents acides aminés, amides et peptides, par la flore du caecum du porc.

TABLEAU I

Désamination d'acides aminés et d'amides par la flore du caecum du porc.

Glutamine.....	96	Valine.....	27,4
Asparagine.....	86,5	Glycocolle.....	25
Ac. aspartique l.....	81,6	Tyrosine l.....	25,3
Oxy-proline l.....	80,6	Leucyl-glycine dl.....	25
Ac. glutamique l +.....	74,9	Norvaline dl.....	24,1
Serine dl.....	74,1	Norleucine dl.....	21,8
Ac. aspartique dl.....	74	Isoleucine l + 21,2.....	21,2
Histidine l.....	74	Proline l.....	20,3
Citrulline l.....	71,1	Proline dl.....	16
Arginine l +.....	64,6	Ornithine l.....	14,8
Alanine dl.....	60,5	Phénylalanine l.....	13,8
Cystéine HCL 1 (—).....	48,9	Phénylalanine dl.....	13,3
Leucine dl.....	37,7	Cystine dl.....	13,2
Tyrosine dl.....	35,6	Homocystéine dl.....	13,2
Leucine l.....	34,7	Glycylglycine.....	12,3
Isoleucine dl.....	28,2	Méthionine dl.....	8,8
β-alanine.....	28,2	Lysine l.....	8,7

* Pourcentages de dégradation des groupements aminés libres. Acides aminés M/50 dans du tampon phosphates pH 6.6. Concentration microbienne 2 g/l. Durée d'incubation 42 h à 37° C.

Il s'agit dans tous les cas d'une désamination directe. La flore ne produit pas la réaction de STICKLAND et la faible quantité d'ammoniac produite par autolyse a été déduite. Les amides sont les substances les plus rapidement catabolisées. Par contre, certains acides aminés indispensables, en particulier la lysine et la méthionine, ne sont pratiquement pas dégradés. Si cette désamination affecte la totalité des

(1) Les acides aminés susceptibles de produire une solution alcaline (arginine base) ou acide (lysine 2 H CL) sont dissous dans un peu d'eau distillée ; la solution est neutralisée et amenée au volume requis par du tampon de pH 6,6.

(2) Dans les milieux complexes, contenant peu de glucides, on effectue une défécation préliminaire à l'acétate de cadmiu m avant d'appliquer la méthode de MENDEL pour le dosage du glucose (DUMAZERT, 1954).

(3) Les produits biochimiques utilisés sont de la marque DIF CO et les sels minéraux des produits R.P.

acides aminés, catabolisés avec des vitesses variables, la décarboxylation de ces substances est une propriété moins répandue parmi la flore. Les tableaux 2 et 3 résument les résultats obtenus.

TABLEAU 2

Décarboxylation d'acides aminés par la flore du caecum du porc.

	QCO ₂			Nombre d'essais
	moyenne	médiane	limites	
Acide aspartique	31,9	29,2	5,35 — 151	23
Acide glutamique	18,1	21	4,4 — 83	12
Alanine	13,5	8,2	0 — 49,5	13
Tryptophane	5,6	5,4	T (1) — 24,5	13
Arginine	9,4	2,2	T (1) — 52,4	16
Histidine	4,88	2,33	T (1) — 19	11
Lysine	T (1)	T (1)	—	15
Ornithine	T (1)	T (1)	—	11
Méthionine	0,6	0,7	T (1) — 1,2	9

(1) T : inférieur au témoin sans acide aminé.

Substrat M/50.

Concentration microbienne 1 g/l.

Durée d'incubation 16 h à 37°C.

QCO₂ : microlitres dégagés par heure et par mg de poids sec microbien.

TABLEAU 3

Décarboxylation de l'acide aspartique par la flore isolée à divers niveaux du tractus gastro-intestinal.

	QCO ₂			Nombre d'essais
	moyenne	médiane	limites	
Estomac	20	23,9	0 — 53,3	9
Duodénum-jéjunum	22,6	17,8	1,4 — 46,7	11
Iléon	34,1	31,5	3,2 — 87	10
Caecum	31,9	29,2	5,3 — 151	23
Colon (près caecum)	16,8	10,6	4,2 — 46,3	9
Colon (près rectum)	12,4	10,5	2,9 — 23,4	11

Substrat M/50.

Concentration microbienne 1 g/l.

Durée d'incubation 16 h à 37°C.

QCO₂ : microlitres dégagés par heure et par mg de poids sec microbien.

Ces résultats, relatifs à la désamination et à la décarboxylation des acides aminés, montrent clairement le rôle catabolique de la flore microbienne à l'égard des acides aminés non indispensables et des amides. La décarboxylation microbienne concerne spécialement des acides aminés dicarboxyliques. Par contre, la lysine et l'ornithine exercent un effet inhibiteur particulier sur la respiration endogène de la flore ; la

quantité de CO_2 libérée par celle-ci en présence de ces acides aminés est toujours plus faible que dans le témoin. Cette action est parfois exercée par l'histidine, l'arginine, et le tryptophane (tableau 2). Enfin, les acides aminés soufrés peuvent être catabolisés avec libération de H_2S , la cystéine étant particulièrement dégradée (tableau 4).

Ces diverses propriétés ne sont également pas localisées tout au long du tractus gastro-intestinal. Par exemple, l'activité catabolique à l'égard de l'arginine est présente à tous les niveaux intestinaux, avec un maximum situé dans le caecum. En revanche, les germes capables de dégrader l'acide aspartique, la cystéine et surtout la choline, sont plus nettement localisés dans l'iléon. Les tableaux 4 et 5 résument ces observations.

TABLEAU 4

Coefficients de dégradation des acides aminés et de la choline.

Valeurs moyennes obtenues sur 6 animaux abattus en juin

	Lieu du prélèvement de la flore microbienne					
	Estomac jéjunum	Duodénum	Iléon	Cæcum	Colon près cæcum	Colon près rectum
Q^{NH_3} (arginine)	5,3	5	8,1	8,5	8,15	5
Q^{CO_2} (acide aspartique)	0	11,9	31,6	9	7,35	6,15
$Q^{\text{H}_2\text{S}}$ (cystéine)	0	0,01	11,3	0,07	0,90	1,3
Q (choline)	0	0,32	7,4	2,35	1,40	0,9

Q^{NH_3} — Q^{CO_2} — $Q^{\text{H}_2\text{S}}$ = μl produits par heure et par mg de poids sec microbien.
 Q choline = micromoles dégradées par heure et par mg de poids sec microbien.

TABLEAU 5

Coefficients de dégradation de l'arginine mesurée sur 30 porcs abattus de mars à octobre.

	Lieu anatomique du prélèvement de la flore microbienne					
	Estomac	Duodénum jéjunum	Iléon	Cæcum	Colon près cæcum	Colon près rectum
Moyenne*	3,41	4,76	6,35	7,65	6,25	3,55
Limites	0,79 — 12,6	1,25 — 12,6	0,68 — 19	1,51 — 19,7	1,71 — 10,6	1,83 — 5,71
Médiane	1,52	4,71	6,50	6,2	5,75	3,50

* Valeurs exprimées en μl de NH_3 produits par heure et par mg de poids sec microbien.

Dans un même groupe d'animaux, abattus au cours d'une même période de l'année, l'activité catabolique microbienne subit de fortes variations individuelles. Pour cette raison, on observe une dispersion assez importante ; malgré cela, on peut constater sur un grand nombre d'animaux des variations saisonnières notables dans

l'activité métabolique microbienne. Ces observations ont été effectuées deux années consécutives. La figure 1 indique les valeurs médianes des observations effectuées mois par mois, et relatives à la dégradation de l'arginine par la flore du caecum du porc.

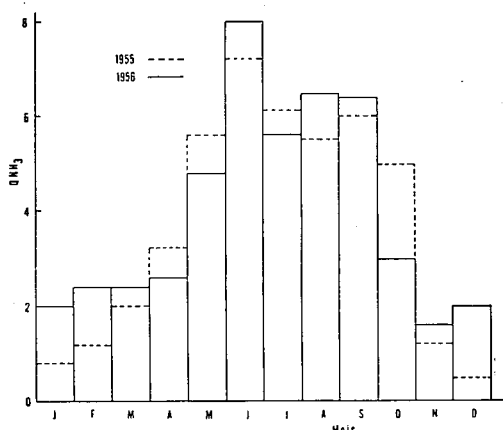


FIG. 1 — Dégradation de l'arginine par la flore du caecum du porc. (Valeurs médianes).

B. — CATABOLISME DE LA CHOLINE.

On connaît le rôle nutritionnel de la choline. Par exemple un régime carencé en choline provoque des lésions du foie (cirrhose, infiltration graisseuse) ainsi que des lésions hémorragiques du rein (BAXTER et CAMPBELL, 1952). Or, la flore intestinale de plusieurs espèces catabolise une partie de la choline ingérée. Chez le chien, ROHSE et SEARLE (1955) ont montré que dans un segment isolé d'iléon, 15 p. 100 de la

TABLEAU 6

Coefficients de dégradation de la choline.

Incubation de la flore microbienne (1 g/l) avec de la choline (M/100) 16 h à 37°C.

	Lieu de prélèvement					
	Estomac	Duodénum jéjunum	Iléon	Cæcum	Colon près cæcum	Colon près rectum
Décembre 1955	0	0,695	0,700	0,550	0,460	0,160
Janvier 1956	0	0,450	0,268	0,330	0,670	0,518
—	0	0,098	0	0,024	0	0
Février 1956	0	0	0	0	0	0
Mars 1956	0	0,022	0	0,047	0,046	0,011
Janvier 1957	0,006	0,062	0,097	0,073	0,036	0,045
—	0	0	0,083	0,043	0,035	0,029
Septembre 1957	0	0,610	6,06	2,240	1,48	0,87
—	0	0	8,4	2,610	1,83	1,01

Qcholine = micromoles dégradées par heure et par mg de poids sec microbien.

choline mise en jeu (1 g) étaient dégradés en 1 heure et apparaissaient sous forme de triméthylamine. JONES et de la HUERGA (1953) indiquent que chez l'homme 50 p. 100 de la choline ingérée est excrétée dans l'urine sous forme de triméthylamine, produite par la flore intestinale.

La flore intestinale du porc possède généralement cette propriété, mais les variations tout au long du tractus, et d'un animal à l'autre, sont très importantes (tableau 6). Le nombre d'échantillons étudiés est insuffisant pour rendre compte des variations saisonnières, mais il semble que l'évolution de l'activité soit parallèle à celle de la désamination, avec des fluctuations beaucoup plus larges.

C. — CATABOLISME DE SUBSTANCES DIVERSES.

a) *Urée*. — Parmi les autres propriétés cataboliques étudiées, nous citerons d'abord le catabolisme de l'urée. En effet, une certaine quantité de l'ammoniac présent au niveau gastro-intestinal est produite par l'action de l'uréase microbienne sur l'urée apportée par la salive ou le sang. Ceci a été démontré chez l'homme par MAC-DERMOTT et al (1954) et chez le rat par FU CHUAN CHAO et TARVER (1953). Chez le porc l'activité uréasique microbienne de la flore intestinale est très élevée, et présente dans tous les échantillons étudiés. Cette activité a été mesurée par le test de HAUDUROY (1951).

b) *Glucose*. — In-vitro, la flore microbienne intestinale du porc possède une activité catabolique élevée à l'égard du glucose. Des acides organiques sont produits, dans des proportions variables suivant la nature de la flore et le lieu anatomique du prélèvement. Par exemple, la flore stomacale, constituée presque toujours de lactobacilles homofermentaires et hétérofermentaires (RAIBAUD, 1957), fermente in-vitro le glucose avec production d'acide lactique. La flore de l'intestin grêle produit ce même acide au début de la fermentation. Il est ensuite transformé en acides organiques volatils. (Des résultats détaillés sont reportés dans une autre publication : MICHEL, 1960). In-vivo, l'activité de la flore paraît s'exercer de la même manière, et de l'acide lactique se trouve en quantité notable de l'estomac jusqu'au caecum.

TABLEAU 7

*Teneur du contenu gastro-intestinal du porc en glucose et acide lactique
(prélevé trois heures après le repas).*

Valeurs exprimées en g par litre de contenu (moyenne de 15 déterminations.)

Lieu de prélèvement	Glucose	Acide lactique
Estomac	1,59	7,72
Duodénum-jejunum	3,88	4,72
Iléon	2,64	4
Cæcum	Traces (< 0,1 g/l)	0
Colon.....	—	—

c) *Pyruvate* : In-vitro, le pyruvate est rapidement décarboxylé par la flore microbienne intestinale. Outre le CO₂, les produits de la réaction sont l'acide acétique et l'acide lactique. Cette réaction catabolique peut être accompagnée, en présence

de NH_3 , par la synthèse d'acides aminés. En effet, la flore microbienne, incubée à 37°C , pendant 16 heures, en présence de pyruvate et de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ produit de l'alanine (de 10 à 30 p. 100 de pyruvate disparu), ainsi que de faibles quantités des acides aspartique et glutamique. Ces acides aminés sont ensuite catabolisés par la flore (MICHEL, 1956).

Synthèse intestinale de vitamine B₁₂.

La synthèse microbienne de la vitamine B₁₂ au niveau intestinal a spécialement été démontrée chez les ruminants dont les besoins sont totalement couverts de cette manière (KON et al, 1954). Chez le porc, nous avons observé (FEVRIER et al, 1955) que la quantité de vitamine B₁₂ excrétée dans les fèces (mesurée par dosage microbiologique) était beaucoup plus élevée que la quantité ingérée. Mais il est douteux qu'une partie importante de la B₁₂ synthétisée soit utilisée par l'hôte. En effet, bien que la synthèse soit importante à partir du caecum, seule une faible part de cette vitamine existe sous forme libre, la majeure partie se trouve dans les corps microbiens. De plus, la flore microbienne synthétise des analogues de la vitamine B₁₂ (cyanocobalamine) dans lesquels la partie nucléotidique est différente (WIJMENGA, 1950, FOLKERS et WOLF, 1954) et qui ne sont pas directement utilisables par l'animal. En effet, on peut augmenter de façon significative le taux de vitamine B₁₂ dans le tractus intestinal du porc en supplémentant le régime en auréomycine, alors que la quantité de cette vitamine stockée dans le foie n'augmente pas. Par contre, l'élévation du taux de B₁₂ de la ration produit une augmentation corrélative du potentiel vitaminique du foie (FEVRIER et al 1955). Le tableau 8 indique les valeurs observées dans les diverses parties de l'intestin. Une méthode turbidimétrique utilisant *Escherichia coli* comme organisme test a été utilisée pour le dosage de cette vitamine (BURKHOLDER, 1951).

TABLEAU 8

Teneur en vitamine B₁₂ du contenu intestinal du porc (mcg par kg de poids sec).

Mesures effectuées sur 6 animaux.

	B ₁₂ totale (2)			B ₁₂ libre (3)		
	Moyenne	Médiane	Limites	Moyenne	Médiane	Limites
Duodénum-jéjunum .	30 (1)	32,5	12,5 — 50	26,5	30	14 — 32,5
Iléon	34,8	29	6 — 95,5	13,7	15,2	2,4 — 24
Cæcum	102	79	31 — 205	3,55	4,5	0,8 — 8
Colon (près cæcum).	200	190	94 — 350	10	10	3 — 19,5
Colon (près rectum).	452	340	158 — 1300	15,8	7,5	2,8 — 76

(1) La teneur obtenue au niveau du duodénum correspond à celle de l'aliment.

(2) B₁₂ totale après extraction à l'ébullition.

(3) B₁₂ libre obtenue par centrifugation du contenu.

Activité catabolique des souches isolées.

Le poids sec des microorganismes à un même niveau intestinal subit peu d'influence saisonnière. La variation d'activité métabolique peut être reliée soit à la

prolifération, à certains niveaux intestinaux et à certaines époques, d'espèces microbiennes qui possèdent ces propriétés, soit à des variations saisonnières d'activité au sein de mêmes espèces. Il était en conséquence indispensable d'étudier l'action de différentes espèces. L'étude des propriétés biochimiques de souches microbiennes isolées du contenu intestinal du porc montre que parmi les espèces les plus largement représentées, seuls les lactobacilles homofermentaires ne produisent pas d'ammoniac à partir de l'arginine. En revanche, diverses souches de streptocoques, Protéus, Escherichia coli, etc... ont présenté une activité généralement élevée (tableau 9).

TABLEAU 9

Activité catabolique de souches isolées à l'égard de l'arginine.

Souches	Moyenne	Limites	Nombre de souches testées
Lactobacilles homofermentaires	0	—	21
Lactobacilles hétérofermentaires	4,51	1,64 — 6,02	18
Streptococcus liquefaciens.	4,9	4,7 — 5,1	2
Streptococcus faecalis	12,6	11,1 — 14,1	3
Proteus	4,8	2,1 — 7,9	6
Cocci divers	7,1	1,4 — 17	16
Bacilles Gram — lactose .	11,7	2,7 — 65	16
Escherichia Coli	7,6	3,1 — 10,6	7
Bacilles Gram + divers ..	7,7	4,2 — 16,2	5
Levures	8,1	6,6 — 9,6	2

D'autres propriétés cataboliques sont moins généralement observées, en particulier, la dégradation de la choline, avec formation de triméthylamine, est le fait d'un petit nombre de souches dans les genres Protéus et Bacillus.

La plupart des espèces représentées dégradent les glucides (glucose en particulier) mais les vitesses de fermentation sont très différentes. Par exemple, les lactobacilles homofermentaires synthétisent rapidement l'acide lactique aux dépens du glucose. S'ils sont remplacés en flore dominante par des streptocoques, le type de fermentation ne change pas, mais la vitesse de cette dernière est diminuée d'environ 90 p. 100.

Vérification in-vivo.

Divers effets cataboliques dus aux microorganismes, et qui ont été démontrés in-vitro, peuvent être vérifiés in-vivo, par le dosage au niveau intestinal et sanguin de substances provenant en grande partie sinon en totalité de ce catabolisme. Le tableau 10 indique les résultats d'une série de mesures de l'azote ammoniacal effectuées aux niveaux intestinal et sanguin. Dans le sang de la veine porte, on peut observer des variations de concentration journalières en NH_3 , en fonction du stade digestif. Bien que le nombre d'observations soit insuffisant pour établir une corrélation rigoureuse, on note que les valeurs les plus élevées du taux de NH_3 , du sang porte sont obtenues pendant l'été, période d'activité maximum de la flore microbienne intestinale.

TABLEAU IO

Teneur du contenu intestinal et du sang en azote ammoniacal.

(exprimée en mg/litre de produit frais)

	Moyenne	Limites	Nombre d'animaux
Estomac	197	80 — 330	12
Duodénum-jéjunum	131	60 — 224	12
Iléon	150	112 — 274	12
Cæcum	308	112 — 500	12
Colon (près cæcum)	465	208 — 548	12
Colon (près rectum)	650	424 — 768	12
Sang artériel	0,25	0,2 — 0,5	4
Sang porte (animal à jeun)	2,2	0,2 — 3,2	5
Sang porte			
(5 h après le repas) été ..	10,2	9,5 — 15	5
— hiver.	2,1	0,5 — 2,5	5

DISCUSSION

Ces diverses actions cataboliques de la flore intestinale du porc sont suffisamment étendues et assez importantes pour modifier une partie des aliments ingérés et, de ce fait, influencer sur la nutrition de l'hôte.

Le catabolisme glucidique est important de l'estomac au caecum, mais la dégradation des glucides ne représente qu'une perte plus ou moins importante de la valeur énergétique de l'aliment : les acides organiques formés n'étant pas toxiques.

Au contraire, le catabolisme des acides aminés, de l'urée, de la choline peut produire des substances qui possèdent une action pharmacodynamique directe. Il s'agit soit des amines produites par décarboxylation, soit de l'ammoniac.

Cette dernière substance est toujours présente à une concentration relativement élevée dans l'intestin du monogastrique. (SILEN et al, 1955) par des analyses de sang veineux provenant de différentes parties du tractus intestinal du chien, ont montré que le colon est la principale source de NH_3 . Nos propres déterminations confirment ces résultats. A ce niveau intestinal, la forte densité d'une flore en voie d'autolyse, l'absence de glucides, sont des conditions favorables à la formation d'ammoniac.

On sait que cette substance est relativement toxique, ainsi que l'ont montré les études de NELSON et al (1953) chez le chien, de GULLINO et al (1958), chez le rat. De nombreuses observations cliniques, chez l'homme, ont montré que le seuil de concentration toléré dans le sang était peu élevé. Au-dessus de ce dernier, et spécialement chez des individus souffrant de cirrhose, on peut observer des troubles neurologiques généralement associés au coma hépatique. L'ingestion de résines cationiques, sous forme ammonium, par des individus cirrhotiques, produit ces troubles (GABUZDA et al, 1952). La corrélation entre ces symptômes et l'élévation du NH_3 sanguin a été établie par PHILLIPS et al (1952), par KIRK (1930) et SCHWARZ et al (1953).

La toxicité de l'ammoniac peut être réduite dans une très large proportion par

l'arginine, administrée soit par voie parentérale (GULLINO et al, 1956), du RUISSEAU (1957), soit per os (NAJARIAN et HARPER, 1958) et par l'acide aspartique (LABORIT et al, 1958-1959). Ces auteurs ont démontré le rôle important joué par cet acide aminé dans les processus tissulaires de détoxication de l'ammoniaque provenant des effets cataboliques intestinaux et cellulaires.

L'accroissement saisonnier des propriétés cataboliques de la flore microbienne intestinale pourrait avoir pour résultat de diminuer cette protection chez l'animal alimenté normalement. En effet, l'arginine et l'acide aspartique sont aisément catabolisables par la flore, et pendant la période d'activité maximum de cette dernière le taux de NH_3 du sang porte est plus élevé.

En raison du grand nombre d'espèces microbiennes susceptibles de produire de l'ammoniac dans le tractus gastro-intestinal du porc, l'ammoniogénèse est rarement nulle, ainsi que l'indique le taux de NH_3 dans le sang porte. Par contre, l'activité catabolique à l'égard de la choline et de la cystéine, produite par un petit nombre d'espèces, peut être nulle chez certains animaux. Les facteurs capables d'orienter la prolifération des espèces responsables de ces divers actions cataboliques sont encore mal connus. Dans certains cas, la nature des substances ingérées peut déterminer le type de la flore dominante. Ainsi RAIBAUD et al (1957) ont montré que la flore stomacale de porcs nourris avec un régime équilibré sans antibiotique est presque toujours représentée par des bacilles lactiques homofermentaires et hétérofermentaires. Lorsque les animaux ingèrent une ration dépourvue d'azote, les lactobacilles disparaissent et sont remplacés par des coliformes. Sur ces mêmes animaux, nous avons observé que le poids sec microbien intestinal était très faible, ainsi que l'activité catabolique. Mais dans le cas général, les facteurs responsables de l'implantation d'espèces déterminées au niveau de l'intestin grêle et du colon sont plus difficiles à préciser, ainsi que les variations saisonnières d'activité catabolique.

Dans ce but, diverses voies d'approche sont possibles, en particulier l'étude des animaux sans germes, ainsi que l'emploi des inhibiteurs du métabolisme microbien intestinal.

Reçu en mai 1960.

SUMMARY

METABOLIC ACTIVITY OF THE TOTAL BACTERIAL FLORA ISOLATED FROM THE INTESTINE OF THE PIG. ACTIVITY OF THE VARIOUS BACTERIAL SPECIES

- 1) The microbial flora is isolated from the gastro-intestinal tract of the pig by fractional centrifugation. *In vitro*, it exerts a considerable catabolic activity all the time towards amino acids, which it can deaminate and decarboxylate. The deamination occurring is principally that of the amides and the non-essential amino acids; are the dicarboxylic amino acids decarboxylated the most rapidly (table 1 to 3).
- 2) This activity varies considerably, with the anatomical location of the flora, with the individuals, and the seasons. In particular, the arginine deamination coefficient, whose maximum occurs in the caecum, varies from 2 to 8 from January to June (tables 4 to 6 and fig. 1).
- 3) The microbial catabolic activity is directed also towards the carbohydrates, with the formation of volatile acids; urea produces ammonia and choline produces trimethylamine.
- 4) Most of the species which compose the microbial flora of the pig are able to deaminate arginine (enterobacteria, streptococci, heterofermentative lactobacilli). Only the homofermentative lactobacilli do not possess this property (table 9).
- 5) The microbial catabolic activity demonstrated *in vitro*, has been confirmed *in vivo* by measuring, in the intestine or the blood (portal vein), the substances produced by the catabolism of amino acids (NH_3) and of carbohydrates (lactic acid). (table 7).

6) In the intestine, microbial catabolic activity produces loss of energy, by the fermentation of carbohydrates and the breakdown of amino acids, it also makes toxic substances appear (NH₃ in particular) in the blood of the portal vein.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARKER S. B., SUMMERSON W. H., 1941. The colorimetric determination of lactic acid. in biological material. *J. Biol. Chem.*, **138**, 535.
- BAXTER J. H., CAMPBELL H., 1952. Effects of aureomycin on renal lesions, liver lipid, and tissue choline in choline deficiency. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **80**, 415.
- BRIDGES J. H., DYER I. A., BURKHART W. C., 1952. Effects of penicillin and streptomycin on the growth rate and bacterial count in the feces of the pig. *J. Anim. Sci.*, **11**, 474.
- BRIDGES J. H., DYER I. A., POWERS J. J., 1953. Penicillin and streptomycin affect the microflora of the intestinal tract of the pig. *J. Anim. Sci.*, **12**, 96.
- BRIGGS C. A. E., WILLINGALE J. M., BRAUDE R., MITCHELL K. G., 1954. The normal intestinal flora of the pig. I Bacteriological methods for quantitative studies. *Vet. Rec.*, **66**, 241.
- BURKHOLDER P. R., 1951. Determination of vitamin B₁₂ with a mutant strain of *Escherichia coli*. *Science* **114**, 459.
- CHAO F. C., TARVER H., 1953. Breakdown of urea in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **84**, 406.
- CONWAY E. J., 1950. Microdiffusion analysis and volumetric error. Crosby Lockwood. London. 3rd edition.
- DUMAZERT C. H., cité par STAUB A. M., 1954. Extraction, identification et dosage des glucides dans les extraits d'organes et les corps bactériens. Techniques de laboratoires. p. 778. Masson Paris 2^e édition.
- FEVRIER R., VACHEL J. P., MICHEL M. C., 1955 *e*. Teneur en vitamine B₁₂ du foie et du contenu de l'intestin. *Ann. Zootech.*, **4**, 146.
- FOLKERS K., WOLF D. E., 1954. Chemistry of vitamin B₁₂. Vitamins and hormones XII, p. 1. Academic Press, New York.
- FRIEDMANN T. E., 1957. Determination of α -cetoacids. Methods in enzymology III, 414. Academic Press, New York.
- GABUZDA G. J., PHILLIPS G. B., DAVIDSON C. S., 1952. Reversible toxic manifestations in patients with cirrhosis of the liver given cation-exchange resins. *New Engl. J. Med.*, **246**, 124.
- GULLINO P., BIRNBAUM S. M., WINITZ M., GREENSTEIN J. P., 1958. Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in vivo. VIII Influence of the route of administration of L. arginine HCl on protecting rats against ammonia toxicity. *Arch. Biochem. Biophys.*, **76**, 430.
- HAUDUROY P., 1951. Techniques bactériologiques. p. 68. Masson, Paris.
- JONES D. L., de la HUERGA J., 1953. The influence of modification of intestinal flora upon choline utilisation. *J. Lab. Clin. Med.*, **42**, 822.
- KIRK E., 1936. Amino-acid and ammonia metabolism in liver diseases. *Acta med. scand.*, **77**, 1.
- KON S. K., PORTER J. W. G., 1954. The intestinal synthesis of vitamins in the ruminant. Vitamins and hormones XII p. 53. Academic Press, New-York.
- LABORIT H., WEBER B., JOUANY J. M., NIAUSSAT P., BARON C., 1958. Le métabolisme de l'ammoniaque et ses perturbations. Importance thérapeutique des sels de l'acide aspartique. *Pr. méd.*, **67**, 2125.
- LABORIT H., WEBER B., JOUANNY J. M., NIAUSSAT P., BROUSSOLLE B., REYNIER M., BARRON C., 1959. Conceptions nouvelles concernant le métabolisme de l'ammoniac et ses perturbations. *Anesth. Analg. Réanim.*, **16**, 379.
- LARSON N. L., HILL E. G., 1953-54. The effect of products obtained from streptomycetes aureo faciens fermentations on the growth and reproduction of swine. *Ann. Rep. Hormel Institut*, p. 55.
- LARSON N. L., HILL E. G., 1955. The intestinal microflora of young swine obtained by hysterectomy. Observations on chlortetracycline supplementation. *J. Anim. Sci.*, **14**, 674.
- MAC DERMOTT W. V., ADAMS R. D., RIDDELL A. G., 1954 a. The influence of antibiotics on production of ammonia. *Ann. Surg.*, **140**, 539.
- MAC DERMOTT W. V., ADAMS R. D., 1954 b. Episodic stupor associated with an Eck fistula in the human with particular reference to the metabolism of ammonia. *J. clin. Invest.*, **33**, 1.
- MENDEL B., KEMP A., MYERS D. R., 1954. A colorimetric micromethod for the determination of glucose. *Biochem. J.* **56** 644.
- MICHEL M. C., 1955. Étude de quelques propriétés biochimiques de la flore intestinale du porc. Influence des antibiotiques. 3^e Congrès Biochimie Bruxelles.
- MICHEL M. C., 1960. Influence de la chlortétracycline sur le métabolisme glucidique de la flore intestinale du porc. *Sous presse*.
- NAJARIAN J. S., HARPER M. A., 1958. Etiology and treatment of ammonia intoxication associated with disease of the liver. *Surg. Gynec. Obstet.*, **106** 577.
- NAJJAR V. A., BARRETT R., 1945. The synthesis of B vitamins by intestinal bacteria. Vitamins and hormones III p. 23. Academic Press, New York.
- NELSON R. M., SELIGSON D., 1953. Studies on blood ammonia in normal and shock states. *Surgery* **34** 1.
- PHILLIPS G. B., SCHWARTZ R., GABUZDA G. J., DAVIDSON C. S., 1952. The syndrome of impending hepatic coma in patients with cirrhosis of the liver given certain nitrogenous substances. *New Engl. J. Med.*, **247**, 239.
- QUINN L. Y., STORY C. D., CATRON D. V., JENSEN A. H., WHALEN W. H., 1953. Effects of antibiotics on the growth rate and intestinal flora of swine. *Antibiot. and Chemotherapy*, **3**, 527.
- QUINN L. Y., LANE M. D., ASHTON G. C., MADDOCK H. M., CATRON D. V., 1953. Action of antibiotics in swine nutrition II Effect on intestinal flora. *Antibiot. and Chemotherapy*, **3**, 622.

- RAIBAUD P., CAULET M., MOCQUOT G., 1957 (a). Étude quantitative des lactobacilles et des coliformes dans le tube digestif du porc adulte. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **244**, 683.
- RAIBAUD P., CAULET M., 1957 (b). Les lactobacilles dominants dans le tube digestif du porc. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **244**, 816.
- RAIBAUD P., CAULET M., 1957 (c). Les streptocoques dominants dans le tube digestif du porc adulte. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **244**, 1291.
- ROISE W. G., SEARLE G. W., 1955. Absorption of choline from intestinal loops in dogs. *Amer. J. Physiol.*, **181**, 207.
- RUISSEAU J. P. du, GREENSTEIN J. P., WINITZ M., BIRNBAUM S. M., 1957. Studies on the metabolism of amino acids and related compounds in-vivo. VI. Free amino acid levels in the tissues of rats protected against ammonia toxicity. *Arch. Biochem. Biophys.*, **68**, 161.
- SCHWARTZ R., PHILLIPS G. B., GABUZDA G. J., DAVIDSON C. S., 1953. Blood ammonia and electrolytes in hepatic coma. *J. Lab. Clin. Med.*, **42**, 499.
- SILEN W., HARPER H. A., MAWDSLEY D. L., WEIRICH W. L., 1955. Effect of antibacterial agents in ammonia production in the intestine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **88**, 138.
- WAHLSTROM R. C., TERRIL S. W., JOHNSON B. C., 1950. Effects of antibacterial agents on growth of baby pigs fed a « synthetic » diet. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **75**, 710.
- WAHLSTROM R. C., COHN E. M., TERRILL S. W., JOHNSON B., 1952. Growth effect of various antibiotics on baby pigs fed synthetic rations. *J. Anim. Sci.*, **11**, 449.
- WIJMENGA H. G., VEER V. L. C., LENS J., 1950. Vitamine B₁₂. II. The influence of HCN on some factors of the vitamine B₁₂ group. *Biochim. Biophys. Acta*, **6**, 229.
- WILLINGALE J. M., BRIGGS C. A. E., 1955. The normal intestinal flora of the pig. 2. Quantitative bacteriological studies. *J. Appl. Bacteriol.*, **18**, (2), 284.
-