



Disponible en ligne sur

**ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



ATELIERS DE GIENS 2016/PHARMACOLOGIE TRANSLATIONNELLE

## Microbiote intestinal : qu'en attendre au plan physiologique et thérapeutique ?<sup>☆</sup>

Joël Doré<sup>a</sup>, Marie-Christine Multon<sup>b,\*</sup>,  
Jehan-Michel Béhier<sup>c</sup>, les participants à la table  
ronde 2 des Ateliers de Giens XXXII, Hervé Affagard<sup>d</sup>,  
Antoine Andremont<sup>e</sup>, Philippe Barthélémy<sup>f</sup>,  
Rui Batista<sup>g</sup>, Marc Bonneville<sup>h</sup>, Christophe Bonny<sup>i</sup>,  
Gwendoline Boyaval<sup>j</sup>, Mathias Chamailard<sup>k</sup>,  
Marie-Pierre Chevalier<sup>l</sup>, Magali Cordaillat-Simmons<sup>m</sup>,  
Fabienne Cournarie<sup>n</sup>, Isabelle Diaz<sup>o</sup>,  
Elisabeth Guillaume<sup>p</sup>, Cyril Guyard<sup>q</sup>,  
Evelyne Jouvin-Marche<sup>r</sup>, François-Pierre Martin<sup>s</sup>,  
David Petiteau<sup>t</sup>

<sup>a</sup> INRA, Metagenopolis, 78350 Jouy-en-Josas, France

<sup>b</sup> Sanofi, 94400 Vitry-sur-Seine, France

<sup>c</sup> Takeda France, 92977 La Defense, France

<sup>d</sup> MaaT Pharma, 69007 Lyon, France

<sup>e</sup> Hôpital Bichat, université Paris Diderot, AP-HP, 92240 Malakoff, France

<sup>f</sup> Astra Zeneca, 92400 Courbevoie, France

<sup>g</sup> Hôpital Cochin, AP-HP, 75014 Paris, France

<sup>h</sup> Institut Mérieux, 69002 Lyon, France

<sup>i</sup> Enterome, 75011 Paris, France

<sup>j</sup> MSD France, 92400 Courbevoie, France

<sup>k</sup> Inserm U1019, institut Pasteur, 59019 Lille, France

<sup>l</sup> Pfizer, 75668 Paris, France

<sup>m</sup> Pharmabiotic Research Institute (PRI), 15000 Aurillac, France

<sup>n</sup> Ipsen, 92650 Boulogne-Billancourt, France

DOI de l'article original : <http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2016.12.007>.

<sup>☆</sup> Les articles, analyses et propositions issus des Ateliers de Giens sont ceux des auteurs et ne préjugent pas des propositions de leur organisation.

\* Auteur correspondant. Unité sciences translationnelles, Sanofi R&D, 13, quai Jules-Guesde, 94403 Vitry-sur-Seine, France.  
Adresse e-mail : [marie-christine.multon@sanofi.com](mailto:marie-christine.multon@sanofi.com) (M.-C. Multon).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.therap.2017.01.001>

0040-5957/© 2017 Société française de pharmacologie et de thérapeutique. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

<sup>o</sup> Leem/ARIIS, 75858 Paris, France

<sup>p</sup> Hôpital Saint-Louis, DRCD, AP-HP, 75010 Paris, France

<sup>q</sup> Bioaster, 69007 Lyon, France

<sup>r</sup> Inserm, 75654 Paris, France

<sup>s</sup> Nestlé Institute of Health Sciences SA, 1015 Lausanne, Suisse

<sup>t</sup> INRA, 78352 Jouy-en-Josas, France

Reçu le 19 décembre 2016 ; accepté le 22 décembre 2016

Disponible sur Internet le 11 janvier 2017

## MOTS CLÉS

Microbiote ;  
Métagénome ;  
Biomarqueurs ;  
Dysbiose ;  
Maladies chroniques ;  
Prébiotiques ;  
Symbiotiques ;  
Biothérapeutiques  
vivants

**Résumé** À partir de la naissance, chaque être humain établit une symbiose avec son microbiote qui joue un rôle clef dans le maintien de sa santé et de son bien-être. Cette co-existence symbiotique individuelle est le résultat d'une succession d'enrichissements de la diversité des microorganismes commensaux par des apports extérieurs. Cette diversité se trouve néanmoins menacée depuis peu par des changements drastiques dans nos habitudes de vie comme la prise en charge des naissances, l'environnement extérieur, l'alimentation et les pratiques médicales. Les deux dernières générations ont été le cadre de modifications importantes des modes de vies et d'alimentation, avec une augmentation de la sédentarité, une suralimentation et une exposition importante aux médicaments et aux polluants. Nous sommes maintenant en mesure d'évaluer l'impact de ces changements sur la diversité du microbiote intestinal. Parallèlement à ces modifications du mode de vie, on a pu observer une explosion de l'incidence de maladies liées à un dysfonctionnement du système immunitaire comme les maladies métaboliques, les allergies et les maladies inflammatoires et plus étonnamment des maladies neurodégénératives et des désordres psychiatriques. Le microbiote est devenu un sujet d'actualité dans la communauté scientifique ainsi que dans les médias grand public. Le nombre de publications scientifiques a augmenté d'un facteur trois sur les cinq dernières années, les domaines des maladies gastro-intestinales et liées aux dysfonctionnements métaboliques étant les plus étudiés. D'un point de vue de la propriété intellectuelle, les familles de brevets traitant du microbiote ont plus que doublé sur la même période. En parallèle, les financements provenant soit des organisations étatiques (par exemple du National Institute of Health [NIH] qui finance les recherches essentiellement dans le domaine des allergies, des anti-infectieux, du cancer et des maladies cardio-vasculaires, ou de la Maison Blanche qui a lancé l'initiative nationale sur le microbiome) soit des entreprises pharmaceutiques ont suivi la même tendance et reflètent une poussée des investissements et un soutien important de ce domaine de la recherche sur le microbiote. Tous les acteurs majeurs de la santé investissent actuellement dans la recherche sur le microbiome ce qui se traduit par le grand nombre de contrats et de financements signés en 2015. La table ronde des Ateliers de Giens s'est intéressée à envisager comment la médecine de demain, en considérant l'homme comme un supra-organisme symbiotique homme-microbes, pourra bénéficier du savoir acquis sur les fonctions du microbiote et sur le microbiome en tant qu'outil thérapeutique. La réflexion de notre groupe de travail a été structurée autour de quatre domaines d'innovation qui pourraient bénéficier des efforts réalisés actuellement afin de déchiffrer les interactions entre cellules humaines et le microbiome intestinal, en tant qu'élément central de la santé humaine, c'est-à-dire : 1) le développement d'outils de stratification et de monitoring ; 2) l'identification de cibles originales et de nouvelles drogues à partir du microbiome en tant que partie de notre supra-génome ; 3) l'exploitation du microbiote en tant que cible thérapeutique qui peut être modulable ; et enfin, 4) comme source de biothérapeutiques vivants ou d'adjuvants. Ces quatre chapitres vont permettre de montrer comment le microbiote a modifié notre façon de considérer un grand nombre de maladies chroniques et incurables comme les conséquences d'une dysbiose établie et durable. L'analyse en profondeur du microbiote est le point de départ d'un des plus vastes chantiers de recherches qui permettra l'amélioration de la santé humaine et animale et qui deviendra la source d'innovations médicales pour couvrir les gaps thérapeutiques d'aujourd'hui. Nous proposons donc une série de recommandations que nous adressons aux chercheurs académiques, aux cliniciens ainsi qu'aux autorités de santé, afin que les analyses du microbiote gagnent en fiabilité et solidité. Ceci permettra d'accélérer le processus de découvertes et ainsi que leurs applications afin que tous puissent en bénéficier.

© 2017 Société française de pharmacologie et de thérapeutique. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## Abréviations

ADDFMS	aliments diététiques destinés à des fins médicales
ADN	acide désoxyribonucléique
ANR-PIA	Agence nationale pour la recherche-programme investissements avenir
ANSM	Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé
CEPCM	Centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies
DEQM	Direction européenne de la qualité des médicaments et des soins de santé
EFSA	European Food Safety Agency
FDA	Food and Drug Administration
HFGB	projet de génomique fonctionnelle
IET	Institut européen d'innovation et de technologie
HMS	International Human Microbiome Standards
ILSI	International Life Sciences Institute
IND	<i>investigational new drug</i>
INRA	Institut national de la recherche agronomique
MICI	maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
MWAS	<i>Metagenome Wide association studies</i>
PoC	preuve de concept
R&D	recherche et développement

## Introduction

### Qu'est-ce que le microbiote ?

Tous les organismes vivent en interaction étroite avec les microbes présents dans leur environnement. Les humains peuvent ainsi être considérés comme des supra-organismes composés, d'une part, de leurs cellules humaines et, d'autre part, d'une grande diversité de micro-organismes qui colonisent tous les organes du corps en contact avec le compartiment extérieur. Cette collection de micro-organismes est appelée le microbiote, et est composée non seulement de bactéries mais aussi de virus, de phages, de levures, de vers et d'archaées [1]. Au niveau du génome, l'immense diversité du microbiome, qui contient environ 10 millions de gènes bactériens [2], doit être comparée aux 24 000 gènes du génome humain. Le deux kilogrammes de matière microbienne que nous avons dans nos intestins contiennent presque 10 fois plus de microbes que nous avons de cellules humaines dans notre organisme. Concernant sa diversité, le microbiote est composé d'environ un millier de souches différentes et cette diversité évolue tout le long de l'existence.

À la naissance, l'intestin du nouveau-né est à peu près stérile et est immédiatement colonisé par le microbiote vaginal de la mère ainsi que par les microbes de son environnement en contact avec la peau. Cette colonisation est ensuite enrichie par la nourriture et ceci d'autant mieux que le nouveau-né est allaité au sein et profite ainsi du colostrum, du lait maternel et du microbiote cutané de la mère. L'équilibre dans la diversification du microbiote intestinal se fait, suite au sevrage, autour des deux ans mais continue à être enrichi jusqu'à l'âge adulte [3]. On perçoit les conséquences de la tendance récente à augmenter le nombre de naissances par césarienne et de privilégier un

environnement stérile pour les bébés (comme par exemple par la stérilisation des biberons) sur la colonisation naturelle de l'intestin par un microbiote diversifié. Bien sûr, la génétique de l'hôte joue aussi un rôle dans la sélection des souches et dans la diversité des micro-organismes commensaux qui vont faire partie de cet écosystème personnalisé [4]. De plus, chaque partie du corps possède son propre microbiote avec une diversité propre qui va dépendre du micro-environnement local (oxygène, pH,...) [5]. À la naissance, la colonisation par le microbiote a lieu en même temps que la maturation du système immunitaire et ainsi, les micro-organismes symbiotiques fondateurs vont être considérés par le système immunitaire balbutiant comme étant une partie du soi [6].

Une fois établi, cet équilibre est plus ou moins modifié par des facteurs externes et le mode de vie. La nourriture, l'hygiène, les voyages, les maladies et plus particulièrement les infections, les médicaments et surtout les antibiotiques, le stress et l'âge modulent la composition des différentes communautés microbiennes tout comme la génétique et l'épigénétique de l'hôte. Le microbiote des personnes âgées est moins diversifié et cette perte de la richesse et de la variété commensale peut être rapportée à l'apparition de la sénescence dans un certain nombre de processus physiologiques (Fig. 1).

### Quels sont les outils pour étudier le microbiote ?

Le séquençage de nouvelle génération a révolutionné et accéléré les découvertes dans le domaine du microbiote : grâce au séquençage haut débit, on a pu analyser la diversité microbienne en ayant accès aux séquences des souches anaérobies, pour lesquelles les protocoles de culture in vitro ne sont pas encore mis au point. Environ 85 % des souches ne sont connues que par la séquence de leurs gènes [7,8]. La métagénomique a bénéficié de protocoles optimisés d'extraction de l'acide désoxyribonucléique (ADN) bactérien ainsi que des performances des séquenceurs de nouvelle génération qui permettent un séquençage en profondeur donnant accès à des séquences d'ADN peu représentées [9,10]. Ces expériences ont été principalement réalisées à partir d'ADN bactérien extrait des selles, le tractus gastro-intestinal étant le compartiment de l'organisme le plus densément colonisé. Des études récentes ont montré que le séquençage à haut débit est faisable à partir de microbiote vaginal, cutané, pulmonaire ou nasal, permettant ainsi de mettre en évidence la grande diversité du microbiome cutané [11].

Une fois établi le profil du microbiome, l'analyse de la composition des compartiments microbiens est réalisée soit longitudinalement, soit en comparant la diversité du microbiome dans de grandes populations de patients par rapport à une cohorte de donneurs sains.

Les études longitudinales ont pour but de suivre l'évolution de la diversité du microbiome chez un donneur à des temps différents (comme la composition des fèces d'un enfant à partir de sa naissance ou bien la variation du microbiote de patients du début et tout le long de la progression d'une maladie chronique). Ce genre d'études longitudinales a permis, par exemple, de mettre en évidence

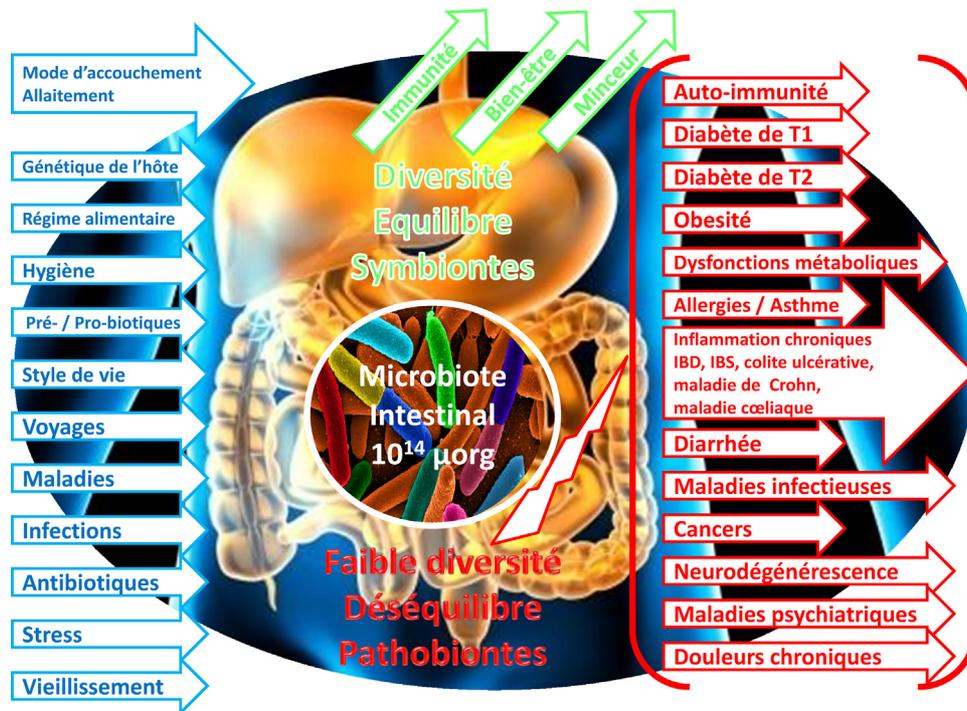


Figure 1. Écologie du microbiote et étiologie des pathologies chroniques.

qu'une baisse significative de l'abondance de certaines souches bactériennes précède la séroconversion chez des enfants à risque pour le diabète de type 1 [12]. Les comparaisons de la diversité du microbiome dans des populations a permis d'identifier des signatures associées à diverses pathologies. Ces analyses décrivent une association entre la présence/l'absence de certaines souches bactériennes et une maladie ce qui permet de construire des hypothèses reliant les dysbioses et l'étiologie d'un certain nombre de pathologies. Ces associations ont permis de relier un grand nombre de maladies chroniques non transmissibles majeures et des profils de dysbiose intestinale [13,14]. Pour les maladies d'étiologie inconnue et sans traitement préventif ou remède disponibles, on a pu montrer que la symbiose homme/microbes a été durablement modifiée, l'hôte et le microbiote échangent alors des signaux induisant une aggravation concomitante de la maladie et de la dysbiose. Par exemple, un microbiote altéré va promouvoir l'hyperperméabilité de l'intestin ainsi que l'inflammation de son épithélium, cette dernière induit alors un stress oxydatif qui aura pour conséquence l'aggravation des modifications du microbiote [15–17].

Les pathologies peuvent être liées à des perturbations de l'équilibre écologique et de la symbiose globale qui vont favoriser le risque d'infections opportunistes et l'occurrence d'inflammations chroniques. Cependant, il faut maintenant essayer de comprendre les mécanismes sous-jacents par lesquels les changements de la composition du microbiote intestinal contribuent à l'apparition et à la progression de ces maladies. De façon évidente, les signatures associées à une pathologie donnée devraient être établies à partir de populations de taille suffisante pour s'affranchir de la variabilité individuelle due à la génétique des patients et à de nombreux autres facteurs perturbant la symbiose du

microbiote. Enfin, la compréhension de comment un environnement pathologique interagissant avec un écosystème microbien en évolution permanente peut transformer une symbiose homme/microbes pour tendre vers un état de dysbiose stable, va être la source de nouvelles découvertes dans le domaine de l'étiologie des maladies.

## Le microbiote en tant qu'outil de stratification

Comment transformer ces progrès technologiques de façon à améliorer le diagnostic des patients et la prise en charge de soins ? Nous proposons, dans un premier temps, d'expliquer comment l'analyse du microbiote est en train de devenir un outil original de stratification. Les campagnes de séquençage du métagénome à haut débit publiées ces six dernières années couvrent un grand nombre d'affections chroniques, allant de celles liées au métabolisme aux maladies auto-immunes.

## L'analyse du métagénome

Les outils utilisés diffèrent entre les études et sont soit le séquençage de l'ARNr 16S, soit le séquençage complet du microbiome associé à la quantification du nombre de gènes. Les études d'associations faites sur le métagénome total ont été réalisées à partir de protocoles différents et de populations de tailles très variables. Étonnamment, les maladies qui montrent une ségrégation significative entre les patients et les individus sains sur la base de la diversité du microbiome sont très diverses et sont indiquées dans le [Tableau 1 \[18–49\]](#).

**Tableau 1** Quelques exemples de pathologies associées à une dysbiose [18–49].

Maladie	Système d'analyse	Références
Diabète de type 1	16S rRNA	[18–20]
Diabète de type 2	Séquençage haut flux	[21,22]
Obésité et syndrome métabolique	Séquençage haut flux	[23,24]
Asthme	16S rRNA	[25]
Allergies alimentaires	16S rRNA	[26–28]
Eczéma	16S rRNA	
Atopie	16S rRNA (microbiote cutané)	
Maladies inflammatoires intestinales/syndrome du côlon irritable/maladie de Crohn	16S rRNA et séquençage haut flux	[29–33]
Colite ulcéraive		
Maladie cœliaque	16S rRNA	[34–36]
Autisme	Séquençage haut flux et PCR quantitative	[37,38]
Cirrhose du foie	Séquençage haut flux	[39]
Stéatohépatite métabolique	16S rRNA	[40]
Sclérose en plaques rémittente/récurrente	16S rRNA	[41]
Arthrite rhumatoïde	16S rRNA	[42]
Cancer du côlon	16S rRNA et PCR quantitative	[43–45]
Entérocolite nécrosante	16S rRNA	[46]
Colite à <i>Clostridium difficile</i> et diarrhée associée à la prise d'antibiotiques	16S rRNA	[47]
Colonisation par des bactéries résistantes	16rRNA	[48,49]

Un premier exemple de stratification des patients par l'analyse de métagénome consiste en la surveillance de la maladie ou le suivi de l'état de santé des patients. Bien sûr, la colonisation par des pathobionts (c'est-à-dire les souches potentiellement pathogènes qui, en temps normal, sont présentes comme symbionts) pourrait en faire partie mais ceci ne nécessite pas de séquencer tout le métagénome. De façon intéressante, la mise en évidence d'une modification de l'écosystème du microbiote, dans des cohortes de patients souffrant des pathologies citées dans [Tableau 1](#), pourrait devenir une façon d'identifier la cause de la maladie et de prévenir son apparition. Il a été montré par exemple que l'on peut prévoir une entérocolite nécrosante chez des nouveau-nés car la dysbiose précède l'apparition de la maladie, ce qui permet de prétraiter rapidement les enfants à risque avec des probiotiques [46].

Des études d'associations couvrant tout le métagénome (*metagenome wide association studies* ou MWAS) ont été aussi utilisées pour vérifier la résilience du microbiote après une dysbiose induite par des médicaments, comme des antibiotiques ou des chimiothérapies anticancéreuses [50–52].

La sévérité et la progression des maladies pourraient être contrôlées par des analyses longitudinales du métagénome. Ceci a été le cas par exemple pour l'obésité, la bronchopneumopathie chronique obstructive, la pancréatite, l'arthrite inflammatoire chronique et stéatohépatite métabolique [53–57]. Dans cette dernière maladie, la présence d'ADN bactérien d'une souche spécifique, identifiée par MWAS, a été mise en évidence dans des échantillons de sang de patients et peut devenir un biomarqueur de la maladie simple et non invasif, qui pourrait remplacer des biopsies du foie [58]. Toutefois, d'autres techniques échographiques non invasives permettent maintenant de faire ce diagnostic.

Le suivi longitudinal de personnes à risque a permis la sélection de souches bactériennes dont la présence ou l'absence, tout comme les modifications de la diversité du microbiote intestinal, sont des prédicteurs de l'apparition ou de l'aggravation de maladies chroniques, comme par exemple dans le diabète de type 1, la sclérose en plaques, la maladie de Crohn, certains cancers ou les allergies alimentaires [59–64]. Ici aussi, le *monitoring* peut permettre de prendre des mesures comme des soins préventifs, l'adaptation de la prise en charge clinique et de découvrir de nouvelles thérapies qui permettront de modifier le microbiote.

Un dernier type d'études consiste à exploiter les profils du microbiome afin de stratifier les répondeurs et les non-répondeurs à certains traitements. On peut trouver des exemples dans les publications sur les réponses aux régimes hypocaloriques chez les patients obèses, aux statines, à la metformine ou à la digoxine [22,65–67]. Dans ces exemples, des souches spécifiques du microbiote intestinal jouent un rôle fondamental dans le métabolisme des médicaments, montrant qu'elles doivent être prises en compte dans les études pharmacocinétiques. D'autres exemples pour lesquels la prédiction des conséquences du traitement est fondamentale ont été, d'une part, la mise en évidence de l'impact de la diversité du microbiote du donneur sur le risque relatif de mort prématurée après transplantation de cellules souches hématopoïétiques [68], ou ; d'autre part, la corrélation entre le microbiome intestinal et le risque d'infection sanguine après traitement de chimiothérapie [69]. Finalement, cet outil de stratification a été exploité de façon élégante par le *monitoring* de la composition du microbiote intestinal des patients répondant aux traitements avec les inhibiteurs de checkpoints immunologiques anti-CTLA4 et anti-PD-1 [70,71] ou avec le cycloheximide [72].

Ceci est en train de rentrer dans la pratique clinique de façon à administrer des traitements, certes efficaces mais toxiques, uniquement aux patients qui ont des profils répondeurs, et ouvre aussi la perspective de pouvoir améliorer les réponses à ces traitements en donnant aux patients des compléments sous forme de biothérapeutiques vivants (voir ci-dessous).

Ainsi, nous avons passé brièvement en revue comment le MWAS est en train de devenir un outil extrêmement précis de stratification des patients par l'identification

de biomarqueurs non invasifs et bon marché mais aussi comment il va permettre une nouvelle approche de la prise en charge et du suivi des malades.

Un nouveau degré de complexité s'ajoute avec les nouvelles études de méta-transcriptomique, de méta-protéomique et de métabolomique, qui complètent la méta-analyse du microbiote et vont probablement permettre aussi de générer des hypothèses mécanistiques ainsi que de découvrir des nouveaux biomarqueurs de stratification potentiels [73].

## Recommandations

### Pour la recherche fondamentale et clinique

Il faut promouvoir le partage des bases de données et de modes opératoires standardisés pour créer un espace pré-compétitif public/privé qui favorisera des progrès rapides de l'analyse de microbiome et favorisera les collaborations. Les publications actuelles sont difficilement comparables parce que la collecte des échantillons, la qualité de l'extraction de l'ADN, la profondeur du séquençage et les outils de bioanalyse diffèrent énormément entre les laboratoires. En raison de ce manque de standardisation, il est même probable que beaucoup de résultats obtenus à ce jour ne puissent pas être reproduits. Heureusement, des procédures opératoires standardisées sont maintenant proposées et seront indispensables pour les études à venir. C'est le cas pour procédures opératoires standardisées fournies par le consortium International Human Microbiome Standards (IHMS) financé par la Commission européenne [74]. Une façon de réduire ces limitations serait de standardiser les échantillons de référence. Par exemple, un set minimal de souches de référence pourra être déterminé et leur mélange sera distribué de façon à permettre de comparer deux études MWAS ou deux protocoles suivis par des expérimentateurs indépendants. On peut prévoir différents échantillons de références sous la forme de mélanges de souches adaptés aux différentes utilisations selon les populations ou les pathologies étudiées. La recherche pour concevoir ces sets standardisés, leur production et leur distribution pourrait être financée par des partenariats public/privé ou par des consortiums de recherche internationaux. On pourrait aussi proposer la construction de puces dédiées à l'étude de la diversité de microbiote.

### Pour les autorités de santé

Les études les plus pertinentes publiées à ce jour consistent en celles présentant un suivi longitudinal de donneurs. Ces outils permettent de déterminer comment le profil du microbiome varie avec la robustesse conférée par le fait que chaque patient est sa propre référence. Nous devrions, grâce à ces suivis de longue durée, pouvoir donner une définition consensuelle d'une dysbiose comme étant, par exemple, le pourcentage de réduction de la diversité microbienne au fil du temps, ou l'absence ou la moindre abondance de symbiotes sélectionnés ou de métabolites spécifiques. Le financement de ces études devrait être assuré par des consortiums internationaux ou par des initiatives nationales.

Les résultats consisteront en des signatures génériques et prédictives, dans un ensemble restreint de pathologies

d'intérêt, pour lesquelles le profil du microbiote devrait avoir un impact sur des résultats des traitements. Celles-ci peuvent être choisies par exemple parmi l'autisme, le diabète de type 2, la sclérose en plaques, le côlon inflammatoire, la stéatose hépatique métabolique, la greffe de cellules souches hématopoïétiques, le Guillain-Barré, les différentes formes de neurodégénérescence, ou la résilience du microbiote suite aux traitements antibiotiques ou de chimiothérapie antitumorale. Ces études devraient aboutir à la validation de l'enregistrement de biomarqueurs dérivés du microbiote et de diagnostics compagnons par France Génomique et d'autres autorités d'enregistrement, une fois leur fiabilité, leur spécificité et leur sensibilité validées par des essais cliniques. Afin d'atteindre ce but, nous recommandons d'élargir les collections d'échantillons en incitant les sponsors d'essais cliniques à stocker et à analyser les prélèvements de selles avant et après les traitements dans un grand nombre d'études cliniques, et plus particulièrement dans des études de première ligne. Pour ce faire, il faut anticiper que ces études exigent d'informer médecins et patients et d'obtenir le consentement éclairé du patient étendu à « l'utilisation de données produites par l'analyse d'échantillons collectés dans le but de concevoir des outils diagnostiques, pronostiques et de surveillance générique dans des affections chroniques non transmissibles ».

Nous devrions aussi prévoir les outils pour intégrer ces ensembles de données très complexes dans la pratique clinique. Finalement, ces recommandations devraient aboutir à la référence de l'analyse du microbiote comme outil de diagnostic, de pronostic et de stratification dans la nomenclature pour en faciliter l'adoption par les laboratoires d'analyse. Les goulots d'étranglement que l'on peut anticiper dans ce contexte englobent :

- le développement d'outils de gestion de données confidentielles et de comparaison avec des données -omics disponibles pour la population générale (base de données partagées nationale) ;
- le développement d'algorithmes d'analyse automatisée de données -omics brutes ;
- la présence d'équipes techniques à l'hôpital pour assurer le lien entre la génération (sous-traitée) de données -omics, l'analyse et la génération de résultats formatés de façon convenable et leur communication aux cliniciens sous format électronique ;
- la formation des cliniciens à l'interprétation de profils métagenomiques des patients.

## Le microbiote comme source de nouveaux médicaments, d'adjuvants et de cibles thérapeutiques

Une fois qu'un lien clair est établi entre un phénotype pathologique et une forme de dysbiose, il faut essayer de l'exploiter pour mettre au point des stratégies thérapeutiques originales. Que pouvons-nous apprendre de ces modifications de profils du microbiome sur les interactions réciproques entre microbes et hôte ? Comment pouvons-nous transformer le décodage de ces interactions entre

l'hôte, la nourriture et les micro-organismes en de nouvelles solutions thérapeutiques ?

Un outil, récemment mis au point pour déchiffrer des interactions entre bactéries et les cellules humaines, est la métagénomique fonctionnelle [75]. L'ADN bactérien est extrait d'une population microbienne puis débarrassé des séquences d'ADN du donneur humain, de grands fragments sont clonés dans des phagemides pour être exprimés par des souches bactériennes Gram négatif et Gram positif, transformées par ces phagemides recombinants. Les clones sont répartis dans des plaques de criblage, cultivés dans des conditions adaptées puis lysés. Les surnageants peuvent alors être testés pour une activité spécifique dans des tests phénotypiques. Ces bibliothèques métagénomiques peuvent être obtenues à partir du contenu intestinal de donneurs sains et de patients [76].

Une telle plateforme a été mise en place pour la première fois dans le cadre du consortium MetaHit, financé par l'Union européenne, et élargie ensuite au sein l'unité métagénopolis de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA ; financement Agence nationale pour la recherche-programme des investissements d'avenir [ANR-PIA]) [77]. Les mécanismes de dialogue entre symbiotes et cellules humaines sont alors déterminés par l'identification, par mutagenèse insertionnelle, du ou des gène(s) impliqué(s) dans l'activation du phénotype étudié, suivie par la déconvolution de son mécanisme d'action. Plusieurs criblages phénotypiques ont été déjà réalisés comme, par exemple, dans des modèles de cellules épithéliales intestinales sur lesquelles ont été étudiées l'intégrité de la couche épithéliale, l'inflammation, sur la maturation de cellules immunitaires et l'immuno-modulation, la différenciation et la prolifération cellulaires, ou bien encore, certaines régulations métaboliques et la sécrétion d'hormones. Ceux-ci ont permis l'identification de mécanismes d'action originaux et ont donné lieu à la publication de nombreux articles et brevets [76,78–88].

Évidemment, cette approche ne peut pas reproduire toute la complexité du milieu intestinal et pourrait passer à côté d'un certain nombre de modulateurs en raison du pH, de la pression d'oxygène, de la coopération microbienne et des interactions entre micro-organismes. Les améliorations des modèles translationnels, comme le développement récents de puces d'organoides, fourniront des outils supplémentaires pour surmonter une partie des défis qui relèvent de la complexité de l'hôte et des problèmes de différenciation cellulaire des cellules humaines afin de disposer de systèmes de culture *in vitro* pertinents [89].

Néanmoins, cet outil de métagénomique fonctionnelle va permettre d'exploiter les 99 % du génome du supra-organisme humain pour la découverte de nouvelles cibles et de nouvelles molécules en tenant compte de l'immense diversité du microbiome jusqu'ici inexploité en raison de l'impossibilité de cultiver la plupart des souches qui le composent. De plus, des approches de métabolomique non biaisées peuvent compléter cette démarche et mener à l'identification rapide de substances potentiellement actives ou, au contraire, toxiques. Plus récemment, il a été montré que des différences dans la composition et la fonction des communautés microbiennes intestinales peuvent expliquer les variations entre individus dans les réponses cytokiniques aux stimulations microbiennes chez

les personnes saines dans le cadre du Projet de génomique fonctionnelle humaine (HFGP) [90].

De plus, ces études de métagénomique fonctionnelle ont été précédées par le séquençage à haut débit du microbiome intestinal et cutané qui a permis de séquencer environ 10 millions de gènes bactériens. Une vaste méta-analyse, adaptée à la complexité du microbiote, a permis la reconstitution de l'intégralité du génome de souches inconnues. La bioanalyse des séquences a permis ensuite d'identifier de nouvelles enzymes et de représenter leurs structures 3D. Une fois leur rôle physiologique déterminé, celles-ci peuvent devenir une nouvelle source de cibles à valider et qui pourront faire l'objet de nouveaux criblages de petites molécules, gérés par les processus de découverte de médicaments classiques [91–95].

## Recommandations

La qualité des outils va permettre de comprendre comment les microbes et les cellules humaines interagissent afin de découvrir de nouveaux métabolites et des cibles moléculaires originales. Des protocoles standardisés pour l'extraction d'ADN microbien et le clonage permettront une bonne représentativité des souches aérobies et anaérobies. Des procédures opératoires standardisées seront nécessaires pour obtenir des banques de travail exploitables, qui pourraient être partagées dans le cadre de consortiums public/privé. Il faudrait prioriser les indications cliniques les plus pertinentes, pour lesquelles la solidité et la fiabilité des stratifications des patients ainsi que les résultats d'expériences de transplantation dans des modèles animaux axéniques ont montré que la dysbiose est causale dans la maladie. Un autre pré-requis est la disponibilité de banques de microbiome, produites, par exemple, à partir de pools de donneurs, qui diminueront les sources de variations interindividuelles (comme par exemple la génétique, la nourriture et le style de vie).

Nous voudrions aussi suggérer de retenir les leçons de ce qui s'est passé autour du séquençage et de la protection intellectuelle du génome humain et, de ne pas bloquer l'accès aux outils, en trouvant un moyen de laisser les chercheurs accéder librement aux banques et aux bases de données partagées. Ce contexte accélérera à coup sûr le progrès des connaissances et les découvertes de qualité à partir de matériel et de moyens de grande qualité. Afin d'atteindre ce but, nous proposons de construire ces outils dans le cadre d'un projet de groupe de gouvernance stratégique IMI2, ou d'un Institut européen d'innovation et de technologie (IET)/le financement de produits de santé correspondant à un TLR > 3 ou enfin par une action conjointe de création de biobanques financée par les ministères de la Santé et de la Recherche des pays européens.

## Le microbiote comme cible de modulation fonctionnelle

### Nutrition fonctionnelle à visée préventive ou curative

Le concept de préservation de la santé, voire de prévention du risque de maladie, par le biais d'aliments fonctionnels a

promu le développement d'une première génération de probiotiques et de prébiotiques. Les probiotiques sont abordés en détail dans cet article (paragraphe ci-dessous) en parallèle de produits innovants contenant des microorganismes vivants. Pour ce qui concerne les prébiotiques, le concept initial suggérait qu'une structure moléculaire définie soit capable de promouvoir un nombre limité de microorganismes « bénéfiques » d'une manière spécifique. De plus en plus d'observations invitent à concevoir un nouveau paradigme dans la modulation par les fibres et prébiotiques du microbiote intestinal et ce faisant de la symbiose microbiotes-hôte. Parmi les paramètres majeurs, cibles de modulation, on peut citer la robustesse écologique globale et plus précisément la diversité du microbiote et sa résilience.

Une faible richesse en gènes ou une faible diversité d'espèces serait l'une des conséquences des changements d'habitudes alimentaires typiques de la transition nutritionnelle opérée durant les 2 à 3 générations passées. La réduction drastique de l'apport en fibres laissant place aux sucres rapides, aux protéines et graisses animales, qui caractérisent cette transition nutritionnelle, est effectivement vouée à impacter le microbiote de façon marquée. Plus de la moitié de l'apport en carbone et de l'énergie que reçoit le microbiote intestinal est effectivement apportée par les fibres alimentaires, tandis que l'autre partie vient des sécrétions endogènes, notamment des mucines. Pour le genre *Homo*, pendant plus de 100 000 générations, 60 % de l'apport énergétique quotidien venait de sources végétales (W. Wahly, communication personnelle). La transition nutritionnelle a amené, initialement dans les pays occidentaux et aujourd'hui dans le monde entier, cette part de fibres à comme étant moins de 15 g par jour. Bien que cela n'en apporte pas la démonstration d'un lien de causalité, ceci est à relier avec les observations faites lors de comparaisons de microbiotes montrant que les populations rurales plutôt isolées ont toujours un microbiote d'une plus grande richesse que les populations urbaines modernes d'Europe ou d'Amérique du nord (on peut ici citer les comparaisons entre Burkina Fasso et Italie, Malawy ou Venezuela et États-Unis, Indiens Yanomami d'Amérique du sud, tribus Hadza de chasseurs-cueilleurs et européens [96–99]) (Fig. 2).

Un travail préclinique utilisant des rongeurs gnotobiotiques à microbiote humain [100] montre même que le retrait des fibres de l'alimentation peut induire des pertes définitives de bactéries commensales qui pourraient expliquer les constats ci-dessus bien que de nombreux facteurs confondants ne peuvent être exclus.

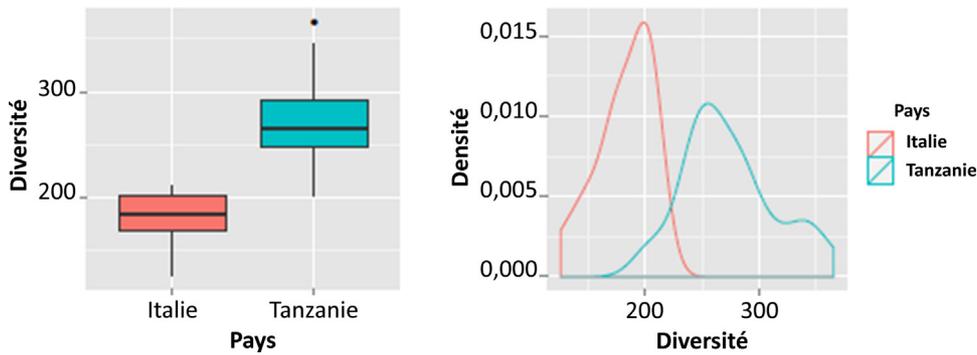
Un travail descriptif a permis de relier l'apport de fibres dans les habitudes alimentaires et des paramètres tels que diversité/richeesse et entérotypes [101,102]. Les entérotypes sont ces trois arrangements écologiques qui stratifient les microbiotes intestinaux humains. Ils se distinguent chacun par un genre microbien dominant, qui leur donne leur nom respectif : *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus* [103]. La richesse en gènes du microbiote et les entérotypes sont connectés de sorte que l'entérotype *Bacteroides* est associé à une faible richesse en gènes du microbiote tandis que les deux autres sont associés à une grande richesse en gènes. L'entérotype *Bacteroides* est aussi celui que Wu et al. [101] observent comme étant associé à une prise alimentaire pauvre en fibres et au contraire riche en protéines et graisses

animales. L'intégration de la prise alimentaire habituelle a même montré qu'un index de fibres alimentaires calculé sur la base de l'ingestion de fruits et légumes sur une rétrospective de 3 jours est prédictif de la richesse en gènes et espèce chez le jeune adulte en bonne santé [104].

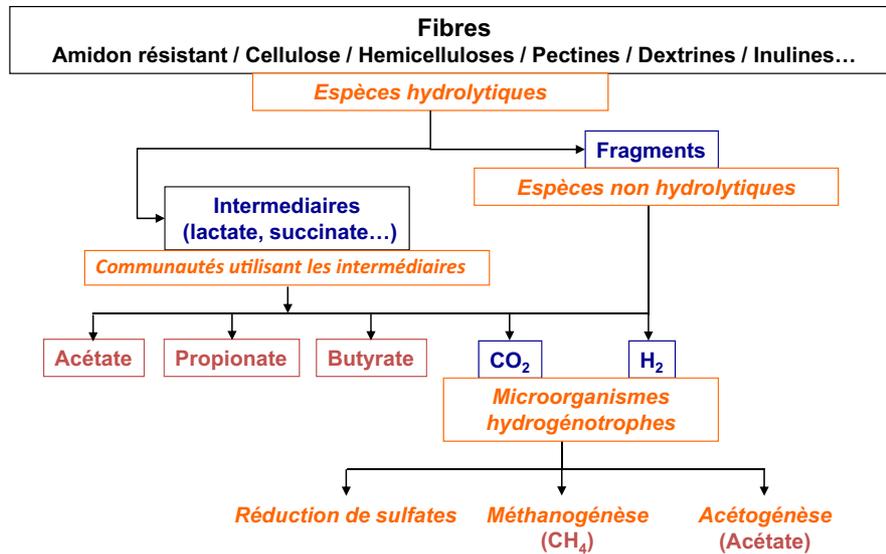
Dans le même temps, quelques études suggèrent le potentiel des fibres alimentaires à favoriser une grande richesse du microbiote. Lors d'une intervention chez des sujets en surpoids ou légèrement obèses [23], un régime peu calorique, enrichi en protéines et apportant une diversité de fibres alimentaires a permis l'augmentation de 25 % de la richesse en gène du métagénome des individus ayant initialement un microbiote particulièrement appauvri. Dans le cadre d'un essai randomisé en *cross-over* avec un apport de 10 ou 40 g de fibres par jour [104], les volontaires ayant l'entérotype *Bacteroides* au départ, typiquement associé aux microbiotes peu riches, ont eu tendance à changer d'entérotype plus fréquemment que les individus d'entérotype *Prevotella* au départ.

Le mode d'action des fibres peut être modélisé. Le début de la chaîne trophique microbienne de dégradation des polymères d'origine végétale (Fig. 3.) est occupé par des spécialistes au plan métabolique. Leur activité hydrolytique nourrit d'oligomères et de sucres simples le reste du microbiote allant des microorganismes fermentaires jusqu'aux utilisateurs finaux des gaz de fermentation H<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>. Si les hydrolytiques sont vus comme des spécialistes, cela fait référence à l'exigence d'un répertoire enzymatique dédié et large. Ainsi, même pour dégrader un polymère aussi simple que la cellulose, chaîne de glucoses liés par des liaisons beta-1,4, plus de 20 enzymes sont communément nécessaires. Cela suggère que les acteurs dominants d'une telle niche auront acquis et maintenu au fil de l'évolution un réel avantage écologique. Une exploration métagénomique a documenté cela [105]. Cela suggère également que retirer de l'alimentation un apport donné de fibres pourrait entraîner la perte des micro-organismes spécialistes correspondant, soit par un relais en sous-dominance, soit par une perte définitive. C'est ce qu'ont suggéré les travaux récents sur souris gnotobiotiques associées à une flore humaine, montrant cette perte définitive après quelques générations [100]. Les travaux montrant un gain de richesse lors d'interventions nutritionnelles suggèrent la possibilité de récupérer des populations actives en dominance alors qu'un faible apport en fibres avait pu les reléguer à des niveaux sous-dominants. Cela invite enfin à un changement de paradigme allant du concept de prébiotique qui préconise l'apport d'une structure moléculaire unique pour stimuler un taxon bactérien particulier à une approche globale préconisant l'apport d'un mélange complexe de fibres pour augmenter la diversité globale de l'écosystème intestinal.

Il n'est pas exclu que l'écologie, la composition ou les fonctions du microbiote conditionnent son comportement en réponse à des modulateurs nutritionnels. Des travaux récents ont montré que la réponse à un mélange de bactéries lactiques apportées comme probiotique est modulée par la configuration initiale du microbiote, qui en déterminerait la permissivité [106,107]. De même les travaux de Flint et al. indiquent qu'en l'absence de certaines espèces bactériennes spécialistes, le microbiote peut être totalement non impacté par des apports particuliers en fibres [108]. La possibilité de personnaliser des stratégies nutritionnelles



**Figure 2.** Comparaison de la diversité microbienne (en nombre d'espèces, à gauche) et de la répartition des populations en fonction de la diversité du microbiote (à droite) entre deux cohortes d'individus : citadins italiens et chasseurs-cueilleurs tanzaniens. Communication de Julien Tap, basée sur une nouvelle analyse des données obtenues par Schnorr et al. [99] (Italiens versus Hazda – 2014).



**Figure 3.** Chaîne trophique microbienne du tractus digestif illustrant les interactions des différents groupes fonctionnels conduisant à la production de produits finaux comme les acides gras à chaîne courte (acétate, propionate, butyrate) et les gaz de fermentation (H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>S).

exigera que ces paramètres soient plus largement documentés. Dans un travail pionnier, Elinav et Segal ont mis en place une approche globale inter-connectant la prise alimentaire, le taux de glucose sanguin et le profil du microbiote chez des patients diabétiques pour aboutir à des recommandations nutritionnelles individualisées améliorant le contrôle de la glycémie [109].

Dans le domaine du cancer colorectal, des données épidémiologiques et des études cliniques indiquent que le risque de cancer est augmenté par la consommation de viande non transformée ou de plats préparés tandis qu'il est réduit par l'apport de fibres, et que la composition des aliments peut affecter la santé et le risque de cancer via ses effets sur le métabolisme du microbiote colique. Le butyrate qui est l'un des produits de la fermentation microbienne exerce un ensemble de propriétés anti-néoplastiques et anti-inflammatoires, favorisant la santé intestinale. C'est la source d'énergie privilégiée des colonocytes ; il maintient l'intégrité mucoale, réprime l'inflammation et la carcinogénèse par ses effets sur l'immunité, l'expression de gènes et les modulations épigénétiques. À l'inverse, les protéines et acides biliaires favorisés par l'apport de graisses sont

métabolisés par le microbiote en composés inflammatoires et/ou carcinogènes, accroissant le risque de développements néoplasiques. Ces effets de métabolites microbiens peuvent être modifiés par le régime alimentaire dans un but préventif contre le cancer colorectal avec une pertinence toute particulière dans les sociétés occidentales [110].

Il y a bien une forte suspicion que le régime alimentaire pourrait influencer l'inflammation intestinale via une altération du microbiote gastro-intestinal induisant une perméabilité et un tonus inflammatoire. Des données robustes qui documenteraient une altération via l'aliment des maladies inflammatoires de l'intestin font cependant défaut. De ce fait, des recommandations basées sur des preuves scientifiques manquent toujours [111]. Alors que le microbiote de patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) est altéré par rapport à celui du sujet sain, il n'y a pas d'évidence que changer le microbiote des patients par l'alimentation puisse être à même de promouvoir la guérison. Néanmoins, dès lors que le régime occidental post-transition nutritionnelle (riche en protéines et gras saturés et pauvre en fibres végétales) augmente le risque d'IBD,

une approche alternative basée sur un régime plus équilibré serait envisageable [112].

## Modification globale du microbiote

Nous avons vu ci-dessus qu'un faible nombre de gènes bactériens peut être considéré comme un marqueur de l'état de santé, et en cela une cible pour la modulation du microbiote. C'est aussi une signature pertinente des répondeurs/non-répondeurs aux traitements ou un biomarqueur de la sévérité ou de la progression de maladies chroniques vers les stades les plus graves.

Dans les MICI, ce serait une signature de fréquence des récurrences de phases aiguës de maladies : un faible compte de gènes serait associé à des récurrences plus fréquentes (plus d'une par an ; Guarner et al., communication personnelle). Dans la cirrhose, le nombre de gènes est inversement lié à la sévérité de la maladie sur la base des scores de MELD et CTP [113]. Ces observations suggèrent un potentiel de *monitoring* au fil du temps représentant une aide pour le clinicien dans le processus de décision et de prise en charge clinique. Les outils diagnostics appropriés qui instruiraient de façon sensible, spécifique et rapide sur la richesse du microbiote à un coût raisonnable (quelques euros tout au plus) répondraient à un réel besoin de la clinique.

Le paramètre global qu'est le nombre de gènes est associé à des signatures basées sur quelques espèces. Quatre espèces métagénomiques permettent de construire un modèle très discriminant. Cela suggère qu'au-delà d'une valeur diagnostique, des symbiotes pourraient avoir une bioactivité pertinente pour la préservation de l'homéostasie intestinale. Ce point sera développé au chapitre suivant. L'un des messages de ces travaux est que la modulation de symbiotes bioactifs nouvellement identifiés pourraient être des cibles spécifiques d'une nutrition fonctionnelle innovante.

La dysbiose a longtemps été documentée et vue comme une altération strictement circonscrite au microbiote. Comme indiqué précédemment, la dysbiose a été décrite dans nombre de maladies immunes. Après plus de 20 ans de travaux descriptifs, des caractéristiques récurrentes de la dysbiose structurent une vision qui ouvre la voie à de réelles innovations. Cela souligne l'importance des interactions fines entre le microbiote et l'hôte en symbiose. Du côté du microbiote, la dysbiose se caractérise par une faible richesse, la réduction de symbiotes typiques du microbiote du sujet sain – souvent des *Firmicutes* dominants – et la prolifération de pathobiontes – entérobactéries notamment. En parallèle du côté de l'hôte, les caractéristiques récurrentes de la dysbiose comprennent l'altération de la perméabilité intestinale – on parle d'hyper-perméabilité et de « leaky gut » –, l'inflammation de bas grade ou aiguë et le stress oxydatif.

Bien que cela n'ait pas encore été développé chez l'Homme, une approche holistique et combinatoire ciblant les diverses caractéristiques de la symbiose altérée semblerait pertinente. Cela consisterait à :

- promouvoir la richesse du microbiote ;
- réduire la perméabilité intestinale ;
- modérer l'inflammation ;
- éliminer les signaux de stress oxydant.

Un symbiotique de nouvelle génération pourrait promouvoir la symbiose par la combinaison d'effets synergiques d'ingrédients bioactifs alimentaires et d'ingrédients ou d'activités microbiennes ciblant les altérations de l'homéostasie intestinale. Quelques possibilités basées sur les bioactifs alimentaires sont discutées ci-dessous.

## Gestion de facteurs de stress abiotiques

Les facteurs de stress abiotiques peuvent comprendre une variété de molécules d'origine endogène ou environnementale qui sont autant de perturbateurs de l'homéostasie intestinale.

### Gestion du stress oxydant

Dérivant de l'inflammation au niveau tissulaire, des radicaux libres liés à l'oxygène ou le monoxyde d'azote sont des agresseurs vis-à-vis des cellules. Des enzymes bactériennes sont connues pour leur pouvoir de détoxification des radicaux. Bien que cela soit moins bien documenté, de telles activités peuvent aussi être portées par des molécules produites par les tissus humains, avec un rôle potentiel de modulateur de signaux microbiens comme illustré précédemment. À ce jour, les activités les mieux documentées sont quelques activités catalase et super-oxyde dismutase exprimées par quelques bactéries lactiques. Le potentiel anti-oxydant de polyphénols et autres phénoliques d'origine végétale est pour sa part bien connu. Cependant, le potentiel de bioactivation et de renforcement de cette activité antioxydante par des enzymes microbiennes (par exemple l'activité rhamnosidase) mériterait d'être documenté davantage. Le domaine de gestion du stress oxydant est globalement peu documenté et ceci pointe clairement vers un potentiel d'innovation.

### Gestion de la résistance aux antibiotiques

La gestion de l'expansion, dans l'environnement hospitalier notamment, de la charge en microorganismes multi-résistants aux antibiotiques est devenue un besoin clinique majeur. Des solutions innovantes sont attendues et dans ce contexte, l'écosystème des *startups* françaises de la biotech santé montre le chemin. Par exemple, Da Volterra [114] développe une solution permettant le piégeage des résidus d'antibiotiques à l'aide de bioactifs libérés dans l'intestin. Cela permet d'éviter l'exposition du microbiote colique normal aux antibiotiques à un site où leur action n'est pas souhaitée, voire délétère puisque la rupture de la fonction de barrière peut s'accompagner d'un risque infectieux majeur (colite à *Clostridium difficile*). Eligo Bioscience est une autre *startup* du domaine [115] qui exploite la technologie CrispR-Cas9 d'extinction de gènes vers ce qui serait la première approche de knock-out écologique dirigé jamais proposée. De son côté MaaT Pharma a mis en place la première plateforme GMP européenne de conditionnement de contenus intestinaux humains, en appui à son essai clinique en cours visant, entre autres, le contrôle du portage de bactéries multi-résistantes par transfert de microbiote auto-logue suite à un traitement combinant chimiothérapie et antibiothérapie. Le profilage métagénomique sera le moyen idéal pour apporter la reconnaissance fine de la dynamique et de la plasticité génétique associées dans l'environnement

intestinal. Cela devrait à terme aider au design de nouveaux antibiotiques et traitements associés, répondant à un besoin majeur de santé publique.

## Recommandations

### Changement de paradigme en nutrition fonctionnelle : management écologique du microbiote

Au-delà de stratégies visant à promouvoir de façon spécifique des microorganismes commensaux « bénéfiques », des efforts doivent être déployés pour :

- documenter le lien entre richesse en gènes et espèces, robustesse écologique et statut de santé (risque de déclenchement ou d'aggravation de conditions chroniques ; réponse à un régime ou une thérapie) ;
- appliquer de nouveaux outils de génomique fonctionnelle, de métagénomique, de métabolomique et de modélisation pour documenter des approches de modulation du microbiote ;
- évaluer les possibilités de (et bénéfiques à) moduler les paramètres de l'écologie intestinale.

### Outils de *monitoring* des paramètres de l'écologie intestinale ayant une pertinence en santé

L'écologie du microbiote apparaît de plus en plus comme un indicateur solide de l'état de santé et de résistance à un ensemble de facteurs de stress environnementaux, et même dans certains cas comme un prédicteur de réponse/non-réponse ou d'aggravation de conditions chroniques. La diffusion à l'hôpital de tels indicateurs l'état de santé va exiger le design et la validation d'outils basés sur des signatures qui pourront aussi être considérées comme des cibles à moduler grâce à des bioactifs alimentaires ou des molécules spécifiques. Des « devices » et des kits peu onéreux devront être développés et validés pour permettre un suivi à la fois facile, sensible et spécifique de ces paramètres. Idéalement des outils numériques d'acquisition cumulée de données massives devraient être mis en place pour un partage de ces informations. Les cibles privilégiées pourraient être :

- la richesse/diversité (à travers des modèles brevetés combinant quelques espèces signatures ou à travers des biomarqueurs alternatifs plus globaux) ;
- la robustesse = résistance et résilience (paramètres qui ne seront bien appréciés qu'à l'aide d'études prospectives longitudinales).

### Définition de la preuve de concept (PoC) minimale requise pour un développement translationnel

Le besoin de produits industriels standardisés est très clair, mais au plan réglementaire, il est essentiel de fournir les recommandations sur l'approche à mettre en œuvre et la démonstration minimale de preuve de concept à apporter pour que de tels outils et dispositifs soient mis à disposition de la clinique avec un espoir de remboursement s'ils s'accompagnent de bénéfices avérés.

### Traitements personnalisés : où commence-t-on et jusqu'où va-t-on ?

Dans quelles indications ? Le groupe de travail de cet atelier considère que les efforts devraient porter en premier lieu sur les conditions chroniques les plus sévères et des contextes considérés comme incurables (diabète de type 1, oncologie,...), ainsi que des situations dans lesquelles l'équation médico-économique invite à l'action (c'est le cas des désordres psychiatriques sévères dont l'augmentation exponentielle et incontrôlée de l'incidence est particulièrement alarmante). Les biomarqueurs directs ou substitutifs peuvent cependant être encore manquants (voir point précédent).

### Applications à la population générale ; où commence-t-on et jusqu'où va-t-on ?

L'utilisation de la connaissance du microbiome pour définir des stratégies préventives devrait être dédiée à l'augmentation de l'espérance de vie en bonne santé. Il est tout à fait possible de capitaliser sur les découvertes actuelles avec comme visée de servir des groupes de populations spécifiques, par exemple à travers la restauration collective pour les personnes âgées ou les scolaires.

## Le microbiote comme source de produits biothérapeutiques vivants

Au premier abord, ce chapitre pourrait faire référence à des applications bien établies, répondant au concept de probiotiques pour lesquels la définition acceptée au niveau international est « micro-organismes vivants qui, administrés en quantité adéquate, confèrent un bénéfice santé à l'individu ». Comme nous l'illustrerons, il y a une perspective très large pour des innovations dans ce domaine qui dérive des connaissances émergentes sur les probiotiques de nouvelle génération, mais aussi des applications empiriques en clinique allant jusqu'à la transplantation de microbiote fécal.

### Probiotiques de première génération

Dans l'ensemble, les probiotiques représentent un marché en forte croissance pour les fabricants et fournisseurs. Le marché mondial des ingrédients probiotiques, les suppléments et les aliments a augmenté de € 10,2 millions en 2003 à € 12,6 milliards en 2008. Le marché français des probiotiques utilisés comme ingrédients alimentaires industriels représente 21 % du marché en Europe de l'Ouest. Dans ce contexte, Bioprox reste la seule société exclusivement française fournisseur de ferments lactiques et de souches de probiotiques et doit faire face à une concurrence considérable de grands groupes multinationaux. Un certain nombre de souches probiotiques ont été introduites sur le marché dans des formes alimentaires et pharmaceutiques. Les lactobacilles et les bifidobactéries constituent le principal groupe de souches probiotiques commercialisées pour la consommation humaine sous forme de produits alimentaires traditionnels, mais un certain nombre de souches probiotiques sont également proposées dans des formes

pharmaceutiques. Si l'on étend le marché des probiotiques pour inclure des applications purement pharmaceutiques, le potentiel de croissance augmente considérablement et pourrait doubler à long terme. Cela signifie une extension considérable des essais cliniques, mais aussi de l'emploi dans la recherche et développement (R & D). La législation des aliments fonctionnels évolue dans le monde entier en prenant en considération les deux domaines d'applications des probiotiques en alimentation et en médecine.

Plusieurs années de recherche ont permis de bien démontrer que les effets des probiotiques sont totalement dépendants de la souche. Dans le cadre d'applications nutritionnelles, on a beaucoup exploité les bactéries lactiques et bifidobactéries qui posaient peu de préoccupations en termes de sécurité du fait de leur longue histoire d'utilisation par l'Homme. Le nombre de souches « sur le marché » est resté assez limité en Europe et les bioactivités et bénéfices conférés par certaines souches probiotiques ont été bien documentées. Néanmoins, avec le transfert des compétences des agences de sécurité alimentaire des états membres au niveau européen avec la création de l'European Food Safety Agency (EFSA) en 2002, toutes les allégations santé acceptées jusqu'alors ont été retirées et les demandes devaient être soumises à nouveau. Depuis lors, aucune allégation n'a reçu d'agrément, ce qui aurait attesté de la mise en place d'un processus de validation opérationnel, à l'exception de la revendication générique que la symbiose du yaourt comme aide à la gestion de l'intolérance au lactose [116].

La Food and Drug Administration (FDA) américaine applique le même niveau d'exigence de qualité dans la production qu'elle le ferait pour n'importe quel autre traitement médical. Par exemple, un probiotique utilisé comme un médicament doit non seulement remplir les conditions générales de la FDA stipulées plus haut, mais doit aussi être en accord avec les réglementations nationales existantes et les lignes directrices sur les bonnes pratiques cliniques. En revanche, la « Directive 2000/13/CE du Conseil européen sur l'étiquetage, la présentation et la publicité sur les denrées alimentaires » interdit de relier ces aliments à une quelconque propriété pouvant évoquer la prévention, le traitement ou la guérison des maladies humaines. L'International Life Sciences Institute (ILSI) a également défini certains principes généraux et exigences associées [117]. Ce document a servi de base à la réglementation actuelle de l'EFSA. En conclusion, les défis actuels dans le domaine des probiotiques nécessitent une amélioration des connaissances fondamentales, y compris les critères de sélection et d'identification des modes d'action, par le biais de partenariats public-privé afin de fournir des souches probiotiques efficaces et sûres.

Un défaut d'identification de la souche, un manque d'études répétées chez des sujets sains correspondant à la population cible, un manque de preuves en appui ont été les principales limitations avancées. L'inconvénient de la situation actuelle est que, en l'absence d'un processus de validation opérationnel, les consommateurs sont livrés à eux-mêmes pour effectuer leurs propres essais et erreurs à titre individuel...

Malgré cela, de nombreux essais contrôlés, randomisés, en double insu ont été réalisés et compilés dans plus de 60 méta-analyses jusqu'en 2015. Pour donner quelques

exemples, les effets ont été documentés et validés par des méta-analyses pour les diarrhées associées aux antibiotiques [118], les gastro-entérites [119,120], les troubles fonctionnels intestinaux et le confort intestinal [121], la digestion du lactose [122], l'IBD (UC et la pouchite [123]), la colite à *C. difficile* (un seul essai randomisé contrôlé [124]).

Pour ce qui est du statut de médicament, il n'y a à l'heure actuelle que très peu de produits (Ultravure®, Bacilor®, Enterogermina®). Cette situation peut provenir de l'absence de lignes directrices standardisées réglementaires afin d'obtenir une d'AMM. Par extension, bien que quelques essais cliniques aient été réalisés, il n'y a aussi aucun statut pour les bactéries lactiques génétiquement modifiées. En Europe, la réglementation est donc en retard et il y a un réel besoin de mise en place d'instructions dédiées.

## Biothérapeutiques vivants avec souches pures ou cocktails

L'une des raisons pour cet intérêt renouvelé et intense dans le domaine du microbiote est la mise en évidence de la dysbiose dans de nombreux états pathologiques chroniques qui présentent une incidence croissante assez alarmante depuis les années 1950.

Les descriptions initiales de dysbiose avaient souligné la sous-représentation fréquente de symbiotes, contestant les principes de Koch qui veut qu'une seule souche de pathogène soit associée à une maladie et capable d'induire la maladie lorsqu'elle est administrée de façon appropriée. Dans certains cas, l'altération du microbiote peut être soupçonnée comme élément causal, surtout lorsque le transfert du microbiote de patients à des animaux axéniques peut promouvoir un contexte pathologique apparenté dans les modèles appropriés par rapport au microbiote contrôlé de sujets sains. Dans cette logique, certaines espèces de bactéries commensales très fréquemment sous-représentées dans les maladies immunes ont été mises en évidence et finalement bien documentées pour leur bioactivité *in vitro* sur cellules humaines et *in vivo* dans des modèles animaux. C'est le cas pour les espèces présentées dans le [Tableau 2](#).

Pour ces espèces, il existe des souches cultivées qui ont permis de documenter leurs bioactivités. Parfois, de nouvelles souches ont été isolées, ce qui a pu confirmer leur potentiel fonctionnel assez conservé au sein de l'espèce. Même si le cadre réglementaire n'est pas entièrement décrit, certaines sont proposées comme produits biothérapeutiques avec souche unique sous le statut d'aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales (ADDFMS). Pour certains, le mode d'action ou des molécules bioactives ont été identifiés. C'est le cas pour des petites molécules candidates et une protéine de *F. prausnitzii* [125,126] et du PSA pour *B. fragilis*. Enfin les souches des espèces précitées sont aujourd'hui cultivées en masse et incluses en gélules ou sachets permettant l'administration par voie orale pour la mise en œuvre d'essais cliniques devant apporter une preuve de concept de leur bioactivité chez l'Homme. Cela signifie que dans les 4 à 5 années à venir, cette nouvelle génération de probiotiques va émerger et ainsi offrir des outils permettant de mieux gérer les paramètres clés de l'homéostasie

**Tableau 2** Espèces associées à une dysbiose dans un contexte pathologique.

Espèces bactériennes	Association initiale	Autres conditions	Modèles in vivo
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Sous-représentées dans les maladies inflammatoires de l'intestin	Également cancer, diabète, obésité extrême, troubles fonctionnels	Protection contre une inflammation induite
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Sous-représentées dans la prise de poids	<i>Leaky gut</i> et insulino-résistance	Protection contre l'endotoxémie sous régime obésogène
<i>Bacteroides fragilis</i>	Dans des modèles animaux souffrant d'inflammation	Modification de comportement en modèles animaux	Modèles animaux de l'autisme/anxiété
<i>Blautia hydrogenotrophica</i>	Sous-représentées dans les troubles fonctionnels avec ballonnements		Corrige les symptômes du syndrome de côlon irritable
<i>Roseburia intestinalis</i>	Sous-représentées dans l'inflammation		
<i>Christensenella minuta</i>	Sous-représentées dans le syndrome métabolique		
<i>Eubacterium hallii</i>	Surreprésentées dans la sensibilité à l'insuline normale et sous-représentées dans l'insulino-résistance		Associées à la sensibilité à l'insuline améliorée dans la transplantation fécale

intestinale humaine mentionnés ci-dessus (par exemple la perméabilité intestinale ou l'inflammation de bas grade).

Il est évident qu'aucune de ces souches ne bénéficiera de la reconnaissance d'une « longue histoire d'utilisation sûre » comme aliment ou médicament, sauf à dire qu'ils ont été dans le microbiote intestinal humain dominant sans doute pour la plus grande partie de l'évolution humaine...

À côté de ces espèces devenues candidats probiotiques de nouvelle génération du fait de leur observation systématique comme différenciellement représentées chez les patients par rapport aux individus sains, certains mélanges de souches ont émergé de la simplification des communautés complexes utilisées dans les transferts de microbiote. Le processus est ancien, utilisé dans les années 1960 pour identifier les cocktails de souches exerçant une activité de barrière contre la colonisation par des agents pathogènes. Il a néanmoins récemment conduit à des observations à très haut potentiel d'innovation. Parmi ces observations l'orientation d'une réponse immunitaire T régulatrice par spores mixtes du microbiote total (brevet sur les travaux du Honda et al. [127]) est tout à fait marquante. La bioactivité initialement observée chez la souris avec des bactéries sporulées du microbiote de souris a été documentée par la suite pour des sporulées d'origine humaine, toujours chez la souris, et est présentée comme une formulation thérapeutique par Vedanta Biosciences [128].

Ces observations étant encore très récentes, le statut réglementaire de la formule reste non défini. Il est fort probable qu'elle soit considérée comme un médicament,

car les agences en Europe et la FDA aux États-Unis considèrent le contenu intestinal pour le transfert de microbiote fécal comme un médicament dans le contexte des infections récurrentes à *C. difficile*.

Le contexte réglementaire n'est cependant pas du tout structuré pour permettre la validation des allégations médicales :

- les standards pour évaluer l'efficacité et l'innocuité ne sont pas totalement définis ;
- la question du dosage est difficile à gérer : aucune pharmacocinétique possible ; et les dosages en conditions précliniques ne sont pas corrélés avec les doses utilisées chez l'Homme ;
- la question de la sécurité pose également problème : Comment faire face à la résistance aux antibiotiques, aux facteurs de virulence, mais aussi aux éventuelles réponses immunitaires induites (événement perturbateur ?) ;
- avec les mélanges de souches, les autorités pourraient exiger un rationnel quant au mode de sélection des différentes souches et une démonstration de leur effet synergique et de leur innocuité.

## Transfert microbiote

La longue histoire de la diarrhée et de *C. difficile*.

De Ge Hong en Chine au IV<sup>e</sup> siècle à la première publication officielle sur le transfert de la microflore fécale [129], il semble que l'application empirique de la gestion écologique du microbiote intestinal ait acquis une reconnaissance

parmi les praticiens eux-mêmes. Elle aura été progressivement transformée en une pratique médicale reconnue sous le terme de FMT pour le transfert de microbiote fécal. C'est essentiellement une tentative très basique, brute et efficace de déplacer un agent pathogène via le remplacement d'une écologie intestinale malade par une saine. Cette pratique a apparemment été utilisée pendant des décennies dans le contexte d'infections récurrentes à *C. difficile* aujourd'hui connues pour causer 14 000 décès par an aux États-Unis. Un essai clinique publié en 2013 [130] a démontré la supériorité de cette approche, le taux de guérison d'infections récurrentes à *C. difficile* étant de 93 % par transfert de microbiote contre 30 % pour la vancomycine, antibiotique de dernier recours.

Cette observation d'efficacité a favorisé la reconnaissance par les agences réglementaires de cette approche comme une thérapie valable. La FDA aux États-Unis demande le recours au statut d'*investigational new drug* (IND) pour les essais cliniques avec transfert de microbiote fécal en dehors des infections à *C. difficile* alors que l'utilisation du TMF est acceptée (sous certaines conditions) pour les malades ne répondant pas aux thérapies standard de traitement du *C. difficile*. En France, l'Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé (ANSM) considère également les matières fécales comme un médicament. En l'absence d'un rapport bénéfice/risque clairement établi, cette approche devrait être réservée à des situations rares ou graves où le traitement conventionnel échoue et à des impasses thérapeutiques. L'Allemagne et le Royaume-Uni ont également attribué le statut de médicament au TMF tandis que l'Italie et l'Espagne attribuent le statut de produit de transplantation (comme un organe). La démonstration d'efficacité par les études initiales et la clarification du cadre réglementaire ont permis le développement d'entreprises exploitant les promesses du TMF. Il est notable pour ne pas dire inquiétant que des pratiques moins formalisées soient mises en œuvre, notamment le « bricolage » extrême du « do-it-yourself » explicité sur Internet.

Un autre développement qui a été promu par les premières observations dans les infections de *C. difficile* est le potentiel d'application de la FMT dans les maladies chroniques, d'où les tentatives actuelles d'application du concept au-delà de la stricte indication clinique des infections résistantes à *C. difficile*. Il s'agit d'indications telles que les troubles fonctionnels intestinaux, les maladies inflammatoires de l'intestin, les maladies métaboliques et l'autisme. Les essais cliniques en cours instruiront sur la pertinence d'élargir le concept. Ils pourront également éclairer sur la durabilité de la modulation du microbiote, la capacité de modifier le microbiote à long terme restant mal appréciée. Ils renseigneront sur l'éventuelle importance d'une compatibilité écologique entre le microbiote du donneur et celui du receveur. Enfin, la sécurité restera un aspect crucial du TMF allogénique pour lequel le risque à court terme d'infection, mais aussi le potentiel de modulation à long terme de la symbiose hôte—microbes doivent être considérés.

La dernière application, qu'il faut mentionner est le TMF autologue. Dans cette approche, le patient reçoit son propre microbiote pour restaurer son écologie intestinale après un stress (hôpital/communauté) altérant considérablement la symbiose hôte—microbiote. Des interventions

programmées, telles que la chimiothérapie, les traitements antibiotiques à long terme ou même certaines interventions chirurgicales sont des exemples de situations réclamant la préservation d'un microbiote sain et sa ré-administration pour la restauration de la symbiose. Dans ce contexte où le donneur et le receveur sont la même personne, les préoccupations de sécurité ne sont pas aussi aiguës que dans le TMF allogénique. Le transfert de microbiote autologue est le cœur de métier de la startup française MaaT Pharma.

De nombreux aspects de la pratique clinique elle-même ne sont toujours pas standardisés. Parmi ceux-ci, l'administration par voie haute (tube naso-gastrique ou naso-duodéal) ou par voie basse (par lavement ou via un coloscope) sont pratiquées. De même, l'homogénéisation des selles dans un mixeur ménager, dans une solution saline oxique, est une pratique encore courante alors qu'on peut suspecter que cela affecte gravement la survie des bactéries anaérobies strictes qui représentent la composante dominante du microbiote fécal. La logique est d'anticiper une standardisation et une industrialisation des pratiques qui garantiront un processus sûr et reproductible. Il restera important d'approfondir les connaissances sur l'impact précis du transfert de microbiote et ses modes d'action.

D'un point de vue réglementaire, il est évident que rien n'est vraiment réglé. Jusqu'à présent, les autorités compétentes au niveau européen pour les tissus et les cellules et la Direction européenne de la qualité des médicaments et des soins de santé (DEQM) ainsi que le Centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies (CEPCM) n'ont pas retenu l'application de la directive 2004/23/CE sur les tissus et cellules pour le TMF, si bien que les États membres sont libres de décider du cadre qui leur semble le plus approprié.

## Recommandations

### Pour les recherches fondamentales et cliniques

Le temps est venu de recommander un changement de paradigme important proposant l'utilisation des mélanges définis ou indéfinis de produits biothérapeutiques vivants (*live biotherapeutic products* ou LBPs). Cette approche nouvelle qui propose de tirer les bénéfices fonctionnels de symbiontes s'appuie sur la possibilité de combiner des avantages complémentaires/synergiques (occuper l'espace, moduler la perméabilité intestinale, l'inflammation et le stress oxydant). Néanmoins, il y a un besoin d'une substantiation solide de ces options thérapeutiques nouvelles à travers des essais cliniques contrôlés pour les LBPs et le TMF dans la rupture de symbiose associée à des maladies chroniques sévères ou suite à des traitements lourds impliquant antibiothérapie, chimiothérapie,...

Enfin, des travaux exploratoires avec les meilleurs outils moléculaires disponibles devront documenter les modes d'action (durabilité, résilience, impact de microbiote avant traitement, compatibilité...).

À côté de ces points cruciaux des outils pour sélectionner et trier des groupes bactériens spécifiques ou des isolats d'intérêt provenant d'échantillons de microbiotes complexes sont également nécessaires. Ils permettront

d'étoffer les collections de souches actuelles avec des bioactifs sélectionnés (potentiellement de façon moins empirique) pour le design de produits biothérapeutiques innovants [131].

## Pour les autorités de santé

### Processus industrialisés/normalisés

Des processus industrialisés devraient être favorisés pour l'élaboration des préparations microbiennes mixtes/indéfinies. Cela peut être un moyen d'éviter les pratiques à haut risque de TMF « maison » et de permettre l'accumulation de connaissances sur la sécurité, les doses optimales, etc. Cela permettra également de contribuer à définir un processus réglementaire adapté.

### Aspects réglementaires

Une réflexion poussée sur les standards d'évaluation de la sécurité doit être mise en place au niveau européen. Un archivage systématique des échantillons pourrait être proposé pour permettre les évaluations rétrospectives.

L'innocuité et l'efficacité des produits devraient être évaluées chez l'Homme plutôt qu'en modèles précliniques qui renseignent assez mal sur les attendus pour les humains.

Sur une perspective plus large, pour que l'ANSM et l'EMA fassent évoluer le contexte réglementaire concernant les LBP et le TMF, la recommandation serait d'unir les forces et de partager la dynamique initiée de façon hétérogène à travers l'Europe. En effet, il y a des aspects génériques pour les LBP et le TMF, répondant à un statut de médicament pour des thérapeutiques faisant appel à des micro-organismes vivants.

La reconnaissance de l'importance de la symbiose Homme-microbes va conduire à redessiner le paysage de la prévention et de la médecine. Des modifications de nos modes de vie et de notre environnement (mode de naissance, nourriture, soins, pollution, sédentarité, stress...) peuvent être envisagées comme des causes majeures de la plupart des maladies chroniques non transmissibles qui sont à la base de besoins cliniques non couverts. Au siècle dernier, la cause de ces maladies a été recherchée dans le profil génétique du patient. Aujourd'hui, nous ouvrons le domaine de la recherche à ce deuxième génome de l'Homme, modifiable celui-ci : le métagénome. Ce domaine de recherche n'en est encore qu'à ses débuts et il est légitime d'en attendre des innovations. Il favorisera une autre façon de considérer l'être humain, comme holobionte, comme association Homme-microbes dont la prise en charge dans une démarche préventive ou thérapeutique se devra d'être holistique. Pour atteindre cet objectif, nous recommandons que l'utilisation de ces nouveaux outils expérimentaux soit parrainée et encouragée par les autorités de santé et qu'elle soit accompagnée des investissements nécessaires pour élargir l'arsenal thérapeutique.

## Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Références

- [1] Glendinning L, Free A. Supra-organismal interactions in the human intestine. *Front Cell Infect Microbiol* 2014;4:47.
- [2] Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, Feng Q, Sunagawa S, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol* 2014;32(8):834–41.
- [3] Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol* 2014;5:427.
- [4] Kussmann M, Van Bladeren PJ. The extended nutrigenomics – understanding the interplay between the genomes of food, gut microbes, and human host. *Front Genet* 2011;2:21.
- [5] Wang J, Thingholm LB, Skiecevičienė J, Rausch P, Kumm M, Hov JR, et al. Genome-wide association analysis identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet* 2016;48(11):1396–406.
- [6] Houghteling PD, Walker WA. From birth to "immunohealth" allergies and enterocolitis. *J Clin Gastroenterol* 2015;49(Suppl. 1):S7–12.
- [7] Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464(7285):59–65.
- [8] Louvel G, Der Sarkissian C, Hanghøj K, Orlando L. Meta-BIT, an integrative and automated metagenomic pipeline for analysing microbial profiles from high-throughput sequencing shotgun data. *Mol Ecol Resour* 2016;16(6):1415–27.
- [9] Koren O, Knights D, Gonzalez A, Waldron L, Segata N, Knight R, et al. A guide to enterotypes across the human body: meta-analysis of microbial community structures in human microbiome datasets. *PLoS Comput Biol* 2013;9(1):e1002863.
- [10] Nielsen HB, Almeida M, Juncker AS, Rasmussen S, Li J, Sunagawa S, et al. Identification and assembly of genomes and genetic elements in complex metagenomic samples without using reference genomes. *Nat Biotechnol* 2014;32(8):822–8.
- [11] Rosenthal M, Goldberg D, Aiello A, Larson E, Foxman B. Skin microbiota: microbial community structure and its potential association with health and disease. *Infect Genet Evol* 2011;11(5):839–48.
- [12] Davis-Richardson AG, Ardisson AN, Dias R, Simell V, Leonard MT, Kempainen KM, et al. *Bacteroides dorei* dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes. *Front Microbiol* 2014;5:678.
- [13] Li D, Wang P, Wang P, Hu X, Chen F. The gut microbiota: a treasure for human health. *Biotechnol Adv* 2016;34(7):1210–24.
- [14] Doré J, Blottière H. The influence of diet on the gut microbiota and its consequences for health. *Curr Opin Biotechnol* 2015;32:195–9.
- [15] Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G, Hyland NP. Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci* 2015;9:392.
- [16] Bawa M, Saraswat VA. Gut-liver axis: role of inflammasomes. *J Clin Exp Hepatol* 2013;3(2):141–9.
- [17] Teixeira TF, Collado MC, Ferreira CL, Bressan J, Peluzio Mdo C. Potential mechanisms for the emerging link between obesity and increased intestinal permeability. *Nutr Res* 2012;32(9):637–47.
- [18] Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Novelo LL, Casella G, et al. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *ISME J* 2011;5(1):82–9.
- [19] Murri M, Leiva I, Gomez-Zumaquero JM, Tinahones FJ, Cardona F, Soriguer F, et al. Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case-control study. *BMC Med* 2013;11:46.
- [20] Kostic AD, Gevers D, Siljander H, Vatanen T, Hyötyläinen T, Hämäläinen AM, et al. The dynamics of the human infant

- gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host Microbe* 2015;17:260–73.
- [21] Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012;490(7418):55–60.
- [22] Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature* 2015;528(7581):262–6.
- [23] Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* 2013;500(7464):585–8.
- [24] Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013;500(7464):541–6.
- [25] Stiemsma LT, Arrieta MC, Dimitriu PA, Cheng J, Thorson L, Lefebvre DL, et al. Shifts in *Lachnospira* and *Clostridium* sp. in the 3-month stool microbiome are associated with preschool age asthma. *Clin Sci (Lond)* 2016;130(23):2199–207.
- [26] Ling Z, Li Z, Liu X, Cheng Y, Luo Y, Tong X, et al. Altered fecal microbiota composition associated with food allergy in infants. *Appl Environ Microbiol* 2014;80(8):2546–54.
- [27] Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129(2):434–40.
- [28] Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N, Koskinen K, Torppa K, Laatikainen T, et al. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109(21):8334–9.
- [29] De Cruz P, Prideaux L, Wagner J, Ng SC, McSweeney C, Kirkwood C, et al. Characterization of the gastrointestinal microbiota in health and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(2):372–90.
- [30] Docktor MJ, Paster BJ, Abramowicz S, Ingram J, Wang YE, Correll M, et al. Alterations in diversity of the oral microbiome in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(5):935–42.
- [31] Durbán A, Abellán JJ, Jiménez-Hernández N, Salgado P, Ponce M, Ponce J, et al. Structural alterations of faecal and mucosa-associated bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Environ Microbiol Rep* 2012;4(2):242–7.
- [32] Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 2014;15:382–92.
- [33] Lepage P, Häslér R, Spehlmann ME, Rehman A, Zvirbliene A, Begun A, et al. Twin study indicates loss of interaction between microbiota and mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2011;141(1):227–36.
- [34] Nadal I, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *J Med Microbiol* 2007;56(Pt 12):1669–74.
- [35] Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. *J Clin Pathol* 2009;62(3):264–9.
- [36] D'Argenio V, Casaburi G, Precone V, Pagliuca C, Colicchio R, Sarnataro D, et al. Metagenomics reveals dysbiosis and a potentially pathogenic *N. flavescens* strain in duodenum of adult celiac patients. *Am J Gastroenterol* 2016;111:879–90.
- [37] Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Hentley KE, Wolcott RD, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 2010;16(4):444–53.
- [38] Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol Autism* 2013;4(1):42.
- [39] Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014;513(7516):59–64.
- [40] Wong VW, Tse CH, Lam TT, Wong GL, Chim AM, Chu WC, et al. Molecular characterization of the fecal microbiota in patients with nonalcoholic steatohepatitis – a longitudinal study. *PLoS One* 2013;8(4):e62885.
- [41] Chen J, Chia N, Kalari KR, Yao JZ, Novotna M, Soldan MM, et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep* 2016;6:28484.
- [42] Scher JU, Szczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *Elife* 2013;2:e01202.
- [43] Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, et al. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol Syst Biol* 2014;10:766.
- [44] Sobhani I, Tap J, Roudot-Thoraval F, Roperch JP, Letulle S, Langella P, et al. Microbial dysbiosis in colorectal cancer (CRC) patients. *PLoS One* 2011;6:e16393.
- [45] Gagnière J, Raisch J, Veziat J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2016;22(2):501–18.
- [46] Mai V, Young CM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Casella G, et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PLoS One* 2011;6(6):e20647.
- [47] Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gobourne A, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature* 2015;517(7533):205–8.
- [48] Stiefel U, Nerandzic MM, Pultz MJ, Donskey CJ. Gastrointestinal colonization with a cephalosporinase-producing bacteroides species preserves colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus and *Clostridium difficile* in cephalosporin-treated mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58(8):4535–42.
- [49] Gosalbes MJ, Vázquez-Castellanos JF, Angebault C, Woerther PL, Ruppé E, Ferrús ML, et al. Carriage of Enterobacteria producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and composition of the gut microbiota in an Amerindian community. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;60(1):507–14.
- [50] Isaac S, Scher JU, Djukovic A, Jiménez N, Littman DR, Abramson SB, et al. Short- and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. *J Antimicrob Chemother* 2017;72(1):128–36.
- [51] Yassour M, Vatanen T, Siljander H, Hämmäläinen AM, Härkönen T, Ryhänen SJ, et al. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci Transl Med* 2016;8(343):343ra81.
- [52] Zwiehler J, Lassl C, Hippe B, Pointner A, Switzeny OJ, Remely M, et al. Changes in human fecal microbiota due to chemotherapy analyzed by TaqMan-PCR, 454 sequencing and PCR-DGGE fingerprinting. *PLoS One* 2011;6(12):e28654.
- [53] Louis S, Tappu RM, Damms-Machado A, Huson DH, Bischoff SC. Characterization of the gut microbial community of obese patients following a weight-loss intervention using whole metagenome shotgun sequencing. *PLoS One* 2016;11(2):e0149564.
- [54] Cameron SJ, Lewis KE, Huws SA, Lin W, Hegarty MJ, Lewis PD, et al. Metagenomic sequencing of the chronic obstructive pulmonary disease upper bronchial tract microbiome reveals functional changes associated with disease severity. *PLoS One* 2016;11(2):e0149095.
- [55] Tan C, Ling Z, Huang Y, Cao Y, Liu Q, Cai T, et al. Dysbiosis of intestinal microbiota associated with inflammation involved in the progression of acute pancreatitis. *Pancreas* 2015;44(6):868–75.

- [56] Chen J, Wright K, Davis JM, Jeraldo P, Marietta EV, Murray J, et al. An expansion of rare lineage intestinal microbes characterizes rheumatoid arthritis. *Genome Med* 2016;8(1):43.
- [57] Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology* 2016;63(3):764–75.
- [58] Lelouvier B, Servant F, Paissé S, Brunet AC, Benyahya S, Serino M, et al. Changes in blood microbiota profiles associated with liver fibrosis in obese patients: a pilot analysis. *Hepatology* 2016;64(6):2015–27.
- [59] Lee HS, Burkhardt BR, McLeod W, Smith S, Eberhard C, Lynch K, et al. Biomarker discovery study design for type 1 diabetes in The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) study. *Diabetes Metab Res Rev* 2014;30(5):424–34.
- [60] Hevia A, Milani C, Lopez P, Cuervo A, Arbolea S, Duranti S. Intestinal dysbiosis associated with systemic lupus erythematosus. *MBio* 2014;5:e01548–1614.
- [61] Wright EK, Kamm MA, Wagner J, Teo SM, Cruz P, Hamilton AL, et al. Microbial factors associated with postoperative Crohn's disease recurrence. *J Crohns Colitis* 2016, <http://dx.doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw136> [pii: jjw136].
- [62] Choung RS, Princen F, Stockfisch TP, Torres J, Maue AC, Porter CK, et al. Serologic microbial associated markers can predict Crohn's disease behaviour years before disease diagnosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43(12):1300–10.
- [63] Verma M. Mechanistic and technical challenges in studying the human microbiome and cancer epidemiology. *Technol Cancer Res Treat* 2016, <http://dx.doi.org/10.1177/1533034616645219> [pii: 1533034616645219. [tct.sagepub.com](http://tct.sagepub.com)].
- [64] Azad MB, Konya T, Guttman DS, Field CJ, Sears MR, Hay-Glass KT, et al. Infant gut microbiota and food sensitization: associations in the first year of life. *Clin Exp Allergy* 2015;45(3):632–43.
- [65] Kong LC, Wuillemin PH, Bastard JP, Sokolovska N, Gougis S, Fellahi S, et al. Insulin resistance and inflammation predict kinetic body weight changes in response to dietary weight loss and maintenance in overweight and obese subjects by using a Bayesian network approach. *Am J Clin Nutr* 2013;98(6):1385–94.
- [66] Catry E, Pachikian BD, Salazar N, Neyrinck AM, Cani PD, Delzenne NM. Ezetimibe and simvastatin modulate gut microbiota and expression of genes related to cholesterol metabolism. *Life Sci* 2015;132:77–84.
- [67] Haider HJ, Seim KL, Balskus EP, Turnbaugh PJ. Mechanistic insight into digoxin inactivation by *Eggerthella lenta* augments our understanding of its pharmacokinetics. *Gut Microbes* 2014;5(2):233–8.
- [68] Taur Y, Jenq RR, Perales MA, Littmann ER, Morjaria S, Ling L, et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2014;124(7):1174–82.
- [69] Montassier E, Al-Ghalith GA, Ward T, Corvec S, Gastinne T, Potel G, et al. Pretreatment gut microbiome predicts chemotherapy-related bloodstream infection. *Genome Med* 2016;8(1):49.
- [70] Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015;350(6264):1079–84.
- [71] Botticelli A, Zizzari I, Mazzuca F, Ascierto PA, Putignano L, Marchetti L, et al. Cross-talk between microbiota and immune fitness to steer and control response to anti PD-1/PDL-1 treatment. *Oncotarget* 2016, <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.12985>.
- [72] Daillère R, Vétizou M, Waldschmitt N, Yamazaki T, Isnard C, Poirier-Colame V, et al. *Enterococcus hirae* and *Barnesiella intestinihominis* facilitate cyclophosphamide-induced therapeutic immunomodulatory effects. *Immunity* 2016;45(4):931–43.
- [73] Mao L, Franke J. Symbiosis, dysbiosis, and rebiosis – the value of metaproteomics in human microbiome monitoring. *Proteomics* 2015;15(5–6):1142–51.
- [74] <http://www.microbiome-standards.org> [consulté le 21 décembre].
- [75] Larraufie P, de Wouters T, Potocki-Veronese G, Blottière HM, Doré J. Functional metagenomics to decipher food-microbe-host crosstalk. *Proc Nutr Soc* 2015;74(1):1–4.
- [76] de Wouters T, Ledue F, Nepelska M, Doré J, Blottière HM, Lapaque N. A robust and adaptable high throughput screening method to study host-microbiota interactions in the human intestine. *PLoS One* 2014;9(8):e105598.
- [77] <http://www.mgps.eu/old/index.php?id=metagenomique-fonctionnelle> [consulté le 21 décembre 2016].
- [78] Gloux K, Leclerc M, Iliozier H, L'Haridon R, Manichanh C, Corthier G, et al. Development of high-throughput phenotyping of metagenomic clones from the human gut microbiome for modulation of eukaryotic cell growth. *Appl Environ Microbiol* 2007;73(11):3734–7.
- [79] Lakhdari O, Cultrone A, Tap J, Gloux K, Bernard F, et al. Functional metagenomics: a high throughput screening method to decipher microbiota-driven NF- $\kappa$ B modulation in the human gut. *PLoS One* 2010;5(9):e13092.
- [80] Madi A, Lakhdari O, Blottière HM, Guyard-Nicodème M, Le Roux K, Groboillot A, et al. The clinical *Pseudomonas fluorescens* MFN1032 strain exerts a cytotoxic effect on epithelial intestinal cells and induces interleukin-8 via the AP-1 signaling pathway. *BMC Microbiol* 2010;10:215.
- [81] Lakhdari O, Tap J, Béguet-Crespel F, Le Roux K, de Wouters T, Cultrone A, et al. Identification of NF- $\kappa$ B modulation capabilities within human intestinal commensal bacteria. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:282356.
- [82] Kaci G, Lakhdari O, Doré J, Ehrlich SD, Renault P, Blottière HM, et al. Inhibition of the NF-kappaB pathway in human intestinal epithelial cells by commensal *Streptococcus salivarius*. *Appl Environ Microbiol* 2011;77(13):4681–4.
- [83] Santos Rocha C, Lakhdari O, Blottière HM, Blugeon S, Sokol H, Bermúdez-Humarán LG, et al. Anti-inflammatory properties of dairy *Lactobacilli*. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18(4):657–66.
- [84] Nepelska M, Cultrone A, Béguet-Crespel F, Le Roux K, Doré J, Arulampalam V, et al. Butyrate produced by commensal bacteria potentiates phorbol esters induced AP-1 response in human intestinal epithelial cells. *PLoS One* 2012;7(12):e52869.
- [85] Cultrone A, de Wouters T, Lakhdari O, Kelly D, Mulder I, Logan E, et al. The NF- $\kappa$ B binding site located in the proximal region of the TSLP promoter is critical for TSLP modulation in human intestinal epithelial cells. *Eur J Immunol* 2013;43(4):1053–62.
- [86] Korecka A, de Wouters T, Cultrone A, Lapaque N, Pettersson S, Doré J, et al. ANGPTL4 expression induced by butyrate and rosiglitazone in human intestinal epithelial cells utilizes independent pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013;304(11):G1025–37.
- [87] Kaci G, Goudercourt D, Dennin V, Pot B, Doré J, Ehrlich SD, et al. Anti-inflammatory properties of *Streptococcus salivarius*, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract. *Appl Environ Microbiol* 2014;80(3):928–34.
- [88] Couvigny B, de Wouters T, Kaci G, Jacouton E, Delorme C, Doré J, et al. Commensal *Streptococcus salivarius* modulates PPAR $\gamma$  transcriptional activity in human intestinal epithelial cells. *PLoS One* 2015;10(5):e0125371.
- [89] Kim HJ, Li H, Collins JJ, Ingber DE. Contributions of microbiome and mechanical deformation to intestinal bacterial

- overgrowth and inflammation in a human gut-on-a-chip. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(1):E7–15.
- [90] Schirmer M, Smeekens SP, Vlamakis H, Jaeger M, Oosting M, Franzosa EA, et al. Linking the human gut microbiome to inflammatory cytokine production capacity. *Cell* 2016;167(4):1125–36.
- [91] Gloux K, Bertheau O, El Oumami H, Béguet F, Leclerc M, Doré J. A metagenomic  $\beta$ -glucuronidase uncovers a core adaptive function of the human intestinal microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(Suppl. 1):4539–46.
- [92] Bruel L, Sulzenbacher G, Cervera Tison M, Pujol A, Nicoletti C, Perrier J, et al.  $\alpha$ -Galactosidase/sucrose kinase (AgaSK), a novel bifunctional enzyme from the human microbiome coupling galactosidase and kinase activities. *J Biol Chem* 2011;286(47):40814–23.
- [93] Sheydina A, Eberhardt RY, Rigden DJ, Chang Y, Li Z, Zmasek CC, et al. Structural genomics analysis of uncharacterized protein families overrepresented in human gut bacteria identifies a novel glycoside hydrolase. *BMC Bioinformatics* 2014;15:112.
- [94] Jiang Y, Xiong X, Danska J, Parkinson J. Metatranscriptomic analysis of diverse microbial communities reveals core metabolic pathways and microbiome-specific functionality. *Microbiome* 2016;4:2.
- [95] Spanogiannopoulos P, Bess EN, Carmody RN, Turnbaugh PJ. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism. *Nat Rev Microbiol* 2016;14(5):273–87.
- [96] De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(33):14691–6.
- [97] Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012;486(7402):222–7.
- [98] Hidalgo G, Marini E, Sanchez W, Contreras M, Estrada I, Comandini O, et al. The nutrition transition in the Venezuelan Amazonia: increased overweight and obesity with transculturation. *Am J Hum Biol* 2014;26(5):710–2.
- [99] Schnorr SL, Candela M, Rampelli S, Centanni M, Consolandi C, Basaglia G, et al. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat Commun* 2014;5:3654.
- [100] Sonnenburg ED, Smits SA, Tikhonov M, Higginbottom SK, Wingreen NS, Sonnenburg JL. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature* 2016;529(7585):212–5.
- [101] Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011;334:105–8.
- [102] Kong LC, Holmes BA, Cotillard A, Habi-Rachedi F, Brazeilles R, Gougis S, et al. Dietary patterns differently associate with inflammation and gut microbiota in overweight and obese subjects. *PLoS One* 2014;9(10):e109434.
- [103] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473(7346):174–80, <http://dx.doi.org/10.1038/nature09944>.
- [104] Tap J, Furet JP, Bensaada M, Philippe C, Roth H, Rabot S, et al. Gut microbiota richness promotes its stability upon increased dietary fibre intake in healthy adults. *Environ Microbiol* 2015;17(12):4954–64.
- [105] Raguideau S, Plancade S, Pons N, Leclerc M, Laroche B. Inferring aggregated functional traits from metagenomic data using constrained non-negative matrix factorization (NMF): application to fiber degradation in the human gut microbiota. *PLoS Comput Biol* 2016;12(12):e1005252.
- [106] Zhang C, Yin A, Li H, et al. Dietary modulation of gut microbiota contributes to alleviation of both genetic and simple obesity in children. *EBioMedicine* 2015;2(8):968–84.
- [107] Salonen A, Lahti L, Salojärvi J, Holtrop G, Korpela K, Duncan SH, et al. Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *ISME J* 2014;8(11):2218–30.
- [108] Chung WS, Walker AW, Louis P, Parkhill J, Vermeiren J, Boscher D, et al. Modulation of the human gut microbiota by dietary fibres occurs at the species level. *BMC Biol* 2016;14:3.
- [109] Zeevi D, Korem T, Zmora N, Israeli D, Rothschild D, Weinberger A, et al. Personalized nutrition by prediction of glycemic responses. *Cell* 2015;163(5):1079–94.
- [110] O’Keefe SJ. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016;13(12):691–706.
- [111] Jantchou P, Morois S, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Carbonnel F. Animal protein intake and risk of inflammatory bowel disease: the E3N prospective study. *Am J Gastroenterol* 2010;105(10):2195–201.
- [112] Moco S, Candela M, Chuang E, Draper C, Cominetti O, Montoliu I, et al. Systems biology approaches for inflammatory bowel disease: emphasis on gut microbial metabolism. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20(11):2104–14.
- [113] Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol* 2014;60(5):940–7.
- [114] <http://www.davolterra.com> [consulté le 21 décembre 2016].
- [115] <http://www.eligo-bioscience.com> [consulté le 21 décembre 2016].
- [116] Kies AK. Authorized EU health claims related to the management of lactose intolerance: reduced lactose content dietary lactase supplements and live yoghurt cultures. In: Sadler MJ, editor. *Foods, nutrients and food ingredients with authorized EU Health Claims*, 1. Cambridge, UK: Woodhead Publishing; 2014. p. 177–211.
- [117] <http://www.ilsu.eu> [consulté le 21 décembre 2016].
- [118] Szajewska H, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children and adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;42(10):1149–57.
- [119] Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58(4):531–9.
- [120] Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59(1):132–52.
- [121] Ford AC, Quigley EM, Lacy BE, Lembo AJ, Saito YA, Schiller LR, et al. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2014;109(10):1547–61.
- [122] Marteau P, Flourie B, Pochart P, Chastang C, Desjeux JF, Rambaud JC. Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans. *Br J Nutr* 1990;64(1):71–9.
- [123] Bejaoui M, Sokol H, Marteau P. Targeting the microbiome in inflammatory bowel disease: critical evaluation of current concepts and moving to new horizons. *Dig Dis* 2015;33(Suppl. 1):105–12.

- [124] Surawicz CM, McFarland LV, Greenberg RN, Rubin M, Fekety R, Mulligan ME, et al. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. Clin Infect Dis 2000;31(4):1012–7.
- [125] Miquel S, Leclerc M, Martin R, Chain F, Lenoir M, Raguideau S, et al. Identification of metabolic signatures linked to anti-inflammatory effects of *Faecalibacterium prausnitzii*. mBio 2015;6(2) [pii: e00300-15].
- [126] Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. Gut 2016;65(3):415–25.
- [127] Honda K, Atarashi K, Hattori M, Morita H. Human-derived bacteria that induce proliferation or accumulation of regulatory T cells. WO 2013080561 A1; 2013 <https://www.google.com/patents/WO2013080561A1?cl=en> [consulté le 21 décembre 2016].
- [128] <http://www.vedantabio.com> [consulté le 21 décembre 2016].
- [129] Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of *Pseudomembranous enterocolitis*. Surgery 1958;44(5):854–9.
- [130] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. N Engl J Med 2013;368(5):407–15.
- [131] Dickson I. Gut microbiota: culturomics: illuminating microbial dark matter. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2017;14(1):3, <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2016.189>.