

Faculté de Pharmacie

Année 2021

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le vendredi 11 juin 2021

par

Pascaline Bouilleux

née le 10 juillet 1995 à Tamatave, Madagascar

**Implication du microbiote intestinal dans le cancer
colorectal et intérêts des probiotiques dans sa prévention
et son traitement**

Thèse dirigée par Madame Jeanne Cook-Moreau, Maître de conférences à
l'Université de Limoges

Examineurs :

Monsieur Bertrand COURTIOUX, Professeur des universités

Madame Jeanne COOK-MOREAU, Maître de conférences

Madame Claire FILLOUX, Docteur en pharmacie

Madame Claire PICAUD, Docteur en pharmacie

Président

Jury

Jury

Jury



Faculté de Pharmacie

Année 2021

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le vendredi 11 juin 2021

par

Pascaline Bouilleux

née le 10 juillet 1995 à Tamatave, Madagascar

**Implication du microbiote intestinal dans le cancer
colorectal et intérêts des probiotiques dans sa prévention
et son traitement**

Thèse dirigée par Madame Jeanne Cook-Moreau, Maître de conférences à
l'Université de Limoges

Examineurs :

Monsieur Bertrand COURTIOUX, Professeur des universités

Madame Jeanne COOK-MOREAU, Maître de conférences

Madame Claire FILLOUX, Docteur en pharmacie

Madame Claire PICAUD, Docteur en pharmacie

Président

Jury

Jury

Jury



Liste des enseignants

Le 1^{er} octobre 2020

DOYEN DE LA FACULTE :

Monsieur le Professeur Bertrand **COURTIOUX**

VICE-DOYEN :

Monsieur David **LEGER**, Maître de conférences

ASSESEURS :

Monsieur le Professeur Serge **BATTU**, Monsieur le Professeur Nicolas **PICARD**

PROFESSEURS DES UNIVERSITES :

BATTU Serge	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COURTIOUX Bertrand	MICROBIOLOGIE, PARASITOLOGIE, IMMUNOLOGIE ET HÉMATOLOGIE
DESMOULIERE Alexis	PHYSIOLOGIE
DUROUX Jean-Luc	BIOPHYSIQUE ET MATHÉMATIQUES
FAGNERE Catherine	CHIMIE ORGANIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET PHARMACIE CLINIQUE
LIAGRE Bertrand	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MAMBU Lengo	PHARMACOGNOSIE
TROUILLAS Patrick	BIOPHYSIQUE ET MATHÉMATIQUES
VIANA Marylène	PHARMACIE GALÉNIQUE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

PICARD Nicolas	PHARMACOLOGIE
ROGEZ Sylvie	MICROBIOLOGIE, PARASITOLOGIE, IMMUNOLOGIE ET HÉMATOLOGIE
SAINT-MARCOUX Franck	TOXICOLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :

CHAUZEIX Jasmine	MICROBIOLOGIE, PARASITOLOGIE, IMMUNOLOGIE ET HÉMATOLOGIE
JOST Jérémy	CHIMIE ORGANIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET PHARMACIE CLINIQUE

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES :

BASLY Jean-Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BEAUBRUN-GIRY Karine	PHARMACIE GALÉNIQUE
BÉGAUD Gaëlle	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
BILLET Fabrice	PHYSIOLOGIE
CALLISTE Claude	BIOPHYSIQUE ET MATHÉMATIQUES
CHEMIN Guillaume	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
CLÉDAT Dominique	CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE
COMBY Francis	CHIMIE ORGANIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET PHARMACIE CLINIQUE
COOK-MOREAU Jeanne	MICROBIOLOGIE, PARASITOLOGIE, IMMUNOLOGIE ET HÉMATOLOGIE
DELEBASSÉE Sylvie	MICROBIOLOGIE, PARASITOLOGIE, IMMUNOLOGIE ET HÉMATOLOGIE
DEMIOT Claire-Elise	PHARMACOLOGIE
FABRE Gabin	BIOPHYSIQUE ET MATHÉMATIQUES
FROISSARD Didier	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
JAMBUT Anne-Catherine	CHIMIE ORGANIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET PHARMACIE CLINIQUE
LABROUSSE Pascal	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
LAVERDET Betty	PHARMACIE GALÉNIQUE
LAWSON Roland	PHARMACOLOGIE
LEGER David	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

MARRE-FOURNIER Françoise	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
MERCIER Aurélien	MICROBIOLOGIE, PARASITOLOGIE, IMMUNOLOGIE ET HÉMATOLOGIE
MILLOT Marion	PHARMACOGNOSIE
PASCAUD-MATHIEU Patricia	PHARMACIE GALÉNIQUE
POUGET Christelle	CHIMIE ORGANIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET PHARMACIE CLINIQUE
VIGNOLES Philippe	BIOPHYSIQUE ET MATHÉMATIQUES

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE :

AUDITEAU Émilie	ÉPIDÉMIOLOGIE, STATISTIQUE, SANTÉ PUBLIQUE
MARCHAND Guillaume	CHIMIE ORGANIQUE, THÉRAPEUTIQUE ET PHARMACIE CLINIQUE

ENSEIGNANTS D'ANGLAIS :

HEGARTY Andrew	CHARGÉ DE COURS
VERCELLIN Karen	PROFESSEUR CERTIFIÉ

Remerciements

A mon président de Jury,

Merci **Monsieur Courtioux**, de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Je souhaite également vous remercier pour les enseignements captivants et intéressants que vous avez donnés durant mes années à la faculté. Et enfin, merci pour l'écoute et l'attention que vous avez toujours su accorder à vos étudiants.

A ma directrice de thèse,

Merci **Madame Cook-Moreau**, de m'avoir accompagnée dans cette aventure que j'ai su faire durer. Je vous remercie de m'avoir toujours bien conseillée (malgré les nombreux sujets et plans qui ont traversé mon esprit). Merci pour vos relectures et vos corrections et tout simplement pour le temps que vous m'avez accordé durant ces deux dernières années.

A mon troisième membre du Jury,

Merci **Madame Filloux**, d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. J'en suis très honorée. Cela a également été un plaisir de faire mon stage de cinquième année dans le service de Pharmacovigilance à vos côtés.

A mon quatrième membre du Jury,

Merci **Claire**, pour le temps que tu as pris à m'épauler durant mon stage de sixième année. Merci pour tes conseils, ta gentillesse et ta patience. Ça a été un plaisir de travailler à tes côtés. Sache que tu as été un véritable modèle pour moi. Je suis très heureuse et reconnaissante que tu aies accepté de faire partie de mon jury.

A ma Famille,

Merci à **mes frères et sœurs** et par-dessus-tout à mes parents de m'avoir toujours encouragée, non seulement ces 7 dernières années universitaires mais aussi toutes les années qui ont précédé. Merci pour votre soutien indéfectible mais aussi vos réconforts dans les échecs. Merci **mon papounet** de m'avoir toujours poussée à donner le meilleur de moi-même. Merci **mamounette**, pour toutes nos virées à deux. Pas une fois nous avons manqué au rendez-vous. Je vous aime si fort !

A mes amis,

Merci à **Caroline, Bianca et Laetitia**, pour nos mercredis réussis où nous avons littéralement refait le monde dans ce petit appartement à rue Darnet, pour nos après-midi thé à chaque fois que nous avons besoin de souffler et pour nos soirées plus arrosées. Je suis si chanceuse de vous avoir dans ma vie.

Merci à **Thomas**, mon premier ami ici à Limoges. Depuis cette pré-rentree où nous n'étions encore que des bébés jusqu'au diplôme en passant par des presque-colocations. En PACES

déjà on se disait qu'un jour on aurait notre pharmacie ensemble, j'espère qu'on ira jusqu'au bout !!!!!

Merci à **Nathalie**, pour nos soirées karaokés, pour toutes les planches que nous avons commandées en terrasses et pour les tentatives de salle de sport qui ont suivi. Merci d'avoir été et de continuer à être mon binôme de choc.

Merci à **Marie-Sarah**, pour ton grain de folie, ta joie débordante et ton amitié loyale. Avec toi il n'y a jamais eu de retenu (bon ok, parfois, on aurait peut-être dû se retenir plus !!!!!). J'attends avec impatience nos prochaines folies.

Merci à **Fanny** et **Inès**. Nous nous sommes suivies à l'autre bout du monde pour une aventure bien particulière. Entre le Berry House, le massage mortel, le scooter à trois, une qui finit aux urgences ... on a enchaîné les mauvais plans, mais je rigole à chaque fois que j'y pense. Je n'aurai pu partager cette merveilleuse expérience avec personne d'autre.

Merci à **PM**, le meilleur président. Cette année associative à tes côtés a été intense et éprouvante, mais ça en valait tellement le coup car j'ai gagné un ami précieux. Ça a souvent été toi et moi VS le reste du monde, mais qu'est-ce qu'on a ri. Ne change jamais.

Et merci aux copains **Guillaume, Elies, Simon, Delphine, Val, Marie** et **Léa**, d'avoir marqué à votre façon ces belles années.

A l'équipe de la Mauvendière

Merci à **Cécile, Mme Lemaire** et **Gaëlle**, pour votre confiance, votre bienveillance et votre patience. Vous m'avez pleinement intégrée dans votre équipe et avez partagé avec moi votre savoir durant mon stage de 6^{ième} année. C'est sans aucun doute mon expérience avec vous et l'ambiance chaleureuse au sein de la Mauv' qui m'ont fait aimer le métier auquel je me destinais.

A ma belle-famille,

Merci à **Béa, Charlou** et **Jacquou**, de m'avoir toujours accueillie les bras ouverts. Merci pour votre gentillesse et votre amour. Merci de prendre si bien soin de moi, (Et merci d'avoir aggravé mon addiction pour le saucisson !!!).

Et pour finir, à Pierre,

Merci mon Pépito d'être mon compagnon dans toutes les aventures. Tu es à la fois mon meilleur ami, mon amour et mon confident. Merci de me rendre la plus heureuse chaque jour. Merci d'avoir croisé ma route il y a plus de trois ans maintenant et de m'aimer si fort depuis. Je suis impatiente de découvrir ce que la vie nous réserve. Je t'aime !!

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Table des abréviations	14
Introduction	17
I. Le microbiote intestinal : physiologie et dysbiose	18
I.1. Généralités sur le microbiote intestinal.....	18
I.1.1. Définitions	18
I.1.2. Techniques d'exploration du microbiote.....	18
I.1.3. Noyau bactérien	19
I.1.4. Formation du microbiote	23
I.1.5. Localisation et structure du microbiote.....	27
I.1.6. Entérotypes	28
I.2. Fonctions physiologiques.....	28
I.2.1. Effet barrière.....	29
I.2.2. Nutrition et métabolisme	30
I.2.2.1. Métabolisme des glucides	30
I.2.2.2. Métabolisme des lipides	31
I.2.2.3. Métabolisme des protéines	32
I.2.3. Maturation et développement immunitaire	32
I.3. Dysbiose du microbiote intestinal.....	34
I.3.1. Causes connues de la dysbiose	35
I.3.1.1. Les traitements	35
I.3.1.1.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	35
I.3.1.1.2. Les antibiotiques.....	36
I.3.1.1.3. La metformine.....	37
I.3.1.2. Déficit immunitaire.....	37
I.3.1.3. Changement brutal du régime alimentaire.....	37
I.3.1.4. Altérations de la muqueuse intestinale	39
I.3.2. Stratégies disponibles pour restaurer l'équilibre microbiotique	40
I.3.3. Conséquences connues sur la santé	41
II. Dysbiose intestinale du cancer colorectal.....	42
II.1. Généralités sur le cancer colorectal	42
II.1.1. Epidémiologie.....	42
II.1.2. Voies moléculaires impliquées dans la cancérogénèse colorectale	43
II.1.2.1. L'instabilité chromosomique ou CIN	44
II.1.2.2. L'instabilité des microsatellites ou MSI	44
II.1.2.3. L'hyperméthylation des îlots CpG ou CIMP	44
II.1.3. Voies de signalisation impliquées dans la cancérogénèse.....	45
II.1.3.1. La voie Wnt/ β -caténine	46
II.1.3.2. Les voies PI3K/Akt et MAPK	46
II.1.3.3. Les voies p53 et TGF- β	47
II.1.4. Dépistage	47
II.1.5. La classification	48
II.1.6. Les facteurs de risques	49
II.1.7. Description brève des traitements	50
II.2. Variation du microbiote et développement du cancer colorectal.....	53

II.2.1. Bactéries augmentées dans le cancer colorectal	54
II.2.1.1. <i>Streptococcus gallolyticus</i>	55
II.2.1.2. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	56
II.2.1.3. <i>Enterococcus faecalis</i>	58
II.2.1.4. <i>Bacteroides fragilis</i>	58
II.2.1.5. <i>Escherichia coli</i>	60
II.2.2. Bactéries diminuées dans le cancer colorectal	61
III. Place des probiotiques dans la prévention et le traitement du cancer colorectal.....	64
III.1. Les probiotiques.....	64
III.1.1. Réglementation	65
III.1.2. Survie des probiotiques dans l'hôte	67
III.1.2.1. Survie dépendante de facteurs intrinsèques.....	67
III.1.2.2. Survie dépendante de la dose administrée.....	68
III.1.2.3. Survie dépendante de l'alimentation concomitante.....	68
III.1.3. Sécurité d'emploi et effets indésirables des probiotiques.....	69
III.2. Place des probiotiques dans la prévention du CCR	69
III.2.1. Modification de la composition microbienne du microbiote	70
III.2.2. Amélioration des conditions physico-chimiques	72
III.2.3. Amélioration de la fonction de barrière intestinale.....	73
III.2.4. Inhibition des enzymes bactériennes néfastes.....	74
III.2.5. Augmentation des métabolites anticancérigènes	75
III.2.6. Immunomodulation	77
III.2.6.1. Modulation de la réponse immunitaire innée	77
III.2.6.2. Modulation de la réponse immunitaire adaptative.....	79
III.3. Probiotiques en soutien des anticancéreux	80
III.3.1. Amélioration des effets indésirables	80
III.3.1.1. Complications post-opératoires	80
III.3.1.2. Toxicités gastro-intestinales	81
III.3.1.3. Diarrhées radio-induites	82
III.3.1.4. Diarrhées chimio-induites.....	84
III.3.2. Augmentation des bénéfices thérapeutiques	85
Conclusion	87
Références bibliographiques	88
Annexes	100
Serment De Galien.....	105

Table des illustrations

Figure 1 : Profil d'établissement du microbiote au cours des premiers jours de vie d'un enfant né à terme, par voie basse et allaité	23
Figure 2 : Comparaison du microbiote de prématurés (PRETERM) et d'enfants nés à terme (FTVDBF) à différents temps.....	24
Figure 3 : Composition du microbiote intestinal à J2, J10, J30 et J90 chez des nourrissons nés à terme et pour lesquels la mère a reçu ou non une dose d'ampicilline	26
Figure 4 : Prévalence des familles des bactéries intestinales chez des sujets ayant reçus des AINS vs des sujets n'ayant reçu aucun traitement.....	36
Figure 5 : Diagrammes des phyla et genres bactériens les plus représentés dans les échantillons fécaux d'enfants Burkinabés (A) et Européens (B).....	39
Figure 6 : Les différentes voies de signalisation du CCR.....	43
Figure 7 : Mise en place et progression du CCR dépendant des mutations génomiques.....	45
Figure 8 : Rôle des bactéries du microbiote dans la carcinogénèse colique	54
Figure 9 : Implication de <i>Streptococcus gallolyticus</i> dans la carcinogénèse colique	55
Figure 10 : Implication de <i>Fusobacterium nucleatum</i> dans la carcinogénèse colorectale	57
Figure 11 : Implication de <i>bacteroides fragilis</i> dans la carcinogénèse colorectale.....	59
Figure 12 : Implication de <i>Escherichia coli</i> à la carcinogénèse colorectale	61
Figure 13 : Survie variable des probiotiques le long du tractus gastro-intestinal : la souche peut être tuée par l'acidité gastrique (A), la bile (B), les bactéries commensales (C) ou survivre jusque dans le côlon (D), comparaison avec un témoin (M)	67
Figure 14 : Vue d'ensemble des mécanismes d'action des probiotiques dans la prévention du CCR.	70
Figure 15 : Conséquences multiples de l'activation de l'AMPK par les AGCC (ou SCFA) sur l'inflammation, la sécrétion de mucus et les jonctions serrées (TJs)	76
Figure 16 : Reconnaissance des cellules cibles et activation (A) ou non (B) de l'inhibition de la lyse par les cellules <i>Natural Killer</i> (NK)	79
Figure 17 : Effets du mélange <i>L. acidophilus</i> et <i>L. casei</i> à des doses croissantes seul (a), du 5-FU seul (b) et de la co-administration de 5-FU et du mélange à des doses croissantes (c, d, e, f) sur l'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses.....	85

Table des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie simplifiée du phylum Firmicutes, avec les genres majoritaires du microbiote intestinal.....	20
Tableau 2 : Taxonomie simplifiée du phylum Bacteroidetes, avec les genres majoritaires du microbiote intestinal.....	21
Tableau 3 : Taxonomie simplifiée du phylum Actinobacteria, avec les genres majoritaires du microbiote intestinal.....	22
Tableau 4 : Les différents stades du cancer colorectal selon la classification TNM	48
Tableau 5 : Critères des différents niveaux de risques de cancer colorectal (87).....	50
Tableau 6 : Les différentes chimiothérapies indiquées dans le cancer colorectal	51
Tableau 7 : Les différentes thérapies ciblées indiquées le cancer colorectal	52
Tableau 8 : Exemples de nomenclature internationale des probiotiques	66
Tableau 9 : Numération fécale avant et après la supplémentation en LC705 + PJS (139)....	71
Tableau 10 : Activités des enzymes bactériennes* avant et après la supplémentation par LC705 et PJS (139).....	75
Tableau 11 : Comparaison des effets indésirables gastro-intestinaux entre les groupes placebo et probiotique (167).....	82
Tableau 12 : Grades des effets indésirables de type diarrhée	83

Table des abréviations

AFSSA : Agence Française de sécurité sanitaire des aliments
AGCC : Acide gras à courte chaîne
AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
AMP : adénosine monophosphate
AMPK : kinase activée par l'adénosine monophosphate
ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
BFT : *Bacteroides fragilis* toxin
BFS : Bactérie filamenteuse segmentée
CAzyme : Carbohydate-active enzyme
CCR : Cancer colorectal
CIMP : CpG island methylator phenotype
CIN : Instabilité chromosomique
CLA : acide linoléique conjugué
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
CNF : Facteur nécrosant cytotoxique
CPA : Cellule présentatrice d'antigène
CTCAE : Critères de terminologies communs pour les évènements indésirables
COX-2 : cyclo-oxygénase 2
DCA : Acide désoxycholique
DLUO : Date limite d'utilisation optimale
DT2 : Diabète de type II
EPEC : *Escherichia coli* entéropathogène
EGF : Facteur de croissance épidermique
ETBF : *Bacteroides fragilis* entérotoxigène
FadA : *Fusobacterium* adhésine A
Fap2 : Apoptosis protein 2
Fip : *Fusobacterium* immunosuppressive protein
FOS : Fructo-oligosaccharides
GH : Glycoside-hydrolase
GOS : Galacto-oligosaccharides
GSK3 β : *Glycogen Synthase Kinase 3* β
HDAC : histone désacétylase
HGF : Facteur de croissance hépatocytaire
HNPCC : Cancer colorectal héréditaire sans polypose
IFN : Interféron

IgA : Immunoglobuline A
IL : Interleukine
IMC : Indice de masse corporel
IPP : Inhibiteur de la pompe à proton
LAB : Bactéries lactiques
LCA : Acide lithocholique
MAM : Molécule microbienne anti-inflammatoire
MAPK : Protéine kinase activée par un mitogène
MET : Metabolic Equivalent of Task
MetaHIT : Metagenomics of the Human Intestinal Tract
MICI : Maladie inflammatoire chronique des intestins
MMR : Mismatch repair
MSI : Instabilité des microsatellites
NFKB : Facteur nucléaire-kappa B
NK : Natural killer
NTBF : *Bacteroides fragilis* non entérotoxigène
ONAPS : Observatoire National de l'Activité Physique et de la Sédentarité
OMS : Organisme mondial de la santé
PAF : Polypose adénomateuse familiale
PAM : Peptide antimicrobien
PAMP : Motif moléculaire associé aux pathogènes
PGE2 : Prostaglandine E2
PIA : Antibio prophylaxie intra partum
PI3K : phosphatidyl-3-kinase
PL : Polysaccharide-lyase
PMN : Polynucléaire neutrophile
PPAR : Peroxisome proliferator-activated receptors
PRR : Pattern recognition receptor
ROS : Espèces réactives de l'oxygène
RTK : Récepteur à tyrosine kinase
SMO : Spermine oxydase
Sp. : *Species*
STAT3 : Transducteur de signal et activateur de transcription 3
TCF : *T-cell factor*
TEER : Résistance électrique transépithéliale / transendothéliale
TGF : Facteur de croissance transformant

Th17 : Lymphocyte T auxiliaire

TIGIT : T cell immunoreceptor with immunoglobulin and ITIM domain

TLR : Récepteurs Toll-like

TNF : Facteur de nécrose tumorale

TNM : Tumor, nodes, metastases

Treg : Lymphocyte T régulateur

UFC : Unité formant des colonies

VEGF : Facteur de croissance endothéliale vasculaire

Introduction

Depuis toujours, l'intestin a intrigué la communauté scientifique sur sa relation étroite avec notre santé. Hippocrate affirmait déjà que :

« Toute maladie commence dans l'intestin ».

Plus que l'intestin, ce sont les micro-organismes que l'on y retrouve, formant ce que l'on appelle le microbiote intestinal, qui a attiré mon attention pour la rédaction de ce travail.

Cet écosystème complexe, non pathogène et d'une diversité immense est rencontré à tous les étages de notre tube digestif. Les 10^{14} microorganismes le composant (majoritairement des bactéries) lui permettent d'exercer des fonctions métaboliques, immunologiques, digestives et barrières majeures, qui sont bénéfiques pour le corps humain.

A l'inverse, son déséquilibre ou son altération, qu'ils soient qualitatifs ou quantitatifs, peuvent être à l'origine d'un nombre varié de pathologies cardiovasculaires, endocrinologiques ou encore oncologiques.

Au cours de ces dernières décennies, nos connaissances en matière de composition microbienne de nos intestins se sont considérablement élargies. Certaines maladies chroniques ont pu être reliées à un état de déséquilibre de ce milieu. C'est le cas notamment des cancers digestifs et plus particulièrement du cancer colorectal qui représente aujourd'hui, en France, un véritable enjeu de santé publique.

Le microbiote intestinal et le cancer colorectal sont tous deux largement influencés par notre mode de vie. Le milieu colique, où réside la plus grande majorité des bactéries intestinales, est également le milieu où les cancers digestifs sont les plus représentés.

Ces derniers points ont alors soulevé des interrogations sur l'implication du microbiote intestinal dans l'apparition et la progression du cancer colorectal.

De nouvelles stratégies thérapeutiques impliquant une modulation de la composition du microbiote intestinal pour prévenir ou contrôler ce cancer, sont à l'étude. Elles impliquent notamment l'introduction de micro-organismes bénéfiques, par l'intermédiaire des probiotiques, dans le microbiote résident.

L'objet de ce travail est d'établir la relation entre ces trois éléments : le microbiote intestinal, le cancer colorectal et les probiotiques.

Dans une première partie, nous introduirons les caractéristiques physiologiques et pathologiques ainsi que les diverses fonctions du microbiote intestinal.

Dans une seconde partie, après un rappel de généralités sur le cancer colorectal, nous montrerons que ce cancer est la résultante d'un déséquilibre au sein des bactéries de notre tractus gastro-intestinal.

Enfin, après une description de la notion de probiotiques, nous évaluerons l'intérêt que leur apport peut apporter sur la prévention et le traitement du cancer colorectal.

I. Le microbiote intestinal : physiologie et dysbiose

I.1. Généralités sur le microbiote intestinal

I.1.1. Définitions

Un microbiote désigne l'ensemble des micro-organismes non pathogènes ayant colonisé un environnement spécifique, que ce soit chez un hôte animal ou végétal. Il est composé en grande majorité de bactéries (à plus de 90%), mais on retrouve également des bactériophages ou phages (virus infectant et tuant les bactéries), des champignons, des levures et, à un niveau très faible, des protozoaires (1) (2).

Dans l'organisme humain, on dénombre plusieurs microbiotes, qui vont différer par leur composition et leur localisation : Le microbiote cutané, le microbiote vaginal, le microbiote intestinal, le microbiote respiratoire, le microbiote urinaire et le microbiote buccal (3).

Le plus important en termes de nombre et de fonction est de loin le microbiote intestinal, plus communément appelé la « flore intestinale ». C'est une véritable symbiose qui se joue entre notre organisme et ces environnements microscopiques.

Le microbiome désigne l'ensemble du patrimoine génétique constituant ces microbiotes (4).

I.1.2. Techniques d'exploration du microbiote

Pendant longtemps, la culture bactérienne a été l'unique méthode d'analyse de la composition de notre microbiote intestinal. Elle a permis d'établir les premières classifications phénotypiques des bactéries.

Cependant, cette culture microbiologique présente un certain nombre de limites, la principale étant la sensibilité des espèces bactériennes à l'oxygène. On a estimé que seulement 30% des bactéries commensales dominantes étaient cultivables *in vitro* (1) (5).

La sensibilité à l'oxygène de la majorité des espèces bactériennes a rendu nécessaire le développement de méthodes d'analyse ne faisant pas intervenir de mise en culture. Durant ces dernières décennies, les techniques d'exploration du microbiote se sont donc affinées. L'émergence de la biologie moléculaire a donné accès à l'ensemble des gènes dominants du microbiote intestinal, a permis d'en quantifier les espèces prédominantes et d'évaluer l'impact que cet écosystème peut avoir sur la santé de l'Homme (6).

L'approche ribosomale est la méthode qui a le plus été utilisée pour décrire notre microbiote intestinal. Elle permet de réaliser, à partir d'un échantillon intact de contenus intestinaux (obtenus par biopsies ou directement sur des selles), une extraction, une amplification par PCR puis un séquençage haut débit de l'ADN ribosomal 16S.

L'ARN 16S constitue chez les bactéries la petite sous-unité des ribosomes. Dans ces ARN 16S, des régions conservées, variables et hypervariables ont été identifiées (7). L'analyse de certaines de ces régions du génome bactérien a permis de classer phylogénétiquement les bactéries et d'obtenir des informations sur la composition et la diversité des espèces bactériennes du microbiote intestinal (1).

L'approche métagénomique quantitative quant à elle est l'une des méthodes les plus récentes et des plus innovantes. Stanislav Dusko Ehrlich, un professeur et microbiologiste, s'est concentré sur cette technique d'analyse à travers le projet international MetaHIT (*Metagenomics of the Human Intestinal Tract*) (8). Également à partir d'un échantillon intact de contenus intestinaux, les membres de ce projet ont réalisé un séquençage haut débit de l'intégralité des gènes bactériens. Cela a permis de fournir un premier catalogue répertoriant 3,3 millions de gènes. Aujourd'hui, il s'est étendu à 10 millions de gènes (1).

Ces progrès ont permis d'élargir nos connaissances sur le microbiote de l'Homme, tant sur sa composition que sur ses fonctions, jusqu'alors inaccessibles par la mise en culture pure en laboratoire.

On décrit aujourd'hui cet écosystème microbien comme un « *organe à part entière* ». Ces découvertes sont une porte d'entrée vers de nouvelles perspectives de prises en charge de certaines pathologies (maladies inflammatoires intestinales, maladies cardiovasculaires, pathologies métaboliques, désordres cutanés et hépatiques, ...) étroitement liées au déséquilibre du microbiote intestinal.

I.1.3. Noyau bactérien

La composition du microbiote intestinal est propre à chaque individu. Il n'en existe pas deux strictement identiques.

Toutefois, la stabilité du microbiote chez l'adulte a permis de définir des grands groupes de bactéries formant ce que l'on appelle le « noyau bactérien » du microbiote intestinal. Ces groupes contiennent les espèces bactériennes dites dominantes.

Au total, parmi les nombreux phyla bactériens découverts dans le microbiote intestinal, trois groupes (9) ont pu être identifiés comme étant dominants, chez un individu adulte et sain :

- Le phylum des Firmicutes ;
- Le phylum des Bacteroidetes ;
- Le phylum des Actinobacteria.

Le phylum majoritaire est celui des Firmicutes. Il regroupe essentiellement des bactéries à Gram positif (bactéries dont la paroi est révélée en violet par la technique de coloration de Gram).

Tableau 1 : Taxonomie simplifiée du phylum Firmicutes, avec les genres majoritaires du microbiote intestinal

Phyla	Classe	Ordre	Famille	Genre	
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>	
				<i>Sarcina</i>	
			Eubacteriaceae	<i>Eubacterium</i>	
			Peptostreptococcaceae	<i>Peptostreptococcus</i>	
			Peptococcaceae	<i>Peptococcus</i>	
			Lachnospiraceae	<i>Lachnospira</i>	
				<i>Hespellia</i>	
			Ruminococcaceae	<i>Ruminococcus</i>	
	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	<i>Mycoplasma</i>	
				<i>Ureaplasma</i>	
	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	<i>Bacillus</i>
				Planococcaceae	<i>Planococcus</i>
				Listeriaceae	<i>Listeria</i>
				Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>
		Lactobacillales		Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus</i>
					<i>Pediococcus</i>

			Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>
			Leuconostocaceae	<i>Leuconostoc</i>
			Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>
				<i>Lactococcus</i>

La dominance est partagée avec le phyla des Bacteroidetes. Dans cet embranchement, les bactéries sont des bacilles anaérobies à Gram négatif (bactéries révélées en rose par la technique de coloration de Gram qui ne colore pas la paroi bactérienne).

Tableau 2 : Taxonomie simplifiée du phylum Bacteroidetes, avec les genres majoritaires du microbiote intestinal

Phyla	Classe	Ordre	Famille	Genre
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Prevotellaceae	<i>Prevotella</i>
				<i>Paraprevotella</i>
				<i>Xylanibacter</i>
			Bacteroidaceae	<i>Bacteroides</i>
			Porphyromonadaceae	<i>Proteiniphilum</i>
				<i>Parabacteroides</i>
				<i>Porphyromonas</i>
			Rikenellaceae	<i>Rikinella</i>
	Marinilabiliaceae	<i>Fluviicola</i>		
Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Saprospiraceae	<i>Saprospiraceae</i>	

			Sphingobacteriaceae	<i>Sphingobacterium</i>
	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Blattabacteriaceae	<i>Blattabacterium</i>
Flavobacteriaceae			<i>Flavobacterium</i>	
Cryomorphaceae			<i>Fluviicola</i>	

Enfin, le phylum des Actinobacteria regroupe des bactéries filamenteuses, à Gram positif. Dans notre microbiote intestinal, il est essentiellement représenté par le genre *Bifidobacterium*.

Tableau 3 : Taxonomie simplifiée du phylum Actinobacteria, avec les genres majoritaires du microbiote intestinal

Phyla	Classe	Ordre	Famille	Genre
Actinobacteria	Actinobacteria	Bifidobacteriales	Bifidobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i>
	Coriobacteriia	Coriobacteriales	Coriobacteriaceae	<i>Collinsella</i>

Les Firmicutes et les Bacteroidetes sont les deux phyla dominants. Ils représenteraient à eux deux près de 90% des populations bactériennes totales de notre microbiote intestinal. Le rapport de leur deux proportions (rapport Firmicutes / Bacteroidetes ou F / B) varie avec l'âge. Au fur et à mesure de l'établissement du microbiote intestinal, ce rapport augmente. Chez l'adulte sain, en Europe, il est estimé aux alentours de 10 / 1.

Le rapport F / B est souvent utilisé pour évaluer l'état d'équilibre du microbiote. Certaines études suggèrent qu'il est augmenté chez les sujets obèses ou qu'il est diminué dans les MICI (Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) (10) (11).

Avec le phylum des Actinobacteria, ces 3 embranchements représenteraient plus de 95% des communautés bactériennes totales. Un déséquilibre dans la proportion de ces grands phyla serait à l'origine de nombreuses pathologies.

Les pourcentages restants regroupent un ensemble très varié de bactéries minoritaires ou « sous-dominantes » appartenant pour l'essentiel aux phyla :

- Des Proteobacteria (avec notamment *Escherichia sp.*, de la famille des Enterobacteriaceae) ;
- des Verrumicrobia (avec notamment les bactéries du genre *Akkermansia*) ;
- des Cyanobacteria ;
- des Fusobacteria ;
- des Spirochaetes (10).

I.1.4. Formation du microbiote

La colonisation bactérienne de notre organisme est un processus qui débute dès la naissance. Même si cette caractéristique est commune à tous les individus, chacun disposera d'un microbiote qui lui sera propre puisqu'un grand nombre de facteurs environnementaux ou facteurs propres à l'hôte vont influencer sa composition.

In utero, le nouveau-né est stérile (absence de toute bactérie). C'est à l'accouchement que s'effectue la primo-colonisation, et ce, de façon brutale. Les premières bactéries à coloniser le nouveau-né, à un taux élevé, sont des aéro-anaérobies facultatives. Dans cette catégorie où nous retrouvons entre autres les entérobactéries, les entérocoques et les staphylocoques, les bactéries peuvent se développer en présence ou en absence d'oxygène. Puis, les anaérobies stricts s'établissent quelques jours après, lorsque le niveau d'oxygène a diminué. On y retrouve les bactéries du genre *Bacteroides* à Gram négatif et des genres *Bifidobacterium* et *Clostridium* à gram positif (1) (figure 1).

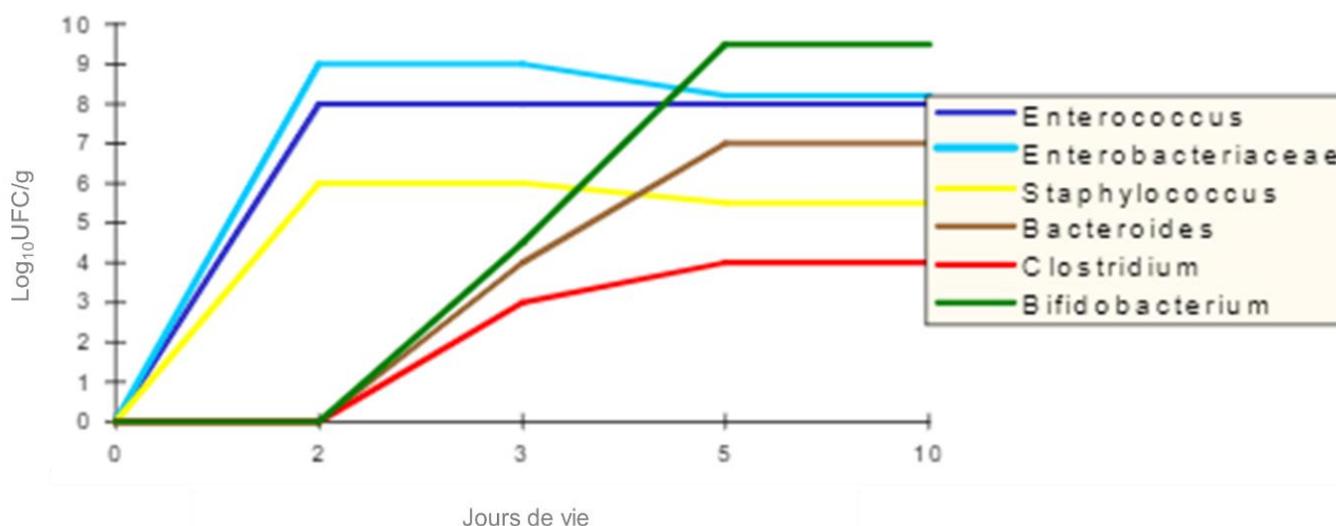


Figure 1 : Profil d'établissement du microbiote au cours des premiers jours de vie d'un enfant né à terme, par voie basse et allaité

Source : Marteau P, Doré J, *Le microbiote : un organe à part entière* (2017)

Plusieurs déterminants, non négligeables, vont influencer la différenciation du microbiote durant la vie pré et périnatale du nourrisson : La durée de gestation (naissance à terme ou non), le mode d'accouchement (voie basse ou non), l'alimentation (allaitement maternel ou non), l'exposition à l'environnement et les antibiothérapies éventuelles.

Le mode d'accouchement

Par voie basse, le nouveau-né entre en contact en premier lieu avec les microbiotes vaginal et fécal maternels. Les bactéries colonisatrices sont en majorité des bactéries anaérobies et plus particulièrement les *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*. Lors des accouchements par césarienne, le premier contact du nourrisson se fait essentiellement avec la peau des personnels soignants et de la mère ainsi que l'environnement de la salle d'accouchement.

Il n'est donc pas étonnant d'observer une différence de colonisation par rapport à un enfant né par voie basse (12). La colonisation par les bactéries anaérobies se fait plus tardivement : un retard de 1 mois pour les bactéries du genre *Bifidobacterium* et de 6 mois pour celles du genre *Bacteroides* ont été observés (1). La diversité des espèces est également réduite par ce mode d'accouchement.

L'environnement et les conditions d'hygiène de la salle d'accouchement

Le nouveau-né est en contact avec le microbiote cutané du personnel soignant et des bactéries présentes dans l'environnement de la salle d'accouchement.

La durée de gestation

Un nouveau-né arrivant à la vie de façon prématurée (naissance avant la 37^{ème} semaine d'aménorrhée (13)) a un microbiote intestinal plus fragile qu'un nouveau-né naissant à terme. La diversité d'espèces bactériennes est plus faible et le rapport bactéries aérobies / bactéries anaérobies strictes est déséquilibré.

Une étude parue dans « *Journal of Pediatrics* », réalisée sur 27 bébés nés prématurément et 13 bébés nés à terme, a cherché à établir le microbiote intestinal des prématurés. Elle a révélé un taux plus bas de *Bacteroides* au cours des premiers mois de vie ainsi qu'un taux initial en *Lactobacillus* plus élevé (14).

Une autre étude analyse le phylum bactérien de selles de nouveau-nés prématurés en comparaison avec des nourrissons nés à terme et nourris au sein aux 2^{ème}, 10^{ème}, 30^{ème} et 90^{ème} jours de vie (15).

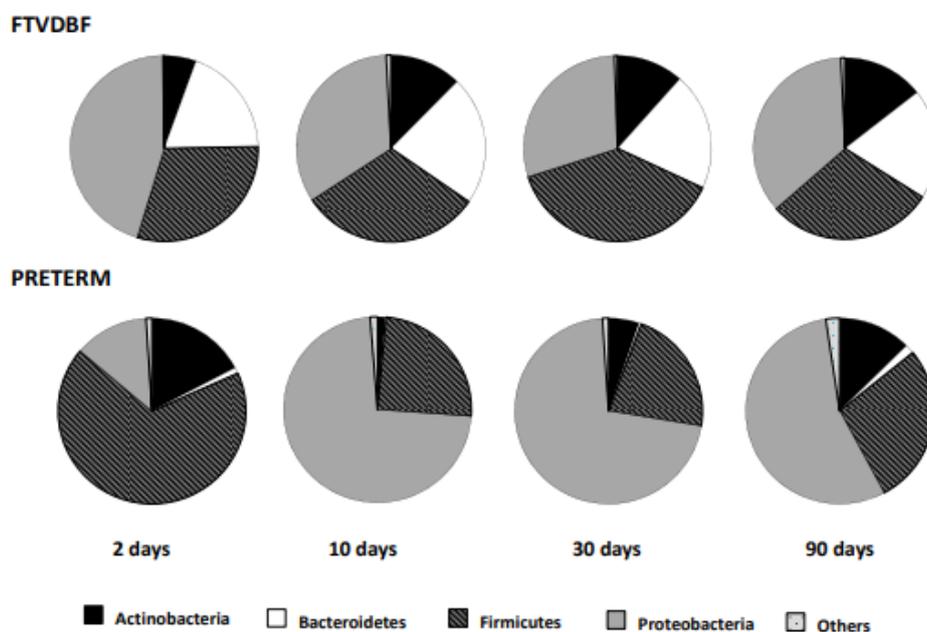


Figure 2 : Comparaison du microbiote de prématurés (PRETERM) et d'enfants nés à terme (FTVDBF) à différents temps

Source : Arboleya S, et al. International Journal of Molecular Sciences (2016)

Les résultats visibles dans la figure 2 ci-dessus sont les suivants :

- A J2, les enfants prématurés ont un taux plus élevé de bactéries du groupe Firmicutes ($p < 0,01$) et un taux plus faible en Bacteroidetes ($p < 0,05$) par rapport aux enfants nés à terme ;
- A J10, les Protéobactéries deviennent majoritaires ($p < 0,01$) et ce jusqu'à J90 ($p < 0,001$) ;
- A J90, chez les nourrissons nés à terme, on a une co-dominance pour le groupe des Protéobactéries, des Firmicutes, des Bacteroides et des Actinobactéries. A cette même période, on a une prédominance du groupe des Protéobactéries puis des Firmicutes pour les prématurés.

Cette étude dévoile l'impact que la prématurité a sur la composition du microbiote intestinal avec une modification des groupes bactériens dominants, dès les premiers instants d'établissement de ce dernier. L'enfant prématuré a donc un taux moins élevé en *Bacteroides* et *Bifidobacterium* et à l'inverse une hausse des niveaux de Protéobactéries et des Firmicutes. Ces variations seront souvent associées à un risque plus élevé de développer certaines pathologies (le taux élevé de Protéobactéries est par exemple impliqué dans l'installation d'une entérocolite nécrosante néonatale chez les prématurés (16)).

Dans les jours qui suivent, d'autres éléments vont influencer la composition du microbiote de l'enfant.

Le type d'alimentation

L'alimentation est un facteur clé dans l'établissement du microbiote intestinal. Tout au long de la vie d'un individu, il influencera sa composition tant au niveau qualitatif que quantitatif. Le lait maternel regroupe un nombre varié d'espèces bactériennes (plus de 700 espèces y seraient retrouvées (12)). Les genres majoritaires sont les *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Serratia* et *Corynebacteria* (17). Les bactéries de ces genres font donc parties des premiers colonisateurs du microbiote intestinal du nouveau-né allaité.

De plus, la composition du lait maternel riche en oligosaccharides complexes favorise le développement des Bifidobactéries (12).

Les nouveau-nés nourris par le lait artificiel verront leur flore intestinale plus diversifiée en souches bactériennes. Les souches au rôle anti-infectieux important comme les Bifidobactéries et les Lactobacilles seront donc moins présentes.

Par la suite, la diversification de l'alimentation sera source de nouvelles colonisations telle que les *Bacteroides* et les *Clostridium* (1).

Les antibiothérapies

Chez un nourrisson, la prise d'antibiotique, même à court terme, peut affecter le développement de son microbiote intestinal et avoir une influence sur la composition ultérieure de ce dernier.

Une étude (*Fouhy et al.*) est réalisée sur 9 nouveau-nés traités par une céphalosporine de 3^{ème} génération au cours des 4 premiers jours de leur vie (14). Elle compare l'établissement du microbiote intestinale de ces nourrissons avec des nouveaux nés ne recevant aucun traitement médicamenteux. Elle révèle que les nourrissons ayant reçu l'antibiothérapie ont un

taux de bactéries potentiellement bénéfiques (les *Bifidobacterium* et les *Lactobacillus*) diminué et une augmentation des bactéries potentiellement pathogènes (les entérobactéries).

La prise d'antibiotique par la mère au cours de la grossesse influence également la composition microbienne du nouveau-né.

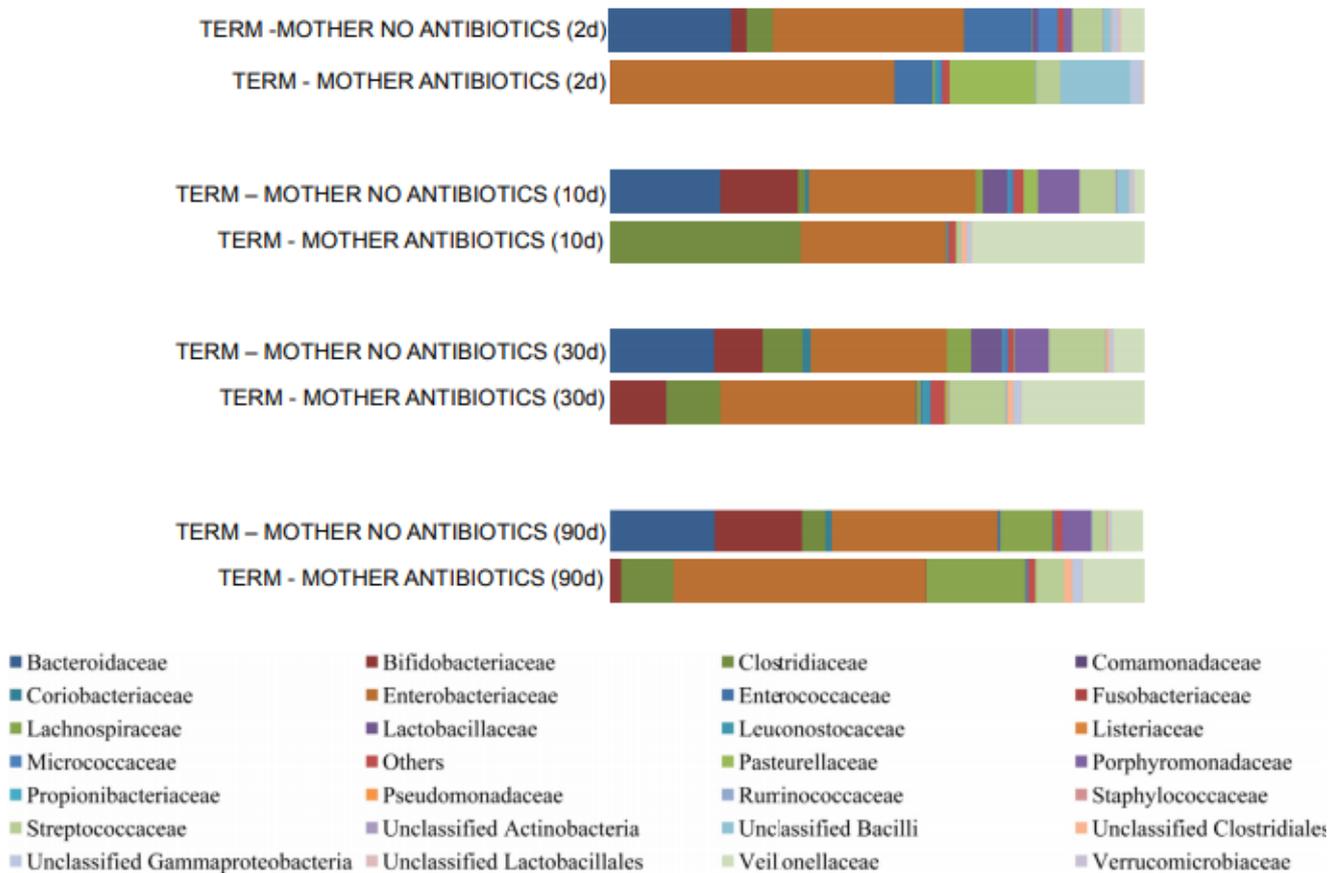


Figure 3 : Composition du microbiote intestinal à J2, J10, J30 et J90 chez des nourrissons nés à terme et pour lesquels la mère a reçu ou non une dose d'ampicilline

Source : Arboleya S, et al. The Journal of Pediatrics (2014)

La figure 3 compare la composition bactérienne du microbiote intestinal de nouveau-nés à J2, J10, J30 et J90. Pour ces nourrissons, la mère avait subi ou non une antibiothérapie à base de pénicilline au cours de la grossesse. Les conséquences de cette IPA (antibioprofylaxie intra partum) chez la mère sont observables dès les premiers instants de vie du nourrisson, comme l'illustre la figure 3 :

- A J2, les différences s'observent essentiellement pour le taux de *Bifidobacterium* qui est fortement réduit et ceux des Entérobactéries et des *Clostridium* qui sont augmentés ;
- A J90, ces variations toujours observées. Cela suggère que l'IPA modifie durablement la composition bactérienne du microbiote intestinal (14).

De la naissance à 3 ans, la flore intestinale de l'enfant se complexifie : la nature des souches se diversifie et leur nombre augmente. La prédominance qui était initialement partagée par les Protéobactéries et les Actinobactéries évolue vers une prédominance des Firmicutes et Bacteroidetes.

A partir de 3 ans, on constate une stabilisation. Le microbiote intestinal est dit « mature » et est assez similaire à celui d'un adulte hors période de la vie marquée par des événements marquants (puberté, grossesse, ménopause) (1) (12).

Après une longue période de stabilité, le microbiote de la personne âgée (65 ans et plus) se modifie de nouveau. Les variations interindividuelles s'accroissent et la diversité des espèces diminue.

Le rapport Firmicutes/Bacteroidetes ainsi que la quantité et la diversité des *Bifidobacterium* et *Bacteroides* semble diminuer. Une élévation des taux de Lactobacilles, Entérocoques et *Escherichia coli* sont généralement constatées et une hausse ou une diminution des *Clostridia* peuvent être observées chez le sujet âgé par rapport à l'adulte (11).

Ces variations sont le plus souvent expliquées par une modification du niveau de vie (malnutrition, isolement ou maison de retraite), l'altération de l'état général, les hospitalisations, la polymédication et les différentes pathologies qu'a pu accumuler le sujet âgé au cours de sa vie (1).

I.1.5. Localisation et structure du microbiote

Les milliards de bactéries composant le microbiote sont localisées dans différents sites tout au long de notre organisme. Le développement des nouvelles méthodes de séquençage du microbiote intestinal a permis de fournir des informations plus précises sur sa composition. Sur le plan quantitatif, on a pu estimer le nombre de bactéries dans le système digestif à près de 100 000 milliards une fois stabilisé (après l'âge de 3 ans), correspondant à près de 800 à 1000 espèces différentes. Ce volume est dix fois plus important que le nombre de cellules constituant notre organisme (1) (18) (19).

Le long du tractus digestif, le microbiote intestinal est retrouvé à tous les étages. Plus précisément, les bactéries commensales sont situées entre la lumière intestinale et la couche interne du mucus de l'épithélium intestinal.

La concentration bactérienne augmente au fur et à mesure que l'on descend dans le tube digestif, pour être au maximum au niveau du colon.

Estomac

Selon les données de l'Inserm, on retrouve 10 à 1000 bactéries/ml au niveau de l'estomac. A ce niveau-là, l'acidité du contenu gastrique et le caractère oxygéné du site sont responsables de cette quantité faible de micro-organismes (18). Les bactéries majoritaires sont des Firmicutes avec les genres *Lactobacillus* et des *Streptococcus* (20).

Intestin grêle

Le long des parois de l'intestin grêle, l'acidité et l'oxygénation du milieu diminuent progressivement. Cela s'accompagne proportionnellement à une augmentation progressive de la concentration de bactéries à 10 000 à 10 millions de bactéries/ml (18). A ce niveau, on retrouve essentiellement des Firmicutes (avec les *Lactobacillus* et les *Streptococcus*) et des

bactéries de la famille des Enterobacteriaceae. Les concentrations en *Bacteroides* augmentent également peu à peu (20).

Iléon

A la partie distale de l'intestin grêle, nous avons une partie dite « de transition ». Il s'agit de l'iléon, où la densité et la diversité en espèces bactériennes augmentent fortement, notamment celles des bactéries anaérobies.

Côlon

Enfin, dans le côlon, les conditions sont optimales à la prolifération des bactéries intestinales commensales : milieu anaérobique, peu acide, humide, à température constante. C'est pour cela que l'on y retrouve la concentration bactérienne maximale avec un volume estimé à 10 milliards à 10 000 milliards de bactéries/ml (18). La diversité des espèces y est aussi la plus variées avec plus de 400 espèces différentes.

Dans ce milieu, les espèces anaérobies prédominent, notamment les *Bacteroides*, les *Peptostreptococcus* et les *Bifidobacterium*. A un niveau moins important, on retrouve aussi quelques bactéries aéro-anaérobies facultatives (c'est le cas des Entérobactéries et *Lactobacillus*) et anaérobies (c'est le cas des *Faecalibacterium*, des *Clostridium*, et des *Ruminococcus*) (20).

I.1.6. Entérotypes

Un groupe de scientifiques internationaux a fait ressortir des grands groupes d'individus en fonction des genres dominants de leur microbiote intestinal. Parut dans le Journal Naturel, leur étude, qui s'inscrit dans le projet MetaHIT, analyse la flore intestinale chez un échantillon de sujets répartis dans l'ensemble du globe terrestre.

Cette étude a mis en évidence trois « Entérotypes » ou signature bactérienne de l'intestin. Chaque groupe d'entérotype rassemble les individus ayant la même prédominance dans les genres bactériens suivants : *Prevotella*, *Bacteroides* ou *Ruminococcus* (21). Cette analyse a permis de fournir une première classification des individus (22) :

- Dans l'entérotype 1, les individus sont riches en bactéries du genre *Bacteroides* et pauvres en bactéries du genre *Prevotella*. Cet entérotype est favorisé par une alimentation riche en protéines et graisses animales (23) ;
- Dans l'entérotype 2, on observe une prédominance des bactéries du genre *Prevotella*. Cet entérotype est favorisé par une alimentation riche en glucides ;
- Le groupe majoritaire est celui des individus de l'entérotype 3, dans lequel il a été constaté une prédominance des bactéries du genre *Ruminococcus* (1) (24).

Sous l'influence de différents facteurs (alimentation, traitements, etc, ...), un même individu peut passer d'un entérotype à un autre au cours de sa vie.

I.2. Fonctions physiologiques

L'étude des différents rôles du microbiote intestinal prouve la véritable symbiose existante entre celui-ci et notre organisme. Pour beaucoup, il est considéré comme un organe fonctionnel à part entière.

Les bactéries du microbiote intestinal puisent leur énergie dans les substrats résultant de notre alimentation ou présents physiologiquement dans notre corps. Grâce à cette énergie, ils exercent différentes fonctions et assurent ainsi l'homéostasie intestinale.

I.2.1. Effet barrière

Parmi toutes les fonctions du microbiote intestinal, la première à avoir été mise en évidence est celle de barrière naturelle contre les micro-organismes exogènes et/ou endogènes potentiellement pathogènes et les toxines pathogènes.

Effets directs

De par leur présence à la surface de l'épithélium intestinal, les bactéries commensales entrent en compétition directe avec les germes entéropathogènes et permettent ainsi de limiter leur fixation sur la muqueuse intestinale. En occupant les sites de fixation le long de l'épithélium intestinale, elles empêchent de façon directe l'implantation d'une autre espèce potentiellement pathogène.

Elles entrent également en compétition directe avec les pathogènes pour les sources de nutriments, éléments indispensables à leur prolifération (1) (25).

De plus, les bactéries de notre flore intestinale sont naturellement capables de produire des toxines antimicrobiennes appelées bactériocines. La sécrétion de ces composés protéiques à bas poids moléculaire se fait à la fois par des bactéries à Gram – (ex : Les colicines et microcines produits par *Escherichia coli*) et des bactéries à Gram + (ex : Les entérocoques produites par les bactéries du genre *Enterococcus*) (26).

Ces protéines leur permettent d'éliminer les bactéries pathogènes via des mécanismes plus ou moins différents en fonction de la bactériocine impliquée et d'inhiber leur croissance dans le milieu intestinal.

Enfin, la dégradation de certains acides biliaires primaires (ou secondaires) en acide biliaires secondaires (ou tertiaires) par le microbiote permet d'inhiber la croissance de certaines souches bactériennes entéropathogènes. C'est le cas par exemple de l'acide ursodésoxycholique, un acide biliaire tertiaire obtenu suite à une déshydroxylation effectuée par les bactéries intestinales. Ce produit de dégradation permet d'inhiber la croissance de *Clostridium difficile* (27).

Chez l'homme, environ 5% des acides biliaires produits dans le foie sont métabolisés par le microbiote colique (28).

Effets indirects

La teneur et la composition du microbiote intestinal sont 2 éléments clés. La variation de l'un ou de l'autre déclenchera la production de plusieurs éléments par des cellules intestinales afin de tenter de rétablir l'équilibre.

Les premiers types d'éléments produits sont les PAMs (peptides antimicrobiens). Les PAMs regroupent les défensines, les cathélicidines et les lectines de type C (29). Chez les mammifères, ils sont sécrétés par différents types de cellules (les cellules épithéliales, cellules calciformes et les cellules de Paneth) à la suite de la détection d'une perturbation du microbiote intestinal.

Ces peptides antimicrobiens, une fois sécrétés, ont un pouvoir bactéricide à large spectre sur les bactéries pathogènes afin d'éviter leur implantation mais également sur les bactéries commensales afin de limiter toute prolifération excessive.

Le second élément sécrété est le mucus, jouant un rôle protecteur pour les cellules intestinales. La stimulation de cette sécrétion se fait via une régulation, par les bactéries du microbiote intestinal, des gènes codant pour la mucine.

Les bactéries commensales sécrètent le butyrate (1), un médiateur métabolique bactérien, à proximité des cellules caliciformes intestinales aussi surnommées « cellules en gobelet » ou « cellules à mucus ». Lorsque ces cellules détectent le butyrate, elles augmentent leur production en mucines, qui s'agglomèrent pour former le mucus. Ce dernier piège les micro-organismes pathogènes et facilite leur élimination par le transit intestinal (30).

De plus, le microbiote intestinal amplifie indirectement ce rôle de barrière en stimulant la synthèse et la sécrétion d'immunoglobuline A (IgA) par les plasmocytes localisés dans la *lamina propria* (couche de tissu conjonctif situé sous l'épithélium intestinal). Ces IgA sécrétées seront dirigées spécifiquement contre des bactéries et permettront de fixer ces dernières à la couche de mucus afin de limiter leur contact avec la surface épithéliale et de faciliter leur élimination (31).

Enfin, le microbiote intestinal influence l'expression des gènes codant pour les protéines des jonctions serrées. Cela a été mis en évidence lors de la comparaison de microbiote de souris axéniques et souris conventionnelles. Il a ainsi été montré que chez les souris dépourvues de microbiote, la claudine (principale protéine des jonctions serrées) était sous-exprimée. Le microbiote, en renforçant la barrière physique formée par les jonctions serrées entre les cellules épithéliales, limite donc le passage d'agents pathogènes ou commensaux à ce niveau-là (1).

Tous ces mécanismes, qu'ils soient directs ou indirects, participent à l'effet barrière qu'exerce le microbiote intestinal et permettent *in fine* de tenir à l'écart les pathogènes éventuels. Une altération de l'un ou plusieurs de ces mécanismes est impliquée dans de nombreuses pathologies.

I.2.2. Nutrition et métabolisme

Le second rôle majeur des bactéries commensales est la dégradation de résidus alimentaires que notre organisme ne peut gérer et la digestion de ces nutriments. Le microbiote intestinal étant métaboliquement très actif, il permet de fournir environ 10% de nos besoins énergétiques.

Ces étapes s'opèrent essentiellement au dernier niveau du tractus digestif, dans le côlon, où un large arsenal enzymatique, spécifique de notre microbiote intestinal, se déploie.

I.2.2.1. Métabolisme des glucides

Les bactéries intestinales, grâce à la synthèse d'enzymes essentielles, dégradent les sucres complexes non-digérés par notre organisme. Ces enzymes appartiennent à la famille des carbohydrydrate-actives enzymes ou CAzymes parmi laquelle on retrouve notamment les glycoside-hydrolases dit GH et les polysaccharide-lyases dit PL.

Un microbiote de 1000 espèces peut produire plus de 56 000 GH et PL tandis que le génome humain, avec ses 22 000 gènes, ne code que pour 17 GH tout au plus (32).

Alors que le génome humain ne peut digérer que le lactose, le saccharose et une partie de l'amidon, l'activité enzymatique des bactéries intestinales permet de dégrader des polysaccharides complexes issus principalement de nos fibres alimentaires tels que :

- L'amidon résiduel : la fraction restante de l'amidon qui n'a pu être digérée par l'intestin grêle est appelée l'amidon résiduel ou résistant. Dans l'alimentation, l'amidon est retrouvé essentiellement dans les féculents (pomme de terre, pâtes, ...) ;
- Les composants de la paroi de cellules végétales (cellulose et hémicellulose, pectines, lignines et glycoprotéines) : issus principalement de fruits, légumes ou céréales ;
- Les glycosaminoglycans et les mucines : issus d'aliments d'origine animale (25) (9).

La dégradation de ces polysaccharides complexes au niveau du côlon permet l'obtention de sucres simples. Ce sont ces sucres à chaînes plus courtes qui subissent la fermentation bactérienne. *In fine*, on obtient des AGCC aussi appelés des acides gras volatils : l'acétate (C2), le propionate (C3) ou le butyrate (C4) (1).

- L'acétate peut être produit par les principales espèces dominantes du microbiote colique (ex : *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* ou *Ruminococcus*) ;
- Le butyrate est principalement produit par les espèces du phylum des Firmicutes ou encore par *Akkermansia muciniphila* ;
- Le propionate est pour l'essentiel produit par les espèces de *Bacteroides* (33) (25).

Ces AGCC sont absorbés par les cellules du côlon pour être métabolisés par la suite dans différents organes ou devenir des précurseurs dans de nombreuses réactions.

I.2.2.2. Métabolisme des lipides

Les espèces bactériennes du microbiote participent également à la réduction de la cholestérolémie. En effet, ils interviennent dans le métabolisme du cholestérol lorsque ce dernier n'est pas absorbé le long de l'intestin grêle et atteint le côlon. C'est le cas par exemple des espèces de *Bacteroides* qui dégrade le cholestérol issu pour l'essentiel de la bile en coprostanol (34), un stérol non pris en charge par notre organisme. Ce dérivé sera par la suite éliminé au niveau des fèces.

Les bactéries intestinales peuvent également métaboliser une faible proportion des acides biliaires non inclus dans le cycle entéro-hépatique (environ 5%). Ces métabolisations font intervenir des réactions de déconjugaison, de 7-déshydroxylation, d'oxydation, d'épimérisation, etc.... (28). Les genres bactériens *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Clostridium* possèdent par exemple une hydrolase spécifique, les rendant capables de réaliser une déconjugaison d'acides biliaires primaires (35).

Les bactéries du genre *Clostridium* possèdent les enzymes nécessaires à la transformation d'acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires : l'acide cholique en acide désoxycholique et l'acide chénodésoxycholique en acide lithocholique, grâce à une 7 α -déshydroxylation (36).

Ces acides biliaires secondaires participent ensuite à la digestion des lipides et aident à leur absorption au niveau de l'intestin grêle.

I.2.2.3. Métabolisme des protéines

Enfin, les bactéries coliques sont capables d'hydrolyser les protéines alimentaires non digérées en amont (estomac et intestin grêle) pour en obtenir des peptides. A partir de ces peptides, certaines bactéries pourront fournir une grande diversité de produits terminaux :

- Les *Bifidobacterium*, les *Clostridium* et les *Bacteroides* permettent d'obtenir des acides aminés indispensables, des hydrocarbures, des acides gras à courtes chaînes et de l'ammoniaque ;
- Les bactéries sulfato-réductrices (certaines espèces de Firmicutes et Protéobactéries) permettent l'obtention de sulfures ;
- Les *Lactobacillus*, les Enterobactéries, les *Bacteroides*, les *Bifidobacterium* et les *Clostridium* permettent d'obtenir des composés phénoliques à partir d'acides aminés aromatiques (Tyrosine, Tryptophane, Phénylalanine) (1) (25).

En fonction des types et de la quantité de protéines ingérées, la production des produits terminaux peut varier. Ces derniers seront ensuite absorbés puis transportés vers d'autres organes.

I.2.3. Maturation et développement immunitaire

Outre son rôle de barrière protectrice contre les agents pathogènes et son implication dans la dégradation des nutriments, le microbiote est étroitement lié au système immunitaire.

Avant de montrer l'implication du microbiote intestinal dans la maturation et le développement immunitaire, nous ferons un bref rappel des réactions immunitaires innée et adaptative.

Rappel des mécanismes de la réponse immunitaire innée

L'immunité innée est la première ligne de défense à se mettre en place lorsqu'un agent infectieux ou un pathogène franchit les barrières que constituent la peau ou les muqueuses. Elle s'installe immédiatement après l'interaction de récepteurs du soi dit PRR (*Pattern Recognition Receptors*) avec les PAMPs (motifs moléculaires associés aux pathogènes), des molécules du non-soi. Ces récepteurs de reconnaissance sont situés, entre autres, à la surface de cellules de l'immunité innée à savoir les cellules dendritiques, les mastocytes, les macrophages et monocytes, les granulocytes ou polynucléaires et les cellules NK (Natural Killer).

Parmi les PRR, on retrouve notamment les récepteurs membranaires TLR (*Toll-like receptor*) (37).

A la suite de la détection du corps étranger grâce à ce récepteur, certaines cellules de l'immunité innée présentent les antigènes aux lymphocytes T, libèrent des médiateurs chimiques (chimiokines, histamines, prostaglandines et cytokines) et initient la réaction inflammatoire.

Rappel des mécanismes de la réponse immunitaire adaptative

L'immunité adaptative est spécifique à un antigène donné. Les acteurs de cette immunité sont les lymphocytes B et les lymphocytes T.

Les lymphocytes T sont impliqués dans la réponse à médiation cellulaire. On distingue deux types :

- Les lymphocytes auxiliaires (ou helpers) ou lymphocytes T CD4 ;

- Les lymphocytes cytotoxiques ou les lymphocytes T CD8.

A la suite de la reconnaissance d'un antigène présenté par les cellules CPA (cellules présentatrices d'antigènes), les lymphocytes auxiliaires sont activés et libèrent des interleukines (IL). Ces IL sont des cytokines qui pourront alors stimuler les lymphocytes TCD8+ pour la destruction de l'agent pathogène.

Parmi les lymphocytes T auxiliaires activés, 3 sous-populations sont à distinguer : Les Th1, Th2 et Th17 qui sécrètent chacune des cytokines inflammatoires spécifiques. Leurs activités sont freinées par les T reg (régulateurs), un autre type de LTCD4+. L'équilibre entre lymphocytes régulateurs et lymphocytes auxiliaires est essentiel pour le maintien de l'homéostasie intestinale.

Les lymphocytes B sont impliqués dans la réponse à médiation humorale. Elles possèdent à leur surface des anticorps membranaires (récepteurs des lymphocytes B) permettant de reconnaître un épitope (déterminant antigénique) d'un antigène donné. A la suite de la reconnaissance de l'antigène, le lymphocyte B se multiplie puis se différencie en plasmocyte ou en lymphocyte B mémoire. Les plasmocytes sont capables de produire des anticorps circulants qui vont se complexer à l'antigène. Le complexe anticorps-antigène sera alors internalisé par des cellules capable de phagocytose.

L'importance du microbiote intestinal dans l'immunité a été mise en évidence grâce à l'observation des différences entre des souris axéniques (souris dépourvues de microbiote) et des souris conventionnelles (souris avec un microbiote) (20). Il a ainsi pu être observé que chez les souris exemptes de flore intestinale, le système immunitaire était sous-développé et présentait un grand nombre d'anomalies :

- Croissance insuffisante des plaques de Peyer. (amas de follicules lymphoïdes situé dans l'iléon et qui a pour principales fonctions la reconnaissance et la lutte contre les infections intestinales) ;
- Rate et ganglions lymphatiques peu structurés avec réduction de leurs centres germinatifs (1) ;
- Baisse de la différenciation, accumulation des lymphocytes B et donc diminution des plasmocytes productrices d'IgA ;
- Hypogammaglobulinémie sérique : diminution des taux d'anticorps pouvant aboutir à une hausse des infections ;

Ces perturbations n'étaient toutefois pas définitives puisqu'à la suite de l'inoculation de microbiote de souris conventionnelles à des souris axéniques, ces dernières ont été rapidement corrigées (35).

Concernant l'implication du microbiote intestinal dans le développement de l'immunité, plusieurs études s'accordent sur le fait que les bactéries commensales modulent la différenciation et la maturation des lymphocytes T CD4+, notamment les Th17 et les Treg.

Dans le tractus gastro-intestinal, la *lamina propria* abrite un nombre important de cellules immunitaires. C'est là notamment que sont retrouvés la majorité des Th17 du système immunitaire intestinal.

L'analyse de l'intestin de souris nouveaux-nés a révélé qu'à la naissance, ces derniers étaient dépourvus de Th17. Ce n'est qu'à partir de la troisième semaine de vie que cette sous-

population de lymphocytes était apparue, concordant avec l'augmentation des taux de bactéries intestinales. De plus, les Th17 étaient absents chez des souris axéniques. Après introduction d'un microbiote intestinal à ces souris, la population Th17 est apparue. Les bactéries intestinales se sont donc avérées indispensables pour la maturation des LTCD4 et leur différenciation en Th17 (38). Un taxon bactérien précis a été identifié. Il s'agit de la bactérie filamenteuse segmentée (BFS). Les BFS sont des bactéries anaérobies à Gram positif, apparentées à la famille des *Clostridiaceae*. Ce sont des commensaux retrouvés essentiellement dans l'iléon terminal. Ces bactéries auraient également un rôle dans la sécrétion d'IgA (39).

La concentration en Treg semble également être contrôlée par ces bactéries commensales. En effet, toujours dans le modèle de souris, il a été observé que les niveaux en Treg étaient en excès chez les souris dépourvues de germes et qu'après introduction d'un microbiote, leur taux était régulé à la baisse (38). La présence de ces bactéries intestinales est donc indispensable pour maintenir la balance Treg / Th17 à l'équilibre.

Les bactéries commensales régulent également l'immunité par l'intermédiaire des AGCC qu'elles produisent. Le butyrate permet notamment la différenciation des lymphocytes T CD8+ en lymphocytes à mémoire (40).

L'émergence du système immunitaire intestinal fait donc écho à celle du microbiote intestinal dans les jours et semaines qui suivent la naissance. Les plaques de Peyer, la différenciation des lymphocytes T et la sécrétion d'IgA apparaissent notamment en réponse aux bactéries intestinales (41). C'est un mécanisme complexe qui se met ensuite en place pour permettre un état de tolérance vis-à-vis des micro-organismes commensaux tout en induisant une réponse immunitaire contre les agents pathogènes,

I.3. Dysbiose du microbiote intestinal

Lorsque l'équilibre du microbiote décrit précédemment est rompu, on parle de dysbiose. Afin de mieux comprendre ce terme, nous pouvons le décomposer en deux parties : avec « dys » issu du grec ancien « dus » représentant une difficulté ou un mauvais état et « bios » désignant en grec ancien la vie. La dysbiose est ainsi une altération qualitative et/ou quantitative du microbiote intestinal entraînant une rupture de la symbiose établie entre les espèces le constituant et notre organisme.

Même si l'ensemble des mécanismes aboutissant à cet état ne sont pas aujourd'hui tout à fait connus, on peut décrire 3 types de dysbiose :

- Celle faisant suite à une baisse du taux d'un organisme bénéfique ;
- Celle faisant suite à l'émergence de pathobionte ou d'une espèce pathogène (un pathobionte désignant des organismes opportunistes, normalement en sous-nombre (42) dans un microbiote sain) ;
- Celle faisant suite à une réduction de la richesse et/ou de la diversité microbienne (1).

Cette rupture d'équilibre du microbiote intestinal peut être le résultat de différents facteurs et peut se conclure par un nombre varié de symptômes et de pathologies en fonction des souches bactériennes concernées. Toujours à l'étude aujourd'hui, nous allons décrire brièvement les causes et conséquences pour l'instant connues de l'Homme.

I.3.1. Causes connues de la dysbiose

Un changement brutal dans l'environnement (température, niveau d'oxygène, ...), un excès durable dans l'alimentation, une déficience dans notre système immunitaire, une altération de la muqueuse intestinal ou l'usage de certains médicaments sont les principales causes d'une baisse de diversité ou de croissance de taxons bactériens.

I.3.1.1. Les traitements

L'usage de traitements médicamenteux est un facteur environnemental à ne pas négliger lorsque l'on cherche les causes d'une dysbiose.

En nous basant sur les résultats de plusieurs études, nous prendrons pour exemples 3 classes médicamenteuses, dont l'administration est faite par voie orale : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), les antibiotiques et les antidiabétiques oraux (plus précisément la metformine).

I.3.1.1.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Une étude réalisée sur 155 individus âgés entre 19 et 88 ans a analysé l'impact de la prise de certains AINS sur le microbiote intestinal. Parmi les sujets sélectionnés, 40% d'entre eux avaient eu recours à des AINS au cours des 30 jours précédents l'étude. Les résultats (visible dans la figure 4) ont révélé qu'une prise au long cours des AINS augmentait de façon significative les espèces appartenant aux familles de Bacteroidaceae et Enterobacteriaceae. En fonction de l'AINS consommé par les sujets, les augmentations sont plus ou moins variées (43) (44).

Ces variations étaient augmentées lorsque la prise d'AINS était associée à une prise d'Inhibiteurs de la pompe à proton (IPP).

Généralement utilisés en concomitance afin de limiter l'effet délétère des AINS sur la muqueuse gastrique, les IPP potentialisent les effets de ces derniers. De par leur action sur la sécrétion d'acide gastrique, ils induisent des variations à tous les étages du tube digestif. Il abaisse notamment le niveau en Actinobactéries (essentiellement les *Bifidobacterium spp.*) et induisent une hausse des Firmicutes (notamment les *Lactobacillaceae*, *Staphylococcaceae*, *Clostridiaceae* et *Enterococcaceae*) (45).

Les déséquilibres engendrés augmenteraient alors la survenue d'infections intestinales comme par exemple les infections à *Clostridium difficile* (46).

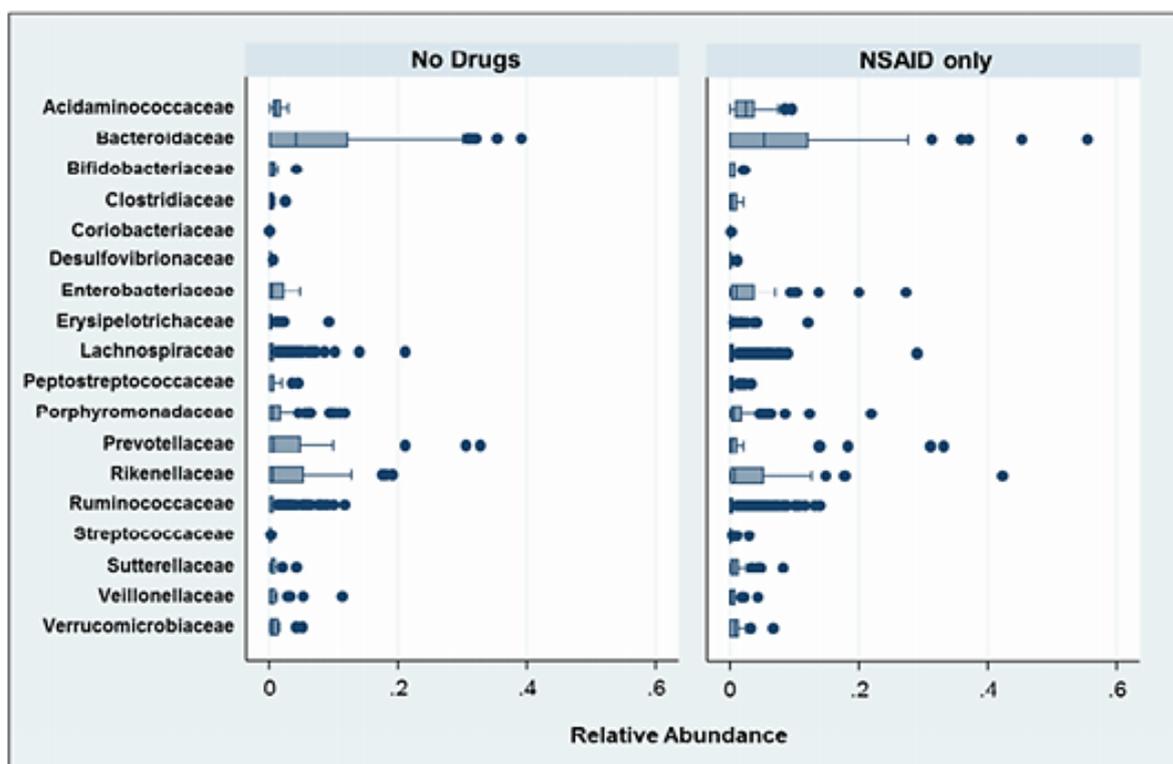


Figure 4 : Prévalence des familles des bactéries intestinales chez des sujets ayant reçus des AINS vs des sujets n'ayant reçu aucun traitement

Source : Rogers MAM, Aronoff DM, The Influence of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs on the Gut Microbiome, *Clinical Microbiology and infection* (2015)

I.3.1.1.2. Les antibiotiques

Chez un adulte, la plupart des traitements antibiotiques ne modifient que de façon transitoire la composition du microbiote intestinal du fait de la courte durée de la cure. C'est le cas de l'amoxicilline qui n'a pas ou peu d'effet significatif au long court. Cependant, cela ne peut être généralisé à toutes les classes d'antibiotiques.

L'administration de ciprofloxacine chez des adultes, pendant une période de 10 mois, induit des perturbations rapides et durables du microbiote. Ces perturbations se caractérisent par une augmentation des bactéries aérobies à gram positif (44).

Une cohorte réalisée sur 236 enfants tous âgés de 2 à 7 ans révèle qu'une antibiothérapie par macrolide (47) au cours de l'enfance a des effets au long court sur la composition de la communauté microbienne. En plus d'un risque plus accru d'antibiorésistance face aux macrolides, il a été constaté une hausse des Protéobactéries et des Bacteroidetes et une baisse du taux d'Actinobactéries et de Firmicutes.

Si la durée du traitement est plus longue ou si un individu a été confronté à des antibiothérapies répétées au cours de sa vie, son microbiote en sera marqué et sa composition subira des variations cette fois-ci durables dans le temps.

C'est le cas des personnes âgées qui sont plus favorables aux infections par *Clostridium difficile* (48) suite à la prolifération de ce dernier. Les antibiothérapies répétées rendent ainsi incomplète la récupération d'une composition saine du microbiote intestinal.

I.3.1.1.3. La metformine

Cette molécule de la classe des biguanides est l'antidiabétique oral le plus prescrit dans le traitement des diabètes non insulino-dépendants appelé également diabète de type II (DT2). Plusieurs études se sont intéressées aux effets que pouvait engendrer ce traitement sur la composition du microbiote intestinal.

Le travail de Forslund K *et al.* a été réalisé en vue de distinguer les différentes signatures qu'ont la metformine et le diabète de type II sur le microbiote intestinal (49). Il a impliqué 784 sujets venant de l'ensemble du globe terrestre. Parmi eux, certains présentaient un diabète de type I, d'autres présentaient un DT2 et enfin certains ne présentaient aucun trouble diabétique. Les résultats de l'étude ont révélé que la prise au long cours de la metformine modifiait notamment le taux d'*Escherichia spp.* dont *Escherichia coli* en augmentant son abondance, et diminuait celui d'*Intestinibacter spp.*, une espèce de Firmicutes (44).

L'étude de Wu H *et al.* confirme ces données et révèle que cette influence sur la composition microbienne s'opère également avec des durées de traitement plus courtes (durée de 2 ou 4 mois). (50).

La prise de metformine aurait ainsi des effets immédiats sur la composition de notre microbiote intestinal, en favorisant l'expansion d'espèces opportunistes. Cela pourraient expliquer les effets indésirables gastro-intestinaux fréquents (notamment de type diarrhées et douleurs abdominales) survenant à la suite d'un traitement par cet antidiabétique oral (51).

I.3.1.2. Déficit immunitaire

Nous avons décrit dans une précédente partie le rôle du microbiote intestinal dans l'établissement de l'immunité. Mais la régulation se fait également dans le sens inverse. En effet, le système immunitaire permet de maintenir la cohésion de la relation entre notre organisme et le microbiote qu'il héberge. Lorsqu'il est déficient, l'homéostasie intestinale est compromise.

Une étude comparant des souris déficientes en lymphocytes B (et donc en Ig A) et des souris ne présentant pas cette déficience a mis en évidence une variation du microbiote chez les souris avec la déficience. Dans cette population, une dominance anormale en *Paracoccus* et en *Lactococcus* ainsi qu'une diminution anormale en Clostridiales ont été observées (52).

Des atteintes de récepteurs impliqués dans l'immunité innée (récepteurs de type Toll et récepteurs de type NOD) ou une atteinte des lymphocytes T impliqués dans l'immunité adaptative ont aussi été corrélées à une variation du microbiote intestinal (1).

I.3.1.3. Changement brutal du régime alimentaire

L'alimentation, en fonction de la quantité ou du type de nutriments que l'on apporte, affecte notre santé et module la teneur et/ou la diversité de notre microbiote intestinale. Il n'est donc pas étonnant qu'une variation brutale de notre bol alimentaire (baisse ou hausse excessives des apports ou modification des composants) soit corrélée à une variation de la composition du microbiote intestinal. Ces variations concernent généralement les familles mais pas les phyla. Si ces changements persistent dans le temps, ils peuvent être à l'origine de dysbiose (53) (54).

Modification de l'apport en protéine

Les variations induites par une modification brutale des apports protéiques restent modérées. Lorsque ces changements s'opèrent sur le long terme, nous pouvons toutefois noter un changement d'entérotype chez l'individu concerné (23). Ainsi, une augmentation de la proportion de bactéries du genre *Bacteroides* est observée lorsque la quantité de protéines et donc d'acides aminés d'origine animale ingérées est augmentée sur une longue période. Cela s'explique par le fait que les *Bacteroides* sont capables de putréfaction.

A l'inverse, une diminution de ces apports serait en faveur d'un entérotype de type I avec une prédominance du genre *Prevotella*.

Ces variations ne sont pas nécessairement observées sur du court terme.

Modification de l'apport en lipide

Des apports excessifs en matières grasses perturbent la diversité des espèces bactériennes du microbiote, et ce de façon réversible jusqu'au retour à une alimentation normale.

Cette perturbation induit un abaissement de l'abondance en Bacteroidetes et une augmentation de l'abondance en Firmicutes (55). Le phyla des Protéobactéries est également affecté par ce changement puisque son taux est augmenté par ce type de régime alimentaire.

De plus, lorsque les apports sont excessivement riches en matière grasse, le pool d'acides biliaires se voit augmenté. Se retrouvant en excès, ils ne peuvent être tous absorbés au niveau de l'intestin. Ce pool d'acides biliaires abaisse le pH du milieu intestinal et modifie la composition du microbiote, puisque la majorité des espèces bactériennes ne peuvent survivre dans ces nouvelles conditions physicochimiques (56).

Modification de l'apport en fibre

Lorsque l'alimentation est riche en polysaccharides végétaux, il en résulte une augmentation des bactéries du phyla Bacteroidetes avec une abondance des genres *Prevotella* et en *Xylanibacter*. C'est ce que révèle une étude comparant le microbiote fécal d'un groupe d'enfants du Burkina Faso, possédant une alimentation plus riche en fibres et protéines animales, à un groupe d'enfants Européens (Figure 5) (53).

Les bactéries du genres *Prevotella* et *Xylanibacter* étant pourvues d'une activité enzymatique leur permettant la dégradation de xylose, de xylane et de cellulose, ils sont majoritaires lors d'un régime riche en fibre.

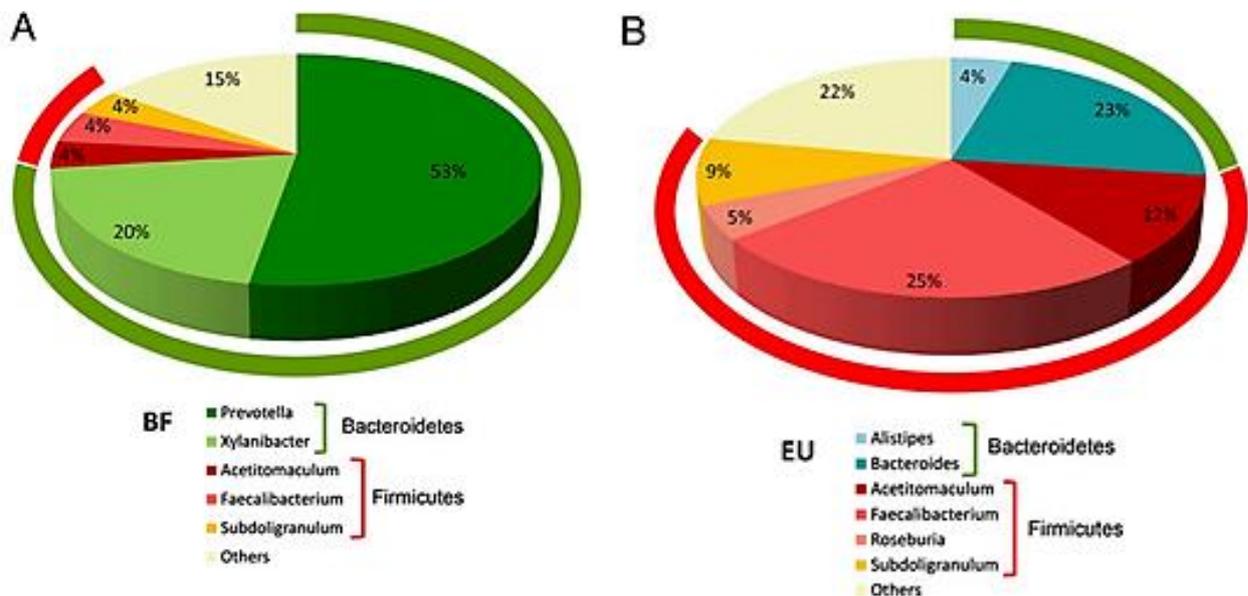


Figure 5 : Diagrammes des phyla et genres bactériens les plus représentés dans les échantillons fécaux d'enfants Burkinabés (A) et Européens (B).

Source : De Filippo C, et al. *Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa* (2010).

Modification de l'apport en glucide

De nombreuses études mettent en évidence un lien entre un régime alimentaire riche en glucides et l'émergence de maladies inflammatoires chroniques au niveau de l'intestin. Cela s'expliquerait par les variations de la composition microbienne induites par l'excès de glucides, avec notamment une hausse des pathobiontes (normalement sous-dominants) et une diminution des bactéries commensales.

Au niveau des phyla, l'excès de glucose et de fructose a été corrélé à une diminution de la proportion en Bacteroidetes et une augmentation de la proportion en Protéobactéries (57). Une diminution des *Lactobacillus* et des *Bifidobacterium* ainsi qu'une hausse en Enterobacteriaceae sont également associées à une surconsommation de fructose (58).

I.3.1.4. Altérations de la muqueuse intestinale

Le long du tractus gastro-intestinal, un mucus tapisse une monocouche de cellules épithéliales. L'ensemble des deux forme la muqueuse intestinale. Cette couche de mucus, dont l'épaisseur est maximale au niveau du côlon, permet non seulement former de ligne de défense contre les agents pathogènes (voir partie I.2) mais également de fournir les nutriments nécessaires à la croissance de certaines bactéries commensales. L'intégrité de cette couche de mucus, et donc de cette muqueuse intestinale est essentielle au maintien de l'homéostasie intestinale.

La mucine est le constituant majeur du mucus et permet de fournir du glucide aux bactéries présentant une activité d'hydrolase. C'est le cas notamment de *Ruminococcus intestinalis* du phylum des Firmicutes ou d'*Akkermansia muciniphila* du phylum des

Verrucomicrobiota (9). Sous l'influence de certains facteurs, la glycosylation des mucines peut être modifiée, ce qui est responsable d'une variation de l'apport en glucides aux bactéries. Ces dernières utilisant le glucide comme source d'énergie, il en résulte alors une modification de la composition bactérienne (59).

De plus, la colonisation du tractus gastro-intestinal par certaines espèces dépend de la capacité de ces espèces à adhérer à la muqueuse intestinale. Cette capacité d'adhésion s'opère grâce à des éléments spécifiques (adhésines, pili et fimbriae) et se fait sur la partie glucidique des mucines. Toutes les bactéries ne présentent pas ces éléments de fixation. La composition du mucus permet donc de réguler les groupes bactériens dominants (44).

I.3.2. Stratégies disponibles pour restaurer l'équilibre microbiotique

Le traitement d'une dysbiose passe avant tout par un rééquilibrage de la flore intestinale, ce dernier étant nécessaire pour réaugmenter le taux de bactéries dites « bénéfiques » à notre santé.

En plus de l'adoption d'une bonne hygiène de vie et d'un choix stratégique dans la consommation de nos aliments, nous disposons aujourd'hui de plusieurs types de molécules pour restaurer le mieux possible le microbiote intestinal :

- **Les probiotiques** : Ils permettent d'ensemencer la flore en micro-organismes vivants. Ils exercent un effet bénéfique sur notre santé lorsqu'ils sont administrés à la bonne quantité. Les principales souches probiotiques sont des *Streptococcus sp.*, des *Bifidobacterium sp.* et des *Lactobacillus sp.* Nous détaillerons les probiotiques dans la partie III de ce travail.
- **Les prébiotiques** : Ils regroupent un groupe de nutriments (principalement des oligosaccharides et des polysaccharides) indigestibles par notre estomac. Ils arrivent alors intacts dans l'intestin où, au contact du microbiote intestinal, ils subissent une fermentation permettant d'obtenir des AGCC. Ces acides gras interviendront ensuite dans diverses voies métaboliques. Leur apport permet ainsi de stimuler l'activité des bactéries bénéfiques, déjà présentes dans le microbiote.
A la différence des probiotiques, nous n'apportons ici que les nutriments nécessaires à la croissance et à l'activité bactérienne. Un prébiotique donné ciblera un ou plusieurs type(s) bactérien(s) particulier(s). Les principaux prébiotiques que l'on peut retrouver aujourd'hui sont des galacto-oligosaccharides (GOS), des fructo-oligosaccharides (FOS) et des inulines. On les retrouve de façon naturelle, mais en faibles quantités, dans certains aliments tel que les fruits, les légumes, ou parfois dans des produits laitiers (60).
- **Les symbiotiques** : Ils regroupent à la fois des probiotiques et des prébiotiques. Cette association au sein de la même forme permet une action synergique des deux composants.
- **Des transplantations fécales** : Elles ont été réalisées dans le cadre d'essai clinique. Cette technique permet d'introduire « des selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un patient receveur » (ANSM). La transplantation de l'ensemble de l'écosystème permet au patient receveur de récupérer une composition microbienne proche de celle de son donneur sain avec une dominance en Bacteroidetes et Firmicutes. Pour le moment, cette technique reste toutefois réservée aux cas extrêmes (exemple : infections récurrentes multiples à *Clostridium difficile*) (61).

I.3.3. Conséquences connues sur la santé

Après des perturbations modulant la composition et la diversité de notre microbiote intestinal, notre organisme est capable, jusqu'à un certain seuil, de revenir à son état d'équilibre. C'est la notion de résilience intrinsèque du microbiote (62). Le délai vers un retour à la normal est variable selon les individus et selon les groupes bactériens affectés. Cependant, lorsque le rééquilibrage du microbiote tarde à se faire, cela se répercute sur notre santé, avec des manifestations néfastes. Cela peut se traduire par le développement ou l'apparition de pathologies aux symptômes plus ou moins variés en fonction des souches bactériennes impliquées dans ce déséquilibre.

Au vu de la grande implication du microbiote intestinal dans la régulation de notre organisme, il n'est pas étonnant qu'une dysbiose prédispose à de nombreuses pathologies. Nous ne citerons ici que les principales pathologies pour lesquels un lien avec la dysbiose a été établi :

- Diabète ;
- Obésité ;
- Autisme ;
- Réactions allergiques ;
- Troubles cardiovasculaires ;
- Troubles gastro-intestinaux (maladie coeliaque) ;
- Maladies inflammatoires chroniques intestinales (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique) (35).

Le déséquilibre du microbiote intestinal peut se caractériser par une longue liste de symptômes variés. Les principaux étant : fatigue, diarrhée, ballonnements, constipation, déficits immunitaires, troubles de la digestion, reflux gastro-œsophagien, ...etc.

Dernièrement, de nombreuses études se sont intéressées aux conséquences de la modification de la composition du microbiote intestinal sur les cancers et plus particulièrement sur le cancer colorectal. Lorsqu'une dysbiose s'installe et perdure, des bactéries aux propriétés pro-cancérogènes (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium spp.*, *Helicobacter pylori*) se développent et leur concentration atteint des taux anormalement élevés (63). Ces propriétés pro-cancérogènes font intervenir une induction d'un stress oxydatif, une modulation des mécanismes de défenses de l'hôte et une modulation des voies de l'inflammation.

Dans la seconde partie de ce travail, nous étudierons la composition du microbiote dans le cas de cette atteinte cancéreuse et nous tenterons d'établir une relation entre une dysbiose intestinale et le cancer colorectal.

II. Dysbiose intestinale du cancer colorectal

Le cancer est une maladie se traduisant par une prolifération anormalement excessive des cellules et une incapacité du système de régulation de l'hôte à pouvoir contrôler leur croissance. Il peut se développer dans n'importe quel tissu du corps. L'anomalie touchant les cellules cancéreuses peut se transmettre rapidement aux cellules voisines, voir être disséminée dans d'autres parties de l'organisme et former ce que l'on appelle des métastases. Selon les données de l'OMS (Estimations des décès en 2020), les 5 cancers les plus meurtriers dans le monde (tout sexe confondu) sont, dans l'ordre décroissant, le cancer du poumon, le cancer colorectal, le cancer du foie, le cancer de l'estomac puis le cancer du sein (64).

II.1. Généralités sur le cancer colorectal

Le cancer colorectal ou CCR est une tumeur maligne, ciblant le côlon ou le rectum. Dans la majorité des cas, il se forme lentement et progressivement à partir de polypes adénomateux (aussi appelés adénomes) dans les cellules de la paroi interne du côlon. Ces polypes sont des petites excroissances se développant le long des cavités naturelles de l'organisme et restent généralement sans gravité tout au long de la vie de l'individu. Toutefois, 2 à 3% de ces lésions pré-cancéreuses aboutissent au bout d'un certain nombre d'années, et à la suite d'une succession de mutations, à un adénome précoce pouvant évoluer en cancer malin (65). Environ 3 adénomes sur 1000 évoluent en cancer (66).

On estime aujourd'hui qu'environ 5% des cancers colorectaux sont d'origine génétique, avec la présence d'une mutation génique constitutionnelle. Mais dans la majorité des cas (>90% des CCR), l'hérédité ne rentrerait pas en jeu. Notre mode de vie favoriserait alors l'apparition et le développement de ce cancer sporadique (67).

Le plus souvent asymptomatique, il peut toutefois être accompagné de symptômes évocateurs tels que : des troubles du transit (diarrhée, constipation ou alternance des deux), des douleurs abdominales, des vomissements, du sang dans les selles, une asthénie, une perte de poids soudaine.... Etc.

II.1.1. Epidémiologie

Le CCR représente une charge de morbidité élevée dans le monde. Alors que le cancer était à l'origine de 8,8 millions de décès dans le monde jusqu'en 2015, 774 000 décès étaient imputables au cancer colorectal selon l'OMS.

En France Métropolitaine en 2018, le CCR représente la 2^{ième} cause de décès par cancer chez l'homme derrière le cancer du poumon et la 3^{ième} cause chez la femme derrière le cancer du sein et le cancer du poumon. Tout sexe confondu, il représente la deuxième cause de décès par cancer, avec 17 117 décès par an.

En termes d'incidence, le CCR représente le 3^{ième} cancer le plus fréquent chez l'homme (environ 23000 nouveaux cas) derrière le cancer de la prostate et le cancer du poumon. Chez la femme, il représente le 2^{ième} cancer le plus fréquent (environ 20000 nouveaux cas) derrière le cancer du sein. Tout sexe confondu, l'incidence est de 43 336 nouveaux cas par an (68).

II.1.2. Voies moléculaires impliquées dans la cancérogénèse colorectale

Le CCR est la résultante de multiples évènements génétiques et épigénétiques aboutissant à des mutations successives, à l'activation de gènes oncogéniques et à l'inactivation d'anti-oncogènes (Figure 6).

Trois instabilités génomiques ont été mises en évidence dans la cancérogénèse colorectale et sont à l'origine de phénotypes particuliers : l'instabilité chromosomique à l'origine du phénotype CIN, l'instabilité microsatellitaire à l'origine du phénotype MSI et l'hyperméthylation de l'ADN à l'origine du phénotype CIMP.

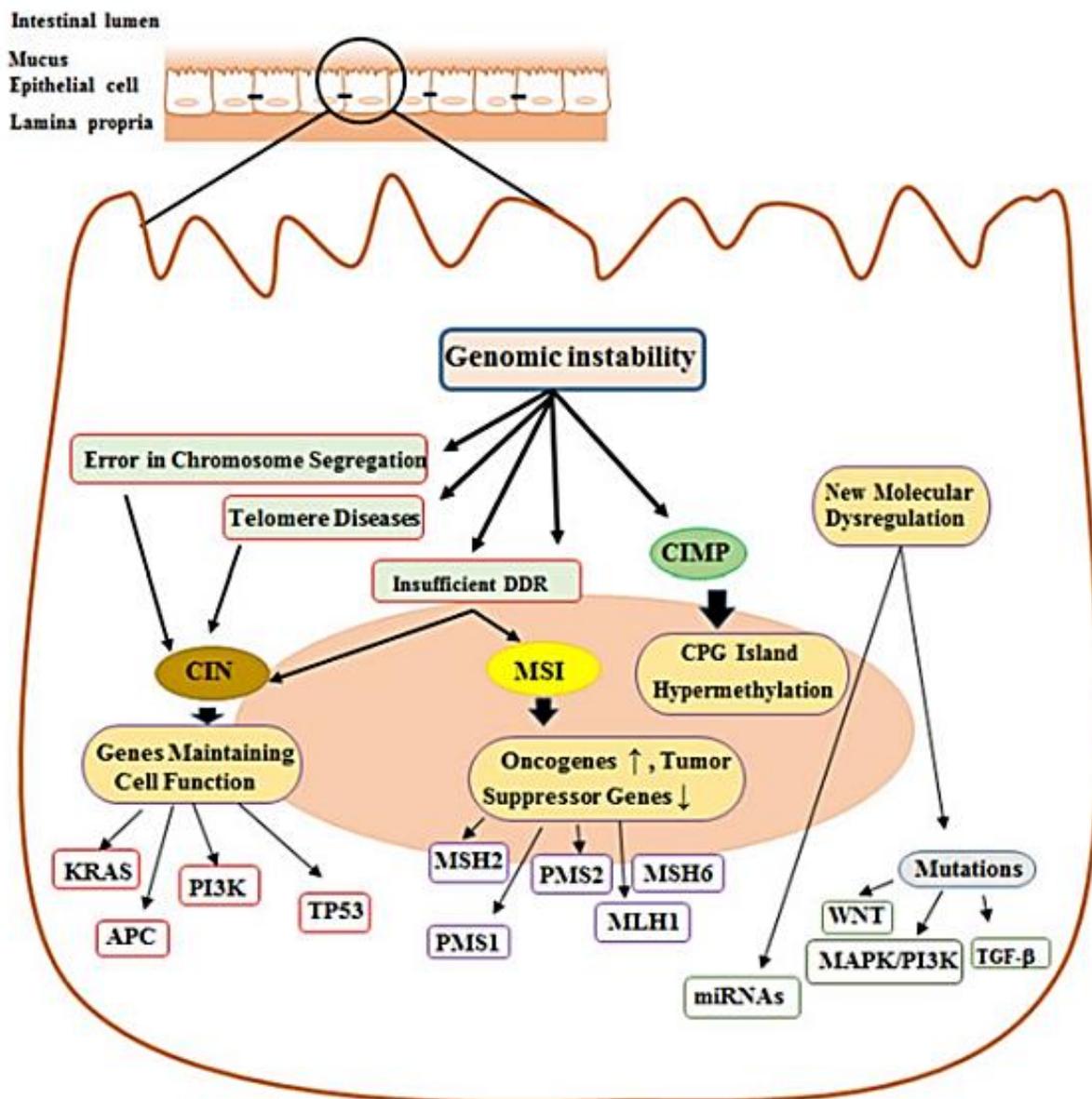


Figure 6 : Les différentes voies de signalisation du CCR

Source : Eslami M et al. *Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer*. J Cell Physiol. (2019).

II.1.2.1. L'instabilité chromosomique ou CIN

Il s'agit de la voie majoritaire, dite « voie classique », à l'origine de 80 à 85% des CCR sporadiques (69). Elle est caractérisée par des désordres télomériques ou un défaut de ségrégation des chromosomes responsables d'aneusomies ou aneuploïdies (anomalies du nombre de chromosomes) (70).

Cette instabilité chromosomique est responsable de mutations de gènes aux fonctions primordiales pouvant aboutir à l'inactivation de la transcription de gènes suppresseurs de tumeurs et une inactivation de protéines impliquées dans la réparation de l'ADN :

- **Inactivation du gène APC** (*Adenomatous polyposis coli*) : Lorsqu'il est actif, ce gène contrôle la motilité cellulaire en stabilisant les microtubules et contrôle la voie de signalisation Wnt pour limiter des proliférations cellulaires excessives (71). Les mutations de ce gène sont responsables notamment de la PAF ou Polypose adénomateuse familiale ;
- **Inactivation du gène Tp53** : Lorsqu'il n'est pas muté, ce gène exerce un rôle anti-oncogène (72) en codant pour la protéine p 53 impliquée dans la réparation de l'ADN, le contrôle de la croissance cellulaire et l'induction de l'apoptose des cellules (73) ;
- **Mutation des gènes codant pour PI3K et K-ras** : La mutation de ces deux gènes induit une activation de la MAP kinase impliquée dans la prolifération des cellules. Leur mutation participe donc à l'hyperprolifération des cellules cancéreuses (70).

II.1.2.2. L'instabilité des microsatellites ou MSI

Elle est retrouvée dans environ 15% des CCR sporadiques (69) et est également détectée dans le syndrome de Lynch ou HNPCC (cancer colorectal héréditaire sans polypose). L'instabilité des microsatellites est caractérisée par des mutations touchant les gènes codant pour le système MMR (*DNA mismatch repair*) à savoir, les gènes hMHL1, hMSH2, hMSH6, PMS1 et PMS2 (74).

Dans les cellules de notre organisme, le système MMR surveille la réplication de l'ADN, détecte les erreurs d'appariement des bases et les corrige (75). La mutation des gènes le codant est à l'origine d'une perte des mécanismes de réparation de l'ADN et donc à une accumulation de mutations secondaires, qui prédispose les cellules à une activation d'oncogène et une inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs (70)

Dans le cas des cancers MSI, les mutations sont le plus souvent localisées dans les séquences microsatellites du génome (séquences pouvant être codantes) c'est-à-dire des séquences d'ADN à court motif et répétées en tandem (76).

II.1.2.3. L'hyperméthylation des îlots CpG ou CIMP

La dernière instabilité génomique identifiée est une anomalie de la méthylation des îlots CpG. Ces îlots sont des régions de l'ADN dense en dinucléotides 5'-Cytosine-phosphate-guanine-3'. L'hyperméthylation anormale de la cytosine de ces CpG est retrouvée dans 20 à 30% des CCR sporadiques (69) et se traduit généralement par une mutation des gènes BRAF et KRAS responsable d'une inactivation de la transcription de gènes suppresseurs de tumeurs. Aussi appelée « voie festonnée », cette anomalie épigénétique peut être associée aux deux instabilités citées précédemment.

L'ensemble des mutations causées par ces trois instabilités génomiques entraîne l'activation de voies de signalisation impliquées dans la cancérogénèse (les voies Wnt/ β -caténine, PI3K-Akt et MAPK) et l'inactivation de voies anticancéreuses (les voies p53 et TGF- β).

Fearon et Vogelstein propose d'ailleurs dans leur article « *A genetic model for colorectal tumorigenesis* » (77) un modèle décrivant les mutations génomiques et les variations des voies de signalisation qui s'ensuivent comme les événements déclencheurs du passage d'un épithélium sain vers un adénome puis vers un cancer (71).

II.1.3. Voies de signalisation impliquées dans la cancérogénèse

La figure 7 ci-dessous illustre les différentes voies moléculaires impliquées dans l'initiation et dans la progression du CCR. Nous détaillerons dans les sous-parties suivantes ces voies de signalisation ainsi que la conséquence de leur mutation ou de leur variation sur le CCR.

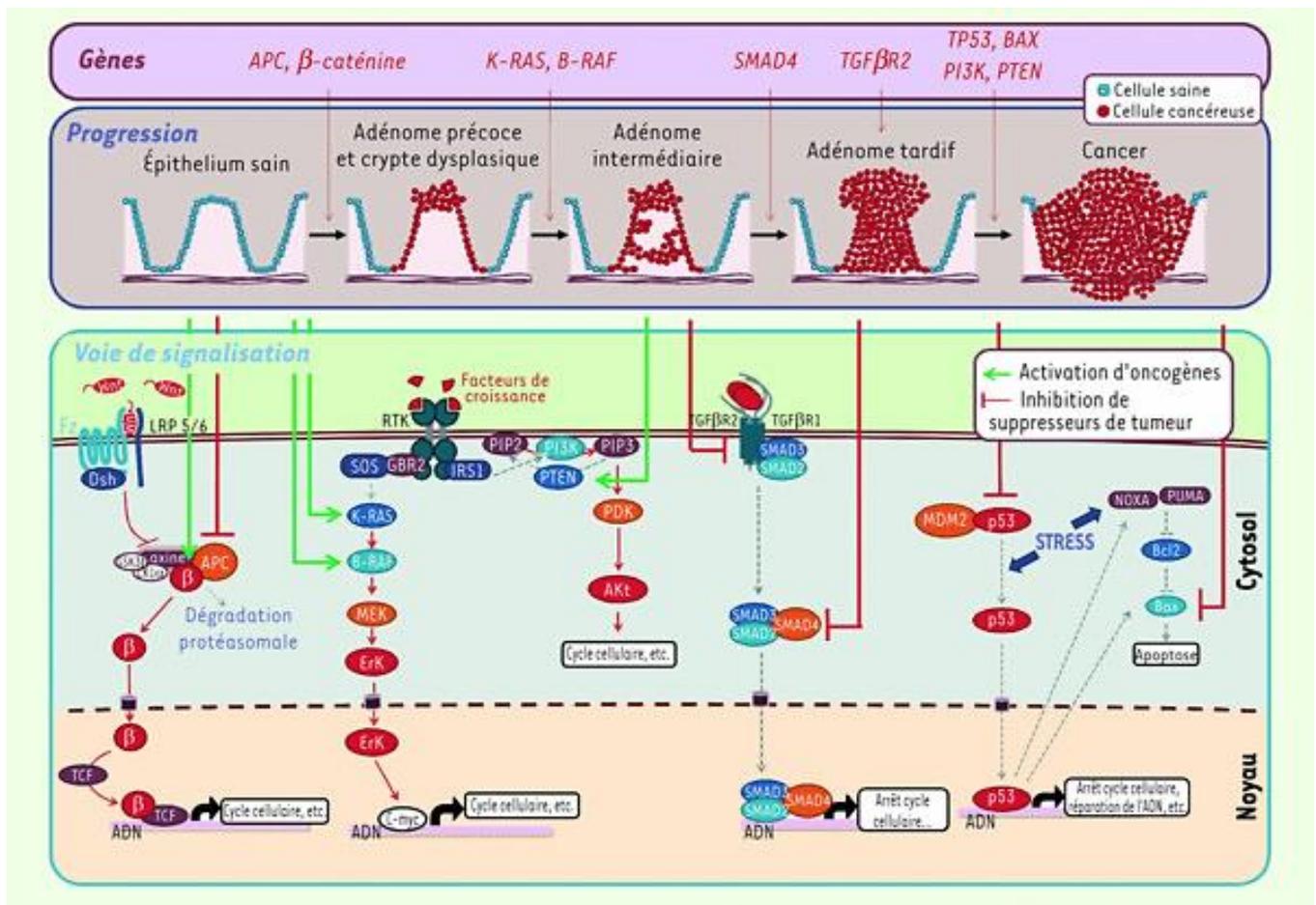


Figure 7 : Mise en place et progression du CCR dépendant des mutations génomiques

Source : Olivier S, et al. *Signaling and metabolic predispositions linked to the colorectal cancer*. Med Sci (2011)

II.1.3.1. La voie Wnt/ β -caténine

Également appelée la voie canonique ou APC/ β -caténine/TCF (*T-cell factor*), cette voie de signalisation est impliquée dans l'initiation de la cancérogénèse dans plus de 80% des CCR. elle favoriserait le passage d'un épithélium sain vers un adénome précoce.

La voie canonique joue un rôle fondamental dans le développement embryonnaire ou chez l'adulte. Au cours de la période embryonnaire, elle intervient dans la migration, la croissance et la polarisation cellulaire entre autres. Chez l'adulte, elle intervient dans le contrôle de la prolifération cellulaire intestinale (71).

La protéine clé de cette voie est la β -caténine, un coactivateur transcriptionnel. Dans le cytoplasme des cellules intestinales saines, l'APC, la GSK3 (*Glycogen Synthase Kinase 3* β) et l'axine forment un complexe multiprotéique qui est capable d'inhiber par phosphorylation la β -caténine et induire sa destruction par un protéasome (complexe réalisant des dégradations protéolytiques) (78).

L'activation de la β -caténine quant à elle fait intervenir des récepteurs localisés dans la membrane de cellules épithéliales intestinales : le récepteur LRP et le récepteur Fz. En présence d'un facteur Wnt, ces récepteurs s'associent et recrutent la protéine DSH. Cette dernière une fois recrutée est capable d'inhiber la GSK3 β ce qui empêche la formation du complexe multiprotéique, la phosphorylation de la β -caténine et par conséquent sa destruction. La β -caténine non détruite est alors transloquée dans le noyau, puis après liaison au facteur transcriptionnel TFC, fixe l'ADN et active la transcription de gène qui permettent la multiplication cellulaire (79).

L'équilibre entre activation et inactivation de la β -caténine permet de contrôler le renouvellement cellulaire dans l'intestin.

Dans un grand nombre de cancers, la mutation du gène APC (principale mutation en cause) empêche l'inhibition et la destruction de la β -caténine. Il s'en suit une accumulation de cette dernière dans le noyau, une augmentation anormalement élevée de la transcription de gènes cibles impliqués dans la multiplication cellulaire et par conséquent une hyperprolifération cellulaire favorisant le développement tumoral (71).

II.1.3.2. Les voies PI3K/Akt et MAPK

L'altération de ces voies intervient dans la progression du CCR, plus précisément dans le passage d'un adénome précoce à un adénome tardif.

L'élément central est le récepteur à activité tyrosine kinase ou RTK. Ce récepteur transmembranaire permet, à la suite de la fixation d'un facteur de croissance à son extrémité extracellulaire, la transduction d'un signal. Pour aboutir à une réponse cellulaire, l'activation des RTK fait ensuite intervenir plusieurs voies de signalisation. Dans le cas du CCR, deux voies sont principalement impliquées : la voie des MAPKs (*mitogen-activated protein kinase*) et la voie PI3K (*phosphatidyl-3-kinase*)/Akt (71).

La voie des MAPKs est stimulée par la fixation de facteurs de croissance sur leur RTK (fixation par exemple du facteur de croissance épidermique EGF sur son récepteur EGFR ou le facteur de croissance endothélial vasculaire VEGF sur son récepteur VEGFR). A la suite de cette activation, il s'en suit une cascade de réactions faisant intervenir diverses kinases (MAPKKK, MAPKK, MAPK) et diverses protéines (Ras, Raf, MEK et Erk).

L'activation de la voie des PI3K/Akt débute également par la fixation de facteurs de croissance sur le RTK. De la même façon, divers effecteurs (Ras, PIP3, PIP2) et kinases (PI3, Akt) sont recrutés (80).

Ces deux voies permettent d'aboutir à l'activation de facteurs de transcription régulant les gènes impliqués dans la croissance, la différenciation et la migration cellulaire, ainsi que dans l'angiogenèse et l'inhibition de l'apoptose.

Des mutations des gènes K-Ras et B-Raf ont été détectées dans respectivement 37% et 13% des CCR (71). Ces mutations sont à l'origine d'une prolifération et une invasion anarchiques des cellules.

II.1.3.3. Les voies p53 et TGF- β

Ces deux voies sont dites anticancéreuses car elles interviennent dans le contrôle de la prolifération cellulaire chez un individu sain. Leur mutation ou leur altération participent à la progression du CCR et à l'apparition de métastases (notamment en favorisant la dissémination cellulaire).

La protéine p53 est un facteur de transcription capable d'activer la transcription des gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, la sénescence ou l'apoptose cellulaire ainsi que dans la réparation de l'ADN. Il s'agit d'un suppresseur de tumeur faiblement exprimé dans une cellule saine et dont le niveau augmente en réponse à une situation de stress (81).

Le gène TP53, situé sur le bras court du chromosome 17, code pour cette protéine p53. Sa mutation est retrouvée dans environ 34% des CCR proximaux et dans 45% des CCR distaux (82). Cette mutation permet aux cellules coliques cancéreuses d'échapper à la mort cellulaire programmée.

Dans les cellules saines, la protéine TGF- β (facteur de croissance transformant) est également impliquée dans des fonctions importantes. La fixation de cette protéine sur son récepteur membranaire déclenche une cascade de réactions dans le cytoplasme cellulaire. La transduction de ce signal se fait par les protéines du système SMAD et aboutit à la transcription de gènes cibles. Les réponses cellulaires déclenchées sont notamment la croissance et la réparation cellulaire, le déclenchement d'une réponse inflammatoire et enfin la régulation du système immunitaire.

Des mutations du récepteur au TGF- β ou des mutations du système SMAD sont retrouvées dans respectivement un tiers (environ) et 20% des CCR (71).

Nous détaillerons dans une prochaine partie comment le microbiote intestinal peut moduler ces voies de signalisations.

II.1.4. Dépistage

Dans 9 cas sur 10, le CCR se développe chez les sujets âgés de plus de 50 ans. Lorsqu'il est dépisté tôt, le taux de survie face au cancer colorectal est plus élevé (près de 90% de survie, à 5 ans) et les traitements mis en place sont moins lourds.

C'est pourquoi un programme national de dépistage organisé visant les sujets âgés de 50 à 74 ans a été mis en place. Ce programme, pris en charge à 100% par l'Assurance maladie permet un dépistage à réaliser chez soi, via un test de recherche de sang dans les selles, et ce tous les 2 ans (83).

Depuis 2015, le test d'Hemoccult est remplacé par un test immunologique (mode d'emploi en Annexe 1), plus simple de réalisation et plus rapide. Il permet de détecter, à partir d'un unique prélèvement, la présence d'hémoglobine humaine dans les selles. Son fonctionnement repose sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux spécifiquement dirigés contre la partie globine de l'hémoglobine humaine. Lorsque le résultat est positif (seuil de positivité de 150 ng HB/mL), c'est qu'il y a présence de sang dans les selles. Le patient est alors redirigé vers un spécialiste pour la réalisation d'une coloscopie de diagnostic qui confirmera ou non le prélèvement et permettra de rechercher l'origine du saignement (84).

Les individus à risque élevé ou très élevé de développer un CCR ne sont pas concernés par cette campagne de dépistage organisé, tout comme les personnes présentant des antécédents familiaux ou personnels de cancer, d'adénome ou de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et celles présentant des symptômes digestifs de cancer. Pour ces derniers, la coloscopie de diagnostic reste le seul examen de dépistage (83).

II.1.5. La classification

La classification TNM « Tumor, Nodes, Metastasis » est le type de classification le plus utilisé pour évoquer les différents stades de la maladie. Elle se base sur 3 critères essentiels :

- La taille et profondeur de la tumeur dans les différentes couches de la paroi colique ;
- L'atteinte ou non des ganglions lymphatiques et le nombre de ganglions atteints ;
- La présence ou non de métastases dans les autres organes (85).

A partir des résultats obtenus à l'issue de la classification TNM, 5 stades ont été décrits.

Tableau 4 : Les différents stades du cancer colorectal selon la classification TNM

	Localisation et atteintes du CCR
Stade 0	Localisé dans la muqueuse Pas d'atteinte ganglionnaire, ni de métastase
Stade I	Atteinte de la sous-muqueuse voir de la musculuse Pas d'atteinte ganglionnaire, ni de métastase
Stade II	Atteinte de la séreuse Pas d'atteinte ganglionnaire, ni de métastase
Stade III	Envahissement des ganglions lymphatiques Pas de métastase
Stade IV	Présence de métastases Dissémination en dehors du côlon et du rectum

II.1.6. Les facteurs de risques

Le cancer colorectal est une pathologie multifactorielle, qui peut être la résultante de plusieurs facteurs liés à notre mode de vie et/ou de facteurs génétiques. La présence d'un ou plusieurs de ces facteurs augmente le risque de développer un CCR.

Les facteurs de risques « évitables » :

- Consommation d'alcool : le Centre international de Recherche sur le Cancer affirme en 2018 que 21% des cancers colorectaux chez les plus de 30 ans sont attribuables à la consommation d'alcool ;
- Obésité et surpoids : un Indice de Masse Corporel (IMC) élevé augmente le risque ;
- Tabagisme ;
- Alimentation : L'excès de viande rouge ou de charcuterie, une alimentation trop calorique ou trop riche en graisse animale et une alimentation trop faible en fibres élèvent le risque de CCR ;
- Manque d'activité physique : Selon L'ONAPS (Observatoire National de l'Activité Physique et de la Sédentarité), une activité physique est jugée insuffisante dès lors qu'elle est comprise entre 1,6 et 3 MET, le MET (Metabolic Equivalent Task) étant l'unité permettant de déterminer la dépense énergétique d'une tâche ;
- Sédentarité : Elle est définie comme « une dépense énergétique inférieure ou égale à la dépense de repos en position assise ou allongée » donc inférieure à 1,6 MET (selon l'ONAPS).

Les facteurs de risques « non modifiables » :

- Âge : au dessus de 50 ans ;
- Antécédents familiaux et/ou personnels de CCR ;
- Syndrome de Lynch ou HNPCC : affection héréditaire due à une mutation de certains gènes ;
- Polyposes dans le côlon et/ou le rectum ;
- Polypose adénomateuse familiale ou PAF : affection héréditaire due à des mutations des gènes APC et MYH. Elle est caractérisée par l'apparition, dès l'adolescence, de centaines de polypes dans la muqueuse du côlon et du rectum ;
- Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) : Maladie de Crohn, Rectocolite hémorragique (86).

De plus, l'Institut National du Cancer détermine 3 niveaux de risques (moyen, élevé et très élevé) de développer un cancer colorectal. En fonction du niveau, les stratégies de dépistage et de suivi proposées ne seront pas les mêmes.

Tableau 5 : Critères des différents niveaux de risques de cancer colorectal (87)

	Risque moyen (3-4%)	Risque élevé (4-10%)	Risque très élevé (40-100%)
Critères	<ul style="list-style-type: none"> - Population générale - Pas de symptômes digestifs - Agé de 50 à 74 ans 	<ul style="list-style-type: none"> - Antécédents personnels de CCR ou d' adénome > 1 cm - Antécédents personnels de MICI au moment du diagnostic (et ce depuis plus de 10 ans) - Antécédents familiaux (parent du premier degré) de CCR ou d'adénome > 1 cm avant 65 ans - Antécédents familiaux (2 parents) de CCR quel que soit l'âge 	<ul style="list-style-type: none"> - Si PAF - Si HNPCC
Dépistage	<ul style="list-style-type: none"> - Programme national de dépistage organisé - Tous les 2 ans 	<ul style="list-style-type: none"> - Dépistage individuel - Coloscopie ou chromoendoscopie 	<ul style="list-style-type: none"> - Dépistage individuel - Chromoendoscopie
Suivi	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de suivi 	<ul style="list-style-type: none"> - Par un spécialiste (gastro-entérologue) 	<ul style="list-style-type: none"> - Par un spécialiste (gastro-entérologue) - Consultation oncogénétique

II.1.7. Description brève des traitements

Le choix du traitement proposé sera propre à chaque individu puisqu'il sera adapté au stade de son cancer (localisation, profondeur, atteinte ganglionnaire ou non, métastasé ou non). Pour autant, ils auront tous des objectifs communs :

- Réduction de la taille de la tumeur ;
- Elimination complète de la tumeur ;
- Réduction du risque de récurrence ;
- Et/ou ralentissement du développement de la tumeur (88).

Le traitement chirurgical :

Il représente le traitement de référence et est indiqué en 1^{ère} intention en cas de tumeur localisée, sans atteinte ganglionnaire. Il comprend une exérèse de la tumeur par laparotomie (opération à ventre ouvert) ou coelioscopie puis un curage ganglionnaire. Une marge de sécurité autour de la tumeur d'au moins 5 cm est appliquée.

En fonction de la partie du côlon atteinte, on parlera de sigmoïdectomie (retrait du sigmoïde), hémicolectomie droite (retrait du côlon droit), hémicolectomie gauche (retrait du côlon gauche), proctectomie (retrait du rectum) ou colectomie totale (retrait de la totalité du côlon) (89).

La chimiothérapie :

Elle peut être débutée avant une chirurgie (chimiothérapie néoadjuvante) ou après cette dernière (chimiothérapie adjuvante). Dans cette classe, les traitements vont cibler la division cellulaire. Les effets indésirables seront nombreux (mucites, stomatites, diarrhées, constipations, nausées, vomissements, neutropénie, alopecie, anémie, syndrome main-pied ...etc). La chimiothérapie est administrée au cours de cure (d'une durée de quelques jours) et plusieurs jours ou semaines peuvent séparer deux cures (89).

En fonction du stade d'avancé du CCR, plusieurs chimiothérapies peuvent être associées. Les associations les plus fréquentes sont les suivantes :

- 5-Fluorouracile (5-FU) et acide folinique ;
- 5-FU, oxaliplatine et acide folinique qui forment le protocole FOLFOX ;
- 5-FU, irinotécan et acide folinique qui forment le protocole FOLFORI ;
- 5-FU, oxaliplatine, irinotécan et acide folinique qui forment le protocole FOLFOXIRI ;
- Capécitabine et oxaliplatine qui forment le protocole CAPOX ;
- Capécitabine et irinotécan qui forment le protocole CAPIRI (90).

Cette chimiothérapie peut également être utilisée en association avec les thérapies ciblées si elle n'est pas suffisamment efficace seule.

Tableau 6 : Les différentes chimiothérapies indiquées dans le cancer colorectal

Molécules (princeps)	Voies d'administration
5-fluoro-uracile ou 5-FU	Voie injectable
Capécitabine (Xéroda®)	Voie orale
Tégafur / Uracile (UFT®)	Voie orale
Oxaliplatine (Eloxatine®)	Voie injectable
Irinotécan (Campto®)	Voie injectable
Trifluridine / Tipiracil (Lonsurf®)	Voie orale
Raltitrexed (Tomudex®)	Voie injectable

Les thérapies ciblées :

Il s'agit de molécules ciblant spécifiquement des mécanismes de la cellule cancéreuse. Le plus souvent des anticorps monoclonaux, ils présentent moins d'effets indésirables que les chimiothérapies (perforation gastro-intestinale, diarrhées, hémorragies, hypertension, ...). On retrouve les anti-VEGF et les anti-EGF (89) :

- **Les anti-VEGF** : en bloquant les facteurs VEGF responsables de la vascularisation des cellules tumorales, ils réduisent l'apport sanguin de la tumeur et donc limitent son développement ;
- **Les anti-EGF** : en bloquant les facteurs EGF localisés à la surface des cellules cancéreuses, ils réduisent la croissance et la prolifération de la tumeur.

Tableau 7 : Les différentes thérapies ciblées indiquées le cancer colorectal

Molécules (princeps)	Mécanismes
Bévacizumab (Avastin®)	Anti-VEGF
Cetuximab (Erbix®)	Anti-EGF
Panitumumab (Vectibix®)	Anti-EGF
Aflibercept (Zaltrap®)	Anti-VEGF
Régorafénib (Stivarga®)	Anti-VEGF

La radiothérapie :

Ce traitement utilise des rayonnements ionisants ou des particules hautement énergisées pour détruire localement les cellules cancéreuses. Dans le cancer du rectum, elle peut être utilisée avant une intervention chirurgicale dans le but de réduire la taille et le volume de la tumeur ou en association à une chimiothérapie néoadjuvante, on parle dans ce cas-là de chimioradiothérapie. La durée de traitement par la radiothérapie sera déterminée au cas par cas, en fonction du stade du cancer.

Lorsque la radiothérapie est externe, les rayons sont émis à travers la peau jusqu'aux cellules cancéreuses. Lorsqu'elle est interne (on parle alors de curiethérapie), une source radioactive est déposée directement dans la tumeur ou très proche. Dans ce cas-là, les rayons émis induiront une destruction progressive des cellules cancéreuses.

Les rayons sont à l'origine d'effets secondaires puisque les cellules saines situées à proximité des cellules cancéreuses sont également endommagées. Ces effets sont de type fatigue, cystites radiques, diarrhées et rougeurs cutanées pour la majorité (65).

Afin de comprendre au mieux ce cancer et offrir de nouveaux horizons dans la manière de le traiter, les études autour de la dysbiose du cancer colorectal se sont multipliées. Comprendre les variations de cet écosystème et le lien que ces dernières peuvent avoir dans

le développement du CCR semblaient être les points essentiels à approfondir. Les découvertes qui découlent de ces études permettraient alors peut être de donner de nouvelles voies de dépistages ou des nouvelles méthodes de traitement du CCR.

II.2. Variation du microbiote et développement du cancer colorectal

L'implication du microbiote intestinal dans les cancers digestifs et de manière plus spécifique dans le cancer colorectal est une idée qui est à l'étude depuis plusieurs années. Cette hypothèse est partie de la constatation que le gros intestin était, au sein du tractus gastro-intestinal, à la fois le milieu où la plus grande concentration bactérienne était retrouvée mais également le milieu où les cancers digestifs étaient les plus fréquemment observés et que cela n'était probablement pas une coïncidence.

De plus, le cancer colorectal et notre microbiote intestinal sont tous deux étroitement liés à notre mode de vie (essentiellement les habitudes alimentaires). Ces constatations ont amenés la communauté scientifique à s'interroger sur la relation entre le développement d'un CCR et le déséquilibre de la population bactérienne dans notre intestin.

A elles seules, les bactéries intestinales ne sont pas directement responsables de la genèse du CCR puisque son étiologie est multifactorielle. Cependant, les études se sont toutes accordées avec le fait que les bactéries intestinales avaient effectivement un rôle à jouer dans l'apparition et/ou le développement d'adénome puis d'adénocarcinome.

Les recherches effectuées ces dernières années sur le rôle du microbiote dans le cancer colorectal ont révélé de profondes variations dans les populations bactériennes des tissus affectés par le CCR, ainsi que des différences en fonction du stade d'évolution de la pathologie (variation par exemple entre un adénome et un carcinome).

Afin d'évaluer les caractéristiques de la dysbiose associée au cancer colorectal, des microbiotes de tissus sains ont été comparés à ceux de tissus tumoraux au sein du même individu. Ces comparaisons ont mis en évidence des différences significatives entre les deux, tant au niveau des colonies retrouvées dans les selles que celles retrouvées dans la muqueuse colique révélant la présence d'une véritable dysbiose dans le CCR.

Malgré le fait que l'on ne puisse recenser un microbiote type, il a tout de même été constaté que l'abondance relative de certains taxons avait subi des changements « anormaux ». En effet, dans la muqueuse du cancer colorectal et dans la flore fécale d'un sujet malade, on relate notamment une diminution des Firmicutes et des Actinobactéries et en parallèle une augmentation des Bacteroidetes, des Fusobactéries et des Protéobactéries ont été observées (91).

Au sein du phyla des Bacteroidetes, c'est essentiellement *Bacteroides fragilis* la souche enrichie en cas de CCR. Les taux de *Porphyromonas*, *Alistipes*, *Prevotella* et *Xylanibacter* sont également augmentés.

Dans l'embranchement des Proteobacteria, il a été constaté un enrichissement en Candidatus, Porteria, Providencia et *Escherichia coli* (92).

Le phyla des Actinobactéries est essentiellement marqué par une diminution des *Bifidobacterium* (63).

Au sein du phyla des Firmicutes, une étude comparant 47 sujets atteints de CCR à 94 sujets sains a révélé une baisse significative de la classe de *Clostridia* (l'abondance relative est

passée de 77,8% à 68,6%). Les familles principalement concernées par cette diminution étaient notamment celle des Lachnospiraceae (plus particulièrement avec *Roseburia* et les *Coprococcus*) (93) et celle des Ruminococcaceae (plus particulièrement *Faecalibacterium prausnitzii*). Des hausses dans les taux de Lactobacilles (notamment *Streptococcus gallolyticus* et *Enterococcus faecalis*), de *Parvimonas micra*, de *Peptostreptococcus stomatis* et de *Solobacterium moorei* ont également été détectées (92)

Enfin, le phyla des Fusobactéries est également surreprésenté. En effet, un enrichissement en *Fusobacterium spp.* a été détectée. Cette élévation du taux de *Fusobacterium spp.* dans la muqueuse colique semblerait être un élément favorisant l'inflammation autour de la tumeur et la progression du CCR. L'enrichissement a également été retrouvé dans des échantillons de matières fécales (94).

II.2.1. Bactéries augmentées dans le cancer colorectal

La dysbiose n'a pas été spécifiquement associée à une espèce bactérienne. La figure 8 illustre bien au contraire l'interaction de plusieurs souches bactériennes dans la genèse de l'adénocarcinome colique.

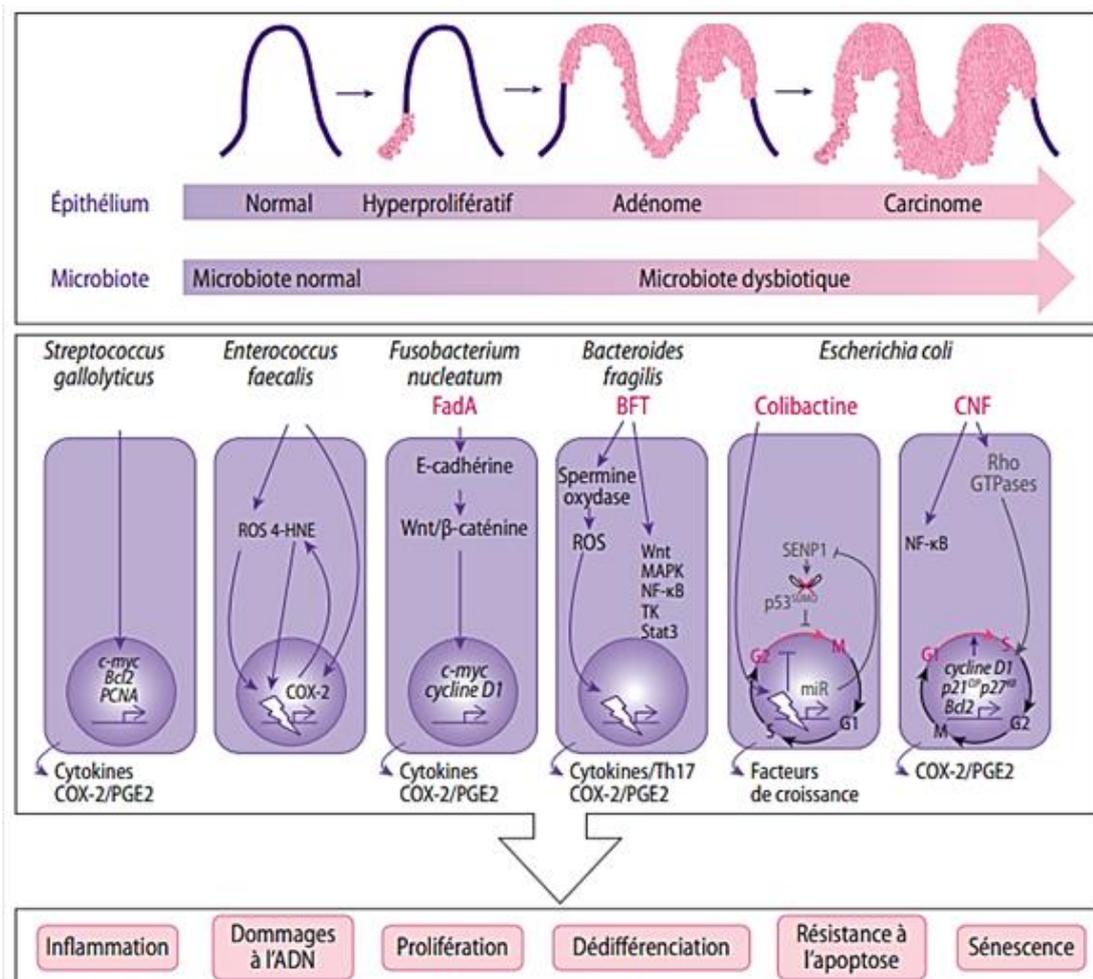


Figure 8 : Rôle des bactéries du microbiote dans la carcinogénèse colique

Source : Dalmaso G et al. *Carcinogénèse colorectale : impact des bactéries toxigènes ou pro-inflammatoires*. Correspondances en Onco-Théranostic Vol III, n°2 (2014)

L'accessibilité croissante au génome microbien a permis d'obtenir suffisamment d'informations pour comprendre le rôle des bactéries dans le développement du CCR. On a ainsi pu avoir accès aux principales souches pour lesquelles des variations ont été appréciées entre un tissu sain et un tissu atteint de CCR : Les modifications des souches de *Streptococcus gallolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis* et *Escherichia coli* semblent être étroitement liées au CCR par leur activités pro-inflammatoires et/ou leur capacité à sécréter des toxines pro-oncogènes.

II.2.1.1. *Streptococcus gallolyticus*

Anciennement appelé *Streptococcus bovis* (de biotype I), *S. gallolyticus* est la plus ancienne des souches pour laquelle un lien avec le CCR a été établi. Cette bactérie, un cocci opportuniste à Gram positif, est responsable de bactériémies et d'endocardites infectieuses. Elle est surreprésentée dans le tissu tumoral en comparaison à un individu sain. 25 à 80% des sujets surexprimant la souche *S. gallolyticus* présentent un CCR (95).

La figure 9 illustre le caractère opportuniste de *S. gallolyticus* qui est présent en très faible quantité dans le mucus tapissant la muqueuse intestinale chez un individu sain. Cependant, lorsque le terrain devient pathologique (présence de polypes, lésions pré-cancéreuses ou cancer), ce pathobionte devient dominant.

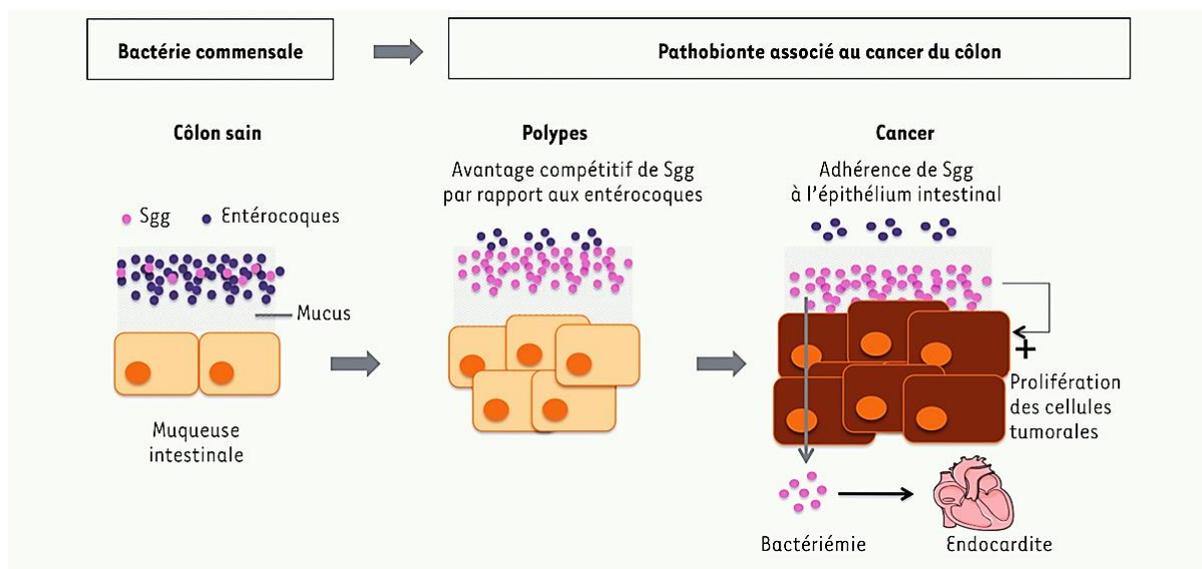


Figure 9 : Implication de *Streptococcus gallolyticus* dans la carcinogénèse colique

Source : Aymeric L, Dramsi S. Med sci (2018)

Deux types de souches de *S. gallolyticus* ont pu être identifiées :

- **Les souches PP-Sg** : Elles ont la capacité d'adhérer aux cellules (saines et cancéreuses), coloniser le milieu colique et favoriser la croissance du CCR (92). Leur adhérence fait appel à des facteurs de virulence, des pili, leur permettant d'adhérer aux collagènes de type I (dans les valves cardiaques) et IV (dans l'épithélium colique).

Dans les terrains lésionnels, leur adhérence est facilitée par le fort accroissement de la quantité de mucines et notamment le taux de Muc5AC et Muc2 (principaux constituants du mucus colique).

Après l'adhérence, les souches PP-Sg franchissent la barrière intestinale et sont transloquées dans les cellules. Elles peuvent alors stimuler l'expression de proto-oncogène c-Myc et de protéines anti-apoptotiques (bcl2) et aboutir à la prolifération cellulaire de l'hôte (96).

- **Les souches NP-Sg** : Elles ne sont pas capables de stimuler la prolifération.

De plus, *S. gallolyticus* peut synthétiser un autre facteur de virulence : la gallocine. Cette bactériocine inhibe la prolifération des autres espèces bactériennes commensales, notamment les espèces du genre *Enterococcus*. La gallocine a une activité bactéricide optimale lorsqu'elle est sécrétée dans un environnement riche en acides biliaires secondaires, par exemple en acide désoxycholique (DCA) et acide lithocholique (LCA). Les concentrations en DCA et la LCA sont notamment dépendantes du régime alimentaire (augmentées avec l'alimentation riche en graisse). Une augmentation de la concentration luminale en acides biliaires secondaires dans le côlon favorise donc l'expansion de *S. gallolyticus* (96).

Enfin, l'enrichissement en *S. gallolyticus* semblerait avoir une activité pro-inflammatoire par l'intermédiaire notamment des médiateurs suivants : TNF- α , IL-1, IL-6 et IL-8, et par l'activation ultérieure de la cyclo-oxygénase 2 (COX-2). L'ensemble des mécanismes que ces médiateurs déclenchent ensuite participerait au développement et à la croissance du CCR.

Même s'il y a effectivement un lien entre *S. gallolyticus* et le CCR, on ne sait pas exactement quel événement survient en premier entre l'enrichissement de la bactérie et l'apparition du CCR. Il semblerait toutefois qu'il favoriserait en effet la croissance tumorale, mais seulement après l'apparition des premières lésions cancéreuses (97).

II.2.1.2. *Fusobacterium nucleatum*

Les techniques de séquençage de l'ARNr 16S dans l'ADN bactérien ont mis en évidence un enrichissement en *Fusobacterium spp* dans les échantillons tumoraux par rapport aux échantillons de tissus sains. Pour être plus précis, cette abondance a été retrouvée dans la muqueuse rectale et dans les selles de patients atteints d'adénome, soit, au stade précoce de la maladie puisque les adénomes sont les précurseurs des CCR. On estime qu'un individu avec une proportion élevée en *Fusobacterium spp*. a environ 3 fois et demie plus de risque de développer un CCR (98).

Bien que de nombreuses espèces de *Fusobacterium* aient été identifiées, le phylotype dominant révélé est *Fusobacterium nucleatum*, une fusobactérie invasive, anaérobie stricte, à Gram négatif (94). Habituellement localisée dans la cavité buccale où elle est responsable de maladies parodontales, on la retrouve toutefois de façon anormale dans la dysbiose intestinale.

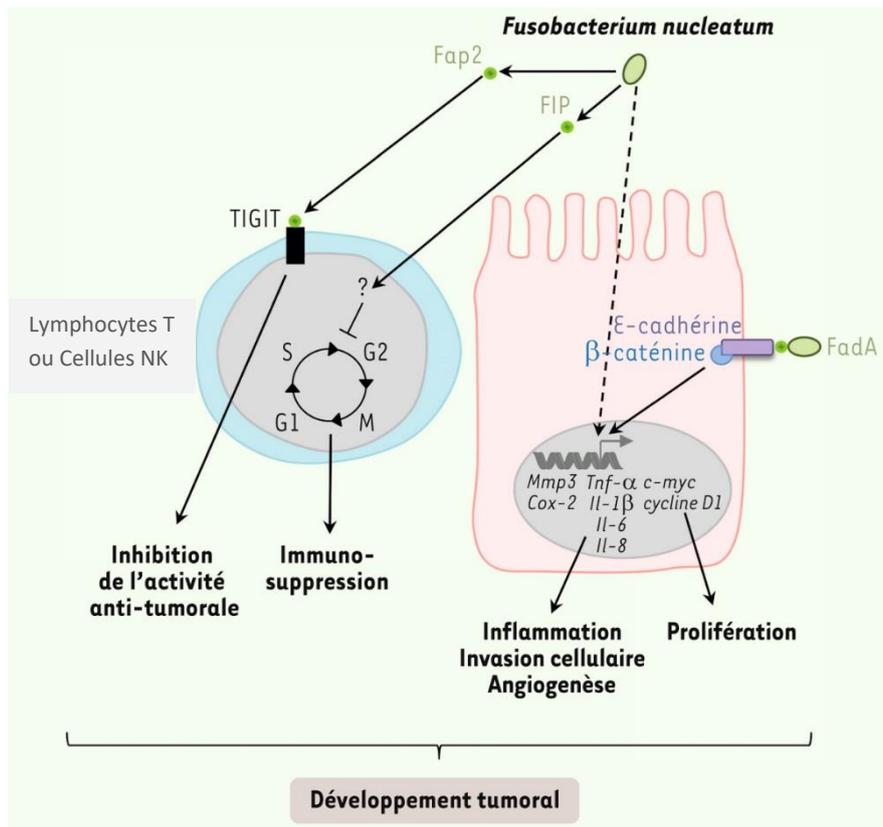


Figure 10 : Implication de *Fusobacterium nucleatum* dans la carcinogénèse colorectale

Source : Raisch J, et al. Med Sci (2016)

Comme le représente la figure 10, l'implication de la bactérie *F. nucleatum* à la carcinogénèse est liée à sa capacité à synthétiser divers facteurs de virulence (La FIP, la Fap2 et FadA) :

- **La protéine FIP ou FIPA** (*fusobacterium immunosuppressive protein*) : Il s'agit d'une protéine immunosuppressive capable d'inhiber la prolifération et la réponse des lymphocytes T en bloquant leur cycle cellulaire en phase G0/G1 (99) ;
- **La protéine Fap2** (*Apoptosis Protein 2*) : C'est une protéine de surface qui, lorsqu'elle se lie aux récepteurs TIGIT (*T cell with immunoglobulin and ITIM domain*) présents à la surface de cellules immunitaires, inhibe leurs activités anti-tumorales. En effet, sous l'influence de cette protéine, les lymphocytes T et les cellules NK (*natural killer cells*) subissent une apoptose. Certaines hypothèses suggèrent même que les sujets présentant des CCR à forte concentration en *F. nucleatum* sont inversement associés à une faible densité de lymphocytes T (100) ;
- **L'adhésine FadA** (*Fusobacterium adhésine A*) : Cette protéine possède la capacité de se fixer à la ε-cadhérine au niveau des jonctions cellulaires et de l'inactiver par un clivage de sa partie extra-cellulaire. Ce clivage engendre d'une part une déstructuration de l'architecture des cellules épithéliales intestinales (la ε-cadhérine est essentielle au maintien des jonctions serrées entre les cellules).

D'une autre part, cela active la voie de signalisation de β -caténine/Wnt impliquée dans la carcinogénèse colorectale. Il s'en suit une libération de β -caténine dans le milieu cytoplasmique des cellules. Ce pool de β -caténine est transloqué dans le noyau des cellules épithéliales et active l'expression de gènes proto-oncogènes (c-myc et cycline D1) et induit *in fine* une prolifération des cellules cancéreuses (92).

De plus, *Fusobacterium nucleatum* participe à maintenir un état inflammatoire dans le milieu colique en activant les voies de signalisation MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) et NF- κ B, ce qui induit la synthèse de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires tels que IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α et COX. Tous ces facteurs participent ainsi à la progression de la tumeur.

II.2.1.3. *Enterococcus faecalis*

E. faecalis est une bactérie commensale à Gram positif du tube digestif de l'Homme. Dans le CCR, son taux augmente de façon importante. Des souches de cette bactérie ont été identifiées comme capables de produire des radicaux libres de l'oxygène (ROS), dont les anions superoxydes extra-cellulaires. Ces dérivés réactifs sont cytotoxiques et induisent un stress oxydatif dans les cellules de l'hôte. Ils sont responsables d'instabilités génomiques et d'altérations de l'ADN (94).

De plus, une étude centrée sur le rôle de *E. faecalis* dans la carcinogénèse révèle que cette bactérie induirait la production de substances clastogènes, c'est-à-dire des substances aux propriétés génotoxiques, chez les macrophages qu'elle infecte. Le 4-hydroxy-2-nonanal (4-HNE) est un exemple de produit clastogène. Issu de la dégradation d'acide gras polyinsaturés, il peut agir comme poison du fuseau mitotique en induisant un arrêt du cycle cellulaire en phase G2, dans les cellules cancéreuses ou normale du côlon (101).

E. faecalis est donc un initiateur de la carcinogénèse colorectale.

II.2.1.4. *Bacteroides fragilis*

B. fragilis est une espèce bactérienne anaérobie de la famille des Bacteroidaceae. C'est un bacille à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'Homme. Dans la flore colique saine, cette bactérie représente jusqu'à 1 à 2% de la flore. Chez environ 25 à 30% des individus sains, on retrouve de façon physiologique *B. fragilis* dans la muqueuse colique et dans les selles (102). Il en existe deux sous-types :

- **Les NTBF** ou *B. fragilis* non enterotoxinogènes : Elles n'ont pas la capacité de synthétiser les entérotoxines. La relation avec le CCR n'a pas été établie ;
- **Les ETBF** ou *B. fragilis* enterotoxinogènes : Elles sont connues pour être responsables de diarrhées aiguës inflammatoires chez l'Homme (dans toutes les tranches d'âge). Elles ont également la capacité de produire une toxine appelée fragilysine ou *Bacteroides fragilis toxin* (BFT), une métalloprotéase dépendante d'ions zinc pour exercer son effet. C'est par l'intermédiaire de cette toxine que *B. fragilis* est impliquée dans la carcinogénèse.

Une étude comparant le microbiote intestinal de 49 sujets témoins à 49 sujets atteints de néoplasie colique a révélé que les proportions de *B. fragilis* entérotoxinogènes étaient augmentées en cas de CCR. Pour ce faire, elle a comparé la positivité de ces deux populations en gènes *bft* codant pour la fragilysine. La muqueuse colique des sujets malades était

significativement plus positive (85,7% sur les tumeurs gauches, 91,7% sur les tumeurs droites) que les sujets contrôles (53,1% sur les côlons témoins gauches, 55,5% sur les côlons droits). De plus, elle a également révélé que la proportion de ETBF au sein de la muqueuse colique était liée au stade de la maladie. En effet, aux stades avancés du cancer colorectal, la positivité en gène bft était de 100% contre 72,7% aux stades précoces ($p=0,93$) (103).

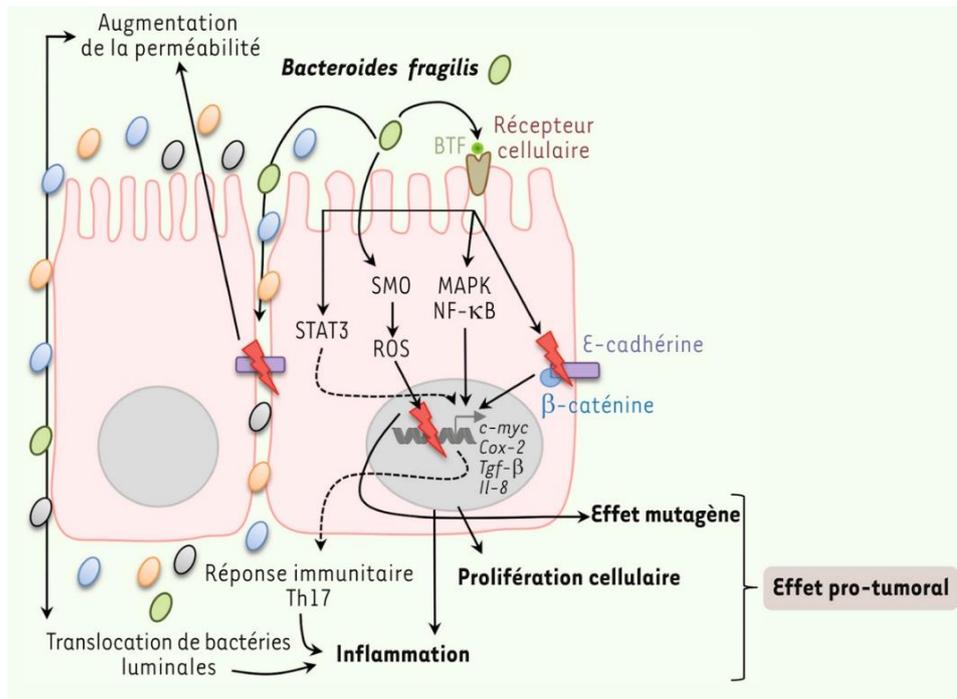


Figure 11 : Implication de *bacteroides fragilis* dans la carcinogénèse colorectale

Source : Raisch J, et al. Med Sci (2016)

La figure 11 nous dévoile les mécanismes d'action de la BFT et schématise la relation entre *B. fragilis* et le CCR. En effet, ce facteur de virulence va activer diverses voies de signalisation pour aboutir au développement du cancer colorectal :

• **Entretien d'un milieu inflammatoire** :

- Activation de la voie STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) qui induit une réponse immunitaire impliquant les lymphocytes Th17 (104).
- Activation des voies de NF-κB (*nuclear factor-kappa B*), de Cox-2 (92) et de MAPK (*mitogen-activated protein kinases*) induisant la synthèse de cytokines pro-inflammatoires tels que IL-8 et TGF-β ;

• **Induction d'une prolifération cellulaire** :

- La fragilysine, à la suite de la fixation au récepteur cellulaire Wnt sur les cellules épithéliales coliques, va activer la voie de signalisation Wnt/β-caténine et induire une destructuration des cellules épithéliales intestinales et une prolifération cellulaire (102).

- **Altération de l'ADN** : BFT stimule également l'expression de spermine oxydase (SMO) qui est une source de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). Ces espèces réactives sont responsables de dommages de l'ADN. Lorsque les mécanismes de réparation de l'ADN sont saturés les mutations géniques s'accumulent participant ainsi à la genèse du CCR (105).

La forte proportion de *Bacteroides fragilis* représente donc un facteur de risque de développement de cancer colorectal.

II.2.1.5. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif responsable d'infections courantes chez l'Homme. Commensale de notre tube digestif, elle est aéro-anaérobie facultative.

Une élévation de son taux est fortement corrélée au cancer colo-rectal. Des études ont d'ailleurs révélé que 71% des adénocarcinomes du CCR (contre 42% chez des individus sains) sont colonisés par *E. coli*, et que le nombre de bactéries augmente avec le stade de la tumeur (106).

Un groupe particulier nous intéresse pour étudier la corrélation entre ces bactéries et le CCR : les *E. coli* génotoxiques, plus représentées chez les individus présentant un CCR ou des MICI que les sujets sains (94). Appartenant le plus souvent au groupe phylogénétique B2 (107), ces bactéries ont la capacité de sécréter des cyclomodulines, des toxines capables de stopper le cycle cellulaire (92).

Deux toxines sont particulièrement à l'étude comme le montre la figure 12 :

- **La colibactine** : Ce facteur de virulence est produit par les souches d'*E. coli* porteuses d'îlots génomiques PKS (pks + *E. coli*) codant pour des polycétides synthases. Par le biais de ces complexes enzymatiques, la colibactine est synthétisée et induit des ruptures doubles brins de l'ADN et des instabilités dans l'ADN des cellules épithéliales intestinales. Elle peut également aboutir à un arrêt de leur cycle cellulaire (état de senescence cellulaires), voir parfois à une mort cellulaire (94).

Sous l'effet de la colibactine, la cellule produit également des facteurs de croissance, notamment l'hépatocyte growth factor (HGF). Ce facteur favorise la mitogénèse des autres cellules non infectées, et induit la motilité et la prolifération cellulaire.

Un test réalisé sur des modèles murins a révélé qu'après avoir ôté les polycétides synthases d'*E. coli*, les côlons murins devenus pks - présentaient moins de cassures doubles brins de l'ADN et moins de tumeurs. La colibactine s'est donc révélée être pro-carcinogène (108).

- **La Cytotoxic Necrotising Factor-1 (CNF-1)** : Les souches d'*E. coli* productrices de CNF-1 sont retrouvées dans 39,5 % des adénocarcinomes contre 12,9 % dans les tissus sains (p = 0,01) (107). Cette toxine, par une hyperactivation de la voie des GTPases de la famille Rho, va avoir diverses conséquences délétères pour le cycle cellulaire :

- Augmentation de la résistance à l'apoptose en augmentant l'expression de Bcl-2 et Bcl-xl (des protéines anti-apoptotiques) ;
- Formation de fibres de stress d'actines ;
- Dérèglement de la cytokinèse aboutissant à une multinucléation ;
- Création d'anomalie chromosomique, induction de lésions de l'ADN d'entérocytes ;

CNF-1 stimule également des facteurs pro-inflammatoires via une activation des voies de la transcription NF-κB et de la voie COX-PGE2 (102).

Enfin, une souche particulière d'*Escherichia coli* dite entéropathogène (EPEC) a la capacité de coloniser les cellules cancéreuses et d'y induire un stress oxydatif par l'intermédiaire de dérivés ROS qui augmentent le nombre de lésions de l'ADN. Par l'intermédiaire de la protéine effectrice EspF (*Escherichia coli* secreted protein F) qu'il peut injecter dans les cellules épithéliales intestinales, EPEC diminue les protéines du système MMR via un mécanisme post-transcriptionnel.

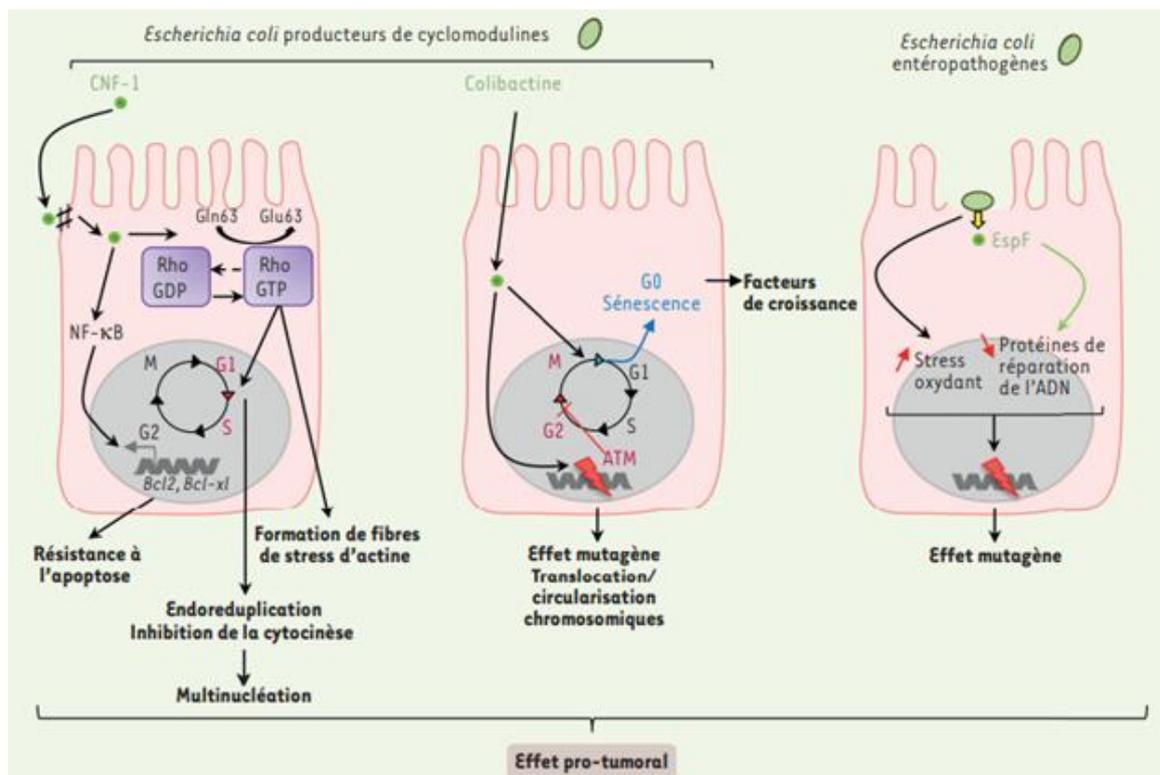


Figure 12 : Implication de *Escherichia coli* à la carcinogénèse colorectale

Source : Raisch J, et al. Med Sci (2016)

L'ensemble de ces phénomènes participe donc à l'effet mutagène de *E. coli* en augmentant le nombre de mutations spontanées au sein des cellules coliques, ce qui favorisent le développement du CCR (109).

II.2.2. Bactéries diminuées dans le cancer colorectal

Certains types bactériens, connus pour leurs effets bénéfiques via leurs actions métaboliques, anti-inflammatoires ou régulatrices de l'immunité, ont été détectés en sous nombre chez les patients atteints de CCR en comparaison à des patients sains. C'est essentiellement la souche protectrice *Faecalibacterium prausnitzii* qui est appauvrie dans le microbiote d'individus atteints de CCR.

F. prausnitzii est une bactérie strictement anaérobie, à Gram positif appartenant au phyla des Firmicutes. Son importante abondance dans notre intestin, et plus particulièrement dans le côlon, a un rôle protecteur vis-à-vis du milieu. Cette bactérie commensale, pouvant représenter jusqu'à 15% des bactéries intestinales totales (110), possède des propriétés anti-inflammatoires sur l'épithélium intestinal et stimule les cellules immunitaires en induisant une production d'interleukines par ces dernières (111).

Deux phylogroupes (I et II) ont été identifiés au sein de cette espèce bactérienne. Le phylogroupe I est celui qui est effondré dans le CCR (112), et ce dès le stade précoce. C'est ce dernier qui est utilisé comme biomarqueur pour diagnostiquer une maladie intestinale.

Les propriétés bénéfiques de *F. prausnitzii* proviennent pour l'essentiel du butyrate qu'il est capable de produire par fermentation bactérienne. Cet AGCC, en plus d'être la première source d'énergie des colonocytes, a un effet protecteur contre le CCR puisqu'il semble capable d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses coliques (113). Dans le CCR, le butyrate intervient à différents niveaux :

- Il inhibe l'histone désacétylase ou HDAC, une enzyme au rôle pro-inflammatoire (70) ce qui permet de réguler de façon négative la translocation du facteur de transcription NF κ B impliquée dans la réponse inflammatoire ;
- Il hyperactive la voie Wnt. Lorsque cette voie est activée de façon modérée, elle favorise le développement tumoral. Paradoxalement, lorsqu'elle est hyperactivée, elle induit une apoptose des cellules cancéreuses (114) (115) ;
- Il inhibe la voie ERK/MAPK, ce qui permet de réguler la croissance et la migration des cellules cancéreuses (113) (116).

Dans un tissu de CCR, l'expression des protéines de transport du butyrate (MCT1 et SMCT 1) est diminuée. Cela conduit à une réduction de son absorption par les colonocytes, une diminution de sa concentration intracellulaire et par conséquent une baisse de son métabolisme et de ses effets anti-carcinogènes (117).

Le deuxième effecteur via lequel *F. prausnitzii* exerce ses effets bénéfiques est la protéine MAM (Molécule microbienne anti-inflammatoire) de 15 kDa. Cette molécule bioactive peut inhiber la voie Nf-Kb et par conséquent réduire l'état inflammatoire des cellules épithéliales intestinales (118).

F. prausnitzii est la principale bactérie pour laquelle l'effondrement de sa concentration est corrélé au développement du cancer colorectal. Toutefois, d'autres espèces productrices de butyrate comme *Bifidobacterium spp.*, *Eubacterium ventriosum* ou *Roseburia* ou d'autres espèces productrices d'acide biliaire comme *Ruminococcus gnavus* ou *Clostridium butyricum* ont également été retrouvées diminuées dans le microbiote de patients atteints de cancer colorectaux. Leur niveau d'implication dans cette carcinogénèse est encore à l'étude, mais ces espèces bactériennes semblent avoir un rôle anti-inflammatoire ou immunomodulateur (119).

Il semble donc de plus en plus évident que la composition du microbiote intestinal humain fait partie des facteurs étiologiques du cancer colorectal. Et malgré la difficulté qui se présente parfois pour identifier exactement si la dysbiose est une cause ou une conséquence du CCR (exemple de *S. gallolyticus*) le lien entre les deux est indiscutable.

Nous avons montré que certaines bactéries coliques, en renforçant le caractère inflammatoire du milieu (exemple de *E. faecalis*) ou en synthétisant des toxines (exemple de *E. coli*) participaient au développement et à la croissance du cancer colorectal.

A l'inverse, d'autres bactéries, dont le taux est diminué au cours du CCR (exemple de *F. prausnitzii*), sont protectrices vis-à-vis de cette pathologie.

Le modèle « Driver – Passenger » tente de séparer les bactéries en fonction de leur rôle dans ce CCR. Les bactéries dites « driver » initieraient la tumeur en entraînant des modifications de l'épithélium intestinal et en induisant un état inflammatoire dans le milieu intestinal. Les modifications engendrées faciliteraient alors l'émergence de bactéries opportunistes dites « Passenger » qui participeraient quant à elles à la progression vers un tissu adénomateux puis vers un tissu tumoral. Cette théorie suggère ainsi que la composition microbienne diffère en fonction du stade d'évolution du cancer (120). Les bactéries « Driver » comprendraient entre autres *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli* et les « Passenger » comprendraient entre autres *Fusobacterium nucleatum* et *Streptococcus gallolyticus* (121).

La question qui se pose à nous maintenant est de savoir si nous pouvons prendre en compte ces dernières données sur la dysbiose du CCR pour améliorer sa prise en charge. Dans la dernière partie de ce travail, après une introduction de la notion de probiotiques, nous analyserons comment, par l'intermédiaire de ces derniers nous pouvons améliorer la prévention et le traitement du CCR.

III. Place des probiotiques dans la prévention et le traitement du cancer colorectal

III.1. Les probiotiques

La première introduction de la notion de probiotique arrive au début du siècle dernier, en 1907, lorsque le bactériologiste et immunologue Elie Metchnikoff travaille sur le lien entre le système immunitaire et les bactéries intestinales. Dans son travail, à l'issue duquel il obtiendra un Prix Nobel l'année suivante, il étudie le retardement du vieillissement par une modulation des bactéries du microbiote intestinal, notamment en réduisant le taux de *Clostridium sp.*, une bactérie protéolytique qui produit des métabolites toxiques pour notre organisme. Selon lui, ces bactéries sont responsables d'une auto-intoxication. Il tente alors de les remplacer par des bactéries lactiques (LAB) en favorisant un régime à base de yaourt fermenté riche en *Bacillus bulgaricus*.

Il faudra attendre jusqu'en 1965, pour voir apparaître pour la première fois le mot « probiotique ». Lilly et Stillwell le définissent comme des facteurs issus de microorganismes et favorisant la croissance d'autres microorganismes. Ils l'opposent ainsi au terme d'« antibiotique ».

En 1989, Roy Fuller poursuit en redéfinissant le terme. Il introduit la nécessité que ces microorganismes doivent être vivants pour qu'ils exercent leur effets bénéfiques sur la santé de l'Homme (122). Il exclut ainsi les microorganismes tués, présentant moins d'effet sur l'organisme (1).

La définition actuellement en vigueur est fournie finalement en 2001 par l'OMS qui définit le terme de probiotique comme étant l'ensemble des « *micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels* ».

Aujourd'hui, nous pouvons retrouver ces probiotiques sous différentes formes (gélule, poudre, solution buvable...) dans un grand nombre de médicaments, compléments alimentaires ou encoreensemencés dans l'alimentation (123). Nous rappellerons la définition de ces termes :

- **Un médicament** : « Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies [...] ou pouvant être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (article L.5111-1 du CSP) ;
- **Un complément alimentaire** : « Les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés ... » (Directive 2002/46/CE du Parlement européen) ;
- **Un aliment** : Désigne toute substance susceptible d'être consommée par un être vivant et servant de nutriment permettant la croissance de l'organisme. Il n'a pas d'action thérapeutique mais peut afficher une allégation de santé.

En entraînant une colonisation partielle de notre tube digestif, la prise de probiotique participe au bon fonctionnement et au maintien de l'équilibre de notre organisme. Dans ces probiotiques, on retrouve principalement des bactéries lactiques, c'est-à-dire des bactéries

capables de réaliser une fermentation lactique (production d'acide lactique à partir de lactose). La famille des LAB regroupent 12 genres bactériens à gram positif, les principaux étant les *Lactococcus*, les *Lactobacillus*, les *Bifidobacterium*, les *Enterococcus*, les *Pediococcus* et les *Streptococcus* (124). On retrouve également de façon fréquente des levures avec le genre *Saccharomyces* (majoritairement).

Après leur ingestion, les effets engendrés ne sont pas persistants si la prise de probiotique est irrégulière. Ces derniers sont rapidement éliminés et leurs effets s'estompent plus ou moins progressivement (en fonction des souches) à l'arrêt de leur consommation. La prise doit donc être quotidienne (voire plusieurs fois par semaine) sur une période suffisamment longue afin d'obtenir des effets (125).

Les effets recherchés par la prise de probiotique sont variés et dépendants des souches ingérées. En modifiant la composition de la flore intestinale, ils permettent notamment les effets suivants (1) (126) (127) (125):

- Amélioration du système immunitaire ;
- Réduction des diarrhées associées aux antibiotiques ;
- Réduction des diarrhées liées aux infections virales aiguës ;
- Réduction des symptômes du syndrome du côlon irritable ;
- Amélioration de la digestion ;
- Réduction des symptômes de coliques ;
- Amélioration du transit intestinal ;
- Amélioration de certaines pathologies cutanées ;
- Prévention des infections urinaires récidivantes ;
- Prévention des infections gynécologiques ;
- Réduction des récidives de poussées de maladie de Crohn.

L'apport concomitant de prébiotiques permet de renforcer leur adhésion au tractus gastro-intestinal et par conséquent leur rôle. Il n'est donc pas étonnant de les voir en association dans certaines formes.

III.1.1. Réglementation

Le terme de « probiotique » a été introduit au cours du précédent siècle, mais dernièrement l'intérêt croissant pour ces produits a rendu nécessaire de fournir une réglementation plus stricte, notamment dans le domaine de l'agro-alimentaire.

Pour avoir l'appellation « probiotique », les produits doivent suivre certaines recommandations définies par l'AFSSA (*Agence Française de sécurité sanitaire des aliments*) en 2005 :

- **Être vivant jusqu'à la DLUO** (Date limite d'utilisation optimale) indiquée : Ce premier point dépend des méthodes de fabrication et de conservations du produit. Les industriels doivent pouvoir prouver que les souches restent stables jusqu'à cette DLUO. La conservation au réfrigérateur de certaines souches permet d'augmenter leur durée de vie car les basses températures freinent le métabolisme des micro-organismes (128).
- **Être en quantité suffisante** : Dans leur rapport, les experts de l'AFSSA définissent le dosage minimal de probiotique à ingérer de 10^9 à 10^{11} UFC/jour. Une dose importante ingérée permet d'assurer un meilleur taux de souche dans l'intestin. La concentration retrouvée dans l'intestin grêle doit être supérieure ou égale à 10^6 UFC/ml et 10^8 UFC/ml dans le côlon (1) ;

- **Être inoffensif** pour le consommateur et l'environnement : l'Annexe 2 a été établie par l'AFSSA en 2002 pour déterminer l'innocuité ou non d'une souche bactérienne ;
- **Avoir un effet bénéfique** sur la santé de l'hôte (128).

Dans le domaine de l'agro-alimentaire, L'étiquetage doit également suivre une réglementation scientifique et les informations suivantes doivent y être indiquées (en plus de la norme générale pour l'étiquetage des denrées alimentaires préemballées) :

- Le genre, l'espèce et la sous-espèce (si elle existe) de chaque souche ;
- Le nombre de cellules viables exprimé en unité formant des colonies (UFC/g) ;
- La date de péremption ;
- La dose recommandée ;
- Les conditions de conservation (129).

De plus, une nomenclature internationale a été reconnue pour désigner de façon spécifique les souches de micro-organismes présents dans les probiotiques. A la fin de la fabrication d'une nouvelle souche, le fabricant doit enregistrer sur le registre international le micro-organisme. En revanche, le nom commercial sous lequel la souche est commercialisée ne suit pas de règle particulière.

Tableau 8 : Exemples de nomenclature internationale des probiotiques

	Genre	Espèce	Sous-espèce	Désignation de la souche	Désignation internationale
Bactérie	<i>Lactobacillus</i>	<i>rhamnosus</i>		GG	ATTC 53103
Levure	<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae</i>	<i>boulardii</i>	SCB	CNCM I-1079

ATTC : American Type Culture Collection

CNCM : National Collection of Microorganisms Cultures

En 2012, les industriels de l'agro-alimentaires envoient à l'AESA (*Autorité Européenne de Sécurité des Aliments*) une demande d'autorisation d'allégation santé pour les aliments et compléments alimentaires contenant des probiotiques.

Une allégation dite de santé est un message accompagnant un produit (soit présent directement sur l'emballage, soit cité avec le produit lors d'une annonce publicitaire). Elle est autorisée par l'AESA lorsqu'une mise en évidence claire d'un lien entre la prise d' « *un aliment ou nutriment et l'état de santé* » (ANSES) a été prouvée. Elle peut montrer une diminution d'un facteur de risque, mais en aucun cas, elle ne peut indiquer qu'un produit prévient ou guérit d'une maladie (130). Toutes les demandes d'allégation de santé contenant des prébiotiques ou probiotiques ont été rejetées jusqu'à présent.

III.1.2. Survie des probiotiques dans l'hôte

À la suite de leur ingestion, les microorganismes contenus dans les différentes formes de probiotiques doivent avoir les propriétés nécessaires pour garantir leur survie jusqu'à leur site d'action. Comme l'illustre la figure 13, tous les probiotiques n'atteignent pas le milieu colique. En effet, certains ne dépasseront pas l'estomac, tandis que d'autres sont retrouvés jusque dans les selles.

Cette capacité de survie peut être variable d'un genre à l'autre, d'une espèce à l'autre ou même d'une souche à souche. Elle dépendra de facteurs intrinsèques à l'hôte, de la dose administrée et des aliments pris en concomitance ou non.

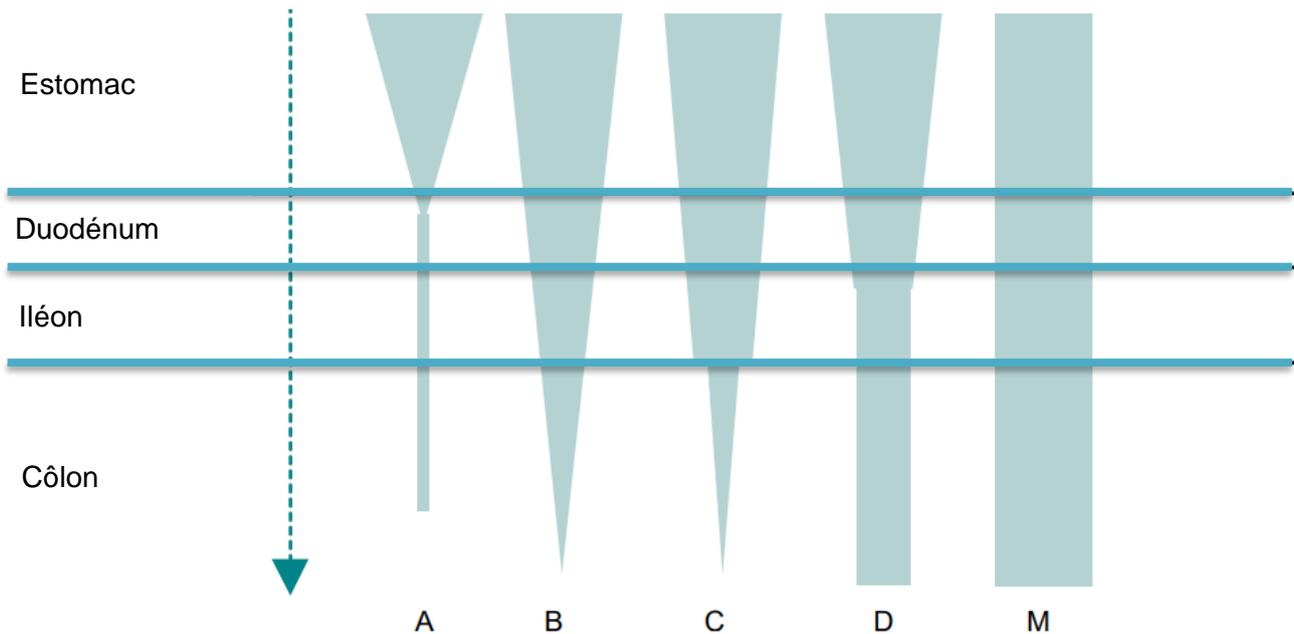


Figure 13 : Survie variable des probiotiques le long du tractus gastro-intestinal : la souche peut être tuée par l'acidité gastrique (A), la bile (B), les bactéries commensales (C) ou survivre jusque dans le côlon (D), comparaison avec un témoin (M)

Source : Marteau P, *Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects*. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology (2003)

III.1.2.1. Survie dépendante de facteurs intrinsèques

Au sein de l'organisme, des paramètres endogènes vont influencer la survie ou non des souches. Parmi ces derniers, on retrouve notamment les sécrétions d'acide gastrique, de sels biliaires, de mucus intestinal, de défensines et d'enzymes pancréatiques. Des facteurs mécaniques comme la motilité intestinale interviennent également (131).

Les bactéries des yaourts fermentés, à savoir principalement les souches de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, ont une faible capacité de résistance à l'acidité de l'estomac et ne franchissent par conséquent que très rarement la partie haute du tube digestif. Des études avaient notamment montré que seulement 1% des *L. bulgaricus* ingérés dans des yaourts étaient retrouvés dans le duodénum. Ces bactéries des yaourts ne sont pas retrouvées dans les selles.

Lactococcus lactis, en plus d'être sensible à l'acidité gastrique, ne résiste que très rarement lorsqu'il est en contact avec les acides biliaires. Sa résistance est toutefois supérieure aux deux précédentes souches. Une étude de son devenir après une ingestion de lait fermenté en contenant 10^{11} UFC durant 4 jours avait montré que seulement 1% des *L. lactis* ingérés était retrouvés dans l'iléon et dans les fécès (132).

D'autres souches sont plus résistantes. C'est le cas notamment de nombreux lactobacilles et bifidobactéries. *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* ou encore *Bifidobacterium animalis* ont par exemple un taux de survie très élevé le long du tractus gastro-intestinal. Ces bactéries sont retrouvées en grande quantité dans les selles, atteignant parfois des concentrations fécales supérieures à 10^8 UFC/mL (131).

Pour pallier ces problèmes de survie dans la partie haute du tube digestif, des formes galéniques gastro-résistantes ont été développées, permettant ainsi de renforcer la résistance des souches jusqu'au site colique.

C'est le cas notamment de *Propionobacterium freudenreichii*, une bactérie exerçant des effets bénéfiques sur l'intestin de l'Homme lorsqu'elle est administrée dans une gélule acido-résistante. A contrario d'une gélule dite « classique », cette gélule lui permet de lutter contre le stress occasionné par l'acidité gastrique et les sels biliaires (133).

III.1.2.2. Survie dépendante de la dose administrée

La dose de probiotique ingérée est également un élément à prendre en compte puisque pour obtenir des concentrations jusque dans les selles, la quantité ingérée doit être suffisamment importante. C'est ce qu'avait notamment révélé une étude réalisée sur 20 volontaires sains. Ces personnes avaient été divisées en deux groupes : le premier recevant des gélules dosées à $1,6 \times 10^8$ UFC/mL de *Lactobacillus* GG et le second des gélules dosées à $1,2 \times 10^{10}$ UFC/mL.

Après une ingestion de ces gélules durant 7 jours, une détection des souches dans les selles n'avait été possible que pour le groupe qui avait ingéré la plus forte dose (134).

III.1.2.3. Survie dépendante de l'alimentation concomitante

Le moment de la prise est un critère non négligeable puisque la prise de nourriture augmente la production de suc gastrique et augmente par conséquent l'acidité de l'estomac. Le matin représente le moment de la journée où l'estomac est le moins acide. De plus, un estomac vide permet aux probiotiques de transiter moins longtemps dans le milieu et donc d'avoir un temps de contact moins prolongé avec le suc gastrique.

Dans l'idéal, pour entraîner une moindre altération des souches dans l'estomac, il est donc recommandé de prendre les probiotiques à jeun le matin, soit 30 minutes avant le repas ou 2h après (37).

De plus, la prise de certains médicaments en concomitance peut altérer la viabilité des micro-organismes ingérés. C'est le cas notamment des antibiotiques et de leur action bactéricide. Un délai d'au moins deux heures doit être respecté avec ces derniers pour une concentration optimale des probiotiques dans l'intestin.

Enfin, certains aliments vecteurs (exemple des yaourts) sont utilisés pour limiter la dégradation des souches dans la partie haute du tube digestif. En exerçant un pouvoir tampon sur les bactéries administrées en concomitance, ils permettent une meilleure résistance face aux pH de l'estomac.

III.1.3. Sécurité d'emploi et effets indésirables des probiotiques

A ce jour, très peu d'évènements indésirables ont été associés à la prise de probiotique chez des sujets sains sans prédispositions. La tolérance et la sécurité d'emploi de ces derniers sont très bonnes. Les rares effets indésirables décrits dans la littérature sont de types gastro-intestinaux avec des cas isolés et transitoires de ballonnements, de constipations, d'émission de gaz, de crampes abdominales, de nausées et de selles molles (125).

Toutefois, à la suite de prise de levures ou de certaines bactéries probiotiques, des effets secondaires chez des sujets présentant des prédispositions ont été notés. C'est le cas notamment des sujets porteurs de cathéters veineux centraux ou de valves cardiaques chez lesquels un risque plus accru de développer des infections ont été relevé :

- **Bactériémies / Fongjiémies** : Des fongjiémies (champignons dans le sang) à *Saccharomyces boulardii* ou des bactériémies (bactéries dans le sang) à *Lactobacillus spp.* ont été décrits chez des sujets porteurs de cathéters intraveineux (135) ;
- **Endocardites** : Chez des sujets porteurs de valves cardiaques, des cas d'endocardite infectieuse, un effet indésirable rare mais de sévérité de niveau 3, ont été décrits. Ces effets sont survenus après une consommation de probiotiques contenant des *Lactobacillus spp.* (notamment *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus paracasei*) (136).

Dernièrement, la communauté scientifique s'est interrogée sur la possibilité d'un transfert de gènes des probiotiques au microbiote résident. Cette possibilité inquiète d'autant plus que les probiotiques sont très souvent associés aux antibiotiques et qu'en parallèle, les bactéries lactiques possèdent en leur sein des plasmides contenant des gènes leur conférant une résistance à certains d'entre eux (ex : tétracycline ou érythromycine). Très peu documenté, ce risque semble être relativement faible (137). .

III.2. Place des probiotiques dans la prévention du CCR

La prévention regroupe l'ensemble des mesures permettant d'« éviter ou réduire le nombre et la gravité des maladies ». 3 types ont été décrits par l'OMS en 1948 : la prévention primaire, secondaire et tertiaire. Les probiotiques peuvent intervenir à chacun de ces 3 niveaux. Rappelons la définition de ces termes :

- **La prévention primaire** : Elle désigne les actes destinés à diminuer l'incidence d'une maladie ou d'un problème de santé, donc à réduire l'apparition de nouveaux cas dans une population saine ;
- **La prévention secondaire** : Elle vise à réduire la prévalence de la maladie au sein d'une population. Elle regroupe les actes destinés à agir au stade débutant de la pathologie ;
- **La prévention tertiaire ou tardive** : Elle intervient lorsque la maladie est installée et avancée. Elle vise à abaisser le risque de décès, la prévalence des incapacités chroniques et des récives, réduire les éventuelles complications, les invalidités et les rechutes (138).

La consommation régulière de probiotique peut moduler la composition qualitative et quantitative de notre microbiote intestinal. Ces derniers jouent sur différents mécanismes dans la prévention de l'apparition du CCR.

En plus de leurs effets bien connus sur les désordres gastro-intestinaux, les probiotiques sont depuis plus récemment utilisés dans la prévention du CCR. Cette chimio-prévention s'opère par le biais d'un nombre varié de mécanismes d'action visible dans la figure 14 ci-dessous : amélioration des conditions physico-chimiques du milieu intestinal, amélioration de la fonction barrière de la muqueuse intestinale, diminution des activités enzymatiques néfastes ou des métabolites pro-carcinogènes, diminution de l'inflammation ...

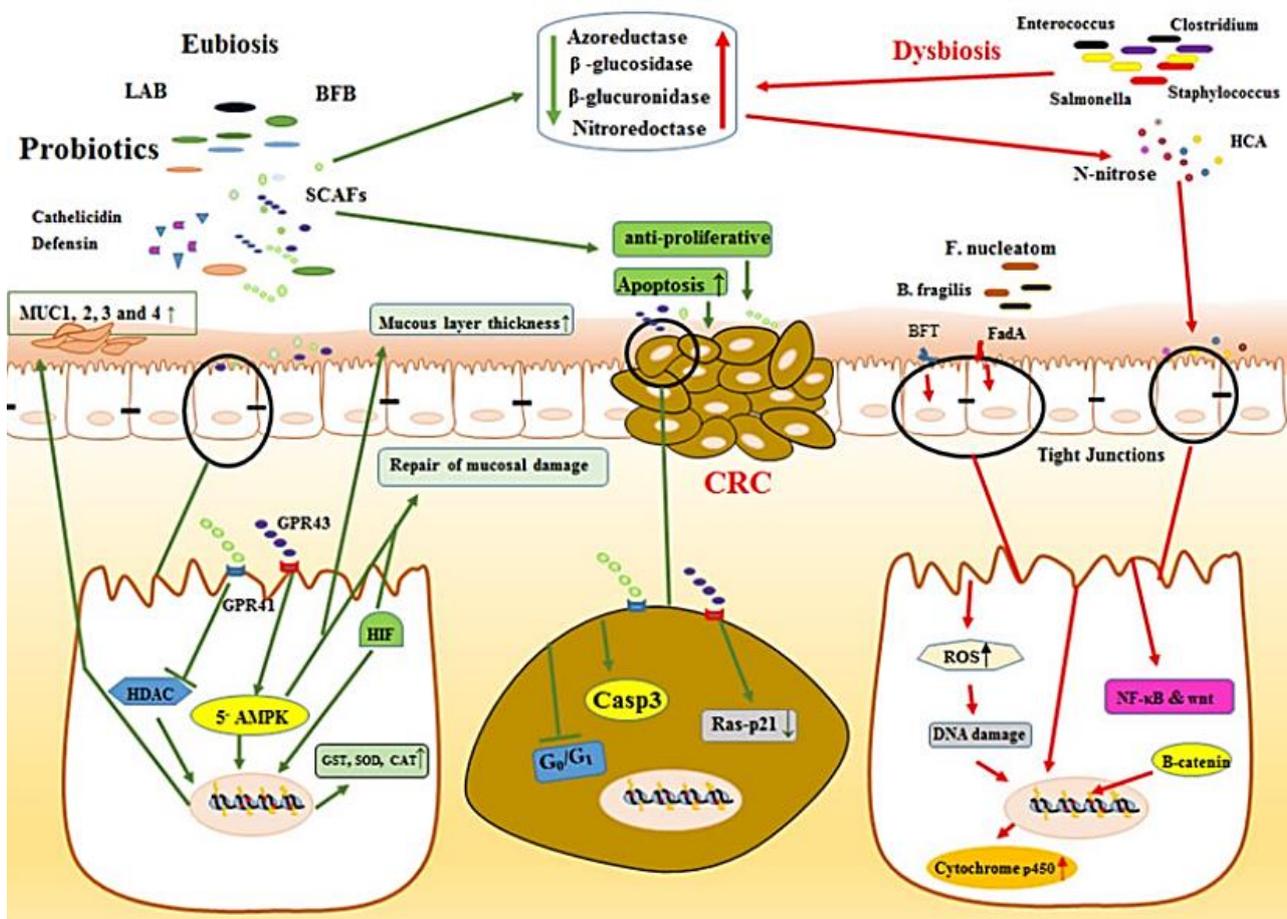


Figure 14 : Vue d'ensemble des mécanismes d'action des probiotiques dans la prévention du CCR.

Source : Eslami M, et al. *Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer*, Journal of Cellular Physiology (2019)

III.2.1. Modification de la composition microbienne du microbiote

La consommation de probiotique exerce des effets antimicrobiens sur les micro-organismes résidents et les bactéries opportunistes. Elle module la concentration des bactéries de notre microbiote intestinal et limite la colonisation par des bactéries opportunistes via divers mécanismes.

Concernant les bactéries résidentes de notre intestin, les probiotiques peuvent influencer leur population et induire une élévation de la concentration de bactéries bifidogènes et lactobacilles dites bénéfiques, ainsi qu'une diminution, par compétition, des bactéries du genre *Bacteroides*, *Clostridia* et *Escherichia coli*, dites pro-cancérigènes.

Une étude randomisée en double aveugle, contrôlée par placebo, et regroupant 38 hommes âgés de 24 à 55 ans a évalué l'influence des souches de *Lactobacillus rhamnosus* LC705 (DSM7061) et *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* JS ou PJS (DSM7067) sur la composition microbienne du microbiote intestinal. Les 38 individus, tous sans maladies chroniques ni pathologies gastro-intestinales, ont été répartis aléatoirement en deux groupes. Le groupe 1 a reçu quotidiennement deux capsules contenant 2×10^{10} UFC de chaque souche et de la cellulose microcristalline durant deux semaines, puis deux capsules placebos par jour ne contenant que de la cellulose microcristalline. Le groupe 2 a reçu ces capsules dans l'ordre inverse.

Tableau 9 : Numération fécale avant et après la supplémentation en LC705 + PJS (139)

	Avant la supplémentation	Après la supplémentation
Genre <i>Lactobacillus</i> total	52,3 x 10 ⁴ UFC/g	181,0 x 10 ⁴ UFC/g
LC705	0,12 x 10 ⁴ UFC/g	9,62 x 10 ⁴ UFC/g
Genre <i>Propionibacteria</i> total	2,27 x 10 ⁴ UFC/g	28,9 x 10 ⁴ UFC/g
PJS	0,18 x 10 ⁴ UFC/g	1,91 x 10 ⁴ UFC/g

A la fin de cette période de 4 semaines, des prélèvements fécaux ont été réalisés afin d'évaluer les changements induits par les probiotiques au sein du microbiote. Les prélèvements ont révélé les variations décrites dans le tableau ci-dessus.

La numération fécale des lactobacilles et des propionibactéries totaux ont toutes les deux montré une augmentation de ces deux populations après la supplémentation. De même, la concentration des souches LC705 et PJS ont toutes les deux augmentées (139).

Concernant les bactéries pathogènes, les probiotiques entrent en compétition directe avec ces derniers, tant pour les nutriments que pour l'adhésion aux cellules épithéliales. Ils limitent donc leur implantation. En fonction des souches qu'ils contiennent, ils peuvent également modifier le pH et par conséquent créer un environnement défavorable à la survie des souches pathogènes.

Pour illustrer cela, nous prendrons l'exemple de l'administration de probiotique dans les infections à *Helicobacter pylori*. Il s'agit d'une bactérie à gram négatif, spiralée et flagellée, responsable d'ulcères gastriques et duodénaux entre autres.

Des probiotiques à base de *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* ont montré leur efficacité dans l'inhibition de *H. pylori*. Premièrement, ils ont la capacité de produire des bactériocines. Ces peptides antibactériens libérés par les bactéries lactiques possèdent une activité anti-*H. pylori* et limitent sa croissance. On peut citer par exemple la nisine A, les lactocines, la pédiocine et la leucocine K qui sont les principales bactériocines impliquées.

Deuxièmement, ils peuvent induire une modification du pH de l'intestin via la production d'AGCC et d'acide lactique issus du métabolisme glucidique. La diminution du pH qu'ils engendrent a un effet bactéricide et empêche le développement de *H. pylori* (140).

Les probiotiques contenant ces souches participent ainsi à augmenter l'efficacité des antibiotiques dans les infections causées par *H. pylori*.

III.2.2. Amélioration des conditions physico-chimiques

Lorsqu'ils sont atteints d'un CCR, les patients ont un intestin présentant des conditions physico-chimiques modifiées par rapport à un individu sain. On constate ces changements au niveau du pH intestinal, de la viscosité, de la rétention d'eau, de la teneur en acides biliaires, etc...(141). Ces variations sont défavorables à l'activité enzymatique des bactéries commensales et au contraire, plus propices à la croissance des pathogènes, ce qui entretient le développement du CCR.

Dans le cas du pH, une supplémentation avec des bactéries probiotiques du genre *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* permet de limiter ses variations et donc de réduire le stress oxydatif qui en résulte. Ces deux genres bactériens ont la capacité de synthétiser des AGCC (acide acétique, acide propionique, acide butyrique) ainsi que l'acide lactique, un autre acide organique libéré par les bactéries lactiques. Tout comme les bactéries commensales, les bactéries probiotiques ne peuvent libérer tous les acides organiques. Le type d'acide produit est dépendant de la souche sélectionnée :

- Les *Bifidobacterium* spp peuvent synthétiser l'acide acétique et l'acide lactique ;
- *Bifidobacterium longum* et *Bifidobacterium bifidum* peuvent produire l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide lactique ;
- *Lactobacillus acidophilus* est capable de synthétiser les acides propionique, butyrique, acétique et lactique ;
- *Lactobacillus rhamnosus* GG et *Lactobacillus gasseri* peuvent synthétiser l'acide propionique et l'acide lactique (142).

Grâce à la libération de ces métabolites acides, les probiotiques lactiques entraînent une diminution du pH extracellulaire intestinal. Ces nouvelles conditions sont défavorables à la croissance des bactéries pathogènes ou à la croissance de cellules cancéreuses.

Une étude avec un probiotique à base de *Propionibacterium freudenreichii* révélait que ces variations de pH avaient un impact sur la mort cellulaire des cellules cancéreuses. Elles permettraient de tuer de façon plus radicale ces dernières. *In vitro*, l'étude montrait que, lorsque le pH était situé entre 6.0 et 7.5, les AGCC libérés par *P. freudenreichii* déclenchaient l'apoptose des cellules en 96h, alors qu'à un pH à 5.5, la mort cellulaire survenait en moins de 24h. De plus, à ce pH plus acide la mort cellulaire passe d'une apoptose à une nécrose (143).

Dans le cas des variations de la teneur en eau dans le milieu colique, d'autres études ont notamment montré qu'une supplémentation en *Bifidobacterium adolescentis* chez des rats permettait de diminuer la teneur en eau dans les selles. Cette caractéristique est étroitement liée à toxicité du côlon. Lorsque la teneur fécale en eau est diminuée, la mise en contact avec les composés toxiques solubles s'en retrouve réduite. Par conséquent, une plus faible teneur en eau est associée à un intestin moins irrité (144).

A travers ces deux exemples, nous pouvons constater que la prise de probiotique permet d'augmenter la résistance des cellules coliques à la cancérogénèse.

III.2.3. Amélioration de la fonction de barrière intestinale

La barrière que forme la muqueuse intestinale est indispensable pour protéger notre intestin. En association avec la flore commensale, elle permet de lutter contre des agents pathogènes, des antigènes étrangers, et des toxines délétères au fort potentiel pro-inflammatoire. Son altération est responsable d'une augmentation de sa perméabilité et d'une inflammation locale, deux éléments propices à un envahissement intestinal par les cellules tumorales.

Certaines souches améliorent l'intégrité de cet épithélium. C'est le cas notamment des bactéries LAB pour lesquelles leur administration induit les mécanismes suivants :

- **Augmentation de l'expression des MUC** : La couche de mucus joue un rôle fondamental dans cet effet barrière. Chez l'Homme, plus d'une vingtaine de gènes codent pour les protéines la constituant. Certaines bactéries probiotiques ont la capacité d'augmenter l'expression des mucines par le biais des AGCC qu'elles libèrent.

C'est le cas notamment du butyrate, largement connu pour avoir la capacité d'inhiber l'HDAC, une enzyme intervenant dans la régulation de l'expression génétique des MUCs. L'acide butyrique, en inhibant la HDAC, est responsable d'une augmentation de l'expression du gène MUC2, ce qui élève la concentration de la mucine 2 (mucine sécrétoire) dans la couche de mucus. On aboutit donc à une sécrétion de mucus plus élevée.

En plus d'augmenter l'expression de MUC2, l'exposition régulière aux probiotiques a également permis d'augmenter la concentration en Mucine 1, Mucine 3 et Mucine 4 (145), aboutissant à une augmentation de l'épaisseur du mucus et par conséquent une augmentation du rôle de défense de la barrière.

- **Renforcement des jonctions serrées** : Les jonctions serrées sont des complexes protéiques imperméables situées sur les faces latérales des cellules épithéliales. Elles limitent le passage paracellulaire (entre les cellules) des fluides et des substances pathogènes.

- Les probiotiques à base de *Lactobacillus rhamnosus* et *Lactobacillus reuteri* entraînent une augmentation de l'expression des protéines des jonctions serrées : la claudine-3 et l'occludine (146), ce qui renforce l'intégrité de la barrière intestinale ;
- Les AGGC sont capables d'activer la 5'-AMPK, une protéine kinase normalement activée par l'adénosine monophosphate (AMP). Cette dernière régule les jonctions serrées et améliore la fonction de barrière lorsqu'elle est activée. En effet, elle active l'homeobox de type caudal 2 (Cdx2), un facteur de transcription spécifique à l'épithélium intestinal, qui va augmenter l'expression des jonctions serrées et des jonctions adhérentes (147).

C'est le cas notamment du butyrate. Un traitement par cet AGGC permet d'augmenter l'assemblage des jonctions serrées au niveau de l'épithélium intestinal ce qui limite les fuites intestinales et améliore la fonction de barrière (148).

- **Prévention de la rupture de la barrière intestinale** : Le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) peut induire des altérations des jonctions serrées pouvant engendrer une rupture de la barrière intestinale. Certaines espèces de *Bifidobacterium* et de *Lactobacillus* peuvent prévenir ces ruptures. Une étude japonaise réalisée *in vitro* avait notamment identifié *Bifidobacterium bifidum* comme protecteur contre ce phénomène. Dans cette étude, la résistance électrique transendothéliale / transépithéliale (TEER) de monocouches de cellules Caco-2 (une lignée cellulaire issue d'un adénocarcinome colorectal humain) a été mesurée dans 4 conditions différentes : avec et sans traitement concomittant par du TNF- α à 20ng/ml et avec et sans mise en contact avec des espèces de *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Bifidobacterium* pendant 24 heures (149). La mesure de la TEER est une mesure quantitative permettant d'évaluer l'intégrité des barrières cellulaires et notamment l'intégrité des jonctions serrées (150). Plus sa valeur est élevée, meilleur est l'intégrité de la barrières. Après le traitement par le TNF- α , la TEER a diminué de façon significative montrant l'altération de la barrière intestinale en présence de ce facteur. En revanche, lorsque les cellules avaient été mise en contact avec *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis* ou *B. pseudocatenulatum*, le TNF- α n'a pas entraîné de réduction de la TEER. Certaines espèces de *Bifidobacterium* avaient même participé à la cicatrisation des plaies dans les monocouches de Caco-2 qui avaient été traitées par le TNF- α pendant 48 heures (149).

La supplémentation en probiotiques permet donc de maintenir l'homéostasie de la barrière intestinale et de renforcer son rôle protecteur contre les pathogènes. Une barrière fonctionnelle permet de limiter l'infiltration d'agents pathogènes, de réduire le risque de développer une réaction inflammatoire et de limiter une éventuelle invasion tumorale. Il s'agit donc d'une cible clé dans la prévention du CCR.

III.2.4. Inhibition des enzymes bactériennes néfastes

De nombreuses recherches ont suggéré que la consommation régulière de probiotiques permettait également de réduire l'activité néfaste de certaines enzymes bactériennes.

Ces enzymes, retrouvées dans l'intestin, sont notamment la β -glucosidase, la β -glucuronidase, l'uréase, l'azoréductase, la 7- α -déshydroxylase et la nitroréductase. A partir d'hydrocarbures et d'amines, elles sont capables de produire des composés cancérigènes tels que l'ammoniac, des phénols, des ROS, ...etc, qui peuvent endommager les colonocytes ainsi que l'ADN. *Clostridium perfringens* est par exemple capable de synthétiser la 2-amino-3-methylimidazo-[4,5-f] quinoline, une amine aromatique cancérigène, grâce à son activité de β -glucuronidase (145). D'autres bactéries du genre *Bacteroides*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* ou encore *Escherichia* possèdent ces activités enzymatiques (151).

Dans la dysbiose intestinale induite par le CCR, ces activités enzymatiques sont augmentées et participent à son développement.

Toujours avec l'exemple de l'étude randomisée en double aveugle utilisant les souches de LC705 et PJS, il a été démontré que les probiotiques pouvaient influencer ces activités

bactériennes. En effet, cette étude a mesuré, en plus des populations fécales, l'activité fécale de 3 enzymes bactériennes : la β -glucosidase, la β -glucuronidase et l'uréase.

Tableau 10 : Activités des enzymes bactériennes* avant et après la supplémentation par LC705 et PJS (139)

	Après 1 semaine de supplémentation par LC705 et PJS	Après 4 semaines de supplémentation par LC705 + PJS	Après 4 semaines de supplémentation par le placebo
β -glucosidase	7,93	6,47	7,15
β -glucuronidase	3,08	2,84	3,03
Uréease	29,9	22,1	25,6

* les résultats sont exprimés en nmol/min/mg de protéines.

Le tableau 10 montre la diminution des activités enzymatiques bactériennes, avec des résultats plus significatifs pour l'uréase et la β -glucosidase.

Au total, les activités de la β -glucosidase et de l'uréase ont diminués de respectivement 10% et 13% entre le moment sans supplémentation et la fin de la période de supplémentation de 4 semaines (139).

Le régime alimentaire est également important dans la réduction de ces activités enzymatiques . En effet, un régime riche en matières grasses et protéines est associé à une hausse de l'activité de la β -glucuronidase. Au contraire, un régime riche en produits laitiers et fibres est associé à une réduction de ces activités enzymatiques (70).

La supplémentation en bactéries probiotiques a donc permis de réduire les activités enzymatiques ce qui aboutit à une réduction de la libération de substances potentiellement cancérigènes par ces enzymes et par conséquent de prévenir l'apparition du CCR.

III.2.5. Augmentation des métabolites anticancérigènes

La prise de probiotiques permet d'augmenter la libération d'AGCC, des acides gras possédant de nombreux rôles bénéfiques.

Premièrement, ces métabolites inhibent l'HDAC 3 grâce à des acétylations de lysines. L'inhibition de son activité régule de façon négative la translocation du facteur de transcription NF κ B impliquée dans la réponse inflammatoire. On aboutit *in fine* à une réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL12, TNF- α) par les macrophages (152) et une augmentation de la libération d'IL-10 aux activités anti-inflammatoires. Le butyrate est l'AGCC qui a le plus fort potentiel inhibiteur de l'HDAC. Le propionate inhibe son activité de façon modérée et l'acétate est dépourvue de cette capacité.

Deuxièmement, les AGCC régulent de façon positive l'activité de l'AMPK (figure 15 ci-dessous). En activant cette enzyme, ils permettent une réduction de la libération de cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et cellules Th, et limite la différenciation des cellules Th, ce qui participe à la réduction de l'inflammation dans le milieu intestinal (153).

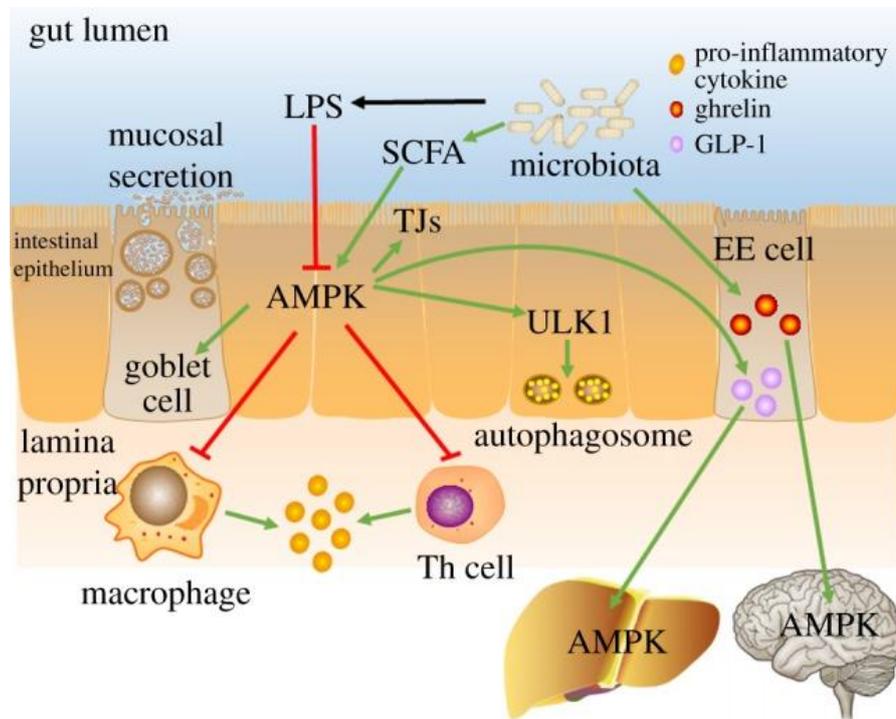


Figure 15 : Conséquences multiples de l'activation de l'AMPK par les AGCC (ou SCFA) sur l'inflammation, la sécrétion de mucus et les jonctions serrées (TJs)

Source : Sun X, Zhu M. *AMP-activated protein kinase : A therapeutic target in intestinal diseases*. Open Biol. 7 (2017)

Enfin, les AGCC fournis par les probiotiques permettent d'augmenter la quantité de peptides antimicrobiens tels que la cathélicidine et la défensine, des éléments de défenses dans la lutte contre l'invasion par les pathogènes.

De nombreuses souches bactériennes sont également capables de produire des acides linoléiques conjugués (ou CLA). Ces derniers sont un groupe d'acides gras polyinsaturés à 18 atomes de carbones, tous isomères de l'acide linoléique. Ils peuvent être naturellement retrouvés dans le tube digestif de ruminants. En plus de leurs effets bénéfiques connus sur le métabolisme lipidique ou glucidique, les CLA sont étudiés depuis peu pour leurs propriétés anti-inflammatoires et leurs effets dans la prévention de certains cancers et notamment celui du CCR (154).

Les souches pouvant influencer le taux des CLA sont notamment le *Propionibacterium freudenreichii* ou les *Lactobacillus spp*. A la suite de leur ingestion, ces souches convertissent l'acide linoléique en CLA.

Dans une étude *in vitro*, l'incubation d'un mélange de bactéries probiotiques avec de l'acide linoléique a permis de libérer une grande quantité de CLA. 100 fois plus de CLA ont été retrouvés dans la matière fécale de modèles murins avec la supplémentation en VLS3 par rapport aux modèles sans (155).

Le mélange comprenait les souches suivantes : *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium infantis*, *B. breve*, *B. longum* et *Streptococcus thermophilus*. Chaque souche du mélange a fait augmenter le taux de CLA, à des proportions variées (*L. bulgaricus* et *S. thermophilus* ont eu le plus haut taux de conversion et *L. acidophilus* le moins élevé). Concernant les effets de cette augmentation sur les colonocytes, l'étude a montré que VLS3 avait permis d'élever le taux des isomères trans-10, cis-12 (t10,c12-CLA) et cis-9, trans-11 (c9,t11-CLA) qui sont capables d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses coliques et induire leur mort par apoptose. De plus, les CLA ont augmenté l'activation des PPAR γ (*Peroxisome proliferator-activated receptors*), des récepteurs nucléaires impliqués dans les métabolismes lipide et glucidique.

Parmi les 3 types de PPAR existants (PPAR α , PPAR β et PPAR γ), il semblerait que PPAR γ soit celui qui possède un rôle suppresseur de tumeur. En effet, ce dernier est capable d'induire l'apoptose et la différenciation cellulaire ainsi que d'inhiber la prolifération cellulaire et l'angiogenèse. Ses mécanismes d'action incluent entre autres une inhibition de la voie PI3K/Akt, un blocage de l'expression de COX-2, une inactivation de la voie NF- κ B et une diminution de VEGF (156).

Enfin, la prise de probiotiques permet d'aboutir à une augmentation de phénols et enzymes aux propriétés antioxydantes, et d'agents qui inactivent des éléments carcinogènes. C'est le cas par exemple de *Lactobacillus plantarum* ou *Lactobacillus paracasei* qui peuvent produire des composés antioxydants équivalents à 100mg de vitamine C. Ces antioxydants permettent de lutter contre les radicaux libres, sources d'instabilité génomiques (157).

III.2.6. Immunomodulation

Nous avons décrit précédemment l'étroite corrélation entre le CCR et l'inflammation. En effet, l'installation d'une inflammation permet d'accompagner l'initiation du cancer puis d'entretenir sa progression par la suite. Il n'est donc pas étonnant que dans la prévention de ce dernier, les bactéries probiotiques visent à réduire l'apparition de cet état inflammatoire indispensable pour la croissance des cellules cancéreuses.

L'administration de probiotiques stimule la différenciation des cellules immunitaires ainsi que la production de composés aux propriétés anti-inflammatoires et anticancérigènes. En ciblant l'immunité innée et/ou l'immunité adaptative par leur interaction avec les cellules immunitaires résidentes de notre intestin, les probiotiques ou leurs métabolites inhibent ou augmentent la réponse immunitaire intestinale. Les souches de *Bifidobacterium spp.* et *Lactobacillus spp.* sont les plus connus pour leur effets bénéfiques sur ce système immunitaire.

III.2.6.1. Modulation de la réponse immunitaire innée

Dernièrement, il a été montré que les probiotiques étaient capables de stimuler les TLR pour initier la réponse immunitaire et induire des mécanismes anti-tumoraux. Après leur reconnaissance des motifs moléculaires PAMPs, la modulation de l'immunité innée s'opère via une activation de la phagocytose, une modulation de la synthèses de cytokines, et une activation des cellules NK.

Certaines cytokines ont des propriétés pro-inflammatoires tandis que d'autres sont anti-inflammatoires. La prise de probiotiques permet de moduler l'expression de ces médiateurs, qui sont de véritables cibles dans la prévention du CCR.

En fonction des souches administrées, les réponses cytokiniques seront différentes :

- Les cytokines anti-inflammatoires l'IL-10 et TGF- β peuvent être augmentées par les souches de *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. bifidum*, *B. infantis*) et de *Lactobacillus* (*L. fermentum*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. rhamnosus*) ;
- Au contraire, les cytokines pro-inflammatoire TNF α , IL-6 et IL-1 β peuvent être diminuées par les souches suivantes : *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *L. casei shirota*, *L. salivarius*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. sakei*. *B. Lactis*, ... (158) ;
- De plus, la production d'IL-8 nécessaire pour le recrutement des polynucléaires neutrophiles sur le site inflammatoire est affectée par la prise de probiotique (159).

Le second mécanisme impacté par la prise de probiotiques est la phagocytose des débris et des corps étrangers. Les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques et les polynucléaires neutrophiles (PMN) sont les types cellulaires de notre système immunitaire capable de cette phagocytose. Ils participent au maintien de l'homéostasie intestinale (160). Dans une étude réalisée sur des personnes âgées de plus de 60 ans et en bonne santé, la supplémentation quotidienne par la souche de *bifidobactérium animalis* ssp. *lactis* s'est révélée être très efficace pour augmenter la réponse phagocytaire (notamment par les PMN) (161).

En activant ces cellules de l'immunité innée, les probiotiques participent ainsi à réduire la prolifération de pathogènes.

Enfin, les bactéries probiotiques peuvent stimuler l'activité des cellules NK pour réduire le risque de développer un CCR.

Ces effecteurs sont des lymphocytes possédant la capacité de reconnaître et tuer les cellules anormales, dont les cellules cancéreuses. Comme l'illustre la figure 16 ci-dessous, les cellules NK reconnaissent les cellules de l'hôte exprimant le complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH-I). La présence de ce complexe à la surface des cellules cibles active le récepteur inhibiteur de la cellule NK, ce qui inhibe la lyse de la cellule cible.

En revanche, en cas d'infection ou de transformations des cellules, l'expression du CMH-I est diminuée ou nulle. Les cellules NK se lient à la cellule cible, mais leur récepteur inhibiteur n'étant pas activé, la destruction des cellules cibles par lyse n'est plus inhibée (162). La prise de probiotiques (exemple de Lactobacilles) entraîne une augmentation du nombre et de la cytotoxicité de ces cellules NK, ce qui est associé à un risque moins accru de développer un CCR.

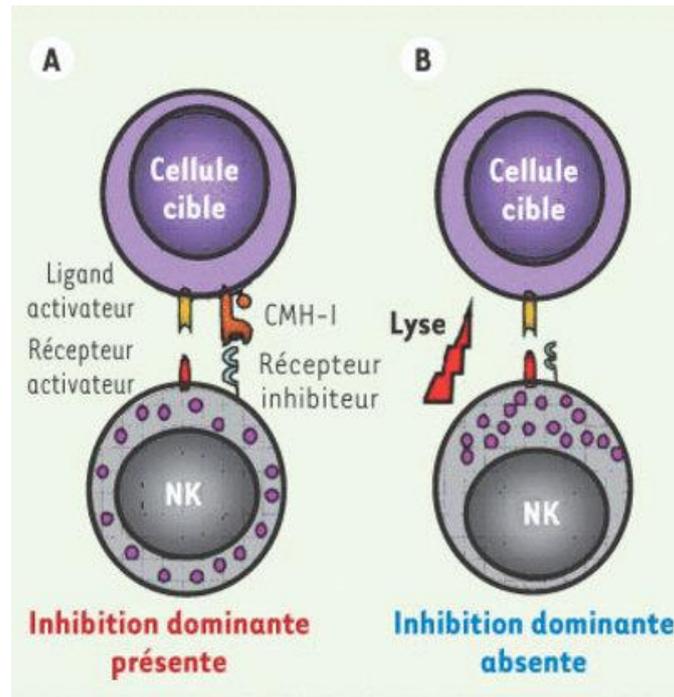


Figure 16 : Reconnaissance des cellules cibles et activation (A) ou non (B) de l'inhibition de la lyse par les cellules *Natural Killer* (NK)

Source : Iannello A, et al. *Le naturel killer, fer de lance des futures immunothérapies antitumorales ?* Med Sci (2007)

III.2.6.2. Modulation de la réponse immunitaire adaptative

Les deux voies de la réponse immunitaire adaptative peuvent être modulées par une prise de probiotique.

Concernant la réponse à médiation humorale, l'augmentation de l'activation des macrophages induit par les probiotiques (voir partie précédente) permet d'augmenter la présentation des antigènes par ces derniers aux lymphocytes B, ce qui stimule la synthèse d'IgA par les plasmocytes (Lymphocytes B différenciés). C'est le cas par exemple de *Saccharomyces boulardii* qui possède un fort potentiel anti-inflammatoire et antibactérien de par sa capacité à augmenter l'activité sécrétoire des plasmocytes (37).

Concernant la réponse à médiation cellulaire, les bactéries probiotiques participent également à la modification des réponses des Treg (Th1/Th2) :

- La réponse Th2 (avec la sécrétion de IL-4 et IL-5) est diminuée par *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus gasseri* ou encore *Bifidobacterium bifidum* ;
- La réponse Th1 (avec notamment IFN γ et IL-12 mais aussi TNF α et IL-1) est stimulée par un grand nombre de souche de lactobacilles (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. gasseri*, *L. acidophilus*), de bifidobactéries (*B. longum*, *B. bifidum*) et de streptocoques (*S. aureus*) ;

La stimulation des réponses immunitaires permet de maintenir l'organisme dans un état de vigilance pour le rendre plus apte à éliminer les cellules cancéreuses dès leur apparition. Pour

obtenir cette immunostimulation, la posologie administrée et le temps de permanence dans l'intestin sont des facteurs déterminants. Il faut garder à l'esprit que l'immunomodulation engendrée dépendra de la souche administrée.

Une prise régulière de probiotique (essentiellement les bactéries lactiques) permet donc d'obtenir des effets protecteurs sur la cancérogénèse. Cette chimioprévention est d'autant plus efficace lorsqu'elle est combinée à une prise de prébiotique.

III.3. Probiotiques en soutien des anticancéreux

Lorsque le diagnostic du cancer colorectal a été posé, les probiotiques ont également un rôle à jouer dans l'amélioration de sa prise en charge. Le choix de la souche est encore un point essentiel. En effet, en fonction des bactéries probiotiques sélectionnées, les effets sur la composition microbienne de notre microbiote intestinale et sur la carcinogénèse seront différents. Certaines sont notamment étudiées pour leur capacité à améliorer la tolérance des patients vis-à-vis des effets indésirables des traitements (médicamenteux ou non), et d'autres attirent l'attention sur la synergie d'action qu'ils exercent avec les traitements. Nous analyserons ici les différentes études montrant ces effets face aux traitements du CCR.

III.3.1. Amélioration des effets indésirables

Le terme « effet indésirable » désigne toute réaction nocive et non voulue à la suite de l'utilisation d'un médicament à sa posologie usuelle ou non. Dans le cas des traitements anticancéreux, ces effets secondaires sont nombreux, de gravité variable et non systématiques (voir annexe 3). Leur présence ne doit pas être automatiquement corrélée à une inefficacité du traitement. Cependant, lorsqu'ils deviennent trop limitants en affectant notamment la qualité de vie du patient, ils peuvent être à l'origine de l'arrêt ou de la réadaptation de ce dernier, pouvant ainsi réduire son efficacité. Il est important de réduire au maximum leur apparition pour garantir une meilleure tolérance face aux traitements.

Nous montrerons dans cette partie les différents bénéfices sur ces effets indésirables que peuvent apporter la supplémentation en probiotiques en adjuvant des traitements du CCR, notamment sur la réduction des complications après une chirurgie, sur la diminution de la fréquence et de la gravité des diarrhées ainsi que sur la réduction de l'apparition de mucites intestinales.

III.3.1.1. Complications post-opératoires

La chirurgie est le principal traitement du cancer colorectal. Cette intervention, non sans risque, peut être suivie d'un grand nombre de complications, dont la plus fréquente est la fistule ou fuite anastomotique faisant suite à une mauvaise cicatrisation (entre les deux portions restantes du côlon dans le cas d'un cancer du côlon ou entre le côlon et l'anus dans le cas d'un cancer du rectum). Des infections urinaires sur sonde, des infections pulmonaires de types pneumopathies, des infections au site de la chirurgie ou des phlébites sont d'autres exemples de complications pouvant survenir à la suite ou dans les semaines qui suivent l'intervention chirurgicale (163).

A plus long terme, des effets gastro-intestinaux (de types nausées et vomissements, diarrhées ou constipations) et des troubles de la sexualité (troubles de l'érection ou de l'éjaculation chez

l'homme et baisse de la libido ou douleur au moment des rapports chez la femme) sont également observés.

La présence de ces complications n'est pas sans conséquence. Elle entraîne des traitements supplémentaires et généralement une prolongation de l'hospitalisation, ce qui a des répercussions sur le coût global de la prise en charge. Quelques études se sont penchées sur ces complications post-opératoires et sur un moyen de les réduire grâce à l'apport de probiotiques.

Kotzampassi *et al.* ont analysé la conséquence de l'administration d'un mélange de 4 souches probiotiques sur les complications à court terme suivant une chirurgie colorectale. Le mélange comprenait les souches de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium lactis* et *Saccharomyces boulardii* aux concentrations respectives de $1,75 \times 10^9$ UFC, $0,5 \times 10^9$ UFC, $1,75 \times 10^9$ UFC et $1,5 \times 10^9$ UFC par capsule. Dans cette étude randomisée en double aveugle, 84 patients ont reçu une supplémentation de ce mélange, depuis la veille de l'intervention chirurgicale jusqu'à 15 jours après tandis que 80 autres patients ont reçu une capsule placebo contenant du polymère de glucose (durant la même durée). A la fin de la période de supplémentation, les patients ont été suivi durant 15 jours supplémentaires.

Au total, à la fin de la période d'étude, 48,8% des patients du groupe placebo ont présenté une complication contre 28,6% pour le groupe probiotique ($p = 0,010$). Parmi les complications relevées, on pouvait notamment citer des infections (pneumonies, infections urinaires, bactériémies et septicémies), des infections au site chirurgical et des fuites anastomotiques (164). Cette étude a ainsi permis de montrer une réduction du risque de complications post-opératoires associée à une prise concomitante de probiotiques.

Des effets positifs sur ces complications post-opératoires ont également été montrés avec d'autres bifidobactéries et d'autres LAB telles que *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* et *Bifidobacterium longum* qui ont montré leur efficacité dans la réduction de l'incidence de pneumonies, septicémies et infections urinaires ainsi que la durée d'hospitalisation et de l'antibiothérapie après l'opération (165). *Bifidobacterium bifidum* a montré son efficacité dans la réduction des infections au site de la chirurgie colorectale (145).

III.3.1.2. Toxicités gastro-intestinales

Tous les différents traitements du CCR évoqués précédemment peuvent entraîner des mucites gastro-intestinales. Cette mucite se caractérise par une inflammation des muqueuses et est la principale cause des perturbations du transit intestinal induit par les anticancéreux. Elles peuvent être retrouvées à tous les étages du tractus gastro-intestinal (de la muqueuse buccale à la muqueuse rectale). Ce n'est donc pas étonnant qu'elles se manifestent par des symptômes gastro-intestinaux : nausées et vomissement, diarrhée ou constipation, perte de poids et ballonnements.

La radiothérapie et la chimiothérapie sont les traitements qui en sont le plus à l'origine.

Récemment, il a été étudié si le rééquilibrage de la flore intestinale par l'apport de certaines bactéries probiotiques pouvait améliorer les toxicités gastro-intestinales associées aux chimiothérapies.

Concernant l'irinotécan, cet anticancéreux est indiqué dans le CCR et est largement utilisé en monothérapie ou en association. En monothérapie, il s'administre toutes les 3 semaines en

intraveineuse, lorsqu'un traitement comprenant le 5-FU a échoué. Dans le protocole FOLFORI, il s'administre toutes les 2 semaines en intraveineuse (166).

L'étude de Mego M. *et al.* (167) visait à analyser les conséquences de la prise d'un mélange de 10 bactéries probiotiques sur les troubles digestifs induits par l'irinotécan chez des patients atteint d'un CCR. Chaque capsule dosée à 10×10^9 UFC de bactéries contenait la formule suivante :

- 25 % de *Bifidobacterium breve* ;
- 20 % de *Bifidobacterium bifidum* ;
- 14,5 % de *Bifidobacterium longum* ;
- 8 % de *Lactobacillus rhamnosus* ;
- 8 % de *Lactobacillus acidophilus* ;
- 8 % de *Lactobacillus casei* ;
- 8 % de *Lactoabcillus plantarum* ;
- 6 % de *Streptococcus thermophilus* ;
- 2 % de *Lactobacillus brevis* ;
- 0,5 % de *Bifidobacterium infantis*.

Les 46 patients inclus dans l'étude ont pris durant 12 semaines et à hauteur de 3 capsules par jour, le mélange de probiotiques (n = 23) ou le placebo (n = 23). A l'issue des 12 semaines, la comparaison des résultats entre les deux groupes a été réalisée.

Tableau 11 : Comparaison des effets indésirables gastro-intestinaux entre les groupes placebo et probiotique (167)

	Groupe probiotiques		Groupe placebo	
	N	%	N	%
Diarrhée grade 1	5	21,7	8	34,8
Diarrhée grade 2	4	17,4	2	8,7
Diarrhée grade 3	0	0	3	13,0
Diarrhée grade 4	0	0	1	4,3
Ballonnement	2	8,7	4	17,4
Entérocolite	0	0	2	8,7

Globalement, dans le groupe ayant reçu le mélange de probiotique, les toxicités gastro-intestinales ont été réduites (sauf diarrhée de grade 2).

III.3.1.3. Diarrhées radio-induites

En oncologie, la diarrhée fait partie des effets indésirables les plus fréquemment rencontrés. L'Institut National du Cancer définit la diarrhée comme une augmentation anormale de la fréquence des selles et / ou une émission de selles molles ou liquides. Le

CTCAE ou *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (critères de terminologie communs pour les événements indésirables) décrit différents grades de diarrhées (168).

Tableau 12 : Grades des effets indésirables de type diarrhée

Grade 1	Elévation de < 4 selles par jour ou élévation légère de la production au niveau de la stomie par rapport à la fréquence habituelle
Grade 2	Elévation de 4 à 6 selles par jour ou élévation modérée de la production au niveau de la stomie par rapport à la fréquence habituelle
Grade 3	Elévation de ≤ 7 selles par jour ou élévation sévère de la production au niveau de la stomie par rapport à la fréquence habituelle. La fréquence gêne la réalisation des activités de la vie quotidienne
Grade 4	Pronostic vital mis en jeu rendant nécessaire une intervention en urgence
Grade 5	Décès

En fonction de son grade, cette diarrhée peut donc plus ou moins altérer la qualité de vie des patients.

Lors des traitements par radiothérapie, les rayons sont dirigés vers les cellules cancéreuses afin de stopper leur croissance et induire leur destruction. Les cellules saines situées à proximité sont protégées au maximum, cependant, certaines d'entre elles sont endommagées et c'est ce qui sera à l'origine des effets secondaires. Ces effets sont généralement dépendant du type de radiothérapie choisie, du type et dosage des radiations, ainsi que de la taille et localisation de la région à traiter (169).

La supplémentation probiotique dans le cadre de l'amélioration des diarrhées associées aux traitements oncologiques est de plus en plus à l'étude. Leur emploi permettrait d'aboutir à une meilleure prise en charge du patient. Les bénéfices recherchés par cette supplémentation sont notamment une réduction de la fréquence et/ou de la gravité des diarrhées ainsi qu'un retardement et/ou une réduction de l'usage des traitements antidiarrhéiques.

Dans la dernière décennie, des études évaluant l'intérêt de l'usage des probiotiques dans la réduction de la toxicité de la radiothérapie se sont développées. Parmi ces dernières, celle de Urbancsek *et al.* a évalué les conséquences de l'administration de souches de *Lactobacillus rhamnosus* à $1,5 \times 10^9$ UFC trois fois par jour par rapport à un placebo. Cette étude randomisée, en double aveugle, a été réalisée sur 206 patients âgés de 19 à 75 ans et

traités par radiothérapie abdominale pour leur cancer. Dans le groupe ayant reçu le probiotique durant 7 jours, le temps moyen avant d'avoir recours à des antidiarrhéiques était plus long (138h contre 125h) et le pourcentage de patients présentant des diarrhées était moins élevé (35% contre 48%) (170).

L'étude de Delia *et al.* a montré des résultats plus significatifs. Leur essai en double aveugle contrôlé par placebo consistait à comparer la survenue de diarrhée entre un groupe sous placebo (n = 239) et un groupe sous probiotique (n = 243). Le mélange de probiotique comprenait les souches de *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* et *L. bulgaricus*. A l'issue de l'ensemble des séances de radiothérapie, les résultats ont révélé que les probiotiques avaient permis de réduire :

- Le nombre de patients atteints de diarrhée : 31,6% avec les probiotiques contre 51,8% avec le placebo ;
- La gravité des diarrhées : 55,4 % des diarrhées étaient de grade 3 ou 4 avec le placebo contre 1,4% avec les probiotiques ;
- Le délai moyen avant d'avoir recours au loperamide : 86 +/- 6h avec le placebo contre 122 +/- 8h avec le mélange de probiotiques (171).

III.3.1.4. Diarrhées chimio-induites

Les chimiothérapies visent à détruire les cellules cancéreuses. Cependant, leur action ne cible pas spécifiquement ces cellules. En effet, leur cytotoxicité atteint également les cellules saines. Les effets secondaires qui en découlent dépendront des molécules choisies ainsi que de la dose administrée. Ils apparaissent généralement au cours ou immédiatement après la chimiothérapie mais peuvent également être plus tardifs et n'apparaître que quelques semaines, mois voire années après.

Lorsqu'un patient présente des effets indésirables liés à l'administration de la chimiothérapie, la prochaine cure peut être retardée, diminuée en dosage, voir arrêtée, ce qui peut représenter un frein à son efficacité. Parmi ces effets, la diarrhée sévère fait partie des plus limitants.

Nous prendrons l'exemple de deux études évaluant l'intérêt d'une administration de bactéries probiotiques dans la réduction des diarrhées associées aux chimiothérapies.

Etude sur l'irinotécan : C'est le métabolite actif de l'irinoécan, le SN-38, qui est à l'origine des diarrhées sévères via son activité cytotoxique sur les entérocytes. En reprenant l'étude de Mego M. *et al.*, la supplémentation avec les probiotiques a permis de réduire l'apparition des diarrhées (chez 39,1% des patients contre 60,9% avec le placebo) et la sévérité des diarrhées (0% de grade 3 et 4 contre 17,4% avec le placebo). De plus, l'utilisation des antidiarrhéiques a également diminué avec 4,5 jours d'utilisation de loperamide en moyenne contre 10,4 jours en moyenne avec le placebo (167).

Etude sur le 5-FU : Dans l'étude de Osterlund *et al.* 150 patients avec un CCR ont reçu le 5-FU en traitement adjuvant. Au cours de leur chimiothérapie, ces patients ont reçu ou non (avec une répartition aléatoire) une supplémentation en *Lactobacillus rhamnosus* dosé à $1-2 \times 10^{10}$ UFC par jour (à raison de 2 gélules par jour).

Cette supplémentation a permis de réduire la toxicité de la chimiothérapie en diminuant la fréquence des diarrhées sévères (22% des patients avec la supplémentation ont présenté des diarrhées de grade 3 ou 4 contre 37%). De plus, moins de réductions de dose ont été reportés chez les patients ayant reçu les probiotiques (21% contre 47% sans la supplémentation).

Les diarrhées chimio-induites et radio-induites peuvent donc être améliorées par certaines souches de bactéries probiotiques.

L'ensemble de ces résultats montrent ainsi que les probiotiques (essentiellement des souches LAB) contribuent à la réduction de la toxicité des traitements du cancer colorectal. Des études supplémentaires doivent encore être réalisées, toutefois l'administration de ces bactéries « bénéfiques » semble pouvoir être proposée à l'avenir comme adjuvant des traitements du CCR en vue d'améliorer la prise en charge du patient.

III.3.2. Augmentation des bénéfices thérapeutiques

En plus de l'intérêt des probiotiques dans l'atténuation des effets indésirables des divers traitements du CCR, certaines souches ont attiré l'attention des scientifiques pour leur capacité à augmenter l'efficacité thérapeutique des molécules anticancéreuses.

C'est le cas notamment d'un mélange à base de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* qui a fait ses preuves, dans un modèle *in vitro*, dans l'amélioration de l'activité apoptotique du 5-fluorouracile. Un co-traitement par ces bactéries probiotiques et du 5-FU a augmenté l'efficacité de ce dernier. Des cellules cancéreuses prélevées à partir d'une tumeur colorectale ont été mises en présence de 100µg/ml de 5-FU (concentration nécessaire pour obtenir l'apoptose de 50% des cellules). Durant 48h, des doses croissantes de ce mélange bactérien y ont été ajoutées. La mesure du pourcentage d'apoptose des cellules a été effectuée et les résultats sont présentés dans la figure 17 ci-dessous.

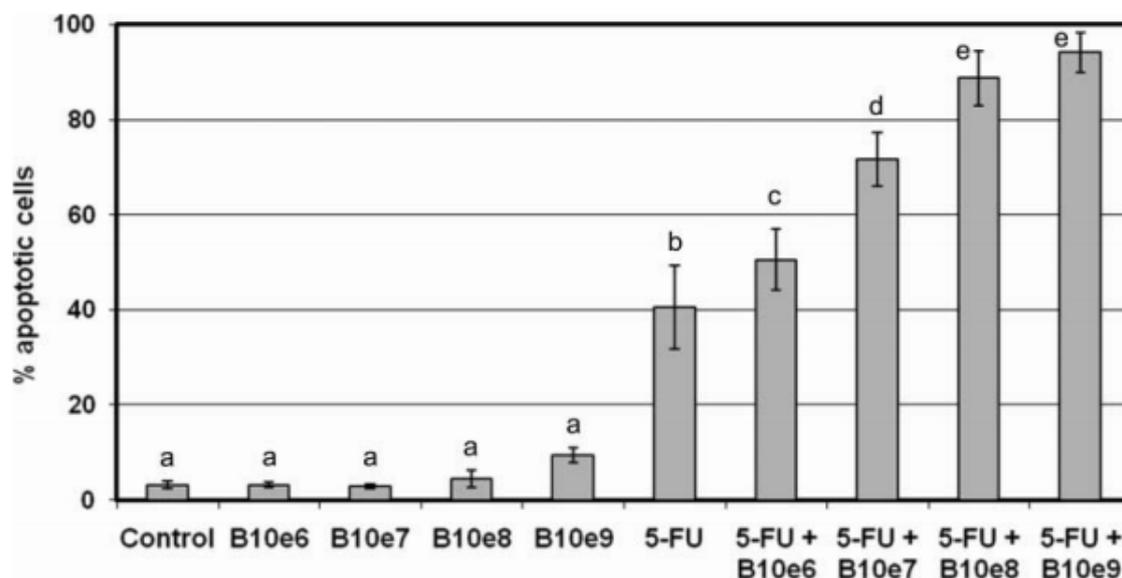


Figure 17 : Effets du mélange *L. acidophilus* et *L. casei* à des doses croissantes seul (a), du 5-FU seul (b) et de la co-administration de 5-FU et du mélange à des doses croissantes (c, d, e, f) sur l'induction de l'apoptose de cellules cancéreuses.

Source : Baldwin C, et al. *Probiotic Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei mix sensitize colorectal tumoral cells to 5-fluorouracil-induced apoptosis*. Nutrition and Cancer (2010)

Nous pouvons observer que le taux d'apoptose des cellules cancéreuses augmente de façon significative lorsque le 5-FU est associé au mélange bactérien et que cette augmentation est

dose-dépendante. L'efficacité de 5-FU a été augmentée de près de 40% avec une dose de bactéries LAB de 10^8 UFC/ml.

De plus, dans cette étude, la technique d'immunoblot (ou Western blot), a été utilisée pour quantifier l'activation des protéines p21 et caspase 3. Elle a permis de révéler que cette co-administration avait entraîné, via un mécanisme non encore élucidé, une activation plus rapide de la protéine caspase-3 et à l'inverse une régulation à la baisse de l'activité de la protéine p21, toutes deux impliquées dans la carcinogénèse colorectale. (172).

Des travaux supplémentaires doivent bien évidemment être réalisés pour conforter l'idée qu'une synergie d'action entre les probiotiques et les anticancéreux est possible. Toutefois, les premiers résultats de leur utilisation en renfort aux traitements du CCR sont prometteurs.

D'autres anticancéreux font également l'objet d'étude pour valider cette hypothèse. C'est le cas notamment du cyclophosphamide indiqué entre autres dans les leucémies, cancer de l'ovaire, cancer du sein ou cancer bronchique à petites cellules (173). Les résultats de l'effet de la flore intestinale (et précisément d'un mélange d'*Enterococcus hirae* et de *Barenesiella intestinihominis*) montrent que ces derniers avaient permis de potentialiser l'effet du cyclophosphamide (174).

Conclusion

Le microbiote intestinal de l'Homme s'avère être un milieu complexe que l'on comprend mieux aujourd'hui grâce aux nouvelles méthodes d'exploration. L'identification d'une grande majorité de sa composition et la compréhension de ses fonctions est maintenant possible. Ses rôles dans le renforcement du système immunitaire, dans la protection de l'individu contre les agents pathogènes ainsi que dans la digestion ont été largement étudiés. Ils ont permis d'établir une relation entre l'intégrité de ce microbiote commensal et l'homéostasie intestinale. Plus largement encore, ils ont permis d'établir un lien étroit entre composition du microbiote intestinal et santé globale de l'Homme.

Les avancées scientifiques ont donné accès à de nouvelles informations, notamment sur la pathologie du cancer colorectal. L'implication d'une dysbiose intestinale dans la carcinogénèse colorectale est indiscutable. Six espèces bactériennes sont particulièrement incriminées. Chez les individus atteints de CCR, on constatera ainsi un taux anormalement élevé de *Streptococcus gallolyticus*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Fusobacterium nucleatum*, qui favorisent l'émergence et la progression du CCR en produisant des toxines pro-oncogènes ou encore en modulant des voies de signalisation directement impliquées dans le développement de ce cancer. A l'inverse, on constatera également un taux anormalement bas de *Faecalibacterium prausnitzii* qui possède des propriétés protectrices vis-à-vis du CCR.

Les probiotiques sont, depuis quelques années, apparus comme de nouveaux outils dans la stratégie de prise en charge de ce CCR. Les preuves recueillies tout le long de ce travail suggèrent ainsi qu'ils peuvent contribuer à sa prévention. En renforçant l'intégrité de la barrière intestinale et en améliorant les conditions physico-chimiques du milieu, ils protègent l'intestin contre une invasion bactérienne délétère. En libérant des AGCC aux propriétés anticarcinogènes et en modulant la réponse immunitaire ils réduisent les réponses inflammatoires et renforcent le système immunitaire. Enfin, en inhibant des activités enzymatiques néfastes et en augmentant celles aux propriétés antioxydantes, ils réduisent le stress oxydatif et les instabilités génomiques. En réduisant les effets indésirables gastro-intestinaux et infectieux ou en augmentant les bénéfices thérapeutiques de certaines de ses thérapies, ils contribuent également au traitement du CCR.

Les divers résultats exposés sont très encourageants et offrent de belles perspectives pour l'avenir. Cependant, les études restent trop peu nombreuses et les avantages apportés par certaines souches ne peuvent être transposés à toutes les autres. La difficulté reposera alors non seulement dans l'identification des souches bénéfiques, mais également dans l'identification du dosage, de la fréquence d'administration ainsi que de la forme galénique nécessaire pour garantir une viabilité des bactéries jusqu'au milieu colique. De plus, la majorité des résultats à notre disposition aujourd'hui ont été obtenus sur des modèles animaux. Plus d'études chez l'Homme sont donc nécessaires pour affirmer précisément quelle souche permettrait d'aboutir ou non à une réduction de l'incidence du CCR ou à une amélioration de la qualité de vie des patients atteints de CCR. Lorsque l'ensemble de ces réponses seront apportées, les probiotiques, combinés à des mesures diététiques, pourront être une véritable alternative ou un complément aux traitements dans la lutte contre le cancer colorectal.

Références bibliographiques

1. Marteau P, Doré J. Le microbiote intestinal : un organe à part entière. John Libbey Eurotext. 2017. 340 p.
2. Microbiote intestinal (flore intestinale) [Internet]. Inserm - La science pour la santé. [cité 12 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>
3. Les microbiotes [Internet]. [cité 13 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/les-microbiotes>
4. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev.* août 2012;70 Suppl 1:S38-44.
5. Blottiere HM. Le microbiote intestinal et son hôte : entente ou mésentente [Internet]. Les colloques de l'Institut Servier. 2018. Disponible sur: https://institut-servier.com/sites/default/files/publications/H_Blottiere_FR.pdf
6. 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.* mars 2010;464(7285):59-65.
7. Romby P, Marzi et Eric Westhof S. La structure atomique du ribosome en pleine lumière. *Med Sci.* nov 2009;25(11):977-81.
8. Blottière HM, Doré J. Impact des nouveaux outils de métagénomique sur notre connaissance du microbiote intestinal et de son rôle en santé humaine : enjeux diagnostiques et thérapeutiques. *Med Sci.* nov 2016;32(11):944-51.
9. El Kaoutari A, Armougom F, Raoult D, Henrissat B. Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *Med Sci.* mars 2014;30(3):259-65.
10. Magne F, Gotteland M, Gauthier L, Zazueta A, Poeso S, Navarrete P, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio : a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? *Nutrients.* mai 2020;12(5):1-17.
11. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães V, Sokol H, Doré J, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol.* juin 2009;9(1):1-6.
12. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis.* 2015;26(26050):1-17.
13. Prématurités [Internet]. Inserm. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/prematurite>
14. Arboleya S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *J Pediatr.* mars 2015;166(3):538-44.
15. Arboleya S, Sánchez B, Solís G, Fernández N, Suárez M, Hernández-Barranco AM, et al. Impact of prematurity and perinatal antibiotics on the developing intestinal microbiota : a functional inference study. *Int J Mol Sci.* mai 2016;17(649):1-14.

16. Pammi M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis : a systematic review and meta-analysis. *Microbiome*. mars 2017;5(1):1-15.
17. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schütte UME, Beck DL, Abdo Z, et al. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. Zilberstein D, éditeur. *PLoS ONE*. juin 2011;6(6):e21313.
18. Microbiote intestinal (flore intestinale) [Internet]. Inserm - La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>
19. Cherbuy Claire, Muriel T, Langella P. Le microbiote intestinal : une composante santé qui évolue avec l'âge. *Innov Agron* 33. nov 2013;37-46.
20. Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*. juin 2004;4(6):478-85.
21. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. mai 2011;473(7346):174-80.
22. Costea PI, Hildebrand F, Arumugam M, Bäckhed F, Blaser MJ, Bushman FD, et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol*. janv 2018;3(1):8-16.
23. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. oct 2011;334(6052):105-8.
24. Le microbiote intestinal [Internet]. Sanofi. Disponible sur: <https://www.sanofi.fr/-/media/Project/One-Sanofi-Web/Websites/Europe/Sanofi-FR/Newsroom/communiqués-et-dossiers-de-presse/2020/Microbiosys/Le-microbiote-cest-quoi.pdf?la=fr&hash=B8F5A2AFC4842CC943C65223965EAF93>
25. Landman C, Quévrain E. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *Rev Médecine Interne*. juin 2016;37(6):418-23.
26. Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK. Characteristic of bacteriocines and their application. *Pol J Microbiol*. août 2013;62(3):223-35.
27. Weingarden AR, Chen C, Zhang N, Graiziger CT, Dosa PI, Steer CJ, et al. Ursodeoxycholic acid Inhibits clostridium difficile spore germination and vegetative growth, and prevents the recurrence of ileal pouchitis associated with the infection. *J Clin Gastroenterol*. sept 2016;50(8):624-30.
28. Gérard P. Microbiote intestinal et lipides : impact sur la santé humaine. *OCL*. juill 2012;19(4):223-7.
29. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*. juill 2010;90(3):859-904.
30. Zouiten-Mekki L, Serghini M, Fekih M, Kallel L, Matri S, Ben Mustapha N, et al. Epithelial cell in intestinal homeostasis and inflammatory bowel diseases. *Med Sci*. déc 2013;29(12):1145-50.
31. Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N. Gut microbiota and development of the immune system. *Med Sci*. nov 2016;32(11):961-7.

32. El Kaoutari A, Armougom F, Raoult D, Henrissat B. Gut microbiota and digestion of polysaccharides. *Med Sci.* mars 2014;30(3):259-65.
33. Chakraborti CK. New-found link between microbiota and obesity. *World J Gastrointest Pathophysiol.* nov 2015;6(4):110-9.
34. Lichtenstein AH. Intestinal cholesterol metabolism. *Ann Med.* févr 1990;22(1):49-52.
35. Landman C, Quévrain E. Gut microbiota: description, role and pathophysiologic implications. *Rev Med Interne.* juin 2016;37(6):418-23.
36. Walker IA, Nelson-Piercy C, Williamson C. Role of bile acid measurement in pregnancy. *Ann Clin Biochem.* mars 2002;39(Pt 2):105-13.
37. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte [Internet]. Afssa agence française de sécurité sanitaire des aliments. 2005. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT-Ra-Preprobiotiq.pdf>
38. Ivanov II, Manel N. Induction of gut mucosal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Med Sci.* avr 2010;26(4):485-98.
39. Atarashi K, Tanoue T, Honda K. Induction of lamina propria Th17 cells by intestinal commensal bacteria. *Vaccine.* nov 2010;28(50):8036-8.
40. Mainguy A, Paquereau C-E, Stys P, Hässler S. Le microbiote: promoteur de la différenciation des lymphocytes T CD8 mémoires. *Med Sci.* juin 2020;36(6-7):659-61.
41. Gaboriau-Routhiau V, Cerf-Bensussan N. Microbiote intestinal et développement du système immunitaire. *Med Sci.* nov 2016;32(11):961-7.
42. Glossaire Microbiote [Internet]. *Med Sci.* 2016 [cité 29 sept 2020]. Disponible sur: <http://www.medecinesciences.org/10.1051/medsci/20163211003>
43. Rogers M a. M, Aronoff DM. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* févr 2016;22(2):178.e1-178.e9.
44. Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci.* août 2017;74(16):2959-77.
45. Bruno G, Zaccari P, Rocco G, Scalese G, Panetta C, Porowska B, et al. Proton pump inhibitors and dysbiosis: current knowledge and aspects to be clarified. *World J Gastroenterol.* juin 2019;25(22):2706-19.
46. Freedberg DE, Toussaint NC, Chen SP, Ratner AJ, Whittier S, Wang TC, et al. Proton pump inhibitors alter specific taxa in the human gastrointestinal microbiome: a crossover trial. *Gastroenterol.* oct 2015;149(4):883-885.e9.
47. Korpela K, Salonen A, Virta LJ, Kekkonen RA, Forslund K, Bork P, et al. Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in finnish pre-school children. *Nat Commun.* janv 2016;7(1):1-8.
48. Furuya-Kanamori L, Stone JC, Clark J, McKenzie SJ, Yakob L, Paterson DL, et al. Comorbidities, exposure to medications, and the risk of community-acquired *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Infect Control Hosp Epidemiol.* févr 2015;36(2):132-41.

49. 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*. déc 2015;528(7581):262-6.
50. Wu H, Esteve E, Tremaroli V, Khan MT, Caesar R, Mannerås-Holm L, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naïve type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med*. juill 2017;23(7):850-8.
51. Elbere I, Kalnina I, Silamikelis I, Konrade I, Zaharenko L, Sekace K, et al. Association of metformin administration with gut microbiome dysbiosis in healthy volunteers. *PloS One*. sept 2018;13(9):e0204317.
52. Shulzhenko N, Morgun A, Hsiao W, Battle M, Yao M, Gavrilova O, et al. Crosstalk between B lymphocytes, microbiota and the intestinal epithelium governs immunity versus metabolism in the gut. *Nat Med*. nov 2011;17(12):1585-93.
53. 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*. août 2010;107(33):14691-6.
54. Leeming ER, Johnson AJ, Spector TD, Le Roy CI. Effect of diet on the gut microbiota : rethinking intervention duration. *Nutrients*. nov 2019;11(12):2862-90.
55. Zhang C, Zhang M, Pang X, Zhao Y, Wang L, Zhao L. Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. *ISME J*. oct 2012;6(10):1848-57.
56. Bell DSH. Changes seen in gut bacteria content and distribution with obesity : causation or association? *Postgrad Med*. oct 2015;127(8):863-8.
57. Do MH, Lee E, Oh M-J, Kim Y, Park H-Y. High-glucose or -fructose diet cause changes of the gut microbiota and metabolic disorders in mice without body weight change. *Nutrients*. juin 2018;10(6):761-75.
58. Jena PK, Singh S, Prajapati B, Nareshkumar G, Mehta T, Seshadri S. Impact of targeted specific antibiotic delivery for gut microbiota modulation on high-fructose-fed rats. *Appl Biochem Biotechnol*. avr 2014;172(8):3810-26.
59. Corfield AP. The interaction of the gut microbiota with the mucus barrier in health and disease in human. *Microorganisms*. août 2018;6(3):78-135.
60. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics : definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods Basel Switz*. mars 2019;8(3):1-27.
61. Barbut F, Collignon A, Butel M-J, Bourlioux P. Fecal microbiota transplantation: review. *Ann Pharm Fr*. janv 2015;73(1):13-21.
62. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. sept 2012;489(7415):220-30.
63. Gagnière J. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. janv 2016;22(2):501-18.
64. Cancer [Internet]. Organisation mondiale de la Santé. 2018. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

65. Les traitements du cancer du côlon, collection Guides patients Cancer info, INCa, mars 2010.
66. Tumeurs bénignes [Internet]. Institut National du Cancer. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Les-tumeurs-du-colon/Tumeurs-benignes>
67. Gagnière C. Predictive value of genotypes and fecal bacterial phenotypes in the early detection of colorectal cancers. *Med Sci.* août 2015;31(8-9):709-12.
68. Cancer du colon rectum [Internet]. Santé publique France. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers/cancer-du-colon-rectum>
69. Classification moléculaire des cancers colo-rectaux : quelles conséquences en pratique clinique ? [Internet]. Symposium cancers colo-rectaux. Disponible sur: https://carrefour-pathologie.org/wp-content/uploads/2018/03/Classification-mol%C3%A9culaire-CCR-Carrefour-2017-J_SELVES-V2.pdf
70. Eslami M, Yousefi B, Kokhaei P, Hemati M, Nejad ZR, Arabkari V, et al. Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer. *J Cell Physiol.* oct 2019;234(10):17127-43.
71. Olivier S, Mir A-M, Michalski J-C, Lefebvre T. Signalisation et prédispositions métaboliques liées au cancer colorectal. *Med Sci.* mai 2011;27(5):514-20.
72. Jaber S, Simeonova I, Toledo F. De la mesure en toute chose : dérégulation de p53, cancer et syndromes télomériques. *Med Sci.* déc 2013;29(12):1071-3.
73. Leblanc V, May P. Activation et modifications post-traductionnelles de p53 après dommage de l'ADN. *Med Sci.* mai 2002;18(5):577-84.
74. Collura A, Lefevre JH, Svrcek M, Tougeron D, Zaanani A, Duval A. Instabilité des microsatellites et cancer : de l'instabilité du génome à la médecine personnalisée. *Med Sci.* juin 2019;35(6-7):535-43.
75. Brunori M, Gilson É, Puisieux A. Le système de réparation des mésappariements contrôle la stabilité des télomères. *Med Sci.* nov 2001;17(11):1184-6.
76. Balaresque P. Les microsatellites des génomes eucaryotes : de leur cycle de vie et de leur neutralité. *Med Sci.* août 2007;23(8-9):729-34.
77. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* juin 1990;61(5):759-67.
78. Tanaka K. The proteasome : overview of structure and functions. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* janv 2009;85(1):12-36.
79. Hamelin R, Duval A. β -caténine et contrôle de la prolifération des cellules intestinales normales et cancéreuses. *Med Sci.* août 2003;19(8-9):788-90.
80. Lièvre A, Laurent-Puig P. La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancéro Dig.* mars 2010;2(1):38-42.
81. Lacroix M, Linares LK, Le Cam L. Rôle du suppresseur de tumeurs p53 dans le contrôle du métabolisme. *Med Sci.* déc 2013;29(12):1125-30.

82. Li X-L, Zhou J, Chen Z-R, Chng W-J. P53 mutations in colorectal cancer - molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol.* janv 2015;21(1):84-93.
83. L'essentiel sur le test immunologique [Internet]. Institut National du Cancer. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Depistage-et-detection-precoce/Depistage-du-cancer-colorectal/L-essentiel-sur-le-test-immunologique>
84. Le dépistage du cancer colorectal en pratique [Internet]. Institut National du Cancer. 2021. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Se-faire-depister/Depistage-du-cancer-colorectal/Le-depistage-en-pratique>
85. Les symptômes et l'évolution du cancer colorectal [Internet]. Vidal. 2019. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/cancers/cancer-colorectal/symptomes.html>
86. Facteurs de risques [Internet]. Institut National du Cancer. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Facteurs-de-risque>
87. Facteurs de risque [Internet]. e-cancer. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Facteurs-de-risque>
88. Cancer colorectal (du gros intestin) : les traitements [Internet]. Fondation contre le cancer. Disponible sur: <https://www.cancer.be/les-cancers/types-de-cancers/cancer-du-gros-intestin-colorectal/traitements>
89. Cancer colorectal : les traitements [Internet]. Fondation ARC pour la recherche sur le cancer. 2021. Disponible sur: [fondation-arc.org/cancer/cancer-colorectal/traitement-cancer#:~:text=La%20laparotomie%20%3A%20c'est%20,voisines%20contenant%20de s%20ganglions%20lymphatiques](https://www.fondation-arc.org/cancer/cancer-colorectal/traitement-cancer#:~:text=La%20laparotomie%20%3A%20c'est%20,voisines%20contenant%20de s%20ganglions%20lymphatiques).
90. Chimiothérapie du cancer colorectal [Internet]. Société Canadienne du Cancer. Disponible sur: <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/colorectal/treatment/chemotherapy/?region=on>
91. Gagnière C. Valeur prédictive des génotypes et phénotypes bactériens fécaux dans la détection précoce des cancers colorectaux. *Med Sci.* août 2015;31(8-9):709-12.
92. Bruneau A, Baylatry M-T, Joly AC, Sokol H. Le microbiote intestinal : quels impacts sur la carcinogénèse et le traitement du cancer colorectal? *Bull Cancer (Paris).* janv 2018;105(1):70-80.
93. Ahn J, Sinha R, Pei Z, Dominianni C, Wu J, Shi J, et al. Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* déc 2013;105(24):1907-11.
94. Sears CL, Garrett WS. Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host Microbe.* mars 2014;15(3):317-28.
95. Abdulmir AS, Hafidh RR, Bakar FA. Molecular detection, quantification, and isolation of *Streptococcus gallolyticus* bacteria colonizing colorectal tumors : inflammation-driven potential of carcinogenesis via IL-1, COX-2, and IL-8. *Mol Cancer.* sept 2010;9(249):1-18.
96. Aymeric L, Dramsi S. *Streptococcus gallolyticus* : Un pathogène opportuniste associé au cancer du côlon. *Med Sci.* oct 2018;34(10):784-7.

97. Abdulmir AS, Hafidh RR, Abu Bakar F. The association of *Streptococcus bovis/gallolyticus* with colorectal tumors: the nature and the underlying mechanisms of its etiological role. *J Exp Clin Cancer Res CR*. janv 2011;30(11):1-13.
98. McCoy AN, Araújo-Pérez F, Azcárate-Peril A, Yeh JJ, Sandler RS, Keku TO. *Fusobacterium* is associated with colorectal adenomas. *PLoS One*. janv 2013;8(1):e53653.
99. Shenker BJ, Datar S. *Fusobacterium nucleatum* inhibits human T-cell activation by arresting cells in the mid-G1 phase of the cell cycle. *Infect Immun*. déc 1995;63(12):4830-6.
100. Hussan H, Clinton SK, Roberts K, Bailey MT. *Fusobacterium's* link to colorectal neoplasia sequenced : a systematic review and future insights. *World J Gastroenterol*. déc 2017;23(48):8626-50.
101. Wang X, Yang Y, Moore DR, Nimmo SL, Lightfoot SA, Huycke MM. 4-hydroxy-2-nonenal mediates genotoxicity and bystander effects caused by *Enterococcus faecalis* -infected macrophages. *Gastroenterology*. mars 2012;142(3):543-551.e7.
102. Raisch J, Dalmaso G, Bonnet R, Barnich N, Bonnet M, Bringer M-A. Certaines bactéries de la flore commensale exacerberaient-elles la carcinogénèse colorectale ? *Med Sci*. févr 2016;32(2):175-82.
103. Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, Badani R, Stein EM, Lazarev MG, et al. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. janv 2015;60(2):208-15.
104. Geis AL, Fan H, Wu X, Wu S, Huso DL, Wolfe JL, et al. Regulatory t-cell response to enterotoxigenic *bacteroides fragilis* colonization triggers IL17-dependent colon carcinogenesis. *Cancer Discov*. oct 2015;5(10):1098-109.
105. Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S, Huso DL, Wu X, Murray-Stewart TR, et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. sept 2011;108(37):15354-9.
106. Martin HM, Campbell BJ, Hart CA, Mpofo C, Nayar M, Singh R, et al. Enhanced *Escherichia coli* adherence and invasion in Crohn's disease and colon cancer. *Gastroenterology*. juill 2004;127(1):80-93.
107. Buc E, Dubois D, Sauvanet P, Raisch J, Delmas J, Darfeuille-Michaud A, et al. High prevalence of mucosa-associated *E. coli* producing cyclomodulin and genotoxin in colon cancer. *Battista JR, éditeur. PLoS ONE*. févr 2013;8(2):e56964.
108. Cougnoux A, Dalmaso G, Martinez R, Buc E, Delmas J, Gibold L, et al. Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumour growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype. *Gut*. déc 2014;63(12):1932-42.
109. Maddocks ODK, Scanlon KM, Sonnenberg MS. An *Escherichia coli* effector protein promotes host mutation via depletion of DNA mismatch repair proteins. *mBio*. juin 2013;4(3):e00152-00113.
110. Fitzgerald CB, Shkoporov AN, Sutton TDS, Chaplin AV, Velayudhan V, Ross RP, et al. Comparative analysis of *Faecalibacterium prausnitzii* genomes shows a high level of genome plasticity and warrants separation into new species-level taxa. *BMC Genomics*. déc 2018;19(1):931-51.

111. Rossi O, van Berkel LA, Chain F, Tanweer Khan M, Taverne N, Sokol H, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* A2-165 has a high capacity to induce IL-10 in human and murine dendritic cells and modulates T cell responses. *Sci Rep*. janv 2016;6:18507-19.
112. Lopez-Siles M, Martinez-Medina M, Surís-Valls R, Aldeguer X, Sabat-Mir M, Duncan SH, et al. Changes in the abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* phylogroups I and II in the intestinal mucosa of inflammatory bowel disease and patients with colorectal cancer. *Inflamm Bowel Dis*. janv 2016;22(1):28-41.
113. Archer S, Meng S, Wu J, Johnson J, Tang R, Hodin R. Butyrate inhibits colon carcinoma cell growth through two distinct pathways. *Surgery*. août 1998;124(2):248-53.
114. Lazarova DL, Chiaro C, Bordonaro M. Butyrate induced changes in Wnt-signaling specific gene expression in colorectal cancer cells. *BMC Res Notes*. avr 2014;7:226-34.
115. Bordonaro M, Lazarova DL, Sartorelli AC. Hyperinduction of Wnt activity : a new paradigm for the treatment of colorectal cancer? *Oncol Res*. févr 2008;17(1):1-9.
116. Zuo L, Lu M, Zhou Q, Wei W, Wang Y. Butyrate suppresses proliferation and migration of RKO colon cancer cells through regulating endocan expression by MAPK signaling pathway. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. déc 2013;62:892-900.
117. Gonçalves P, Martel F. Butyrate and colorectal cancer : the role of butyrate transport. *Curr Drug Metab*. nov 2013;14(9):994-1008.
118. Martín R, Bermúdez-Humarán LG, Langella P. Searching for the bacterial effector : the example of the multi-skilled commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii*. *Front Microbiol*. mars 2018;9(346):1-8.
119. Saus E, Iraola-Guzmán S, Willis JR, Brunet-Vega A, Gabaldón T. Microbiome and colorectal cancer : roles in carcinogenesis and clinical potential. *Mol Aspects Med*. oct 2019;69:93-106.
120. Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, Dutilh BE. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer : beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol*. juin 2012;10(8):575-82.
121. Lucas C, Barnich N, Nguyen HTT. Microbiota, inflammation and colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. juin 2017;18(6):1-27.
122. Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. World gastroenterology organisation global guidelines : probiotics and prebiotics october 2011. *J Clin Gastroenterol*. juill 2012;46(6):468-81.
123. Żukiewicz-Sobczak W, Wróblewska P, Adamczuk P, Silny W. Probiotic lactic acid bacteria and their potential in the prevention and treatment of allergic diseases. *Cent-Eur J Immunol*. 2014;39(1):104-8.
124. Bermúdez-Humarán LG, Langella P. Use of lactic acid bacteria as mucosal vaccines. *Rev Francoph Lab RFL*. déc 2009;2009(417):79-89.
125. Probiotiques [Internet]. eureka-sante.vidal. Disponible sur: <https://eureka-sante.vidal.fr/parapharmacie/complements-alimentaires/probiotiques-bifidobacteries-saccharomycetes.html>
126. Marchand V. L'utilisation des probiotiques au sein de la population pédiatrique. *Paediatr Child Health*. déc 2012;17(10):575-6.

127. Shi LH, Balakrishnan K, Thiagarajah K, Mohd Ismail NI, Yin OS. Beneficial properties of probiotics. *Trop Life Sci Res.* août 2016;27(2):73-90.
128. Contrôle des probiotiques [Internet]. *economie.gouv.* 2011. Disponible sur: https://www.economie.gouv.fr/files/directions_services/dgccrf/securite/produits_alimentaires/Complement_alimentaire/colloque14oct2011/Expo_Brigitte_Thimoleon.pdf
129. Document de travail concernant les directes harmonisées sur les probiotiques destinés à une utilisation dans les aliments et les compléments alimentaires [Internet]. Commission du Codex Alimentarius. 2018. Disponible sur: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/ar/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-720-40%252FWD%252Fnf40_12f.pdf
130. Les allégations : définition, cadre réglementaire et rôle de l'ANSES [Internet]. Anses. 2012. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/les-all%C3%A9gations>
131. Flourié B, Nancey S. Propriétés fonctionnelles des probiotiques. *Cah Nutr Diététique.* avr 2007;42:38-44.
132. Bouhnik Y. Survie et effets chez l'homme des bactéries ingérées dans les laits fermentés [Internet]. HAL archives - ouvertes. 1993. Disponible sur: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00929332/document>
133. Jan G, Leverrier P, Prouty I, Roland N. Survival and beneficial effects of propionibacteria in the human gut: *in vivo* and *in vitro* investigations. *Le Lait.* janv 2002;82(1):131-44.
134. Saxelin M, Pessi T, Salminen S. Fecal recovery following oral administration of *Lactobacillus* strain GG (ATCC 53103) in gelatine capsules to healthy volunteers. *Int J Food Microbiol.* avr 1995;25(2):199-203.
135. Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard JP, Ricour C, Jacquemin JL, et al. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* janv 2000;19(1):16-20.
136. Avis de l'ANSES relatif à un cas d'endocardite infectieuse liée à la consommation de probiotiques [Internet]. Anses. 2019. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2019SA0092.pdf>
137. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* mai 2015;60 Suppl 2:S129-134.
138. Santé globale, bien-être et promotion de la santé : les définitions retenues [Internet]. *has-sante.fr.* Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-03/presentation_generale_rbpp_sante_mineurs_jeunes_majeurs.pdf
139. Hatakka K, Holma R, El-Nezami H, Suomalainen T, Kuisma M, Saxelin M, et al. The influence of *Lactobacillus rhamnosus* LC705 together with *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS on potentially carcinogenic bacterial activity in human colon. *Int J Food Microbiol.* déc 2008;128(2):406-10.
140. Gotteland M, Brunser O, Cruchet S. Systematic review : are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther.* avr 2006;23(8):1077-86.

141. Kahouli I, Tomaro-Duchesneau C, Prakash S. Probiotics in colorectal cancer (CRC) with emphasis on mechanisms of action and current perspectives. *J Med Microbiol.* août 2013;62(Pt 8):1107-23.
142. Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients.* avr 2020;12(4):1-23.
143. Lan A, Lagadic-Gossmann D, Lemaire C, Brenner C, Jan G. Acidic extracellular pH shifts colorectal cancer cell death from apoptosis to necrosis upon exposure to propionate and acetate, major end-products of the human probiotic *propionibacteria*. *Apoptosis.* mars 2007;12(3):573-91.
144. Koliarakis I, Psaroulaki A, Nikolouzakis TK, Kokkinakis M, Sgantzios M, Goulielmos G, et al. Intestinal microbiota and colorectal cancer : a new aspect of research. *J BUON Off J Balk Union Oncol.* sept 2018;23(5):1216-34.
145. Eslami M, Yousefi B, Kokhaei P, Hemati M, Nejad ZR, Arabkari V, et al. Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer. *J Cell Physiol.* oct 2019;234(10):17127-43.
146. Cui Y, Liu L, Dou X, Wang C, Zhang W, Gao K, et al. *Lactobacillus reuteri* ZJ617 maintains intestinal integrity via regulating tight junction, autophagy and apoptosis in mice challenged with lipopolysaccharide. *Oncotarget.* sept 2017;8(44):77489-99.
147. Sun X, Zhu M-J. AMP-activated protein kinase : a therapeutic target in intestinal diseases. *Open Biol.* août 2017;7(8):1-11.
148. Peng L, Li Z-R, Green RS, Holzman IR, Lin J. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J Nutr.* sept 2009;139(9):1619-25.
149. Hsieh C-Y, Osaka T, Moriyama E, Date Y, Kikuchi J, Tsuneda S. Strengthening of the intestinal epithelial tight junction by *Bifidobacterium bifidum*. *Physiol Rep.* mars 2015;3(3):e12327.
150. Srinivasan B, Kolli AR, Esch MB, Abaci HE, Shuler ML, Hickman JJ. TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. *J Lab Autom.* avr 2015;20(2):107-26.
151. Kahouli I, Tomaro-Duchesneau C, Prakash S. Probiotics in colorectal cancer (CRC) with emphasis on mechanisms of action and current perspectives. *J Med Microbiol.* août 2013;62(Pt 8):1107-23.
152. Leus NG, Zwinderman MR, Dekker FJ. Histone deacetylase 3 (HDAC 3) as emerging drug target in NF-κB-mediated inflammation. *Curr Opin Chem Biol.* août 2016;33:160-8.
153. Mao K, Klionsky DJ. AMPK activates autophagy by phosphorylating ULK1. *Circ Res.* avr 2011;108(7):787-8.
154. Basak S, Duttaroy AK. Conjugated linoleic acid and its beneficial effects in obesity, cardiovascular disease, and cancer. *Nutrients.* juin 2020;12(7):1913-20.
155. Ewaschuk JB, Walker JW, Diaz H, Madsen KL. Bioproduction of conjugated linoleic acid by probiotic bacteria occurs in vitro and in vivo in mice. *J Nutr.* juin 2006;136(6):1483-7.

156. Park J-I, Kwak J-Y. The role of peroxisome proliferator-activated receptors in colorectal cancer. *PPAR Res.* août 2012;2012(876418):1-12.
157. Kruszewska D, Lan J, Lorca G, Yanagisawa N, Marklinder I, Ljungh A. Selection of lactic acid bacteria as probiotic strains by *in vitro* tests. *janv* 2002;29:37-49.
158. Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey A. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients.* mai 2013;5(6):1869-912.
159. Molska M, Reguła J. Potential mechanisms of probiotics action in the prevention and treatment of colorectal cancer. *Nutrients.* oct 2019;11(2453):1-17.
160. Marques N, Terret C, Cassier P. Rôle des monocytes et macrophages dans le microenvironnement tumoral. *juin* 2015;IV(2). Disponible sur: <https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/23052.pdf>
161. Miller L, Lehtoranta L, Lehtinen M. The effect of *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* HN019 on cellular immune function in healthy elderly subjects: systematic review and meta-analysis. *Nutrients.* févr 2017;9(191):455-63.
162. Iannello A, Débbeche O, Samarani S, Sabbagh S, Duval M, Ahmad A. Le *natural killer*, fer de lance des futures immunothérapies anti-tumorales? *Med Sci.* mai 2007;23(5):502-8.
163. Effets secondaires [Internet]. e-cancer. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-rectum/Chirurgie/Effets-secondaires>
164. Kotzampassi K, Stavrou G, Damoraki G, Georgitsi M, Basdanis G, Tsaousi G, et al. A four-probiotics regimen reduces postoperative complications after colorectal surgery: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *World J Surg.* nov 2015;39(11):2776-83.
165. Liu Z, Li C, Huang M, Tong C, Zhang X, Wang L, et al. Positive regulatory effects of perioperative probiotic treatment on postoperative liver complications after colorectal liver metastases surgery: a double-center and double-blind randomized clinical trial. *BMC Gastroenterol.* mars 2015;15(34):1-14.
166. RCP de l'irinotécan [Internet]. base de données publiques du médicament. Disponible sur: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=66511369&typedoc=R>
167. Mego M, Chovanec J, Vochyanova-Andrezalova I, Konkolovsky P, Mikulova M, Reckova M, et al. Prevention of irinotecan induced diarrhea by probiotics: a randomized double blind, placebo controlled pilot study. *Complement Ther Med.* juin 2015;23(3):356-62.
168. Common Terminology Criteria for Adverse Events [Internet]. National Cancer Institute. 2017. Disponible sur: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_8.5x11.pdf
169. Radiothérapie pour le cancer colorectal [Internet]. Société canadienne du cancer. Disponible sur: <https://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer->

Annexes

Annexe 1. Mode d'emploi du test de dépistage du cancer colorectal	101
Annexe 2. Arbre décisionnel pour l'évaluation de l'innocuité d'une souche microbienne utilisée dans le secteur agro-alimentaire	102
Annexe 3. Principaux effets indésirables des traitements du cancer colorectal	103

Annexe 1. Mode d'emploi du test de dépistage du cancer colorectal

COMMENT FAIRE LE TEST

Si vous avez la lettre vous invitant à faire le test avec les 2 étiquettes, suivez les étapes 1 et 2 puis passez à l'étape 3.
Si vous n'avez pas la lettre, passez directement à l'étape 1bis ci-dessous.

1 Collez la grande étiquette sur la fiche d'identification qui se situe dans le volet central du kit, puis remplissez cette fiche.

2 Sur la petite étiquette, indiquez la date de réalisation du test.

Collez-la sur le côté plat du tube sur les mentions « Nom », « Date » déjà en place.

1bis Remplissez soigneusement la fiche d'identification et son étiquette situées dans le volet central du kit.

2bis Collez l'étiquette sur le côté plat du tube sur les mentions « Nom », « Date » déjà en place. Puis passez à l'étape 3.

3 Collez le papier de recueil des selles sur la lunette des toilettes à l'aide des autocollants. Appuyez doucement sur le papier pour faire un petit creux.

IMPORTANT : pour que le test soit réussi, il ne faut pas que les selles soient en contact avec un liquide (urine, javel,...).

4 Ouvrez le tube en tournant le bouchon.

5 Grattez la surface des selles à plusieurs endroits à l'aide de la tige.

6 La partie striée de la tige doit être recouverte de selles.

7 Refermez bien le tube et secouez-le énergiquement.

8 Vérifiez que vous avez bien rempli et collé l'étiquette sur le tube. Glissez le tube dans le sachet de protection.

9 Glissez dans l'enveloppe T :
• le sachet de protection qui contient le tube,
• la fiche d'identification complétée.
Refermez l'enveloppe.

10 L'enveloppe T doit être postée au plus tard 24 heures après la réalisation du test.

Les résultats vous seront adressés sous 15 jours par courrier. Si vous souhaitez les recevoir par Internet, merci de vous inscrire sur le site www.resultat-depistage.fr

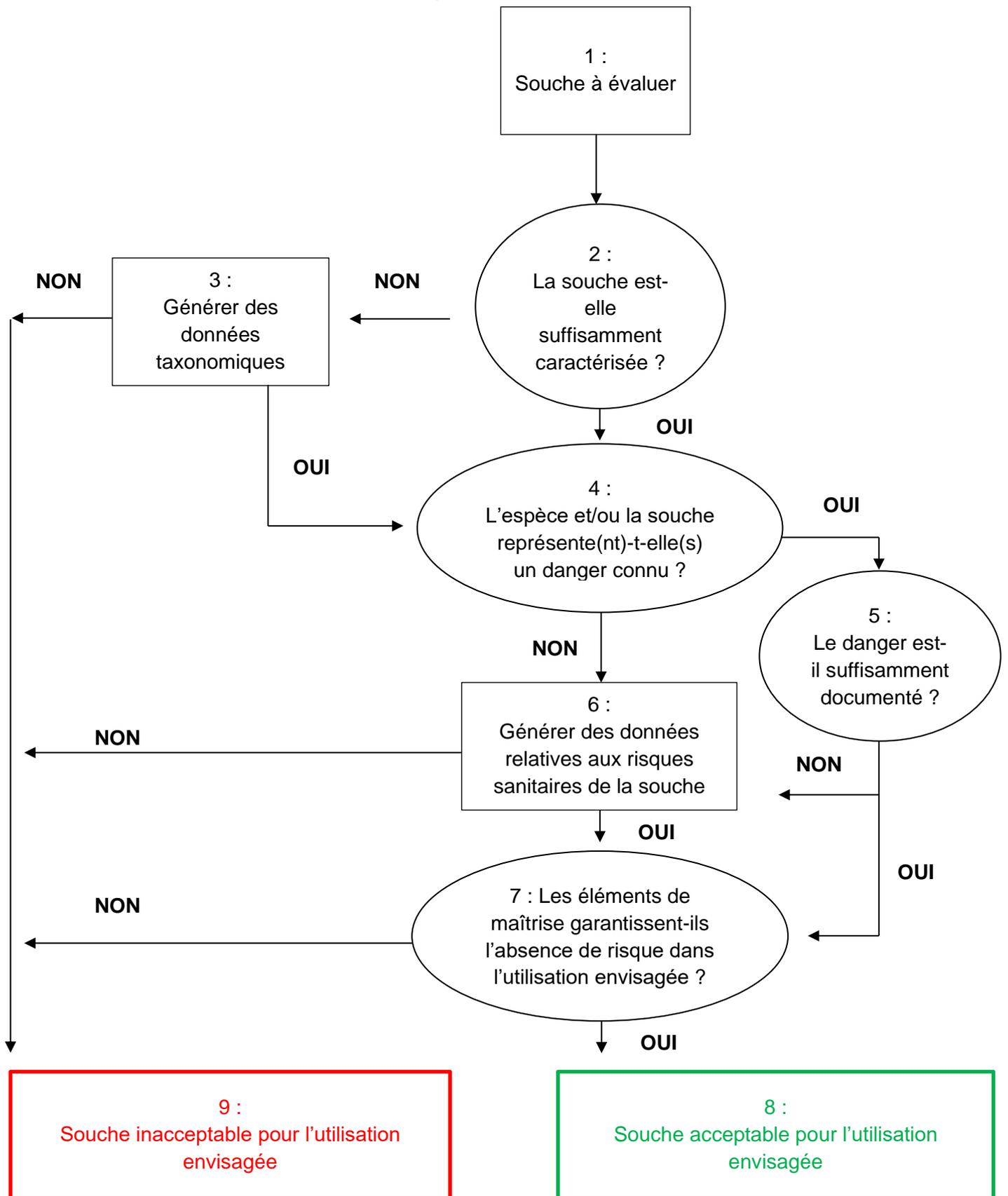
+ D'INFORMATIONS

- Après de votre médecin.
- Sur e-cancer.fr, rubrique « Dépistage ».
- Au 0 810 810 821 (prix d'un appel local) du lundi au vendredi de 9 h à 19 h, et le samedi de 9 h à 14 h.
- Après de la structure en charge des dépistages dans votre département.

QUESTIONS FRÉQUENTES

- **Quel est le délai d'utilisation du test ?**
La date d'expiration est précisée sur le tube.
- **J'ai perdu le tube/le tube est abîmé. Que dois-je faire ?**
Demandez un nouveau test à votre médecin.
- **Le prélèvement ne s'est pas passé correctement. Que dois-je faire ?**
Prenez contact avec votre médecin ou avec la structure en charge des dépistages dans votre département; il ou elle vous conseillera et vous remettra un nouveau test.

Annexe 2. Arbre décisionnel pour l'évaluation de l'innocuité d'une souche microbienne utilisée dans le secteur agro-alimentaire



Annexe 3. Principaux effets indésirables des traitements du cancer colorectal

	Chirurgie	Radiothérapie
Effets gastro-intestinaux	Diarrhée ou constipation, incontinence fécale, occlusion intestinale, iléus paralytique, douleur abdominale	Nausées et vomissements, diarrhées, douleurs et crampes abdominales, incontinence fécale
Effets hématologiques	Saignements, hématomes, hémorragies, caillots sanguins	Neutropénie et leucopénie, hémorroïdes
Troubles généraux	Fatigue	Fatigue
Effets localisés	Douleur, hématome, infection, défaut de cicatrisation, fistule anastomotique, sténose anastomotique, abcès	Cystite, colite, rectite, anite, démangeaison
Troubles sexuels	Dysfonctionnement érectile, éjaculation rétrograde, douleurs lors des relations sexuelles, baisse de la libido	Dysfonctionnement érectile, douleurs lors des relations sexuelles, baisse de la libido, sécheresse ou irritation vaginale, ménopause prématurée
Troubles urinaires	Pollakiurie, dysurie, impériosité, rétention aiguë d'urine voire incontinence urinaire	Infections urinaires, cystite hémorragique, pollakiurie ou incontinence urinaire, brûlure mictionnelle
Autres	Dommages au niveau des organes voisins Perte d'appétit	Troubles cutanés (rougeur, sensation de brûlure, pigmentation brune, épidermite) Perte d'appétit

	Chimiothérapies	Thérapies ciblées
Effets gastro-intestinaux	Diarrhées ou constipations, nausées et vomissements, douleurs abdominales	Diarrhées ou constipations, douleur abdominale, nausées et vomissements
Effets hématologiques	Neutropénie, anémie, leucopénie, thrombocytopénie, neutropénie fébrile	Saignements, caillots sanguins, neutropénie, leucopénie, thrombocytopénie, neutropénie fébrile, anémie
Effets cutanés	Rash, éruption, prurit, sécheresse et hyperpigmentation cutanée, dermatite	Sécheresse cutanée, prurit, desquamation, défaut de pigmentation, dermatite, défaut ou retard de cicatrisation des plaies
Troubles généraux	Fatigue, asthénie, fièvre, infection et septicémie, hypersensibilité	Fatigue, asthénie, fièvre, maux de tête, infection et septicémie, hypersensibilité
Effets sur le système nerveux	Syndrome cholinergique, vertiges, neuropathie périphérique	Neuropathie périphérique, céphalée
Autres	Mucosite buccale, stomatite, aphtes Perte d'appétit et déshydratation Alopécie et troubles unguéaux Elévation des enzymes hépatiques	Mucosite buccale ou stomatite perte d'appétit, perte de poids et déshydratation Myalgie Infection urinaires Dyspnée Elévation des enzymes hépatiques

Serment De Galien

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

Attention, ne supprimez pas le saut de section suivant (page suivante non numérotée)

RESUME

Le microbiote intestinal, le plus riche microbiote dont est constitué l'Homme avec ses plus de 10^{14} micro-organismes, est impliqué dans un grand nombre de processus physiologiques et pathologiques. Aujourd'hui, le lien entre sa composition et le cancer colorectal (CCR) est clairement établi. Chez les patients atteints de CCR, une véritable carte de dysbiose semble être possible à identifier avec notamment une concentration plus accrue en *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum* et *Streptococcus gallolyticus*. Ces bactéries intestinales ont une grande part à jouer dans le développement et la progression du CCR par le biais de leur activités pro-inflammatoires et par les toxines pro-carcinogènes qu'ils sécrètent.

Rétablir l'équilibre du microbiote intestinal par l'utilisation de « bonnes bactéries » à travers les probiotiques est une piste qui s'avère être prometteuse tant en prévention qu'en traitement du CCR. Les travaux récents des dernières décennies sont être en faveur d'un avis positif quant à l'utilisation des probiotiques pour prévenir l'apparition du CCR mais également lorsque ce dernier est installé pour réduire les effets indésirables associés à ses traitements ou plus rarement pour augmenter l'efficacité des anticancéreux.

Mots-clés : microbiote intestinal, bactéries, cancer colorectal, dysbiose, probiotiques, prévention, anticancéreux

ABSTRACT

Intestinal microbiota, the richest microbiota in the human body comprised of more than 10^{14} microorganisms, is involved in many physiological and pathological processes. Today, the link between its composition and colorectal cancer (CRC) is clearly established. In patients with CRC, a true dysbiosis map can be constructed to identify a higher concentrations of *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus gallolyticus*. These intestinal bacteria have a major role to play in the development and progression of CRC through their pro-inflammatory activities and the pro-carcinogenic toxins they secrete.

Restoring the balance of the intestinal microbiota with "good bacteria" via probiotics is a promising avenue for prevention and treatment of CRC. Recent work over the last decades has highlighted a positive opinion on the use of probiotics to prevent the appearance of CRC but also to reduce the adverse effects associated with its treatment or more rarely, to increase the effectiveness of anti-cancer drugs.

Keywords : intestinal microbiota, bacteria, colorectal cancer, dysbiosis, probiotics, prevention, cancer treatments

