

**UNIVERSITE DE LILLE**

Ecole Doctorale Biologie Santé (n°446)

**THESE DE DOCTORAT**

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE

Discipline : Sciences de la vie et de la santé

Présentée et soutenue publiquement par

**Caroline VALIBOUZE**

**Le 16 décembre 2022**

**Stratégies de prévention de la récurrence post-opératoire  
après résection iléo-caecale pour maladie de Crohn  
dans le modèle du rat transgénique HLA-B27**

**JURY**

Pr. Charles SABBAGH

Rapporteur

Pr. Arnaud BOURREILLE

Rapporteur

Dr. Christel NEUT

Examinatrice

Pr. Arnaud ALVES

Examineur

Pr. Pierre DESREUMAUX

Président du Jury

Pr. Philippe ZERBIB

Directeur de Thèse



## PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

1. **Valibouze C**, Speca S, Lambin T, Dubuquoy C, Dubuquoy L, M’Ba L, Schneider L, Rousseaux C, Ballet N, Decherf AC, Titecat M, Foligne B, Desreumaux P, Neut C, Zerbib P. *Post-operative recurrence after ileo-caecal resection for Crohn’s Disease: Toward an anti-adherent invasive Escherichia coli (AIEC) strategy with rationally selected Saccharomyces cerevisiae probiotic*. Gastroenterology 2019 ; 156 : S-620 and poster at Digestive Disease Week 2019.
2. **Valibouze C**, El Amrani M, Truant S, Pruvot FR, Zerbib P. *The management of gallbladder polyps*. J Visc Surg 2020 ; 157(5) : 410-417.
3. El Amrani M, Clement G, Lenne X, **Valibouze C**, Turpin A, Rogosnitzky M, Theis D, Pruvot FR, Zerbib P. *Failure to rescue following proctectomy for rectal cancer: toward an explanation of the impact of a laparoscopic approach in a nationwide study of 44 536 patients*. Surg Endosc 2022 ; 36 : 435-445.
4. **Valibouze C**, Desreumaux P, Zerbib P. *Post-surgical recurrence of Crohn's disease: Situational analysis and future prospects*. J Visc Surg 2021 ; 158(5) : 401-410.
5. Blondeaux A, Speca S, **Valibouze C**, Lambin T, Dubuquoy C, Titecat M, Blanquart H, Neut C, Genin M, Zerbib P, Foligne B, Desreumaux P. *Tofacitinib treatment prevents post-operative recurrence of crohn’s disease modeled by ileocaecal resection in HLA-B27 transgenic rats*. Gastroenterology 162(7) : S-406.
6. **Valibouze C**, Speca S, Dubuquoy C, Mourey F, M’Ba L, Schneider L, Titecat M, Foligne B, Genin M, Neut C, Zerbib P, Desreumaux P; *Saccharomyces cerevisiae prevents postoperative recurrence of Crohn’s disease modeled by ileocecal resection in HLA-B27 transgenic rats*. World J Gastroenterol, September 2022. Article soumis en cours de révision.

# Remerciements

Je tiens à remercier sincèrement le Professeur Charles Sabbagh et le Professeur Arnaud Bourreille d'avoir accepté de prendre le temps d'être rapporteurs de ma thèse et de me faire l'honneur de faire partie mon Jury de thèse. Je tiens également à remercier le Professeur Charles Sabbagh, doublement, avec le Professeur David Seguy, pour avoir pris le temps de participer à mes deux comités de suivi individuels de thèse et pour leurs remarques constructives au cours des réunions.

Je tiens à remercier le Professeur Arnaud Alves d'avoir accepté de m'honorer de sa présence en tant que membre du Jury.

Je tiens à remercier le Docteur Christel Neut pour le temps qu'elle a pris à m'expliquer les principes de la bactériologie lors de mon Master 2 et d'avoir accepté de me faire l'honneur et le plaisir de participer à mon Jury.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude au Professeur Pierre Desreumaux, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire. Merci de la grande richesse de connaissance en biologie que vous avez partagée avec moi, de votre gentillesse, et des possibilités que vous m'avez offertes. Merci de me faire l'honneur et le grand plaisir de faire partie de mon Jury de Thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Professeur Philippe Zerbib, mon directeur de Thèse. Je vous remercie de tout le temps que vous avez consacré à ma formation tant sur l'aspect chirurgical que scientifique. Je mesure toute la chance que j'ai d'avoir pu bénéficier de vos enseignements de qualité et de votre savoir. Je tiens également à vous remercier pour votre bienveillance et votre grande disponibilité.

Je souhaite adresser un grand remerciement à Caroline Dubuquoy, pour son aide durant l'ensemble de ce projet qu'elle a énormément porté au cours de ces dernières années. Merci pour ta compagnie agréable durant tous ces jours de manip à l'institut Pasteur. J'espère avoir le plaisir de continuer à travailler avec toi dans le futur.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude au Professeur François-René Pruvot et au Professeur Stéphanie Truant. Merci de m'avoir si bien accueillie dans votre service de Chirurgie Digestive et Transplantation du CHU de Lille, et de votre soutien en m'accordant du temps pour la préparation de cette thèse au cours du mon internat et de mon clinicat.

Je tiens à remercier la fondation DigestScience dédiée à la recherche sur les maladies de l'appareil digestif et la nutrition pour son aide au cours des différents projets sur le rat HLA-B27.

Je tiens également à remercier le laboratoire Pfizer pour son soutien au cours de ces travaux.

Merci à Aurélie Blondeaux et à Thomas Lambin avec qui j'ai eu l'occasion et le plaisir de collaborer au laboratoire lors de leurs brillants Master 2.

À Mohamed Bousaleh, merci de ta bonne humeur et de ta gentillesse, je suis contente d'avoir travaillé à tes côtés lors de mon Master 2 et tu étais toujours là quand j'avais besoin de conseils au cours de ma thèse. À François Maggiotto, merci de ta bonne humeur, et de tous les moments passés à discuter de nos sujets favoris communs, qui ont ensemble participé à rendre ma vie au laboratoire aussi agréable.

Merci à Laurent Dubuquoy et à Virginie Chameroy pour m'avoir accueillie chaleureusement au laboratoire et merci à Bernadette Leu de sa gentillesse et de sa disponibilité. Merci également à Fatima, Marie, Arnaud, Bertrand, Silvia, Matthias et tous les membres du laboratoire INFINITE (anciennement LIRIC) avec qui j'ai passé tant de bons moments, et qui ont rendu ma thèse et mon master aussi agréables.

À Léna M'Ba, merci de ta précieuse aide lors du début de mon master 2 et de ta disponibilité ensuite. J'ai également beaucoup aimé travailler avec toi à l'hôpital dans le service de CAO.

À Amélie Chau, je tiens à te remercier pour ta gentillesse, et de m'avoir permis d'avoir du temps libre lors de mon stage d'internat à Hénin-Beaumont, autant pour ma thèse de médecine que celle-ci. Merci également d'avoir énormément participé à l'initiation de la création du modèle de récurrence sur le rat HLA-B27, fondamental pour la poursuite du projet sur lequel porte cette thèse.

Je tiens à remercier sincèrement le Professeur Jean-Pierre Chambon et le Docteur Fouad Bourras, qui m'ont guidée au tout début de mon internat vers la voie de la chirurgie des MICI et de la recherche, et qui m'ont donné de si précieux conseils. Merci de votre bienveillance.

A Hugo, Charles, César, Anne Sophie, Lucil, mes co-chefs, merci de votre soutien et de votre compréhension lorsque je me rendais au laboratoire ; et merci à tout le service de Chirurgie Digestive et Transplantation du CHU de Lille, au sein duquel j'ai tellement de plaisir à travailler chaque jour, merci pour la bienveillance dans laquelle j'ai pu évoluer tout au cours de mon internat et de mon clinat.

A Katia, merci de ton amitié, de ta bonne humeur, et de toute ton aide lors de travaux dans le Service de Chirurgie Digestive et Transplantation, et notamment lors de la réalisation de ma thèse de Médecine.

Je tiens à remercier le Professeur Emmanuel Tiret pour sa bienveillance lorsque j'étais passée en tant qu'externe dans son service de Chirurgie Digestive de l'hôpital Saint-Antoine à Paris. Je vous remercie m'avoir encouragée à prendre la voie de la Chirurgie Viscérale.

J'aimerais exprimer ma profonde et éternelle gratitude, à ma mère. Merci de ta présence indéfectible et de ton soutien hors-norme, de ton aide toujours aussi précieuse (même sur le plan scientifique quand j'ai eu besoin d'un tutoriel express pour le logiciel R), et de ta positivité à toute épreuve. Dans la vie comme dans le travail, tu es un modèle, et j'aurais bien du mal à exprimer en quelques lignes toute la reconnaissance que j'ai pour ce que tu as fait pour moi.

A mon père, merci d'avoir été un modèle qui m'a poussée vers un travail de recherche et de ta présence.

A mon grand frère, Bruno, merci de ton éternelle gentillesse et d'être toujours présent pour m'éclairer de tes compétences quand je suis démunie face au monde des logiciels de graphisme.

Merci à Faustine Monget d'être toujours présente dans les bons mais aussi les mauvais moments. Merci de toujours avoir une oreille de disponible pour m'écouter, toujours des lentilles corail en réserve et toujours des chats aussi incroyables (surtout un).

A Lidia Roman, merci beaucoup de ta précieuse amitié, de ta présence et de tes conseils.

A Anne Landais et à Lisa Michel, mes plus anciennes amies, merci de votre présence au cours de toutes ces années.

# TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	9
INTRODUCTION .....	12
1. Définition et épidémiologie de la maladie de Crohn .....	12
2. Histoire naturelle de la MC intestinale .....	13
a. Évolution de l'atteinte intestinale .....	13
b. LAP et manifestations extra-intestinales de la MC .....	17
3. La physiopathologie de la MC et de sa récurrence est multifactorielle .....	19
a. Prédisposition génétique .....	19
b. Facteurs environnementaux .....	22
c. Altération de la barrière intestinale muqueuse .....	23
d. Dérégulation de la réponse immunitaire .....	27
i. Dérégulation de l'immunité innée .....	28
ii. Dérégulation de l'immunité adaptative .....	34
e. Rôle de la flore intestinale dans la MC et sa récurrence .....	36
i. Le microbiote intestinal humain .....	36
ii. La dysbiose de la MC .....	37
iii. Implication de la dysbiose dans la RPO .....	39
iv. Les <i>E. coli</i> adhérents et invasifs .....	41
<u>Généralités</u> .....	41
<u>Adhésion et invasion des CEI</u> .....	43
<u>Invasion et répllication au sein des macrophages</u> .....	47
<u>Activation de l'inflammation</u> .....	49
v. Rôle du mésentère .....	50
vi. Les facteurs histologiques de la MC .....	54
vii. Influence des techniques d'anastomoses sur la RPO .....	56
4. Stratégies de prise en charge de la RPO .....	61
5. Le probiotique <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	62
6. Intérêt d'un traitement par Tofacitinib dans la prise en charge de la MC .....	64
7. Le modèle du rat HLA-B27 .....	67

a. Spectre des maladies liées à l'allèle HLA-B27 du CMH de type 1 .....	67
b. Le rat HLA-B27 .....	68
c. Développement du modèle de RPO .....	70
<b>OBJECTIF DU TRAVAIL .....</b>	<b>71</b>
<b>MATÉRIELS ET MÉTHODES .....</b>	<b>72</b>
<b>1. Animaux .....</b>	<b>72</b>
<b>2. Protocole chirurgical .....</b>	<b>72</b>
<b>3. Sacrifice des animaux .....</b>	<b>73</b>
<b>4. Souches d'AIEC LF82 et de et de <i>S. cerevisiae</i> CNCM I-3856 .....</b>	<b>74</b>
a. Souche d'AIEC LF82 .....	74
b. Souche de <i>S. cerevisiae</i> CNCM I-3856 .....	74
<b>5. Analyse macroscopique .....</b>	<b>74</b>
<b>6. Analyse histologique .....</b>	<b>75</b>
<b>7. Endoscopie digestive .....</b>	<b>78</b>
<b>8. Analyse bactériologique .....</b>	<b>79</b>
<b>9. Évaluation de la flore intestinale par analyse métagénomique .....</b>	<b>80</b>
<b>10. Quantification des ARNm de la muqueuse .....</b>	<b>80</b>
<b>11. Protocoles des études.....</b>	<b>81</b>
a. Première partie : Prévention de la RPO AIEC-induite par administration de la levure <i>S. cerevisiae</i> CNCM I-3856.....	81
b. Seconde partie : Evaluation de l'effet d'un traitement par Tofacitinib dans la prévention de la RPO.....	84
<b>12. Analyse statistique.....</b>	<b>85</b>
<b>RÉSULTATS .....</b>	<b>87</b>
<b>Première partie : Prévention de la RPO AIEC-induite par administration de la levure <i>S. cerevisiae</i> CNCM I-3856.....</b>	<b>87</b>
<b>1. Suivi clinique .....</b>	<b>88</b>
<b>2. Effet de CNCM I-3856 sur les lésions macroscopiques et la RPO .....</b>	<b>89</b>
<b>3. Effet de CNCM I-3856 sur les lésions histologiques .....</b>	<b>91</b>
<b>4. Effets de CNCM I-3856 sur la persistance de la LF82 luminale et adhérente .....</b>	<b>92</b>
<b>5. Corrélation entre niveau de colonisation par la LF82 et sévérité des lésions macroscopiques chez les rats Tg .....</b>	<b>96</b>
<b>6. Quantification des ARNm péri-anastomotiques .....</b>	<b>98</b>



7. Synthèse des résultats de la première partie .....	105
<b>Seconde partie : Effet du Tofacitinib dans la prévention de la RPO dans le modèle du rat</b>	
<b>HLA B27 .....</b>	<b>106</b>
1. Suivi clinique .....	107
2. Lésions endoscopiques à la semaine 15.....	108
3. Effet du Tofacitinib sur les lésions macroscopiques et la RPO .....	109
4. Corrélation entre score endoscopique et RPO .....	110
5. Effet du Tofacitinib sur les lésions histologiques .....	111
6. Etude par métagénomique de l'effet du Tofacitinib et de la chirurgie sur la flore intestinale .....	112
7. Synthèse des résultats de la seconde partie .....	114
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>116</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>123</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>124</b>
<b>TRAVAUX PERSONNELS.....</b>	<b>146</b>
1. La récurrence post-opératoire de la maladie de Crohn : état des lieux et perspectives en 2020 .....	146
2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> prevents postoperative recurrence of Crohn's disease modeled by ileocecal resection in HLA-B27 transgenic rats.....	175
<b>RÉSUMÉ .....</b>	<b>208</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>210</b>

# LISTE DES ABRÉVIATIONS

**AIEC** : *Escherichia coli* adhérent et Invasif

**AMM** : Autorisation de mise sur le marché

**CARD8** : Caspase recruitment domain-containing protein 8

**CEACAM** : Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule

**CEI** : Cellule épithéliale intestinale

**CFU** : Unité formant colonie

**CHI3L1** : Chitinase 3-like-1

**CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité

**CNCM I-3856** : *S. cerevisiae* CNCM I-3856

**CPA** : Cellule présentatrice d'antigène

**ECCO** : European Crohn and Colitis Organisation

**EMA** : European Medicines Agency

**FDA** : Food and Drug Administration

**GALT** : Gut-associated lymphoid tissue

**GM-CSF**: Granulocyte-macrophage colony stimulating factor

**GP2** : Glycosylphosphatidylinositol-anchored protein

**HLA** : Human leucocyte antigen

**HR** : Hazard ratio

**IC** : Intervalle de confiance

**IFN** : Interféron

**IgG** : Immunoglobuline

**IL** : Interleukine

**ILCs** : Innate lymphoid cells

**IQR** : Ecart interquartile

**JAK** : Janus kinase

**LAP** : Lésions ano-périnéales

**LF82** : *Escherichia coli* adhérent et invasif LF82

**Lpf** : Long polar fimbriae

**LPS** : Lipopolysaccharide

**LT** : Lymphocyte T

**LTh** : Lymphocyte T helper

**Lt reg** : Lymphocyte T régulateur

**MC** : Maladie de Crohn

**M cells** : Microfold cell

**MDP** : Muramyl dipeptide

**MEICS** : Murine Endoscopic Index of Colitis Severity

**miARN** : Micro ARN

**MICI** : Maladie inflammatoire chronique intestinale

**MUC** : Mucine

**NF- $\kappa$ B** : Nuclear Factor-Kappa B

**NK** : Natural Killer

**NS** : Non significatif

**nTg** : Non transgénique

**OMVs** : Outer membrane vesicle

**OR** : Odds ratio

**PBS** : Phosphate Buffered Saline

**PTPN2** : Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2

**RCH** : Rectocolite hémorragique

**RIC** : Résection iléo-caecale

**ROC** : Receiver operating characteristic

**RPO** : Récidive post-opératoire

**SCFA** : Short chain fatty acid

**SOPF** : Specific and Opportunistic Pathogen Free

**SpA** : Spondylarthrite ankylosante

**STAT** : Signal transducer and activator of transcription

**S9** : 9<sup>ième</sup> semaine de vie

**S10** : 10<sup>ième</sup> semaine de vie

**S11** : 11<sup>ième</sup> semaine de vie

**S13** : 13<sup>ième</sup> semaine de vie

**S14** : 14<sup>ième</sup> semaine de vie

**S15** : 15<sup>ième</sup> semaine de vie

**S18** : 18<sup>ième</sup> semaine de vie

**Tg** : Transgénique

**TGF** : Transforming growth factor

**TLR** : Toll like receptor

**TNF** : Tumour necrosis factor

# INTRODUCTION

## 1. Définition et épidémiologie de la maladie de Crohn

La maladie de Crohn (MC) est une maladie inflammatoire intestinale (MICI), invalidante et incurable. Elle a été nommée en référence au Docteur Burrill B. Crohn, médecin au « Mount Sinai Hospital of New York », dont l'équipe a décrit en 1932 une série de 14 cas d'iléites terminales (1). La constatation de « granulomes bénins » sur des segments intestinaux, sièges d'une inflammation chronique, et le tableau d'iléite terminale avaient cependant été déjà décrits dès le début du 20<sup>ième</sup> siècle (1,2). La MC se caractérise par une inflammation chronique et transmurale de l'intestin et peut atteindre l'ensemble du tractus digestif, « de la bouche à l'anus ».

Historiquement, la MC est une pathologie touchant les pays développés d'Amérique du Nord et d'Europe, dont l'incidence était en constante augmentation jusqu'à la seconde moitié du XX<sup>ième</sup> siècle (3). Cette tendance s'est modifiée ces dix dernières années avec la constatation d'une augmentation des cas dans les pays en cours d'industrialisation et une stabilisation des taux d'incidence annuels dans les pays développés (4). On estime qu'environ 2,5 à 3 millions de personnes sont touchées par la MC en Europe avec une incidence d'environ 14/10000 habitants par an (5,6). En France, l'incidence a augmenté de 4,2 à 9,5/100000 habitants entre les périodes respectives de 1988-1990 et de 2009-2011 (7). De manière générale, la MC peut atteindre des personnes de tout âge, quel que soit le sexe et l'ethnie, même si la maladie se déclare préférentiellement chez des adultes jeunes ou des patients en fin d'adolescence. Le genre féminin est plus fréquent dans les pays industrialisés (ratio de 1,2 à 1,4) mais cette tendance semble varier selon l'âge et la région démographique (8–10).

## 2. Histoire naturelle de la MC intestinale

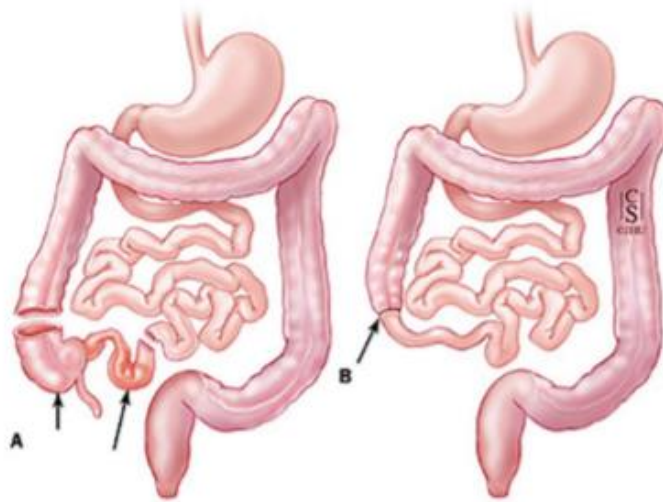
### a. Evolution de l'atteinte intestinale

La MC est le plus souvent découverte à l'occasion d'une poussée inaugurale et/ou d'une complication. Elle évolue sous forme d'alternance de poussées inflammatoires d'intensités variables, et de phases de rémissions plus ou moins complètes. Lors du diagnostic, on décrit 1/3 des patients présentant une forme iléale, 1/3 une forme iléo-colique, et 1/3 une forme colique pure (11). Au cours de l'évolution de la maladie, la localisation initiale reste stable pour la grande majorité des patients (12). La maladie se localise dans 2/3 des cas sur la région iléo-caecale, expliquant que la résection iléo-caecale (RIC) soit l'intervention digestive la plus fréquemment réalisée (Figure 1). L'approche laparoscopique doit aujourd'hui être privilégiée pour cette chirurgie qui, idéalement, doit être réalisée chez des patients préparés à l'intervention. En effet, pendant la période de préparation pré-opératoire, les bilans nutritionnels et infectieux doivent avoir été optimisés (13), et le patient sevré en traitements immunosuppresseurs et en corticoïdes (14,15).

Les symptômes digestifs sont majoritairement dominés par une diarrhée, invalidante et chronique, et par les douleurs abdominales. Une altération marquée de l'état général avec perte de poids peut accompagner les symptômes digestifs. Le phénotype de la maladie peut être sténosant (inflammatoire ou cicatriciel) ou fistulisant (16). Une sténose intestinale peut être responsable d'un syndrome de Koenig (douleur abdominale avec sensation de « blocage intestinal » cédant en même temps qu'un borborygme abdominal, et suivi d'une diarrhée) ou d'une authentique occlusion intestinale. L'inflammation chronique et son caractère transmural peuvent également être responsables de fistules digestives, plus fréquentes en cas de localisation iléale que colique (17). Les fistules entéro-digestives ou entéro-cutanées peuvent être responsables d'une malabsorption. L'iléite fistulissante peut également toucher

des organes de voisinage « victimes » comme la vessie ou le vagin, et peut être accompagnée d'abcès intra-abdominaux. Enfin, l'inflammation chronique augmente le risque de cancer colo-rectal par 2 et celui de l'intestin grêle par 22 en comparaison avec la population générale (18).

Initialement, la chirurgie (de résection ou dérivation de la zone atteinte) était le seul traitement de la MC (19). Le développement de traitements immunomodulateurs, notamment les biothérapies dans les années 1990, a permis d'améliorer la prise en charge médicale des patients et de limiter les indications chirurgicales. Cependant, dans les atteintes iléo-caecales, les traitements médicaux n'ont modifié ni le taux de RIC ni l'étendue de la résection intestinale, et ce malgré un nombre croissant de patients sous traitements biologiques (20,21). L'évolution de la MC reste donc très liée à la chirurgie, et on estime que 30 à 50 % des patients vont nécessiter au moins une résection intestinale en cas de complications ou de résistance au traitement médical (22).



*Figure 1 : Résection iléo-caecale*

Source :

[https://www.hopkinsmedicine.org/gastroenterology hepatology/ docs/ pdfs/small large intestine/crohns disease.pdf](https://www.hopkinsmedicine.org/gastroenterology%20hepatology/docs/pdfs/small%20large%20intestine/crohns%20disease.pdf)

RIC emportant la zone iléale atteinte et le caecum (A) et rétablissement de la continuité digestive par anastomose iléo-colique (B).

La chirurgie permet de supprimer l'ensemble des lésions macroscopiques, de soulager immédiatement les symptômes obstructifs, et d'améliorer la qualité de vie, au prix d'une morbidité faible et d'une mortalité nulle (5,6). Cependant, la quasi-totalité des patients présentera une récurrence post-opératoire (RPO) des lésions intestinales de la MC. La RPO endoscopique concerne jusqu'à 75% des patients dans l'année qui suit la chirurgie (23). C'est dans l'optique de prévenir ces lésions qu'un traitement préventif par anti-TNF  $\alpha$  peut être introduit précocement dans le post-opératoire. La localisation préférentielle des lésions de RPO endoscopiques est anastomotique, ou immédiatement pré-anastomotique (3,19). L'impact pronostique de la localisation des lésions de RPO endoscopiques sur l'évolution de la maladie a été étudié dans plusieurs études rétrospectives, avec des résultats discordants. Une étude multicentrique de 2016 sur 50 patients n'a pas mis en évidence de différence entre localisation pré-anastomotique ou anastomotique des lésions endoscopiques sur la récurrence



clinique (24). En revanche, deux études récentes de 2019 sur plus de 200 patients ont constaté une progression plus sévère de la maladie, avec notamment des taux de récurrence chirurgicale plus importants, dans le groupe RPO endoscopique pré-anastomotique que dans le groupe RPO endoscopique anastomotique (25,26). En 2022, une méta-analyse sur 400 patients n'a pas mis en évidence de différence en terme de récurrence clinique ou chirurgicale en fonction de la localisation des lésions endoscopiques (27).

La récurrence endoscopique précède la récurrence clinique pour 40% des patients à 5 ans (28) et la récurrence chirurgicale pour 20% des patients à 10 ans conduisant alors à une nouvelle résection (29). La physiopathologie de la MC reste encore imparfaitement élucidée. Le déclenchement de la maladie semble résulter, chez des patients génétiquement prédisposés, d'une réponse immunitaire inappropriée à une flore intestinale modifiée, sous l'influence de facteurs favorisants environnementaux (30). Il est admis que la survenue de la RPO répond aux mêmes processus physiopathologiques, avec des particularités inhérentes à la chirurgie (modification du flux fécal, morphologie anastomotique, atteinte des lymphatiques...) et d'autres intrinsèques (réponse inflammatoire et susceptibilité génétique). De plus, des facteurs de risque bien spécifiques de la RPO ont été identifiés : le tabagisme actif, les résections itératives et/ou étendues de plus de 50 cm, la présence de lésions ano-périnéales (LAP), la plexite myentérique, la présence de granulomes épithélioïdes sur pièce opératoire, et l'absence de traitement prophylactique post-opératoire (31). Par ailleurs, de nouvelles pistes semblent émerger soulignant le rôle du mésentère ou encore du flux fécal sur la RPO (32,32–34). Ainsi, la technique chirurgicale de résection intestinale, associant ou non une exérèse mésentérique, ainsi que la configuration de l'anastomose, modifiant le reflux fécal vers l'anse intestinale d'amont, peuvent influencer sur les taux de RPO (33,35,36). L'implication du phénotype de la maladie comme facteur de risque de RPO reste débattue. Le phénotype

pénétrant est reconnu comme facteur de risque de RPO par le consensus ECCO (European Crohn and Colitis Organisation) qui s'est basé principalement sur les résultats de deux études. La première est une étude de 1988 de Greenstein et al. sur 770 patients, rétrospective et monocentrique, ayant conclu en une augmentation significative des taux de premières (73% vs 29%,  $p < 0,00001$ ) et secondes récidives chirurgicales ( $p < 0,001$ ) dans le groupe « phénotype pénétrant » (37). La seconde est une méta-analyse de 2008 de Similis et al. sur plus de 3000 patients qui a conclu que le phénotype pénétrant était significativement associé à une augmentation du risque de récidive chirurgicale (HR 1,50,  $p = 0,002$ ), avec cependant une hétérogénéité significative entre les études ( $p < 0,001$ ) (38). Des résultats contradictoires ont cependant été rapportés dans des études récentes. Maggiori et al. ont constaté dans une étude prospective multicentrique comprenant 340 patients que le phénotype pénétrant était un facteur protecteur indépendant de RPO endoscopique (OR = 0,58 (IC 95% [0,39-0,86]) ;  $p = 0,007$ ) et clinique (OR = 0,36 (IC 95% [0,16-0,81]) ;  $p = 0,013$ ) (39). Encore plus récemment en 2022, les analyses d'une étude rétrospective sur 100 patients ont conclus que le phénotype pénétrant était le seul facteur prédictif d'une réduction du risque de RPO endoscopique à 1 an (OR = 0,19, (IC 95% [0,04-0,98]),  $p = 0,04$ ) (40).

D'autres facteurs de risque ont été évoqués avec des résultats discordants selon les études (âge au moment de la chirurgie, antécédent familial de MICI, transfusion per-opératoire, durée d'évolution de la maladie) (41).

#### b. LAP et manifestations extra-intestinales de la MC

Chez un patient sur deux, l'atteinte intestinale est associée à des LAP (42). Les LAP désignent l'ensemble des lésions provoquées par la MC et intéressant le canal anal, le tissu cellulo-graisseux du périnée, et le bas rectum. Elles peuvent être classées en lésions primaires

(ulcérations, marisques œdemateuses), consécutives à la maladie inflammatoire intestinale digestive, et secondaires, compliquant de manière mécanique (sténose) et/ou infectieuse (abcès, fistule) les lésions primaires (43). Elle peuvent également être classées en fonction de leur activité (suppurative ou non, activité inflammatoire à l'imagerie...) ou encore de leur localisation (43,44). Lors d'une atteinte digestive concomitante, leur prévalence augmente avec la distalité de l'atteinte luminale (45). Les LAP peuvent mener dans les cas les plus sévères à une dérivation digestive temporaire ou définitive, voire à une amputation abdomino-périnéale (46). L'inflammation chronique peut faire le lit d'une transformation maligne ano-rectale (1% des cas) (47,48).

La présence de LAP est un facteur de risque reconnu de RPO, et elle augmenterait son risque par 3 (23,49–53). Les LAP induisent également une MC d'évolution plus sévère (51,54). Par ailleurs, une association entre fistules luminales intestinales et fistules périnéales a été montrée (45). La présence de LAP a également été associée avec les manifestations extra-intestinales de la MC (55).

Les manifestations extra-intestinales sont présentes chez 30 à 50% des patients atteints d'une MICI (56). Elles atteignent plus fréquemment les patients atteints d'une MC qu'une rectocolite hémorragique (RCH), et plus particulièrement ceux présentant une forme colique ou un tabagisme actif (57,58). Les atteintes les plus fréquentes sont articulaires (arthropathies périphériques et axiales, dont la Spondylarthrite ankylosante ou SpA), cutanéomuqueuses (érythème noueux, *pyoderma gangrenosum*, aphtose buccale, syndrome de Sweet) et oculaires (uvéite, épisclérite, sclérite) (59). Plus rarement, il peut exister des atteintes pulmonaires, cardiaques, vasculaires ou encore pancréatiques (60), et on estime que 0,7-3,4% des patients atteints de MC ont une atteinte hépatique de type cholangite sclérosante primitive (61). L'évolution de ces atteintes extra-intestinales est le plus souvent liée à l'atteinte

digestive (à l'exception de la SpA et de l'uvéïte). Leur présence est associée à une évolution plus sévère de la maladie (60). Cependant, à ce jour, aucun lien n'a été fait entre manifestations extra-intestinales et RPO.

### **3. La physiopathologie de la MC et de sa récurrence est multifactorielle**

#### **a. Prédisposition génétique**

La constatation de clusters familiaux de MC a rapidement fait suspecter l'implication de facteurs génétiques dans le déclenchement de la pathologie. En effet, il a été rapporté un antécédent familial de MICI chez 12-15% des patients atteints de MC et la présence d'un cas avéré de MICI chez un parent au premier degré entraîne un surrisque de 5 à 8% de développer une MC (3,62,63). Des études chez les patients touchés par la MC présentant un jumeau de même sexe ont rapporté un taux de concordance de 50% chez les jumeaux monozygotes contre 2,8 à 9% chez les jumeaux dizygotes (64,65). D'un point de vue ethnique, on a constaté une augmentation de 3 à 4 fois du risque de développer une MC chez les populations Juives Ashkénazes (62). Il a également été constaté un début plus précoce de la maladie chez les enfants de patients atteints de MC (66).

La transmission génétique de la MC ne suit pas un modèle simple d'hérédité mendélienne (transmission autosomique dominante ou récessive), suggérant ainsi l'implication de plusieurs gènes. Depuis 2001, plus de 150 allèles associés aux MICI ont été découverts, dont 37 spécifiques de la MC (63). Pris individuellement, ces allèles entraînent un risque très faible de développer une MC (OR typiquement compris entre 1,1 et 1,2) et la majorité de la susceptibilité génétique n'est représentée que par la variation de quelques gènes, notamment le gène NOD2, celui du récepteur de l'IL-23 (IL-23R) et le gène de l'autophagie ATG16L1 (9).

Le gène NOD2 ou CARD15 fut le premier gène de susceptibilité pour la MC découvert en 2001 (67,68). Situé sur le chromosome 16, il est principalement exprimé par les monocytes périphériques (67,68). Environ 30% des patients atteints de MC présentent une mutation de NOD2 (69–72). Parmi les 60 polymorphismes identifiés pour ce gène, trois variants sont majoritairement représentés et particulièrement associés avec la forme iléale de la MC (R702W, G908R, et Cinsfs1007) (69–74). La présence d'une mutation de NOD2 n'a cependant pas pu être associée à un phénotype particulier de la MC (9). La protéine NOD2 sauvage est un récepteur intracellulaire capable de reconnaître les protéines de la paroi bactérienne, et notamment le muramyl dipeptide (MDP). La liaison de NOD2 au MDP permet l'activation du facteur de transcription nucléaire *Nuclear Factor-Kappa B* (NF-κB), impliqué dans la réponse immunitaire (70,75). Le gène NOD2 semble également impliqué dans l'autophagie (68,76). Les mutations de ce gène entraînent donc un défaut d'immunité innée envers la flore microbienne. Par ailleurs, et étonnamment, il n'a pas été mis en évidence de lien entre une mutation de NOD2 et la RPO (77).

Plusieurs gènes impliqués dans l'autophagie ont été associés à la MC. L'autophagie se caractérise par la destruction par les lysosomes d'éléments intracellulaires, dont les pathogènes intracellulaires (78). Un défaut d'autophagie peut entraîner la persistance d'une infection intra-cellulaire et faciliter la prolifération intra-cellulaire de certaines espèces invasives. Parmi les gènes impliqués dans ce processus physiologique, le gène ATG16L1, exprimé par les cellules de Paneth, les cellules présentatrices d'antigènes (ou CPA) et les lymphocytes T (LT), a été associé à la MC (79). D'autres gènes participent au défaut d'autophagie dans la MC comme le gène IRGM qui encode une GTPase. Le gène IRGM a par ailleurs été corrélé à une augmentation significative du risque de chirurgie chez les patients présentant une atteinte iléo-colique (une chirurgie tous les  $6,87 \pm 1,33$  ans en présence de la

mutation contre une chirurgie tous les  $11,43 \pm 1,21$  ans chez les patients non mutés,  $p = 0,007$ ) (80).

Le gène de l'IL-23R est impliqué dans la différenciation des lymphocytes Th17 (LTh17), voie clé de la réponse inflammatoire de la MC (cf Paragraphe 3. d. ii.) (3). La mutation de ce gène réduit par trois le risque de développer une MC (81).

La mutation du récepteur de l'IL-10, cytokine clé anti-inflammatoire, est de transmission mendélienne et donc responsable d'un fort taux de pénétrance. Cette mutation a notamment été incriminée dans les formes jeunes de la MC (82).

Certains gènes sont spécifiquement impliqués dans la RPO, comme le gène SMAD3 qui n'a par contre jamais été mis en cause dans l'initiation de la MC. Dans une étude de 2014, Fowler et al. ont mis en évidence qu'une mutation de ce gène augmentait par 4 le risque de RPO, et que celle-ci survenait de manière plus précoce (83). Le gène SMAD3 encode un facteur de transcription qui est activé suite à la liaison du *Transforming growth factor*  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) à son récepteur dimérique membranaire. La voie du TGF  $\beta$  est impliquée dans de nombreuses réponses biologiques telles que la croissance et la différenciation cellulaire, l'apoptose, l'immunité et la production de matrice extra-cellulaire (84). Dans le cas de la RPO, la mutation de SMAD3 serait responsable d'une augmentation du processus physiologique de cicatrisation entraînant une fibrose responsable à long terme une sténose (85).

La mutation du gène CARD8 (caspase recruitment domain-containing protein 8), fortement exprimé au niveau des monocytes, a également été mise en cause dans la RPO. La protéine CARD8 a un rôle immunomodulateur au niveau des macrophages en inhibant la voie NF- $\kappa$ B et l'apoptose (86). Le rôle exact de cette mutation dans la récurrence n'est pas connue mais elle

pourrait favoriser l'inflammation chronique par un défaut d'inhibition de la voie pro-inflammatoire NF- $\kappa$ B (85).

Cependant, et malgré la multitude de gènes découverts, l'importance accordée aujourd'hui à la part génétique de la MC est réduite puisqu'on estime qu'elle représente moins de 15% de l'hérédité de la MC (63). D'autres facteurs, épigénétiques, et surtout environnementaux, semblent prépondérants dans la physiopathologie de cette maladie (9).

#### b. Facteurs environnementaux

L'importance des facteurs environnementaux est suggérée par les disparités de répartition géographique avec un classique gradient Nord-Sud de la MC, et une prédominance nette d'incidence au sein des pays industrialisés (8,63,87). Par ailleurs, le taux d'incidence des MICI chez les migrants devient comparable à celui du pays d'accueil dès la deuxième génération (87,88) et la concordance incomplète chez les jumeaux monozygotes atteste de l'implication de facteurs environnementaux en plus des facteurs génétiques (64,65).

Beaucoup d'études ont tenté de préciser ces facteurs environnementaux mais peu ont été formellement identifiés. Le tabac est le principal facteur de risque environnemental associé à la MC et à la RPO, et le plus étudié. Le tabagisme actif augmenterait de deux fois le risque de développer une MC ainsi que sa sévérité, le risque de chirurgie, et la nécessité d'introduire un traitement par immunosuppresseur (3,9,62,89,90). D'un point de vue épidémiologique, un tabagisme actif est plus fréquemment associé aux formes touchant l'iléon (formes iléales pures et iléo-coliques) (91). Le tabac augmente également le risque de RPO de façon dose-dépendante (41,92). En plus de diminuer le taux de complications post-opératoires, le sevrage tabagique permet de diminuer significativement le taux de récurrence clinique et endoscopique

(93). Dans le cas précis de la RIC, le sevrage tabagique permet de diminuer par 4 le taux de récurrence chirurgicale et constitue même un facteur protecteur de la RPO (83,94). Plusieurs hypothèses physiologiques ont été avancées afin d'expliquer cet effet néfaste du tabac (effet de la nicotine, modification de l'influence endothéliale sous l'influence du stress oxydatif, altération du mucus intestinal, altération du système immunitaire et de la perméabilité intestinale, aggravation de la dysbiose) mais aucune n'a été formellement retenue (3,62,90,95–97). Sur le plan immunitaire, il induit la production de *Tumor necrosis factor α* (TNF  $\alpha$ ) et de ses récepteurs, de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8), et une diminution de la production de cytokines anti-inflammatoires telles que de l'IL-10 (98).

Dans les pays développés, l'utilisation d'antibiotiques dans l'enfance a été montrée comme significativement associée au déclenchement de la MC, et ceci de manière dose-dépendante (99). Par ailleurs, ce risque est d'autant plus augmenté que l'administration d'antibiotiques est réalisée de manière précoce (durant la première année de vie) (100). Aucun lien n'a cependant été mis en évidence entre antibiothérapie et augmentation du risque de RPO.

D'autres facteurs de risques environnementaux ont été suspectés dans l'initiation de la MC, avec un faible niveau de preuve (consommation réduite en fibres et augmentée en saccharose, traitements hormonaux et notamment contraceptifs oraux, consommation de vitamines et nutriments, AINS, mode de vie, ...) (9,62).

### c. Altération de la barrière intestinale muqueuse

L'épithélium intestinal est organisé en une couche unicellulaire, et forme, en association avec la couche de mucus le surplombant, la barrière intestinale (101). L'épithélium comprend différents types cellulaires : cellules épithéliales intestinales ou CEI, cellules de l'immunité,



cellules caliciformes et cellules de Paneth (101). La barrière intestinale a pour fonctions d'absorber l'eau, les nutriments et les électrolytes tout en empêchant la pénétration de pathogènes dans l'organisme. De plus, elle est l'objet d'une fine régulation afin de permettre une tolérance immunitaire face aux composants alimentaires et microbiens de la lumière intestinale avec lesquels elle est en contact permanent (Figure 2).

Le mucus est une sécrétion aqueuse et viscoélastique composée de lipides, de carbohydrates, d'eau et de protéines et en particulier de mucines. La mucine majoritaire est MUC2, produite par les cellules caliciformes. Chez les patients atteints de MC, l'inflammation intestinale entraîne une diminution du nombre de cellules caliciformes et donc une diminution de la production de mucines. Cette altération quantitative et fonctionnelle de la couche de mucus augmente la mise en contact des bactéries avec l'épithélium intestinal et joue un rôle clé dans le déclenchement de l'inflammation (102). MUC2 joue un rôle prépondérant dans la capacité protectrice de la couche de mucus. En effet, des modèles murins déficients en MUC2 développent des colites spontanées avec également une augmentation des cancers colorectaux induits par l'inflammation (103). Chez les patients atteints de MC, on observe également une diminution de MUC3, MUC4, MUC5B et MUC7 (104). Inversement, la protéine MUC1, faiblement exprimée par les CEI intestinales en situation physiologique, est hyperexprimée sous une forme hypo-glycosylée en cas de transformation maligne ou d'inflammation intestinale, et en l'occurrence au cours des MICI (105). Cette forme modifiée aggraverait l'inflammation intestinale en entraînant une réaction d'auto-immunité (106). L'hyperexpression de MUC1 sous sa forme normo- ou hypo-glycosylée a également été très significativement liée à la survenue RPO dans une étude récente de 2021 (105).

Conjointement à l'altération du mucus, les patients atteints de MC présentent également une augmentation de la perméabilité intestinale. Celle-ci peut être la conséquence de

polymorphismes génétiques, de l'inflammation induite par la rupture de la barrière muqueuse ou encore de la liaison des bactéries aux CEI (107,108). Elle se traduit par une modification de l'expression des protéines de jonction inter-cellulaires. La muqueuse épithéliale des patients avec une MC active présente une diminution ainsi qu'une redistribution des protéines de jonction serrées (claudine 5 et 8) et une augmentation des claudines 2, formant des pores entre les cellules (109). Cette augmentation de la perméabilité accroît la translocation bactérienne et entraîne une inflammation locale et systémique. Après pénétration, les bactéries peuvent également persister au sein des ganglions lymphatiques mésentériques, processus possiblement impliqué dans la physiopathologie de la RPO (cf Paragraphe 3. e. v.) (110). Au niveau de la barrière intestinale la présence d'un défaut en autophagie pourrait aussi faciliter la pénétration et la persistance des bactéries invasives (111).

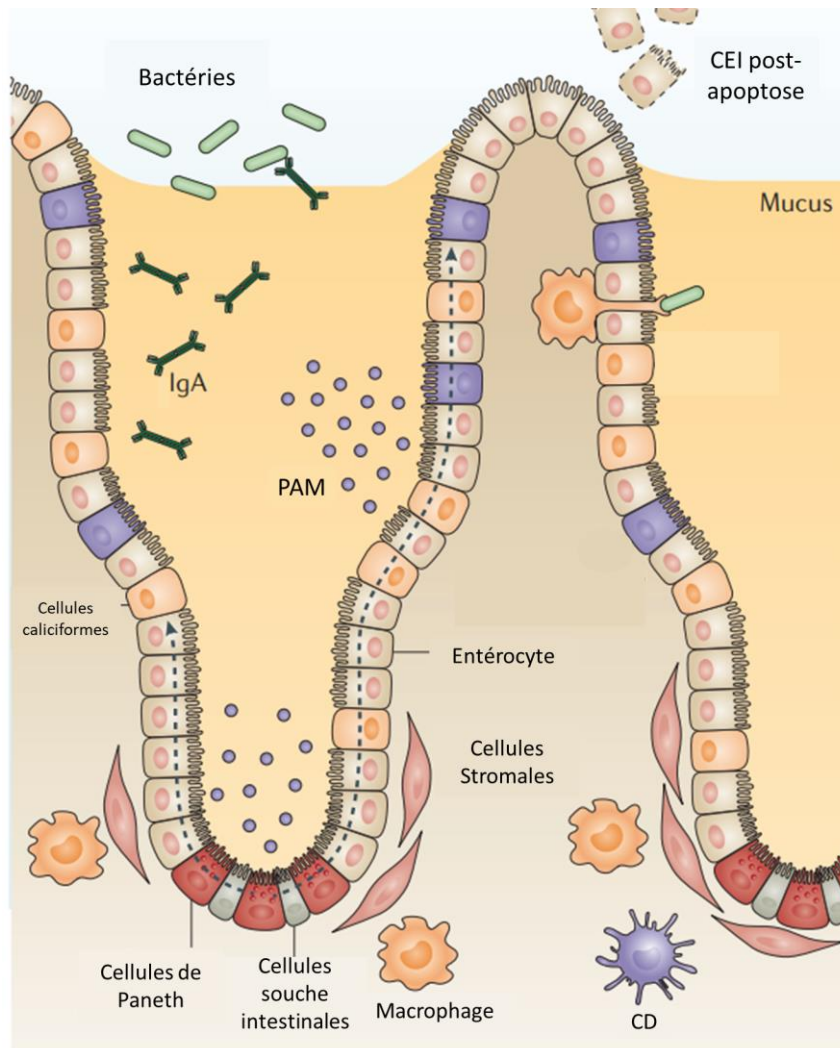


Figure 2 : La barrière physique et biochimique intestinale en situation physiologique

Source : Peterson et Artis, Nature Reviews Immunology (2014) (101)

Au fond des cryptes se trouvent les cellules souches intestinales (épithéliales, stromales et hématopoïétiques) assurant le renouvellement continu des cellules de la barrière intestinale. Les cellules de Paneth sont les seules cellules de l'épithélium à demeurer au fond des cryptes. Elles assurent la production de différents agents anti-microbiens (défensines, lysozymes...). Les cellules de Paneth contribuent également à la sécrétion de mucines, composantes majoritaires de la couche de mucus, conjointement avec les cellules caliciformes. La sécrétion d'immunoglobulines (IgG) et notamment d'IgG A par les plasmocytes de la lamina propria, transportées dans la lumière par les CEI, vient contribuer à la fonction antibactérienne de la barrière intestinale. Au sein des follicules lymphoïdes et des plaques de Peyer (non représentées sur la Figure) les *Microfold cells* vont capter puis transporter en trans-épithélial les bactéries et les antigènes bactériens pour les présenter aux cellules dendritiques. Les macrophages phagocytent les pathogènes pénétrant la barrière intestinale pour ensuite migrer dans les formations lymphoïdes et activer l'immunité adaptative. Abréviations : CD : cellule dendritique, PAM : protéine antimicrobienne.

#### d. Dérégulation de la réponse immunitaire

Le rôle du système immunitaire est d'assurer la défense de notre organisme. Il le protège notamment de l'invasion de pathogènes. Le système immunitaire inné est aspécifique. Il représente la première ligne de défense de l'organisme et apporte une réponse immédiate à l'agression. Il aide également à initier la réponse immunitaire adaptative. Le système immunitaire adaptatif est composé de lymphocytes T et B dont l'activation permet de produire des cytokines et des anticorps. Contrairement à l'innée, la réponse immunitaire adaptative est spécifique et va permettre une immunité au long cours grâce à sa capacité de mémoire immunitaire. En situation physiologique, de nombreuses cellules immunitaires sont naturellement présentes dans l'épithélium et la lamina propria. La barrière intestinale est régulée par des mécanismes immunitaires de tolérance vis-à-vis de la flore intestinale commensale, de ses produits de dégradation et de ses toxines mais également vis-à-vis des antigènes alimentaires.

Les mécanismes d'hyperactivation immunitaire dans la physiopathologie de la MC sont complexes et impliquent de nombreuses voies de l'immunité innée et adaptative. Le déclenchement de cette réponse immunitaire inadaptée pourrait provenir de l'altération de la barrière intestinale permettant la pénétration de pathogènes, et/ou d'une prédisposition génétique. Elle entraîne une infiltration massive et chronique de l'épithélium par les cellules de l'immunité, qui, en association avec la réponse cytokinique de l'inflammation chronique, sera responsable des lésions muqueuses progressivement transmuraux (58,85).

### i. Dérégulation de l'immunité innée

La désorganisation de l'épithélium ainsi que certaines prédispositions génétiques (ATG16L1, NOD 2, IRGM, cf Paragraphe 3. a.) entraînent un déficit en fonction et en survie des cellules de l'immunité innée intestinales : cellules de Paneth, CEI, neutrophiles, cellules dendritiques, monocytes/macrophages et les ILCs (*Innate lymphoid cells*) (9,101,112).

Les cellules de Paneth, présentes exclusivement au fond des cryptes de l'épithélium intestinal, sont des CEI spécialisées dans l'immunité. Elles sont caractérisées par un réticulum endoplasmique de grande taille permettant une production enzymatique importante qui contribue aux défenses antibactériennes de la barrière intestinale. Au cours de la MC, on observe une altération du pool des cellules de Paneth, entraînant un déficit de production en lysozymes et défensines  $\alpha$ , ainsi qu'une diminution de la production de MUC2 (113,114) (Figure 2). Les cellules de Paneth sont également capables de stimuler directement l'inflammation intestinale en situation pathologique en sécrétant de l'IL-17 sous l'influence du TNF  $\alpha$  (107).

La pénétration des bactéries au sein du tissu épithélial et sous épithélial va entraîner leur phagocytose par les CPA : cellules dendritiques, macrophages et neutrophiles. Avant la rencontre avec un pathogène, les cellules dendritiques naïves résident dans la lamina propria au sein des plaques de Peyer et dans les ganglions lymphatiques isolés. Leur maturation survient après la phagocytose d'un pathogène ou de l'un de ses dérivés, entraînant leur migration dans les ganglions lymphatiques mésentériques ou elles rencontrent les LT naïfs (115). La reconnaissance du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) des cellules dendritiques matures par le récepteur des LT, et l'interaction des molécules de co-stimulation à la surface des LT avec leur ligands (CD80, CD86 et CD40), vont permettre leur activation (116–118). Les cellules dendritiques des ganglions lymphatiques des patients atteints d'une

MC sont également capables d'induire une différenciation de ces LT activés selon la voie Th1, et dans une moindre mesure, Th17 (118). Les macrophages sont des cellules myéloïdes dérivant des monocytes sanguins et résidant dans les tissus. Ils jouent un rôle crucial dans la réponse immunitaire innée et ils constituent le sous-groupe leucocytaire le plus abondant au sein de la muqueuse intestinale (119). Au cours de la réponse immunitaire de la MC, on observe un afflux des monocytes sanguins au sein de la muqueuse intestinale où ils vont se différencier en macrophages inflammatoires. En réponse à l'infection bactérienne, ces derniers vont sécréter de l'IL-12 et de l'IL-23, permettant l'activation de la voie Th1, de la voie Th17 et la stimulation des cellules NK (*Natural Killer*) (9). Par ailleurs, la stimulation du *Toll Like receptor 4* (TLR4) à la surface des macrophages par des composants pathogènes, tels le liposaccharide (LPS) bactérien, active la voie intracellulaire NF- $\kappa$ B induisant la synthèse de nombreuses protéines pro-inflammatoires qui participent à la différenciation et la survie des LT (notamment Th17) (120). Les macrophages sont également capables de sécréter directement du TNF  $\alpha$ , en particulier sous l'influence de bactéries intra-cellulaires telles les *Escherichia coli* (*E. coli*) adhérents et invasifs ou AIEC (101,107,119) (Figure 3). D'autre part, la sécrétion d'IL-6 et de GM-CSF par les monocytes et les macrophages entraîne un recrutement de neutrophiles au sein de la barrière intestinale (9). En situation physiologique, les neutrophiles jouent un rôle primordial dans l'immunité en participant à la phagocytose des pathogènes, et notamment des bactéries. Ils sont recrutés au sein de la muqueuse intestinale à l'occasion d'une brèche au sein de cette dernière, ou en contexte d'inflammation. La production d'IL-17 par les LTh17 (voir Paragraphe 3. d. ii.) a notamment la capacité de stimuler l'activité des neutrophiles (121). Leur capacité de digestion, et parfois leur apoptose, entraîne la libération de nombreux facteurs pro-inflammatoires qui sont capables d'entraîner des lésions parfois aussi sévères que la lésion initiale tissulaire (121). De plus, leur accumulation

au sein de l'épithélium compromet la fonction de la barrière intestinale, aggravant encore l'inflammation locale (9).

Les ILCs constituent un des liens entre immunité innée et adaptative. Elles ont un rôle important dans le contrôle de l'homéostasie intestinale, de l'inflammation locale, et dans la réponse précoce aux infections. Elles sont classées en 3 groupes, ILC1s, ILC2s et ILC3s, qui partagent des fonctions similaires avec respectivement les cellules CD4<sup>+</sup> Th1, Th2, et Th17 de l'immunité adaptative (78). Le groupe 1 est composé des ILC1s et des cellules NK (101). Si les cellules NK sont capables d'une cytotoxicité directe, les autres ILC1s ont une fonction limitée à la production de cytokines de type Th1 (interféron  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) et TNF  $\alpha$ ) sous l'influence de l'IL-12 (122). Les cellules du groupe 2 ILC2s produisent des cytokines associées à la voie Th2 (IL-5 et IL-13). Les ILCs du groupe 3 produisent des cytokines du profil Th17 (IL-17A et IL-22) sous la stimulation de l'IL-23 et sont impliquées dans la réponse inflammatoire de la MC (122,123). Buonocore et al. ont montré, *in vitro*, sur des ILC3s coliques isolées de la lamina propria d'un modèle murin de colite induite, que ces cellules étaient capables de produire des cytokines de type Th17 sous l'influence de l'IL-23 (123). Ces résultats ont été confirmés chez l'homme en 2011 avec les travaux de Geremia et al. sur des biopsies de la muqueuse colique de patients atteints de MC, de RCH, et chez des contrôles. Les auteurs ont conclu que les muqueuses intestinales des patients atteints de MC comportaient un taux augmenté d'ILCs, et que ces cellules étaient capables de produire des cytokines de type Th17, contrairement aux ILCs de patients RCH et contrôles (124). Par ailleurs, les patients atteints de MC présentent un taux augmenté d'ILC1s et ILC3s au niveau de leur muqueuse iléale (125).

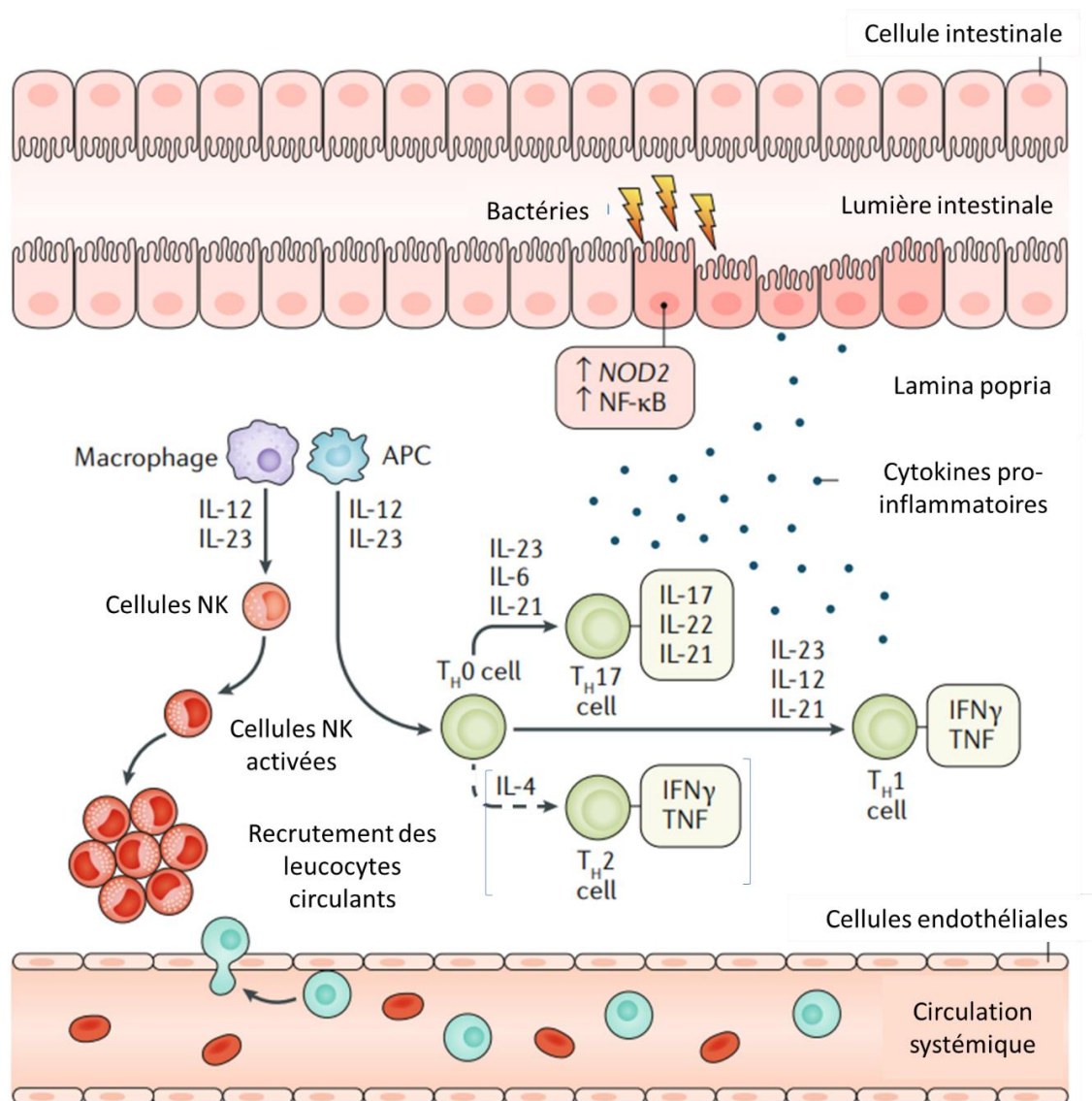


Figure 3 : Réaction immunitaire impliquée dans le déclenchement et le maintien de la MC.

Source : Roda et al., Nature disease review primer (2020) (9)

Au cours de la MC, la dysfonction de la couche de mucus facilite la mise en contact des bactéries pathogènes avec l'épithélium intestinal. À ce niveau, l'altération de la barrière intestinale et le déficit en autophagie (mutations des gènes NOD 2, ATG16L1, IRGM...) constituent des facteurs prédisposant à l'invasion des bactéries. Après pénétration bactérienne au sein de l'épithélium, les CPA (comme les cellules dendritiques) de la lamina propria, vont reconnaître les antigènes bactériens, phagocyter les pathogènes, puis les présenter aux LT naïfs (Th0). La réaction inflammatoire primaire de la MC est essentiellement de type Th1 et Th17. Ces deux voies sont stimulées d'une part par les LTh0, qui peuvent également se différencier, et, d'autre part, par les macrophages qui, en réponse au contenu luminal, produisent de l'IL-12 et de l'IL-23. Les LTh1 et LTh17 vont à leur tour sécréter de nombreuses cytokines pro-inflammatoires : IFN  $\gamma$  et TNF  $\alpha$  pour la voie Th1 ; IL-17, IL-21 et IL-22 pour la voie Th17. La production d'IL-12 et d'IL-23 par les macrophages va également stimuler les cellules NK (NK cells) de l'immunité innée, perpétuant ainsi l'inflammation intestinale. La voie Th2 peut également jouer un rôle dans la réaction inflammatoire de la MC avec une prédominance dans les lésions précoces. Abréviations : APC : cellules présentatrices d'antigènes.



Parmi le panel cytokinique produit par les cellules de l'immunité en situation inflammatoire, l'IL-10 est une cytokine clé dans la régulation de l'homéostasie et de la tolérance. Elle peut provenir des macrophages après phagocytose par ces derniers d'antigènes bactériens, ou après stimulation du TLR4 à leur surface (126), mais également de nombreux autres types de cellules immunitaires telles que les cellules dendritiques après stimulation par le TGF  $\beta$  produit par les CEI (127). Son récepteur membranaire, l'IL-10R est présent sur l'ensemble des leucocytes et la liaison IL-10/IL-10R permet l'activation du facteur STAT3 par la voie des JAK kinases (JAK 1) et des tyrosines kinases (TYK 2). La fonction primaire de l'IL-10 est la régulation de la réponse inflammatoire des macrophages et des cellules dendritiques, chez lesquels son récepteur est retrouvé en taux particulièrement augmenté. Au sein de ces groupes cellulaires, spécifiquement, l'activation de la voie de signalisation STAT3 (*Signal Transducers and Activators of Transcription*) par l'IL-10 est impliquée dans la diminution de la sensibilité du récepteur TLR4 au LPS bactérien. On estime qu'environ 20% de la transcription des gènes pro-inflammatoires induite par le LPS bactérien est inhibée par l'IL-10, et cet effet anti-inflammatoire ne peut être remplacé par aucune autre cytokine (126,128) (Figure 4). Au niveau d'autres types cellulaires, la voie STAT3 induite par l'IL-10 est également impliquée dans les mécanismes de récupération de la fonction de barrière épithéliale, dans la production de mucus, ainsi que dans l'inhibition de la production du TNF  $\alpha$  (129). Des modèles murins déficients en l'IL-10, ou en son récepteur, développent des inflammations intestinales spontanées et sévères impliquant les voies Th1 et Th17 (130,131).

Au cours de la MC, un déficit en IL-10 est observé et peut provenir d'une mutation génétique ou d'un défaut de production (par exemple par les LT reg, cf Paragraphe 3. d. ii.). Le déficit en IL-10 est particulièrement associé aux formes juvéniles de la MC (9,82). Par ailleurs, chez l'homme, une étude clinique a constaté que les patients présentant des taux

faibles d'IL-10 au niveau de leur muqueuse iléale avaient significativement deux fois plus de risque de développer une RPO (132).

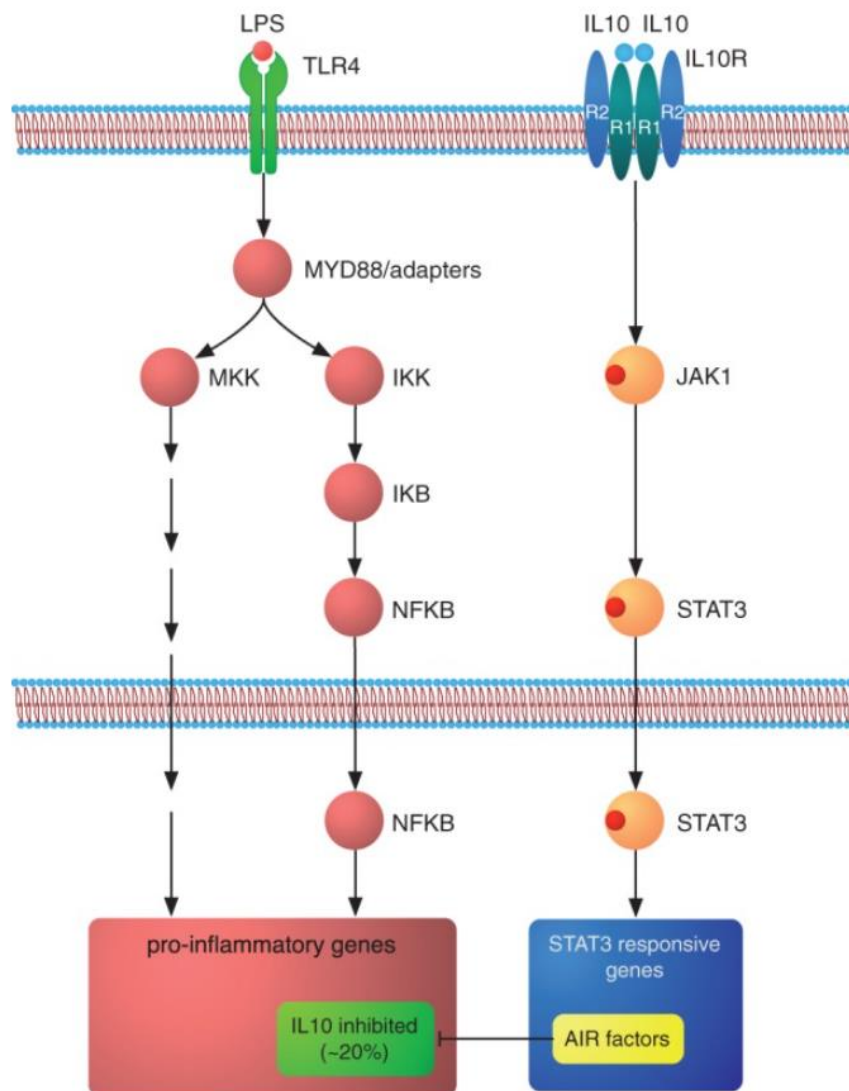


Figure 4 : Voie de signalisation STAT 3 induite par l'IL10 chez les macrophages

Source : Hutchins et al., Brief Funct Genomics (2013) (126)

La liaison de l'IL-10 à son récepteur membranaire tétramérique formé de deux chaînes (R1 et R2) entraîne une cascade de phosphorylation par le biais de tyrosines kinases permettant l'activation du facteur de transcription STAT3. Celui-ci induit la transcription de gènes antibactériens et va ainsi entraîner une réaction anti-inflammatoire de manière indirecte. La production de ces facteurs antibactériens va entraîner l'inhibition d'environ 20% de la transcription des gènes pro-inflammatoires induits par la liaison du LPS bactérien au TLR4 des macrophages. Certains des facteurs anti-inflammatoires vont avoir une action directe sur les macrophages en supprimant leur production de TNF  $\alpha$ .

L'IL-12 et l'IL-23 sont des cytokines hétérodimériques partageant la même sous-unité p40, associée respectivement à la sous unité p35 pour l'IL-12 et p19 pour l'IL-23. Elles sont notamment produites par les macrophages et les cellules dendritiques en situation inflammatoire. Ces cytokines vont jouer un rôle primordial dans la différenciation des LT de l'immunité adaptative Th17 et Th1, impliqués dans la réaction immunitaire de la MC. La voie de l'IL-23 est d'ailleurs ciblée par un des traitements de la MC, l'ustekinumab, un anticorps monoclonal se liant avec la sous-unité p40 de l'IL-23 (commune à l'IL-12) et empêchant la liaison à l'IL-23R (133).

## ii. Dérégulation de l'immunité adaptative

Au cours de la MC, on observe une hyperactivation persistante des LT. La plupart de ces lymphocytes sont activés dans le GALT (tissu lymphoïde associé aux muqueuses ou *gut-associated lymphoid tissue*), correspondant aux plaques de Peyer au niveau iléal, et sont recrutés sur le site de l'inflammation grâce à la liaison de leurs intégrines aux cellules endothéliales des vaisseaux. Ces intégrines sont formées de deux sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$ , telles les intégrines  $\alpha 4\beta 1$ ,  $\alpha 4\beta 7$  ou encore  $\alpha E\beta 7$ . Des anticorps ciblant la sous-unité  $\alpha$  ou l'intégralité de ces intégrines font partie des thérapeutiques efficaces et utilisées dans la MC. Différentes voies de l'immunité adaptative vont participer à la réaction inflammatoire de la MC.

Après contact avec le CMH des cellules présentatrices d'antigènes activées et sous l'influence de cytokines pro-inflammatoires issues de la réponse de l'immunité innée, les LT naïfs ou (Th0) vont se différencier selon les voies Th1 et Th17 (9). La voie Th1 est particulièrement équipée pour lutter contre les bactéries intracellulaires. Les LTh17 présentent, entre autres, les capacités de stimuler la réponse des leucocytes neutrophiles et

de reconnaître les cellules apoptotiques infectées (121). Ces LTh différenciés vont, à leur tour, produire d'une part de l'IFN  $\gamma$  et du TNF  $\alpha$  (voie Th1), et d'autre part de l'IL-17, de l'IL-21 et de l'IL-22 (voie Th17) (Figure 3). Certaines de ces cytokines, en particulier l'IL-17, l'IFN  $\gamma$  et le TNF  $\alpha$  vont perpétuer le processus en entraînant une cascade inflammatoire avec une production d'IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 de TNF  $\alpha$ , ou encore de l'IL-18 par les macrophages/monocytes et les cellules endothéliales (9).

Les LT régulateurs (LT reg) sont capables en situation physiologique de supprimer l'activation des LT grâce à la sécrétion d'IL-10 et du TGF  $\beta$  (134). Lors des périodes d'activité de la MC, on observe une diminution du taux de LT reg circulants ainsi qu'un échappement des LT au rétrocontrôle négatif des LT reg (135). Le déficit en LT reg serait responsable des formes juvéniles, en particulier en raison de l'impact sur la production d'IL-10 (82).

La réponse adaptative de type B est impliquée dans la réponse immunitaire de la MC mais son rôle exact n'est pas aussi bien caractérisé que celui des LT, et elle n'est actuellement la cible d'aucun traitement (121).

Si la voie Th1 est classiquement associée à la MC, plusieurs travaux soutiennent l'hypothèse d'une évolution au cours du temps du profil cytokinique, de Th2 vers Th1. Kugathasan et al. ont suggéré que le profil immunitaire de la MC était de type Th1 lors de son déclenchement (chez des enfants), mais que les LT perdaient progressivement leur capacité à produire de l'IFN  $\gamma$  lors d'une stimulation par l'IL-12 en comparaison avec des patients à 5 ans ou plus d'évolution de la maladie (136). Ce phénomène pourrait également être impliqué dans le développement des nouvelles lésions muqueuses de RPO après RIC. Desreumaux et al. ont montré que les lésions à trois mois d'une RIC présentaient un profil Th2, avec une augmentation significative de l'IL-4 et une diminution de l'IFN  $\gamma$ , en comparaison avec la muqueuse normale, et avec le profil Th1 des lésions chroniques (137). Par ailleurs, le profil

cytokinique pourrait également varier en fonction de la durée d'évolution des lésions. Dans une étude de 2000, Brandt et al. ont montré que l'IL-8 était retrouvé en taux significativement inférieur dans les lésions précoces en comparaison avec les lésions chroniques. La provenance de la cytokine différait également, avec une production majoritaire par les neutrophiles et les LT pour les lésions précoces, et une provenance macrophagique pour les lésions chroniques (138).

#### e. Rôle de la flore intestinale dans la MC et sa récurrence

##### i. Le microbiote intestinal humain

Le microbiote intestinal (ou flore intestinale) est formé de l'ensemble des microorganismes (bactéries, virus, champignons, parasites) hébergés par le système digestif. Sa composition est très majoritairement dominée par les espèces bactériennes (population colique bactérienne estimée à  $10^{14}$ ), et elle présente une très grande variabilité inter-individuelle. Le profil du microbiote de chaque individu, acquis dans l'enfance, reste relativement stable au cours du temps. Les phylas bactériens majoritaires de la flore intestinale sont représentés par les Bacteroidetes (15-50%), les Firmicutes (20-50%), les Protéobactéries (10-20%) et les Actinobactéries (<5%) (110).

Le microbiote est essentiel à la fonction intestinale grâce au maintien de son homéostasie (production de métabolites à partir d'éléments non digérables), à l'apport de nutriments essentiels, à sa participation au métabolisme digestif, et à l'inhibition du développement de bactéries pathogènes grâce à un mécanisme compétitif. En effet, en situation physiologique, il existe un équilibre entre les espèces bactériennes, empêchant le développement d'une espèce pathogène et permettant une tolérance immunitaire de l'hôte envers les bactéries de

la flore intestinale commensale. Un déséquilibre de la flore intestinale est appelé dysbiose et peut entraîner la prédominance d'une bactérie pathogène, ou le passage d'une bactérie d'un état commensal à pathogène (107).

## ii. La dysbiose de la MC

Chez le patient atteint de MC, il existe une perturbation de la composition de la flore intestinale. La physiopathologie exacte de cette dysbiose reste incomplètement élucidée et pourrait être multifactorielle, impliquant le système immunitaire, le tabac et la prise d'antibiotiques (91).

Sur le plan de la dysbiose bactérienne, on constate une réduction de la diversité de la flore intestinale et de ses métabolites, ainsi qu'un déséquilibre de la répartition des phylums majoritaires (139). D'une part, il a été constaté une augmentation de la proportion des bactéries appartenant au phylum des Protéobactéries, et en particulier des espèces anaérobies facultatives (10-20% chez les patients atteints de MC vs < 2% chez les contrôles) (140). Les espèces concernées comprennent notamment *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* (141,142) ou encore *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) (143). Cette augmentation pourrait s'expliquer par leur caractère anaérobie facultatif permettant une tolérance au stress oxydatif qui accompagne classiquement la réaction inflammatoire de la MC (144). D'autre part, il est observé une diminution du taux des bactéries appartenant au phylum des Firmicutes, et notamment celles aux propriétés anti-inflammatoires. Une étude récente utilisant des techniques de métagénomique a d'ailleurs constaté que la diminution des bactéries « bénéfiques » ou anti-inflammatoires était plus fortement associée à la MC que l'augmentation des bactéries pathogènes (91). *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*), en

particulier, semble jouer un rôle prépondérant. Il s'agit d'une bactérie aérobie stricte de la famille des *Ruminococcaceae*, et également d'une des bactéries les plus représentées du microbiote intestinal colique (5% de la population bactérienne intestinale totale chez les sujets sains) (145,146). Au cours de la MC, son taux est particulièrement diminué durant les périodes de poussées, et négativement corrélé à l'activité de la maladie (147,148). Elle a été associée à une augmentation de la récurrence endoscopique à 6 mois (149). Elle présente également une forte activité métabolique et est notamment la principale source de butyrate colique. Le butyrate joue un rôle clé dans l'homéostasie intestinale et est impliqué dans la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10, dans l'inhibition de la voie Th17 et NF- $\kappa$ B, ainsi que dans la régulation de l'activation des LT reg (150–152). *F. prausnitzii* module également l'inflammation colique en diminuant la production d'IL-6, d'IL-12 et de TNF  $\alpha$  (139,150,153). Son effet bénéfique sur l'amélioration des lésions macroscopiques intestinales a été montré dans de nombreux modèles murins de colite induite (154). D'autres espèces appartenant au phylum des Firmicutes et productrices de butyrate sont également retrouvées en proportions diminuées chez les patients atteints de MC (91). La diminution de butyrate en elle-même a d'ailleurs été corrélée à la MC (155).

Faisant exception, la bactérie *Ruminococcus gnavus* (*R. gnavus*) est retrouvée en proportion fortement augmentée chez les patients atteints de MC malgré son type énergétique aérobie stricte et son appartenance au phylum des Firmicutes. En effet, si sa proportion n'est estimée qu'à 0,1% chez les individus sains, elle peut être augmentée jusqu'à 69% lors des poussées, avant de retrouver un taux quasiment normal lors des périodes de rémission (141,156). Sa capacité à résister au stress oxydatif, contrairement aux autres bactéries anaérobies strictes, serait due à ses capacités spécifiques d'adaptation génétiquement déterminées (141). Son effet inflammatoire serait lié à la liaison d'un de ses

métabolites au TLR4 des cellules présentatrices d'antigènes, entraînant la production d'IL-4 et de TNF  $\alpha$  (156,157). *R. gnavus* a également été impliquée dans d'autres pathologies auto-immunes telles que le lupus, ou encore la SpA.

D'autres espèces bactériennes n'appartenant pas au phylum des Protéobactéries ont également été liées à la dysbiose de la MC comme *Mycobacterium avium paratuberculosis* ou encore *Clostridium difficile* (158,159).

Par ailleurs, au cours de la MC de localisation iléale, on constate également une dysbiose fongique se caractérisant par une diminution de la diversité des espèces et de la proportion de certaines souches aux propriétés anti-inflammatoires (160). Inversement, une augmentation de *Candida albicans* a également été reliée à la MC (161). Sokol et al. ont mis en évidence en 2017 que les patients en poussée de MC présentaient une diminution des champignons du sous ensemble des Ascomycota associé à une diminution en nombre, et en proportions, de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) (160).

### iii. Implication de la dysbiose dans la RPO

Plusieurs arguments sont en faveur d'une forte implication de la flore intestinale et du flux fécal dans la survenue de la RPO. La dérivation du flux fécal par une stomie en amont du segment intestinal atteint améliore rapidement les lésions muqueuses macroscopiques et les signes cliniques (35). De manière similaire, l'absence de rétablissement de la continuité digestive après résection intestinale prévient fortement la récurrence (162). Lors du rétablissement de la continuité digestive, on constate une récurrence endoscopique avec l'apparition de lésions histologiques dès le 8<sup>ème</sup> jour de la remise en contact des selles avec la muqueuse (36). Le reflux de la flore intestinale colique vers l'intestin grêle d'amont après



RIC, lié notamment à la perte de la valvule de Bauhin, est suspecté de participer à la récurrence pré-anastomotique (163). Par ailleurs, un traitement antibiotique au long cours prévient la récurrence qui survient alors à l'arrêt de l'antibiothérapie (164,165).

Des analyses en séquençage ont montré que les patients atteints d'une MC entérale ou iléo-colique avaient un profil de flore intestinale après chirurgie différent de celui des patients non opérés (140). La chirurgie semble donc modifier la flore intestinale en réduisant encore sa diversité, même lorsque la maladie est inactive. Par ailleurs, des études récentes ont suggéré que ces modifications de la flore intestinale étaient impliquées dans la RPO et pouvaient également la prédire. Sokol et al. ont montré que la chirurgie entraînait une réduction drastique de la diversité de la flore intestinale. L'analyse de la flore intestinale des patients ayant récidivé à 6 mois de la chirurgie montrait une réduction marquée de la diversité  $\alpha$  et  $\beta$ , une augmentation des Protéobactéries et notamment des *Enterococcus* et une diminution des espèces *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Butyricoccus*, *Dorea*, et *Blautia* du phylum des Firmicutes (166). Les auteurs ont également pu mettre en évidence des modifications de la flore prédictives d'une RPO au moment de la chirurgie (augmentation de *Corynebacterium* et diminution de *Ruminiclostridium*) (166). Machiels et al. ont mis en évidence des espèces bactériennes en proportions significativement augmentées chez les patients présentant une RPO en comparaison avec ceux restant en rémission, et ceci à différents temps du suivi. Au moment de la chirurgie, on retrouvait une augmentation du taux de *Cloacibacterium* chez les patients du groupe RPO. À 6 mois de la chirurgie, on observait dans le groupe RPO une augmentation du taux de *Fusobacterium* et de *Negativicutes*, ainsi qu'une diminution significative de *Bifidobacterium* en comparaison avec les patients restant en rémission (167). Les travaux de Hamilton et al. ont constaté une association entre la RPO endoscopique à 18 mois et une augmentation des Entérobactéries. La diminution des

bactéries productrices de butyrate de la famille des *Lachnospiraceae* était en revanche associée à une diminution de la RPO à 18 mois (168). Avant la chirurgie, la présence de streptocoques dans les selles était prédictif d'une RPO sévère (score de Rutgeerts > i3 ou i4) (91,169). Parmi les entérobactéries, les AIEC, groupe de souches virulentes de *E. coli*, ont également été reliés à la MC mais aussi au risque de RPO après RIC (170).

#### iv. Les *E. coli* adhérents et invasifs

##### Généralités

La majorité des études sur la dysbiose de la MC ont été réalisées sur des échantillons de fèces. Cependant, une distinction importante semble émerger entre la flore luminale et celle associée à la muqueuse, et ceci en terme de composition et de fonction métabolique (171). Chez les patients atteints d'une MC, on assiste, tout comme pour la flore luminale, à une réduction de la diversité de la flore adhérente (172). Au sein de cette flore bactérienne associée à la muqueuse, une population bactérienne a été tout particulièrement mise en cause dans la RPO : les AIEC.

Les AIEC sont des pathovars de *E. coli*, dont de nombreuses souches ont été identifiées. Il s'agit d'une espèce commensale (retrouvée jusqu'à 19% chez les contrôles), à laquelle la dysbiose de la MC, la présence de facteurs de virulence, ou une résistance aux antibiotiques confèreraient un caractère pathogène (173,174). Le taux d'AIEC chez les patients atteints de MC a été apprécié de manière variable dans la littérature (170,175,176). Une méta-analyse de 2021 sur 348 patients a conclu que les AIEC étaient présents chez 29% (IC 95% : [20-40%]) des patients atteints de MC contre 9% (IC 95% : [3-19%]) des contrôles (177). Leur prédominance au niveau iléal (21-62%) au cours de la MC en a fait un sujet de recherche important ces 20

dernières années. Les AIEC sont définis par des propriétés particulières les rendant capables d'adhérer aux CEI, puis de les envahir grâce au réseau intracellulaire d'actine et de microtubules, et enfin de survivre puis de se répliquer dans les macrophages, sans en induire l'apoptose (75).

La présence des AIEC au sein du tractus digestif a été significativement reliée à la MC (OR : 3,07, IC 95% [1,99-4,74],  $p > 0,000,1$ ) dans une méta-analyse récente (177) et dans plusieurs études cliniques et pré-cliniques, ainsi qu'à la RPO (177–179). Très récemment, une étude de Buisson et al. a mis en évidence qu'après RIC pour MC, la prévalence des AIEC étudiée par analyse en séquençage était deux fois plus importante dans le néo-iléon terminal que dans l'iléon réséqué (30,3 vs 14,9%,  $p < 0,001$ ). Leur présence était non seulement significativement associée à la récurrence endoscopique (Rutgeerts  $> i2b$ , OR : 2,54 (IC 95% [1,01-6,44]),  $p = 0,049$ ) mais également à sa sévérité (OR : 3,36 (IC 95% [1,25-9,06]),  $p = 0,017$ ) (180). Par ailleurs, la colonisation de la muqueuse iléale par les AIEC était associée à un profil particulier de la flore intestinale, incluant une augmentation du taux de la bactérie *R. gnavus*, également impliquée dans les épisodes de poussées de MC (cf Paragraphe 3. e. ii.) (180).

Il existe de nombreux sous-types d'AIEC, appartenant à différents phylogroupes (A, B1, B2 et D) dont certains sont caractérisés par le portage de facteurs de virulence (181). Des criblages génétiques ont identifié les AIEC virulents comme proches des autres formes pathogènes d'*E. coli*, notamment celles associées aux infections urinaires ou aux méningites infantiles (75). Le génome de ces formes pathogènes est enrichi en gènes encodant des protéines de transfert, de survie intracellulaire, ou de cytotoxicité envers les bactéries adjacentes (75).

La première souche d'AIEC isolée à partir d'iléons de patients atteints de MC a été nommée LF82 (pour Lille-France) et reste à ce jour la souche de référence utilisée dans la majorité des

études (175,182). La souche LF82 appartient au phylogroupe B2, le plus virulent, et le plus représenté dans la MC (177,183).

### Adhésion et invasion des CEI

L'accès des AIEC à la muqueuse est facilité par les altérations de structure au niveau des mucines du mucus intestinal chez les patients atteints de MC (184). Certaines souches appartenant au phylogroupe B2 sont également capables d'exprimer la protéase VAT-AIEC, qui facilite la dégradation du mucus intestinal et diminue sa viscosité (185). La régulation de l'expression des flagelles semble également être une capacité primordiale des souches virulentes. Au contact des sels biliaires, une augmentation de l'expression des flagelles a été observée, facilitant ainsi l'accès des AIEC à la muqueuse, et stabilisant leurs pili de type 1 impliqués dans l'adhésion (185). L'expression des flagelles par les AIEC a été corrélée, *in vivo*, à l'induction d'une inflammation intestinale chronique ainsi qu'à une diminution de la diversité bactérienne chez des souris élevées en conditions stériles (186).

Une fois en contact avec les cellules de l'épithélium, les AIEC sont capables d'adhérer et d'envahir les CEI grâce à plusieurs types d'interactions bactéries-cellules. La voie d'adhésion la mieux caractérisée chez l'homme implique le *carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6* ou CEACAM6 (6). Il s'agit d'un récepteur protéique hyperexprimé au sommet apical des CEI iléales des patients atteints de MC, et dont les résidus oligomannoses sont reconnus par l'adhésine FimH des pili de type 1 des AIEC (187,188) (Figures 5). L'infection des CEI par les AIEC, ainsi que leur stimulation par le TNF  $\alpha$  produit dans le contexte d'inflammation intestinale, a été associée à une augmentation de l'expression de CEACAM6 *in vitro* (189). Ce mécanisme pourrait expliquer, tout du moins en partie, l'hyperexpression du récepteur observée dans l'iléon des patients atteints de MC (188,189). Il a également été

suggéré que le point d'entrée privilégié des AIEC pourrait s'effectuer par liaison au CEACAM6 présent à la surface des vacuoles des CEI en apoptose (190). Low et al. ont montré dans un modèle murin de colite induite que la protéine chitinase 3-like-1 (CHI3L1) exprimée par les CEI en situation inflammatoire pouvait constituer une des voies d'adhésion des AIEC grâce à sa liaison avec le ChiA bactérien (191). Les AIEC sont également capables de se lier à la glycoprotéine Gp96, hyperexprimée par les CEI iléales, grâce à la protéine OmpA présente à la surface de leurs vésicules externes membranaires (*outer membrane vesicles* ou OMVs) (Figures 6 et 7) (192). La liaison des OMVs à la membrane des CEI permettrait leur fusion et la délivrance d'éléments bactériens qui faciliteraient l'invasion ultérieure des CEI par les AIEC (193) (Figure 7).

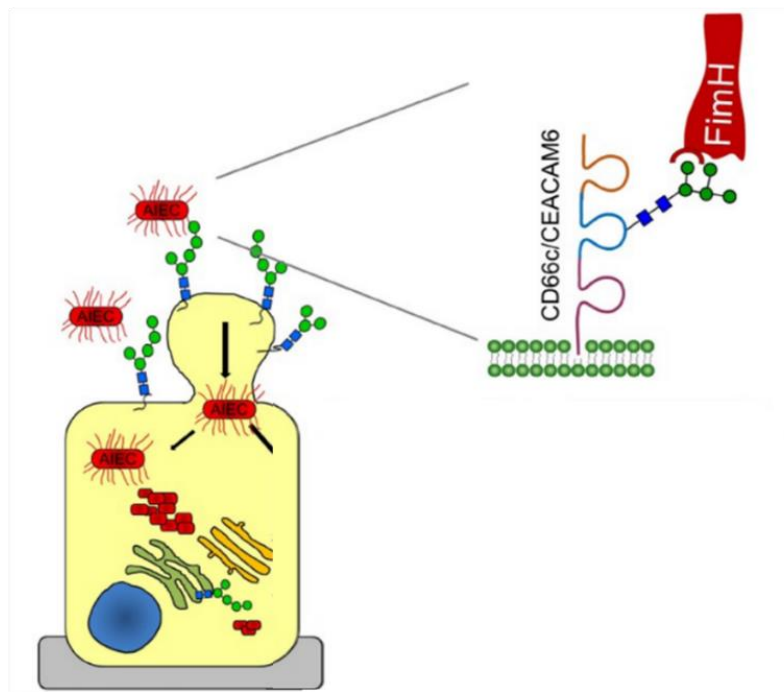


Figure 5 : Adhésion des AIEC aux CEI par la voie de CEACAM 6

Source : Dumych et al., Front Microbiol (2018) (190)

Les AIEC luminaux adhèrent aux CEI iléales grâce à la liaison de leur adhésine FimH des pili de type 1 bactériens aux résidus oligomannoses du CEACAM6 membranaire, présent à l'apex des CEI iléales.

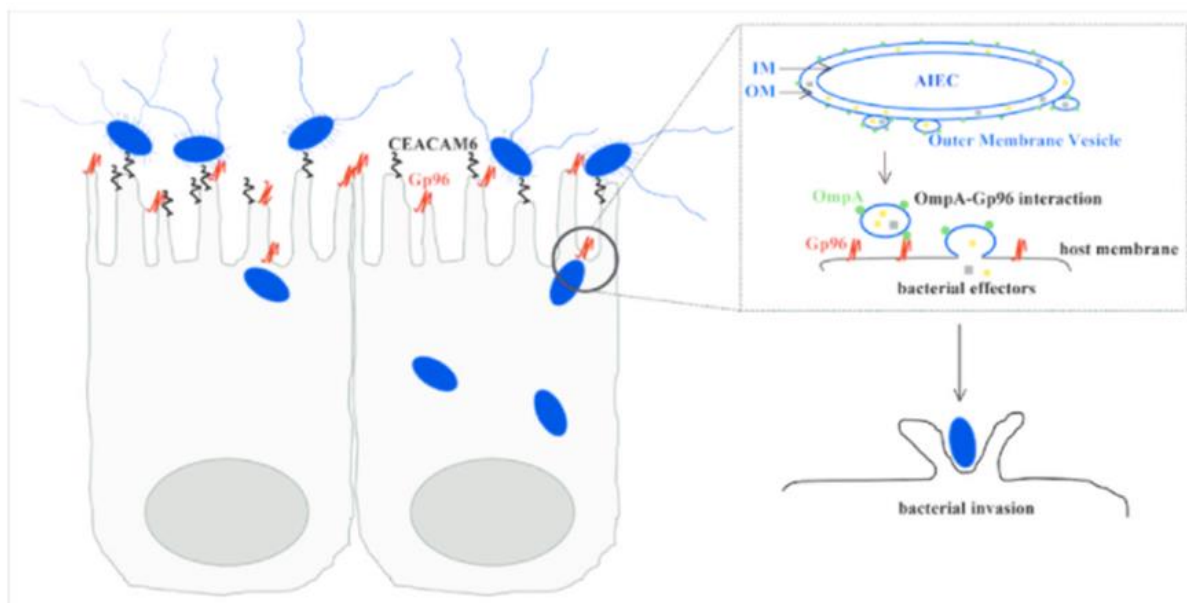


Figure 6 : Adhésion et invasion des AIEC par la voie Gp96/OmpA

Source : Rohlion et al, Gut Microbes (2011) (193)

La liaison de la protéine OmpA, présente à la surface des OMVs, au Gp86 membranaire des CEI permet l'adhésion bactérienne et la délivrance intra-cellulaire d'éléments de virulence facilitant l'invasion bactérienne ultérieure.

Les AIEC sont également capables d'envahir la muqueuse en utilisant le mécanisme de transcytose des *Microfold cells* (cellules à plis macroscopiques) ou M cells. Les M cells font partie des plaques de Peyer iléales appartenant au GALT. Ces cellules ont pour rôle la capture et le transport à travers la muqueuse (transcytose) des micro-organismes ou antigènes de la lumière intestinale, et participent ainsi à la surveillance immunitaire du tractus digestif. Après la transcytose, le matériel luminal est délivré aux différentes populations immunitaires intra-épithéliales des plaques de Peyer iléales : lymphocytes, cellules dendritiques et macrophages. En situation pathologiques, ces cellules sont utilisées par des espèces enteropathogènes invasives (*Shigella flexneri*, *Salmonella enterica* Typhimurium, *Yersinia spp...*), dont les AIEC, pour coloniser la muqueuse intestinale (194). Deux systèmes de liaison des AIEC à l'apex des M cells sont actuellement identifiés. Le premier implique la liaison de l'adhésine FimH des pili

de type 1 des AIEC à la glycosylphosphatidylinositol-anchored protéine 2 (GP2) des M cells permettant leur endocytose (195). Le second fait intervenir le *long polar fimbriae* bactérien (Lpf) présent chez une sous-population particulière des AIEC, génétiquement équipée pour envahir les plaques de Peyer iléales. Ces AIEC sont porteurs du facteur de virulence génétique GipA et sont retrouvés plus fréquemment chez les patients atteints de MC iléales que chez les témoins. Sous l'influence du milieu intestinal riche en sels biliaires, GipA est capable d'induire la production du Lpf (Figure 7 et 8 A) (194,196).

La pénétration des AIEC au sein de l'épithélium va entraîner une augmentation de la perméabilité intestinale, impliquée dans la récurrence de la MC (108,197–199) (Figure 7). On observe une augmentation des claudine 2, formant des pores entre les CEI, ainsi qu'une redistribution de la localisation des protéines de jonction E-cadhérines et zonula-occludens depuis la partie apicale vers la partie basale de l'épithélium. Cette augmentation de la perméabilité est à l'origine d'une augmentation du potentiel invasif des AIEC (173).

L'invasion des AIEC et leur persistance au sein de la muqueuse et de la lamina propria sont également facilités par le déficit en autophagie génétiquement induit (ATG16L1, NOD 2, IRGM) (173).

La pénétration des AIEC au sein de l'épithélium intestinal va permettre leur colonisation des cellules de l'immunité, puis une activation incontrôlée de l'inflammation.

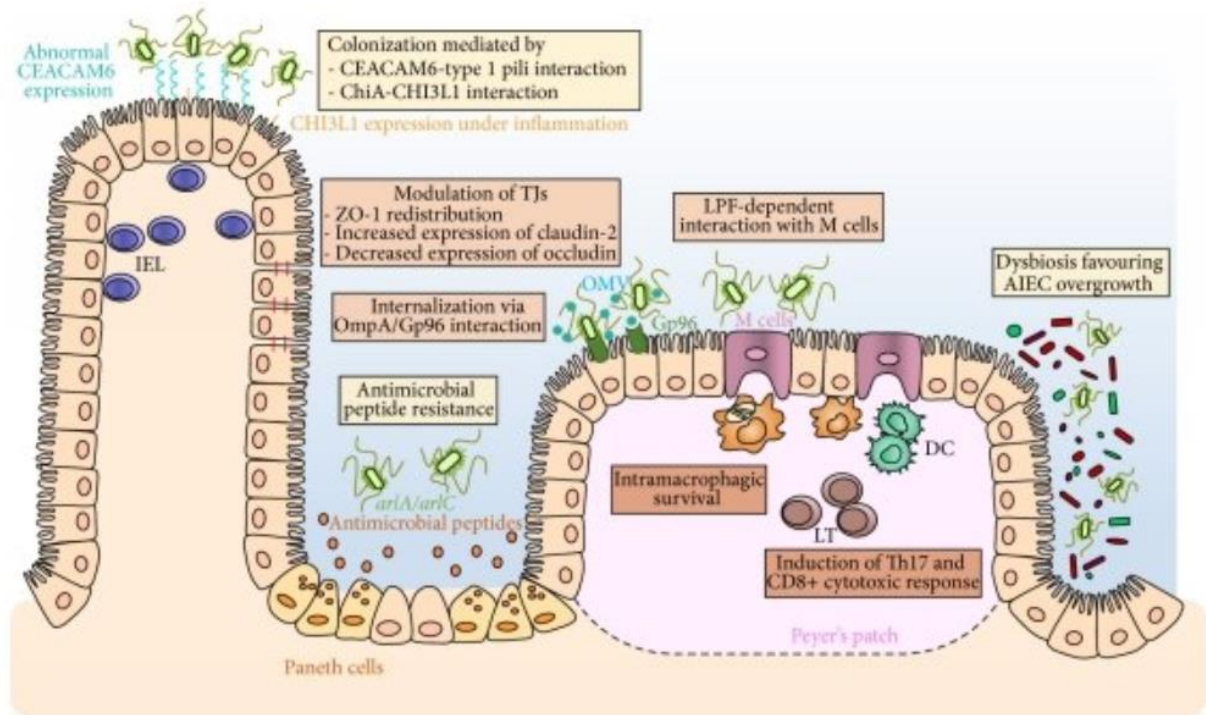


Figure 7 : Stratégie d'invasion de la muqueuse iléale des AIEC

Source : Agus et al., Biomed Res Int (2014)(200)

La dysbiose de la MC favorise l'émergence de bactéries pro-inflammatoires telles que les AIEC. La présence des AIEC au contact de la muqueuse est facilitée par la résistance génétique aux peptides anti-microbiens sécrétés par les cellules de Paneth. De multiples voies sont impliquées dans l'adhésion des AIEC, les mieux caractérisées étant les voies CEACAM6/FimH et CHI3L1/ChiA. La liaison de la protéine OmpA, présente à la surface des OMVs, au Gp86 membranaire des CEI permet l'adhésion bactérienne et la délivrance intra-cellulaire d'éléments de virulence facilitant l'invasion bactérienne. Les AIEC induisent également une modification de la perméabilité de la muqueuse intestinale impliquant la redistribution des zonula-occludens 1 à la partie basale, une diminution des protéines de type occludine ainsi qu'une augmentation des claudines 2 formant des pores inter-cellulaires. Par ailleurs, grâce à leur Lpf, les AIEC interagissent avec les M cells transépithéliales qui servent à leur translocation à travers l'épithélium vers les plaques de Peyer. Au sein des plaques de Peyer, les AIEC survivent au sein des macrophages grâce à un défaut d'autophagie de ces derniers, et à leurs facteurs de virulence adaptés aux conditions cellulaires. Ils se reproduisent au sein des lysosomes macrophagiques et induisent une réaction pro-inflammatoire avec une forte production de TNF  $\alpha$ .

### Invasion et répllication au sein des macrophages

Après invasion de la muqueuse intestinale, les macrophages vont constituer une niche au sein de laquelle les AIEC vont développer leur activité pro-inflammatoire. En conditions physiologiques, l'endocytose d'un pathogène par les macrophages forme une vacuole



intracytoplasmique nommée phagosome. Ce phagosome va ensuite se transformer en phagolysosome après un processus de maturation impliquant une fusion avec les lysozymes et une diminution du pH intra-vacuolaire. Les conditions ainsi obtenues à l'intérieur des phagolysosomes sont normalement capables d'entraîner la dégradation des pathogènes. Les AIEC sont cependant capables de survivre à l'intérieur des phagolysosomes au sein desquels ils vont se répliquer (194,201,202).

Le processus exact permettant aux AIEC de survivre au sein des macrophages n'est pas entièrement déterminé. Leur survie est facilitée par le déficit en autophagie induit par les mutations de IRGM et ATG16L1 (203). L'autophagie peut également être inhibée par les miARN contenus dans les exosomes produits par les CEI infectées par les AIEC, et reçus par les macrophages (204) (Figure 8 B). *In vitro*, l'acidité au sein des phagolysosomes est, de manière paradoxale, nécessaire à la réplication des AIEC (205). Par ailleurs, le stress oxydatif et le pH acide présent au sein des phagolysosomes entraîne une hyperexpression du facteur de virulence GipA qui jouerait un rôle majeur dans leurs possibilités de survie dans ces conditions hostiles (Figure 8 A) (194). D'autres facteurs génétiques semblent être impliqués dans la survie intra macrophagique des AIEC comme le défaut génétique en protéine PTPN2 (*protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2*) chez l'hôte entraînant un défaut d'autophagie et d'acidification des phagolysosomes (206). La protéine CHI3L1, évoquée comme une des potentielles voies d'adhésion des AIEC aux CEI, est également impliquée dans la différenciation macrophagique et semble jouer un rôle dans la persistance des AIEC dans les macrophages (207). Dans une étude récente de 2022, le blocage de CHI3L1 par des anticorps anti-CHI3L1 diminuait, *in vitro*, la survie intra-macrophagique des AIEC dans des macrophages circulants isolés de patients atteints de MC (208). Les AIEC sont également capables d'inhiber l'apoptose des macrophages (209–212). La souche LF82 présente aussi la capacité d'envahir et de se

répliquer au sein des monocytes et des neutrophiles, en induisant une réaction inflammatoire, sans cependant inhiber l'apoptose de ces cellules hôtes (213,214).

Les AIEC sont ensuite capables de quitter les macrophages pour rejoindre les ganglions mésentériques par les vaisseaux lymphatiques où ils constituent l'espèce bactérienne majoritaire chez les patients atteints de MC (173) (Figure 8 A). Leur persistance au niveau des ganglions mésentériques laissés en place lors de la chirurgie pourrait constituer un des mécanismes déclencheur de la RPO.

### Activation de l'inflammation

Après leur pénétration intracellulaire, les AIEC sont capables d'entraîner une réaction inflammatoire incontrôlée par plusieurs voies. La liaison des flagelles bactériens au TLR5, et du LPS bactérien au TLR4 des CEI, entraîne une inflammation intestinale macroscopique ainsi qu'une hyperproduction d'IL-8, d'IL-6, d'IL-1 $\beta$  et de TNF  $\alpha$  et ceci notamment par l'activation de la voie NF- $\kappa$ B (215,216). Les flagelles des AIEC sont également capables de favoriser la sécrétion de la chémokine CCL20 au niveau des CEI polarisées, ce qui en retour favorise le recrutement des macrophages et des cellules dendritiques sur le site de l'infection (217,218).

La colonisation des macrophages par les AIEC stimule la voie de l'inflammasome, et entraîne la production de cytokines inflammatoires (notamment d'IL-6 et d'IL-1 $\beta$ ) et une abondante sécrétion de TNF  $\alpha$  (176,202). La sécrétion de TNF  $\alpha$  à ce niveau présente, de manière paradoxale, la particularité de stimuler la réplication des AIEC intra-macrophagiques (201) (Figure 8 B).

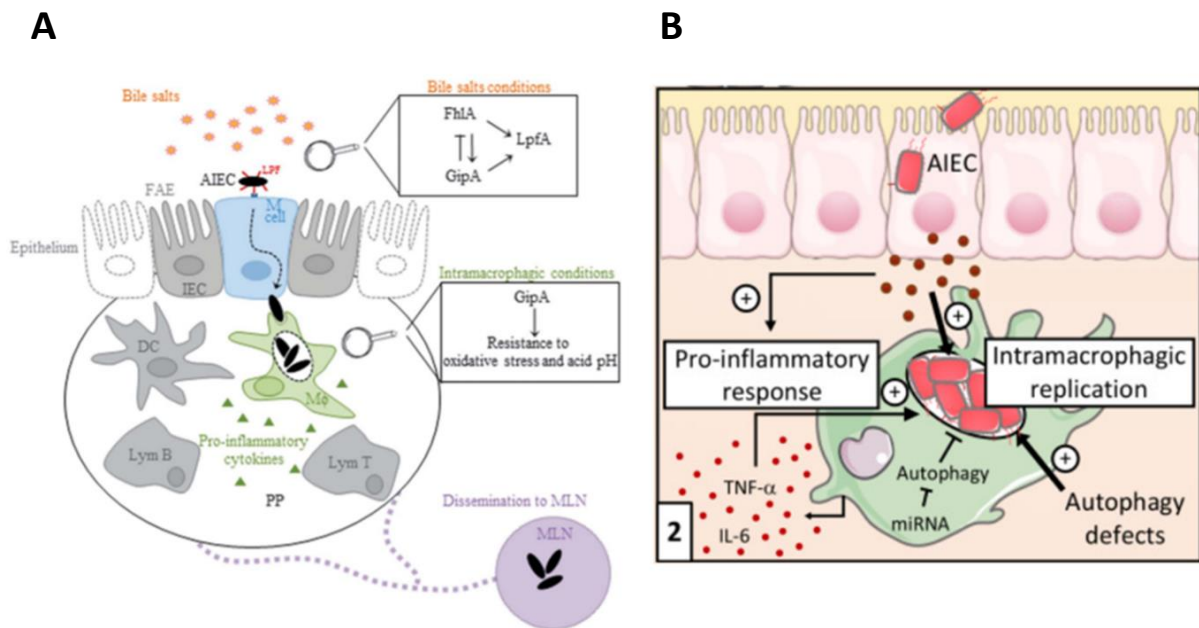


Figure 8 : Invasion des AIEC et activation de l'inflammation

Source : Vazelle et al., *Inflamm Bow Dis* (2016) (194) ; Chervy et al., *Int J Mol Sci* (2020) (184)

Après pénétration des AIEC, les CEI infectées vont sécréter des exosomes. Ces exosomes contiennent des miARN bactériens qui entraîneront un déficit d'autophagie chez les cellules receveuses, telles que les macrophages. La forte concentration en sels biliaires du tractus digestif induit l'expression du facteur de virulence GipA au sein des AIEC, entraînant une expression du Lpf bactérien. La liaison du Lpf bactérien aux M cells permet l'endocytose des AIEC et leur translocation vers les plaques de Peyer où ils vont rencontrer les macrophages, leurs cellules cibles. Après pénétration au sein des macrophages, leur survie au sein des phagolysosomes va être facilitée par le défaut en autophagie génétiquement déterminé et par le facteur de virulence génétique GipA. Les AIEC intra-macrophagiques vont inhiber l'apoptose des macrophages, et induire la production de cytokines pro-inflammatoires, dont une production abondante de TNF  $\alpha$ .

#### v. Rôle du mésentère

L'épaississement mésentérique et l'enroulement de cette hypertrophie grasseuse autour de l'intestin (*fat-wrapping*) est quasi-pathognomonique de la MC. Le mésentère est la lame porte-vaisseaux de l'intestin et contient également son système de drainage lymphatique et de nombreuses cellules immunitaires. Dans la majorité des cas, les modalités chirurgicales de la MC se sont adaptées aux caractéristiques d'une maladie bénigne nécessitant une épargne

digestive. Les résections n'intéressent donc, en pratique, que les lésions intestinales macroscopiques avec des marges de sécurité minimales, sans emporter le mésentère adjacent à l'inverse de ce qu'impose la chirurgie carcinologique. Cette stratégie d'épargne mésentérique est justifiée par l'inutilité du curage ganglionnaire complémentaire à la résection intestinale. Cependant, plusieurs éléments cliniques, macroscopiques, histologiques, cellulaires et moléculaires laissent supposer que la maladie débute dans le mésentère et que l'atteinte digestive n'est qu'une conséquence d'une progression de l'inflammation vers le bord mésentérique de l'intestin.

L'hypertrophie de la graisse mésentérique a été associée à l'activité clinique (score CDAI), biologique (niveau de CRP), et aux sténoses intestinales (219). Le volume de la masse adipeuse viscérale et mésentérique, mesurée par tomодensitométrie, a été également associée à une augmentation de la RPO chez les patients atteints de MC iléale (220). En 2018, Coffey et al. ont évalué l'impact d'une résection extensive du mésentère lors de RIC chez 34 malades en les comparant à une série historique de 30 patients pour lesquels la RIC était réalisée avec section du mésentère au ras du tube digestif. Le taux de récurrence chirurgicale était significativement diminué en cas de résection mésentérique associée (2,9 vs 40% ;  $p = 0,003$ ) sur une durée moyenne de 6 ans (34). Des résultats similaires ont été obtenus en 2021 par Zhu et al. sur 126 patients opérés de résections colo-rectales pour MC. La résection limitée du mésentère était un facteur de risque indépendant de récurrence chirurgicale en comparaison avec la résection extensive du mésentère (HR 2,67, (IC 95% [1,04-6,85]),  $p = 0,04$ ). Il ressortait également qu'une résection mésentérique extensive retardait significativement le délai de récurrence chirurgicale (221). Par ailleurs, il n'existait pas de différence entre les deux groupes sur la morbidité post-opératoire précoce (221). Des résultats contradictoires ont été rapportés en 2022 dans une étude multicentrique sur 326 patients. Il n'y avait en effet pas d'impact de

la résection mésentérique extensive lors d'une RIC sur la récurrence endoscopique à 5 ans (222). Deux essais randomisés multicentriques, dont un international, comparant résection extensive de mésentère vs résection limitée sur la RPO endoscopique, clinique et chirurgicale lors de RIC pour MC sont actuellement en cours d'inclusions et permettront peut-être de statuer sur l'apport de cette nouvelle stratégie chirurgicale (223,224).

Macroscopiquement, les lésions intestinales sont précisément situées en regard de l'hypertrophie mésentérique (32) et la présence de *fat-wrapping* a été corrélée à une augmentation du risque de récurrence chirurgicale, et à une diminution de son délai d'apparition (34). Les lésions muqueuses peuvent être circonférentielles dans les formes les plus sévères, mais prédominent sur le versant mésentérique (63). Histologiquement, on observe la même hyperplasie adipocytaire dans la sous-muqueuse intestinale que dans le mésentère en regard (33).

Par ailleurs, les ganglions mésentériques laissés en place lors d'une chirurgie sans résection du mésentère pourraient agir comme une mémoire immunitaire. Ces ganglions contiennent des cellules dendritiques activées capables d'une forte production cytokinique Th1 et Th17 (118,225). Ces ganglions contiennent également des cellules de l'immunité adaptative dont des LT mémoires (notamment Th17) (Figure 9). Après remise en contact des pathogènes de la flore avec la muqueuse, les cellules dendritiques produisent des cytokines pro-inflammatoires de la voie Th1 et Th17. Les LT mémoires sont activés puis recrutés au niveau de la muqueuse, facilitant ainsi la reprise du processus inflammatoire (78). Il a également été mis en évidence qu'un sous type de macrophages de la muqueuse intestinale pouvait participer à ce processus en capturant des bactéries luminales dans le but de limiter l'inflammation, et en les transportant, elles ou leurs antigènes, vers les ganglions mésentériques (226). Au moment d'une chirurgie pour MC, la présence de bactéries pathogènes au sein des ganglions

mésentériques est retrouvée dans 33% des cas vs 5% chez les patients sains ( $p = 0,006$ ) (227) et cette translocation a été associée à une augmentation du risque de complications septiques (228). Ce mécanisme pourrait également être à l'origine de la physiopathologie des fistules et des abcès. Les *E. coli* ont été identifiés comme les espèces bactériennes retrouvées en plus grand nombre au niveau des ganglions lymphatiques des régions mésentériques réséquées lors d'une chirurgie pour MC (228). Enfin, une étude de 2019 a suggéré que les chémokines produites par les adipocytes du mésentère contigu aux lésions intestinales étaient capables d'organiser des organes lymphoïdes tertiaires (structures ganglionnaires acquises et rudimentaires) grâce à une co-stimulation par le TNF  $\alpha$  et le LPS bactérien. Ces organes lymphoïdes tertiaires seraient ensuite capable de médier une réponse immunitaire adaptative, participant ainsi au processus inflammatoire de la MC (229).

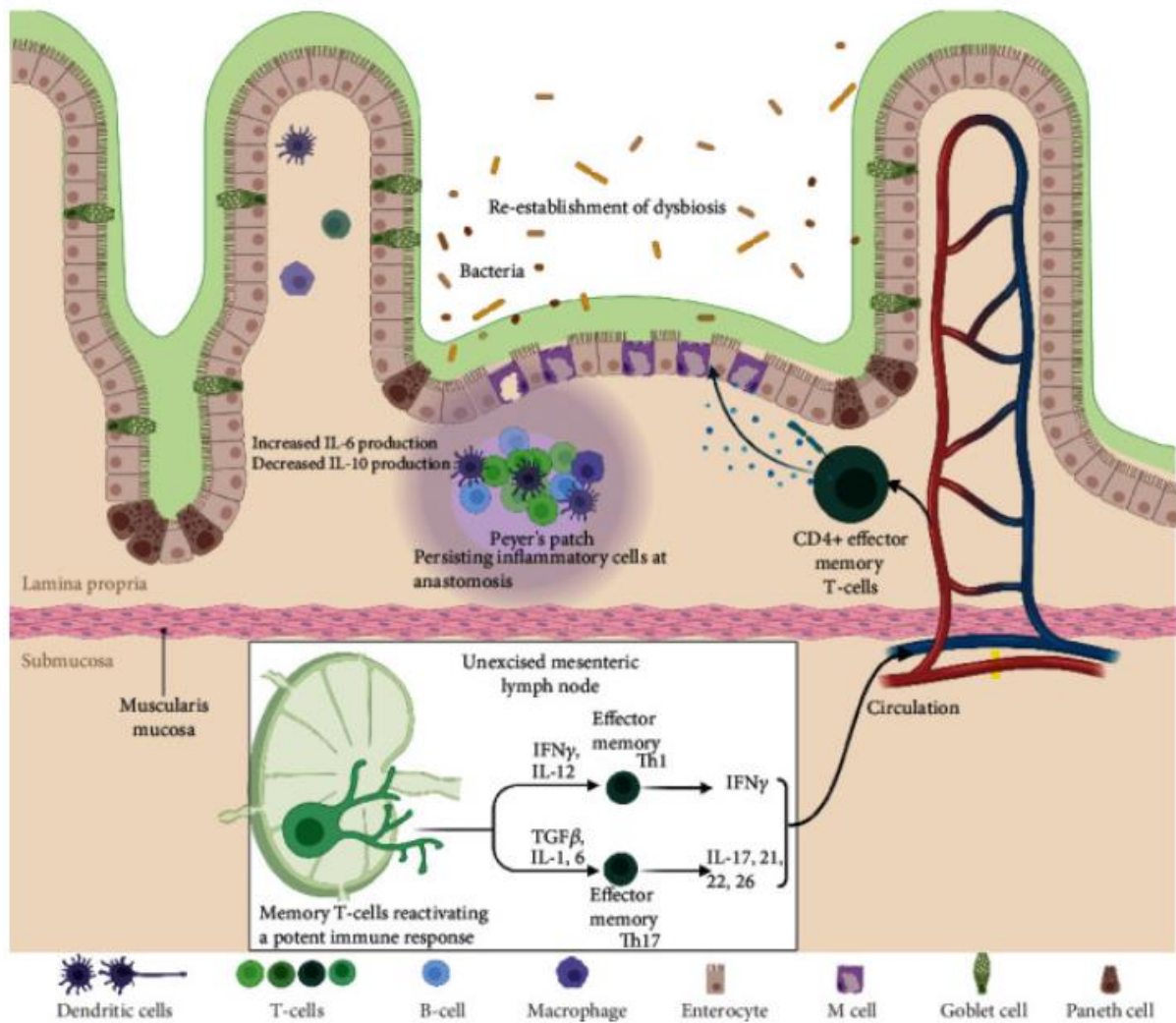


Figure 9 : Physiopathologie de la récurrence de la MC après RIC avec rétablissement de la continuité digestive

Source : Sensi et al., J Immunol Res (2020) (86)

#### vi. Les facteurs histologiques de la RPO

La stratégie chirurgicale standard dans la MC est celle d'une épargne digestive avec des marges de sécurité courtes et macroscopiquement saines. Il est classiquement fait l'impasse sur une possible atteinte microscopique inflammatoire puisque d'anciennes études n'avaient pas montré de corrélation entre l'inflammation histologique des marges et le taux de RPO

(86). Récemment, le rôle de certains marqueurs histologiques de l'inflammation dans la RPO a été souligné (230–232).

Le granulome épithélioïde au sein de la muqueuse, contenant des cellules épithélioïdes, des macrophages et des lymphocytes, est la lésion histologique intestinale la mieux corrélée au diagnostic de MC, même si elle n'est retrouvée que chez 37 à 60% des patients (233). Deux méta-analyses récentes sur plus de 2 000 patients ont montré que cette lésion était associée à un taux légèrement supérieur de récurrence endoscopique (OR : 1,37 (IC 95% [1,02-1,84]) et RR : 1,37 (IC 95% [1,00-1,87])) et chirurgicale (OR : 2,38 (IC 95% [1,43-3,95]) et RR : 1,58 (IC 95% [0,89-2,89])). Cependant, son rôle comme facteur de risque de récurrence reste débattu (233,234). Une étude de 2021 sur 274 patients a également suggéré que la présence de granulomes épithélioïdes au niveau du mésentère était un facteur de risque indépendant de récurrence chirurgicale (HR : 1,94, IC 95% [1,04-3,60]) sur une durée médiane de 4 ans et 8 mois (230).

La plexite myentérique est définie par la présence d'au moins une cellule inflammatoire chronique contiguë ou à l'intérieur d'un ganglion ou d'un faisceau nerveux. Elle favoriserait la RPO *via* les ganglions et les faisceaux nerveux laissés en place qui libèreraient des médiateurs pro-inflammatoires (231). Sa présence a été corrélée à la récurrence endoscopique à 1 an (augmentation de 9 à 13 fois de la récurrence endoscopique à 1 an) ainsi qu'à sa sévérité (231,232). Il n'a pas été montré de corrélation entre la présence d'une plexite myentérique et la récurrence chirurgicale (232). Cependant, la définition de la plexite myentérique diffère selon les études et rend son lien avec la RPO difficile à établir actuellement.

Dans ce contexte, l'examen extemporané des berges lors d'une résection intestinale pour MC reste, actuellement, non recommandé.



## vii. Influence des techniques d'anastomoses sur la RPO

Les anastomoses chirurgicales peuvent être manuelles ou mécaniques, et de morphologies diverses (termino-terminale, latéro-latérale, latéro-terminale) (Figure 10). La morphologie anastomotique est susceptible d'influer sur la RPO en agissant sur différents facteurs : la stase fécale et la pullulation microbienne locale, le reflux fécal dans l'anse digestive d'amont ou encore la vascularisation intestinale (235,236). Idéalement, l'anastomose doit être la plus large possible pour limiter le reflux vers l'intestin grêle d'amont et le risque de sténose ischémique ou cicatricielle à long-terme. L'agrafage mécanique permettrait une diminution du taux de fistules anastomotiques par une diminution des manipulations tissulaires et un espacement uniforme entre les agrafes. Par ailleurs, la présence de complications infectieuses intra-abdominales (abcès, fistules) après chirurgie a été reliée au taux et à la rapidité de survenue de la récurrence chirurgicale (237,238). La suture manuelle permettrait, quant à elle, une plus grande souplesse des tissus et faciliterait d'éventuelles dilatations endoscopiques en cas de sténoses post-opératoires. Le taux de RPO après différents types d'anastomoses a été diversement apprécié dans la littérature avec des résultats contradictoires. Deux méta-analyses de 2014 et 2018 ont cependant conclu en la supériorité de l'anastomose latéro-latérale mécanique sur l'anastomose manuelle termino-terminale concernant la récurrence clinique et chirurgicale (239,240). Actuellement, l'anastomose latéro-latérale mécanique fait donc consensus pour les anastomoses iléo-coliques et grêlo-grêliques (14,31).

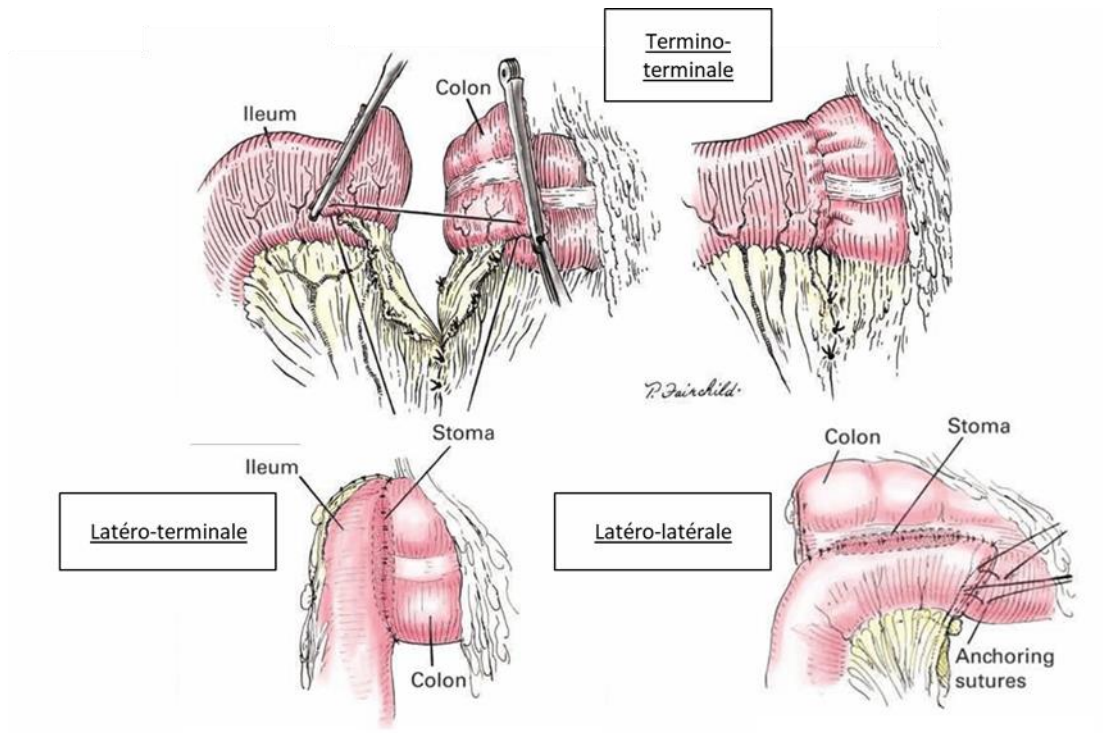
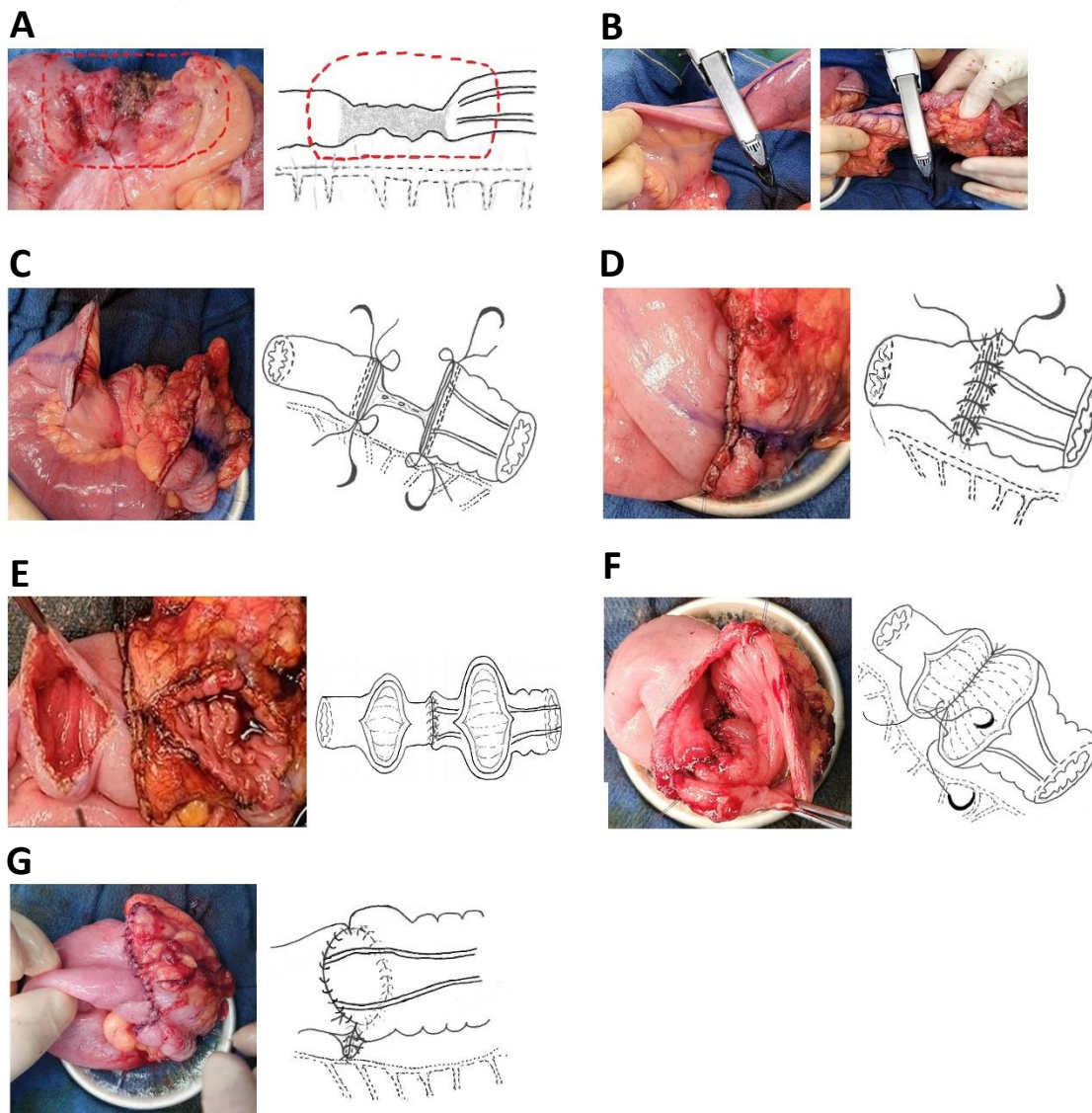


Figure 10 : Différents types d'anastomoses digestives conventionnelles

Source : Zollinger's Atlas of surgical operations (241)

En 2011, un nouveau type d'anastomose a été décrit par une équipe japonaise. Il s'agit d'une anastomose latéro-latérale manuelle (Kono-S, « *antimesenteric functional end-to-end handsewn anastomosis* ») réalisée après confection d'une « colonne de soutien » formée par l'adossement des deux lignes de sections mécaniques intestinales (242) (Figure 11). Plusieurs éléments mécaniques et physiopathologiques expliqueraient l'intérêt de cette technique d'anastomose : la colonne de soutien éviterait la torsion anastomotique et permettrait de maintenir son diamètre et donc de prévenir l'apparition d'une sténose anastomotique ; et en cas de sténose, la souplesse de la suture manuelle faciliterait une éventuelle dilatation endoscopique (242). Par ailleurs, son large diamètre supérieur à celui des anastomoses conventionnelles (8 cm vs 6 et 2 cm respectivement pour les anastomoses latéro-latérales et termino-terminales) préviendrait la stase fécale dans la zone anastomotique, siège

préférentiel de la récurrence. La colonne de soutien réaliserait également une barrière entre le mésentère, suspecté d'être à l'origine du processus immunitaire de la RPO, et la zone anastomotique en contact avec la flore intestinale (242,243). Enfin, la réalisation de l'anastomose sur le versant anti-mésentérique permettrait de conserver intacte la vascularisation et l'innervation intestinale (244). Après avoir montré des résultats encourageants dans plusieurs études rétrospectives, l'anastomose de Kono a été évaluée dans une étude prospective monocentrique qui a montré une diminution significative des taux de RPO endoscopique à 6 mois (22,6 vs 62,8% ;  $p < 0,001$ ) et de récurrence clinique et chirurgicale à 2 ans (18 vs 30,2% ;  $p = 0,004$ , et 0 vs 4,6% ;  $p = 0,3$ ). Un essai clinique multicentrique randomisé américain comparant anastomose de Kono et anastomose latéro-latérale sur la récurrence endoscopique à 6 mois et la récurrence clinique et chirurgicale à long terme est actuellement en cours d'inclusion (NCT03256240) (245). La faisabilité de l'anastomose de Kono par suture mécanique ou encore l'association d'une anastomose de Kono avec une résection extensive de mésentère a été évaluée très récemment avec de bons résultats en terme de morbidité, mais sans évaluation de la RPO (223,246).

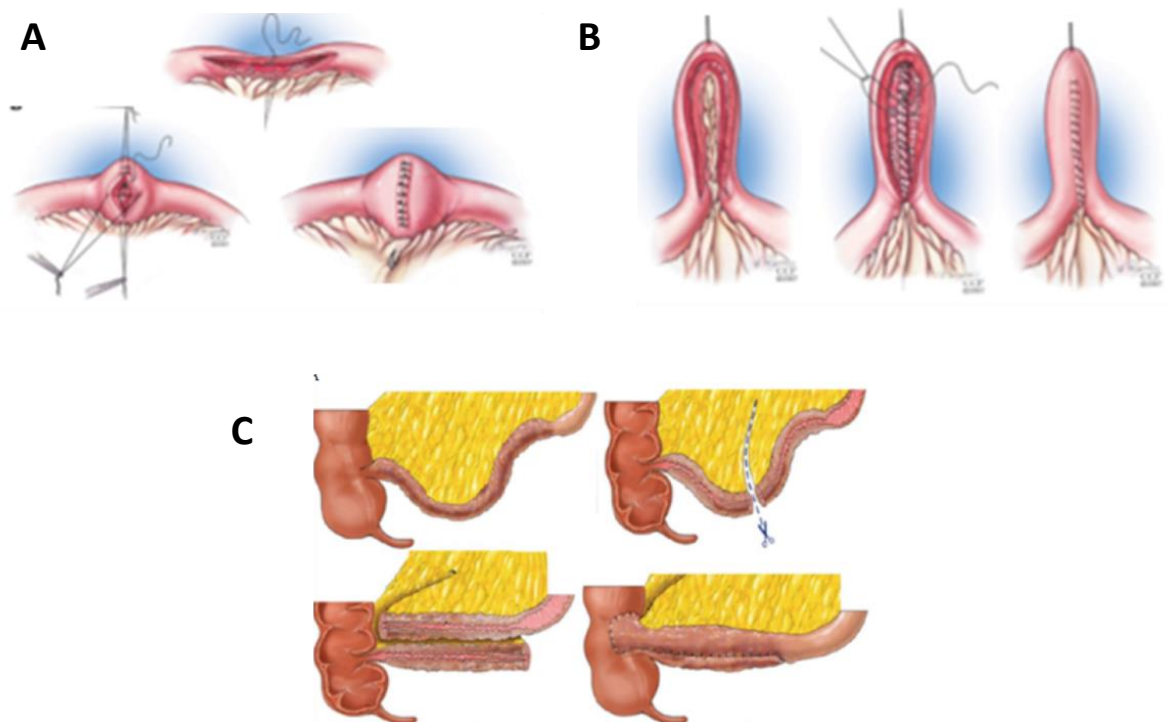


*Figure 11 : Réalisation de l'anastomose de Kono*

Source : Valibouze et al., J Vis Surg (2020) (244)

Résection de la zone intestinale atteinte au ras du mésentère (A) puis section des segments intestinaux à l'aide d'une pince linéaire mécanique dans un axe perpendiculaire au plan du mésentère (B). Réunion des deux lignes de section par des points de suture séparés pour créer la colonne de support (C et D). Ouverture longitudinale de l'intestin grêle et du colon sur respectivement 7 et 8 cm, en démarrant l'ouverture à 1 cm de la ligne d'agrafe (E). Réalisation de l'anastomose transversalement à l'aide de surjets et de points séparés puis fermeture de la brèche mésentérique par des points séparés (F et E).

En cas de sténoses entérales étendues, les techniques de stricturoplasties (plasties d'agrandissement intestinales) doivent être envisagées comme des alternatives aux résections intestinales étendues (14). En plus de prévenir le syndrome de grêle court, elles permettent de lever les symptômes obstructifs mais également d'obtenir une cicatrisation muqueuse, avec à terme un taux de récurrence chirurgicale d'environ 7% à 10 ans (247). Classiquement, des techniques de stricturoplasties sont décrites pour des sténoses courtes (moins de 10 cm, technique de Heineke–Mikulicz, Figure 12 A) ou de longueur moyenne (10-20 cm, technique de Finney, Figure 12 B). En 2016, une technique de stricturoplastie isopéristaltique modifiée, incluant la valvule de Bauhin, a également été décrite pour s'adapter aux sténoses iléales terminales longues, en alternative à la RIC (244). Les auteurs ont évalué la technique sur 52 patients sur une durée moyenne de 5,9 ans et ont constaté des taux de récurrences cliniques et chirurgicales de respectivement de 40% et 13% à 5 ans, avec une rémission endoscopique et clinique complète chez 25,7% des patients. Aucun cas de cancer n'a été décelé, et la mortalité au cours de l'étude était nulle (248).



*Figure 12 : Techniques de stricturoplasties*

Source : Bislenghi et al., J Crohn Colitis (2020), Rieder et al., Gut (2013) (248,249)

Stricturoplastie « classiques » selon les procédures de Heineke–Mikulicz (A) ou Finney (B) et technique de stricturoplastie isopéristaltique modifiée incluant la valvule de Bauhin (C).

#### 4. Stratégie de prise en charge de la RPO

La stratégie de prise en charge de la RPO repose actuellement sur le sevrage tabagique, l'introduction d'un traitement préventif immunomodulateur, et la réalisation d'une coloscopie post-opératoire de contrôle à 6 mois.

De nombreux traitements ont été évalués dans la prévention de la RPO. Les traitements à base de 5-ASA et les corticoïdes n'ont pas montré d'efficacité dans le maintien de la rémission après chirurgie (31,250–252). Seuls les traitements immunomodulateurs tels les anti-TNF  $\alpha$  ont montré une balance bénéfice/risque nettement favorable dans la prévention de la RPO. La majorité des études contrôlées prospectives randomisées évaluant l'introduction d'un

traitement immunomodulateur, en général dans le mois suivant la chirurgie, ont montré une efficacité dans la prévention de la RPO endoscopique à un an de l'intervention, globalement sans augmentation du risque de complications post-opératoires en particulier infectieuses (31,253–255). Le début d'un traitement préventif par anti-TNF  $\alpha$  dépend, pour chaque patient, du nombre de facteurs de risque de récurrence présents (voir paragraphe 4. a.). Chez les patients sans facteurs de risque, aucun traitement n'est débuté avant la coloscopie de dépistage. Chez les patients présentant un facteur de risque, un traitement immunomodulateur doit être discuté notamment en cas d'impossibilité de sevrage tabagique. Chez les patients présentant au moins deux facteurs de risque, un traitement doit être débuté en privilégiant les anti-TNF  $\alpha$  (244).

Le développement des biothérapies a permis une avancée thérapeutique significative mais ces traitements présentent certaines limitations. Tout d'abord leur coût n'est pas négligeable. On estime par exemple le coût annuel d'un traitement par anti-TNF  $\alpha$  à environ 30 000 à 40 000 euros par an (256,257). Par ailleurs, une certaine proportion de patients présente une résistance primaire ou une perte de réponse progressive aux traitements (258). L'administration des biothérapies se fait par injection (intraveineuse ou sous-cutanée) et elles peuvent présenter des effets secondaires non négligeables (259). La poursuite du développement de nouvelles thérapies moins coûteuses, efficaces, sûres, et moins invasives est donc nécessaire.

## **5. Le probiotique *Saccharomyces cerevisiae***

Un probiotique est défini par la *World Health Organization* comme un organisme vivant qui, lorsqu'il est administré à la posologie adéquate, procure un effet bénéfique au patient. Il s'agit le plus souvent de levures ou de bactéries (260).

L'impossibilité de maintenir une antibiothérapie à long terme dans le traitement de la MC pousse à développer d'autres stratégies thérapeutiques pouvant influencer sur la dysbiose, comme l'utilisation de probiotiques. La grande majorité des études évaluant l'intérêt des probiotiques dans la MC ont été décevantes, et leur utilisation n'est actuellement pas recommandée en pratique (14,31). Cependant, et il existe une grande diversité de probiotiques, et tous n'ont pas encore été évalués chez l'homme. Par ailleurs, contrairement aux antibiotiques, les probiotiques ne dérèglent pas la flore intestinale et ne provoquent pas d'effets secondaires graves.

*S. cerevisiae* est une levure probiotique qui a déjà été évaluée dans de nombreuses études pré-cliniques et cliniques. En effet, *S. cerevisiae* a été le premier organisme chez qui le génome a été entièrement séquencé en 1996. La connaissance fine de son métabolisme en a fait la levure la plus utilisée dans diverses applications telles qu'écologiques, scientifiques ou encore industrielles (261). Les réactions chimiques obtenues lors de sa fermentation sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour la fabrication d'alcool. Dans l'industrie pharmaceutique, *S. cerevisiae* est utilisée pour réaliser des protéines recombinantes dans la fabrication de vaccins mais également sous forme vivante comme probiotique (261). Dans cette application, *S. cerevisiae* a montré son innocuité chez l'homme et son efficacité dans le traitement des symptômes des troubles fonctionnels intestinaux (262).

Dans la prise en charge de la MC, La souche *S. cerevisiae* CNCM I-3856 a montré son intérêt comme thérapie anti-AIEC. En effet, en se liant aux ligands membranaires des AIEC de la flore luminale, elle pourrait constituer un mécanisme anti-adhésif et donc cibler un des principaux facteurs de virulence de cette souche (Figure 13). Dans un modèle de souris transgéniques CEABAC10 (modèle exprimant le CEACAM6 humain), Sivignon et al. ont montré en 2015 que *S. cerevisiae* CNCM I-3856 permettait de réduire la sévérité de la colite induite par les AIEC, la



gravité histologique des lésions, l'importance de l'inflammation ainsi que la persistance des AIEC dans les selles grâce à un mécanisme anti-adhésif (178).

Pour mieux caractériser cette nouvelle stratégie thérapeutique anti-AIEC, nous avons étudié l'impact de l'administration de la souche *S. cerevisiae* CNCM I 3856 dans un modèle murin de RPO spontanée après RIC induite par les AIEC.

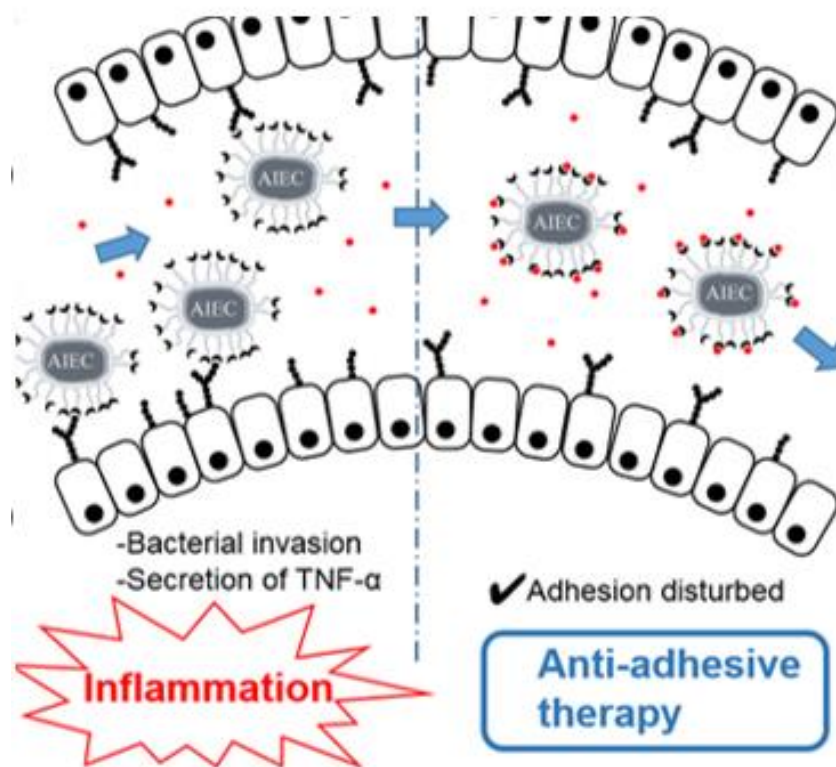


Figure 13 : *S. cerevisiae* comme stratégie anti-AIEC.

Source : Alvarez Dorta et al., CemBioChEm, 2017 (263).

## 6. Intérêt d'un traitement par Tofacitinib dans la prise en charge de la MC

Les Janus kinases (JAK) sont une famille de protéines intracellulaires de types tyrosines kinases associées à des récepteurs transmembranaires. Quatre sous types sont décrits : JAK 1,

JAK 2, JAK 3 et TYK 2. JAK 1, JAK 2 et TYK 2 sont ubiquitaires alors que JAK 3 n'est retrouvée que dans les cellules immunitaires (264). La fixation de cytokines au récepteur transmembranaire entraîne une dimérisation de celui-ci puis une auto/transphosphorylation des protéines JAK, induisant le recrutement des protéines STAT. Les protéines STAT présentent 7 sous-types (STAT 1 à 4, 5a, 5b et 6) (264). Après amarrage des protéines STAT à la partie intra-cellulaire du récepteur, leur phosphorylation par les protéines JAK entraîne leur homo ou hétéro-dimérisation permettant ainsi leur translocation vers le noyau (265). Le dimère se fixe ensuite sur la région promotrice des gènes afin d'en induire l'expression en agissant en facteur de transcription (Figure 14).

L'inhibition de la voie de signalisation JAK-STAT constitue une nouvelle cible thérapeutique dans les maladies inflammatoires. En effet, il s'agit d'une voie commune à de nombreuses pathologies auto-immunes et certaines cytokines clefs dans la MC sont dépendantes de la voie de signalisation JAK-STAT (IL-6, IL-10, IL-22). Par ailleurs, le Tofacitinib est capable d'inhiber *in vitro* la différenciation des lymphocytes Th1 et Th17 ainsi que la prolifération des LT (266).

Actuellement, le Tofacitinib est le seul anti-JAK autorisé dans le traitement de la RCH active modérée à sévère par la FDA (*Food and Drug Administration*) et l'EMA (*European Medicines Agency*) (264). En France, il a l'autorisation de mise sur le marché (AMM) depuis 2019 en troisième intention dans cette indication (après échec des anti-TNF  $\alpha$ ) (267). Il s'agit d'une petite molécule administrée oralement, inhibitrice préférentielle de JAK 1 et JAK 3, entraînant en particulier une diminution de l'activité du facteur de transcription STAT3 au niveau des cellules immunitaires (268,269).

Dans la MC, le Tofacitinib n'a pas montré son efficacité dans plusieurs études de phase 2. Le critère de jugement principal de la première étude de phase 2 était l'obtention d'une réponse clinique à 4 semaines de l'introduction d'un traitement par Tofacitinib vs placebo

(270). Les auteurs n'ont pas mis en évidence de différence significative sur le critère de jugement principal (271). Une autre étude multicentrique de 2017 de phase 2b n'a également pas permis de mettre en évidence de différence entre Tofacitinib et placebo sur l'induction de la rémission clinique, ainsi que son maintien. En effet, la rémission clinique durant la période d'induction était supérieure dans le groupe Tofacitinib vs placebo (respectivement 43,0% (IC 95% [32,4–54,2]) vs 36,7%, (IC 95% [26,8–47,5])), sans que cette différence n'atteigne cependant une significativité. Malgré ce résultat décevant, les résultats sur les critères de jugement secondaires étaient encourageants avec des résultats significatifs sur la diminution de l'activité de la maladie évaluée par le score CDAI ou la CRP. Par ailleurs, certains biais pouvaient être à l'origine de ces mauvais résultats dans ces deux études comme la présence d'un haut taux de rémission clinique spontanée dans le groupe placebo, et une précédente exposition aux anti-TNF  $\alpha$  d'une majorité de la population d'étude (270). Par ailleurs, des études de cohortes récentes utilisant le Tofacitinib en troisième intention ont suggéré une efficacité sur les symptômes cliniques et les lésions endoscopiques après une durée de traitement de plus de 6 mois, soulignant un possible intérêt en cas d'échec des biothérapies dans la MC (272). Le rôle du Tofacitinib n'a, par contre, jamais été étudié dans la RPO de la MC, ni dans un modèle pré-clinique, ni chez l'homme.

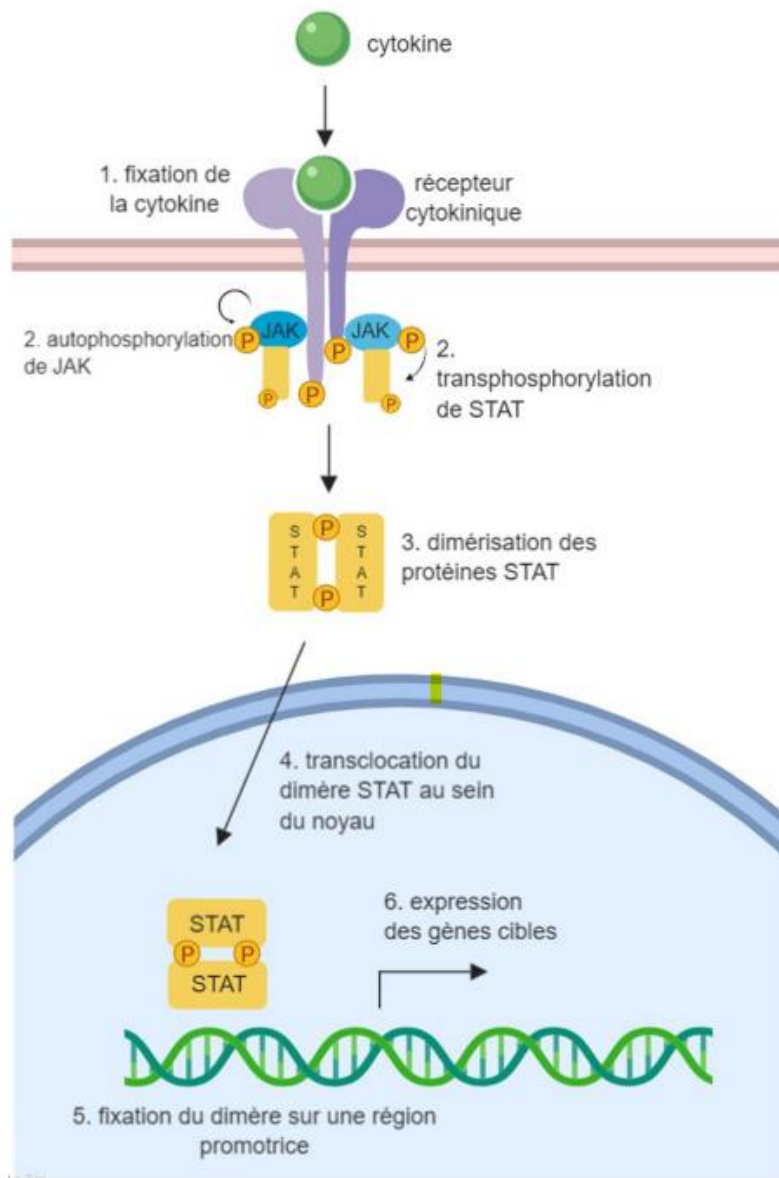


Figure 14 : Voie de signalisation JAK-STAT

Source : El Jammal et al., La revue de Médecine Interne (2014) (273)

## 7. Le modèle du rat HLA-B27

### a. Spectre des maladies liées à l'allèle HLA-B27 du CMH de type 1

L'allèle HLA-B27 (*Human Leucocyte Antigen*) du CMH humain de type 1 a été tout d'abord historiquement associé aux spondylarthropathies, et notamment à la SpA. L'atteinte peut également être multi-organes et toucher le système digestif, oculaire, artriculaire, urinaire,

cutané et cardiaque (274). Son rôle exact dans la physiopathologie de ces maladies reste cependant encore incomplètement compris (275).

Chez les patients atteints de SpA, on trouve une fréquence de l'allèle HLA-B27 estimée à 75-95%, et on retrouve 5 à 10% de MICI concomitantes (276–280). La fréquence de l'allèle chez les patients MICI, d'environ 20%, est similaire à celui de la population générale. Cependant, en cas de SpA associée, sa fréquence a été estimée à 25-78% (281,282). Une des hypothèses serait que la présence de l'allèle HLA-B27 favoriserait l'inflammation intestinale et ferait le lit du déclenchement d'une MC. En effet, on observe chez 2/3 des patients SpA une inflammation colique infraclinique (présence de signes inflammatoires à l'endoscopie sans signes digestifs associés) (277,283–285). Cette catégorie de patients développera dans environ 10% des cas une MICI et plus fréquemment une MC (277,283–285).

#### b. Le rat HLA-B27

Le modèle du rat transgénique (Tg) HLA-B27 a été créé en 1990 par l'équipe de Hammer par transfection (injection d'une solution de fragments d'ADN au sein d'un embryon unicellulaire de rat). Les rats porteurs du HLA-B27 développent dès la 10<sup>ème</sup> semaine de vie une atteinte inflammatoire spontanée et multi-organes (286).

Les différentes atteintes chez le rat HLA-B27 sont :

- L'atteinte digestive : Inflammation intestinale chronique apparaissant dès la 12<sup>ème</sup> semaine, atteignant le système digestif abdominal avec une nette prédominance colique. Les symptômes sont très largement dominés par une diarrhée aqueuse avec un rythme de selles élevé. L'atteinte histologique colique est caractérisée par présence d'un infiltrat muqueux lymphocytaire, s'étendant principalement à la lamina propria mais pouvant atteindre la sous-muqueuse dans les régions les plus affectées. On

retrouve également une hyperplasie et une augmentation de la profondeur des cryptes. L'inflammation digestive est liée à la flore intestinale. En effet, les rats Tg HLA-B27 élevés en milieu stérile ne développent ni d'atteinte digestive ni d'atteinte articulaire. Les études de caractérisation de la flore du rat Tg ont montré une augmentation du taux d'*E. coli* et d'*Enterococcus* (287).

- L'atteinte articulaire : arthrites des articulations périphériques du tarse, uni- ou bilatérales (gonflement, érythème, douleur), plus ou moins associées à une atteinte du carpe. L'atteinte des articulations périphériques évolue le plus souvent sous forme de poussées de durées variables (quelques jours à plusieurs semaines) entrecoupées de phases de rémission. Histologiquement on retrouve une infiltration leucocytaire à prédominance neutrophilique des cartilages et de la synovie, menant à terme à des lésions destructrices des cartilages. Une atteinte axiale avec inflammation des articulations vertébrales peut également être observée.
- L'atteinte des phanères : hyperkératose et dystrophie des ongles de l'ensemble des membres.
- L'atteinte testiculaire : présence d'une orchite et d'une épididymite se manifestant par une augmentation progressive du volume testiculaire suivie d'une atrophie aboutissant à une infertilité vers l'âge de trois mois.
- L'atteinte cardiaque : infiltrat lymphocytaire du muscle responsable à terme d'une fibrose myocardique.
- L'atteinte oculaire : kératite d'intensité modérée et uvéite antérieure.

Dans ce modèle, la gravité de l'atteinte digestive, et de manière générale de l'atteinte inflammatoire, est corrélée au niveau d'expression de la protéine HLA-B27 (288).

### c. Développement du modèle de RPO

Le rat HLA-B27 constitue initialement un modèle d'étude des spondylarthropathies. Ce modèle Tg présente également une inflammation intestinale marquée et spontanée, présente dès la 12<sup>ème</sup> semaine de vie. Cette inflammation prédomine au niveau du colon et tout particulièrement au niveau du caecum (289). Cette inflammation intestinale est dépendante du microbiote comme l'atteste la prévention du développement de la colite lorsque ces rats sont élevés en conditions stériles (290).

Au sein du laboratoire INFINITE U1286 (anciennement LIRIC U995), l'étude du rat HLA-B27 a permis de développer un nouveau et unique modèle de RPO après RIC. Dans un premier temps, il a été mis en évidence que tous les rats Tg HLA-B27 développaient une RPO iléale à 6 semaines d'une RIC réalisée à la 12<sup>ème</sup> semaine de vie, contrairement aux rats non transgéniques (nTg) (100 vs 0%,  $p = 0,0001$ ) (291). Tout comme chez l'homme, cette récurrence était dépendante du microbiote comme l'atteste la prévention de la RPO en cas de traitement par antibiotiques dans le péri-opératoire (291,292). Par ailleurs, en environnement conventionnel, la survenue d'une RPO était liée à une augmentation des cytokines pro-inflammatoires IL-17, IL-1 $\beta$  et TNF  $\alpha$  (291).

Puis, dans un second temps, ces rats ont été placés dans un environnement contrôlé en germes et gavés en AIEC LF82. Les taux de RPO ont été 5 fois plus importants chez les rats Tg gavés en AIEC que chez les rats Tg contrôles ( $p = 0,067$ ), constituant un modèle de RPO induite par la colonisation de la souche AIEC LF82 (293,294).

## OBJECTIF DU TRAVAIL

La chirurgie dans la MC permet de soulager les symptômes en blanchissant le patient des lésions mais à terme la quasi-totalité des patients va présenter une RPO endoscopique menant à une nouvelle chirurgie dans environ 20% des cas. La prévention de la RPO est donc une problématique majeure dans la stratégie de prise en charge au long cours des patients opérés. La prévention actuelle de la RPO repose sur la prescription de biothérapies mais le risque de perte d'efficacité à long terme, leurs effets secondaires, et leur coût soulignent la nécessité de développer de nouvelles stratégies de prévention sûres et efficaces.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer des stratégies de prévention de la RPO dans le modèle de récurrence iléale après RIC du rat Tg HLA-B27.

La première et principale partie de ce travail a consisté à évaluer l'effet du probiotique *S. cerevisiae* CNCM I-3856 dans la prévention de la RPO induite par les AIEC.

La seconde partie a été réalisée dans le cadre du Master 2 d'Aurélien Blondeaux, auquel j'ai collaboré, et a étudié l'effet du Tofacitinib dans la prévention de la RPO.



# MATÉRIELS ET MÉTHODES

## 1. Animaux

Des rats Tg mâles et femelles HLA-B27, et contrôles nTg de souche F344, ont été fournis par le Professeur Maxime BREBAN (institut Cochin, INSERM U1016, Paris). Ces rats ont été élevés à l'institut Pasteur de Lille où ils ont été placés dans des conditions spécifiques d'hébergement avec une zone contrôlée du micro-organisme d'élevage SOPF (Specific and Opportunistic Pathogen Free). Les animaux ont été nourris avec une alimentation standard, avec de l'eau en accès libre. La zone d'hébergement était maintenue à une température constante avec un cycle obscurité/lumière de 12 heures. Les gavages ont été réalisés à l'aide d'une canule adaptée à la taille de l'animal. L'expérimentation animale a été réalisée sous la directive européenne 2010/63/UE appliquée par le décret n°2013-118 et autorisée par le comité éthique départemental (n° CEEA 01292.01).

## 2. Protocole chirurgical

À la 12<sup>ème</sup> semaine de vie (S12) tous les rats ont été opérés en aveugle de leur statut Tg/nTg par deux opérateurs (C. Dubuquoy et C. Valibouze) d'une RIC. L'intervention se déroulait sous anesthésie générale, réalisée à l'aide d'une chambre d'inhalation à l'isoflurane adaptée aux petits animaux. Un tapis chauffant était placé sous le champ opératoire afin de prévenir l'hypothermie de l'animal. L'intervention chirurgicale était effectuée dans des conditions strictes d'asepsie avec du matériel chirurgical préalablement stérilisé, dans un bloc opératoire dédié aux petits animaux.

L'incision cutanée était réalisée transversalement 2 cm au-dessus de l'anus. Avant incision des plans musculo-aponévrotiques de l'abdomen, une anesthésie locale par pulvérisation de XYCOCAINE 1% était réalisée. Après pénétration dans la cavité abdominale, le caecum était repéré puis extrait. Après repérage de la zone de résection intestinale (caecum et environ 2 cm d'intestin grêle), les vaisseaux mésentériques étaient liés par du VICRYL 3-0. La RIC était ensuite réalisée par section consécutive du colon, des mésos ligaturés puis de l'iléon. Le rétablissement de la continuité digestive était réalisé par réalisation d'une anastomose termino-terminale à points séparés de PROLENE 6-0. Après vérification de l'étanchéité et du caractère non sténosant de l'anastomose, la paroi abdominale était refermée par des points séparés de MERSUTURE 1 sur le plan musculo-aponévrotique et de VICRYL 1 au niveau du plan cutané. L'analgésie post-opératoire était réalisée par injection de BUPRENORPHINE (0,5 mg/kg/rat) en fin de chirurgie. Les rats étaient ensuite surveillés jusqu'au réveil complet.

En per-opératoire étaient réalisés des prélèvements pour analyse histologique (fragments tissulaires d'iléon terminal), bactériologique (prélèvements de selles et de fragments intestinaux) et biochimique (prélèvements de fragments tissulaires).

### **3. Sacrifice des animaux**

Tous les animaux étaient sacrifiés à la 18<sup>ième</sup> semaine de vie (S18), soit à 6 semaines de la RIC, par intoxication au CO<sub>2</sub> à dose létale.

#### **4. Souches d'AIEC LF82 et de *S. cerevisiae* CNCM I-3856**

##### **a. Souche d'AIEC LF82**

La souche d'AIEC LF82 résistante à la streptomycine et à la Kanamycine, et isolée à partir d'un patient atteint d'une MC, nous a été fournie par le Professeur Barnich (Université de Clermont Auvergne) et a été entretenue par le Docteur NEUT (CHU de Lille, Faculté de Pharmacie, Université de Lille). Nous avons utilisé une souche résistante à certains antibiotiques afin de faciliter sa détection et sa persistance (traitement des animaux par STREPTOMYCINE en pré-inoculation des AIEC, voir la partie Protocoles des études 11. a.). La culture des AIEC était réalisée à température ambiante à 37°C sur de géloses d'Agar en milieu de culture *Brain-Heart broth* ou de Drigalski. Par soucis de simplification, AIEC LF82 sera simplifié en LF82 dans la suite du manuscrit.



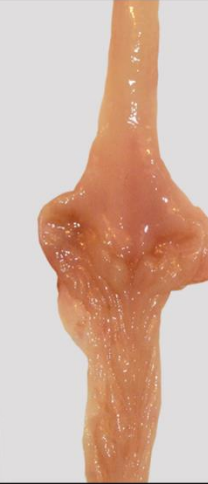

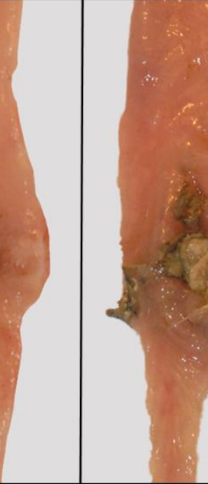
##### **b. Souche de *S. cerevisiae* CNCM I-3856**

La souche de levure *S. cerevisiae* CNCM I-3856 nous a été fournie par Lesaffre International (Marcq-en-Barœul, France) sous forme sèche. Elle a été réhydratée à température ambiante dans une solution tampon phosphate (PBS, pH=7.2, 2X10<sup>9</sup>CFU/ml) avant utilisation pour gavage. Par soucis de simplification, *S. cerevisiae* CNCM I-3856 sera simplifié en CNCM I-3856 dans la suite du manuscrit.

#### **5. Analyse macroscopique**

Lors du sacrifice à S18, l'ensemble du tube digestif était excisé, ouvert puis photographié. La présence d'une récurrence macroscopique était alors évaluée par la constatation de lésions

muqueuses au niveau anastomotique et 2 cm immédiatement en amont de l'anastomose au niveau du néo-iléon terminal. La RPO était évaluée en aveugle à l'aide d'un score macroscopique adapté du score de Rutgeerts et allant de 0 à 4 (Figure 15). Par analogie avec la RPO endoscopique des patients atteints de MC, la RPO chez le rat Tg après RIC était définie par un score  $\geq 2$  correspondant à la présence d'au moins une ulcération plus ou moins associée à une sténose inflammatoire. Les résultats ont été exprimés en médiane avec écarts interquartiles (IQR).

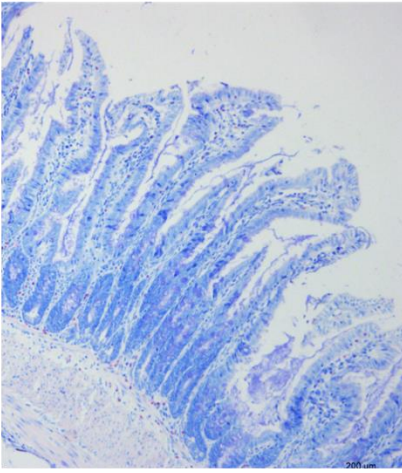
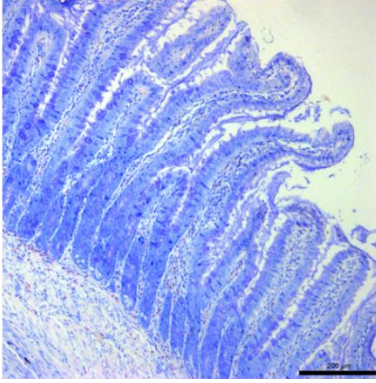
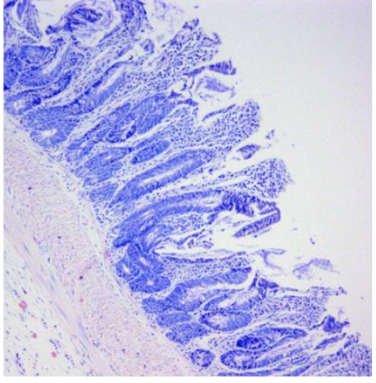
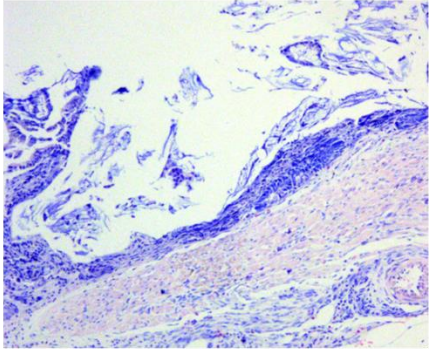
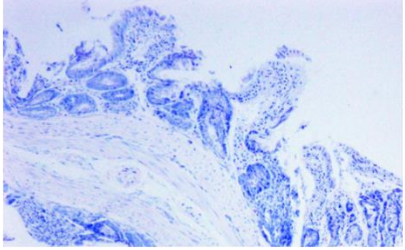
				
0	1	2	3	4
Aucune	Congestive	Ulceration < 20% (sans sténose)	Ulceration > 20% (sans stenose)	Sténose inflammatoire

*Figure 15 : Score des lésions macroscopiques*

## 6. Analyse histologique

Des biopsies tissulaires trans-anastomotiques ont été réalisées au moment de la RIC (S12) et du sacrifice (S18). Les tissus ont été fixés dans du formaldéhyde tamponné 4% pendant 24

heures puis déshydratés et imprégnés en paraffine à l'aide de l'appareil automatique LOGOS One MM098-002 (Milestone Srl, Italy). Après inclusion en paraffine, les prélèvements ont été coupés à l'épaisseur de 4  $\mu\text{m}$  puis placés sur des lames qui ont été colorées au May Grunwald Giemsa. Le score des lésions histologiques utilisé permet de coter la sévérité des lésions de 0 à 6 et a été établi par le Pr K. Geboes (Département de Pathologie et de gastroentérologie, Hôpital Universitaire, KU leuven, Belgique) (Figure 16). Des aires identiques sur les prélèvements de chaque rat (zone comprenant l'anastomose et son amont iléal) ont été observées à l'aveugle sous une magnification x10 par deux opérateurs familiers avec le score (C. Dubuquoy et C. Valibouze). Les résultats ont été exprimés en médiane avec IQR.

	0	
% échantillon atteint ↓	1	 
	2	
	3	
% échantillon atteint ↓	4	 
	5	
	6	

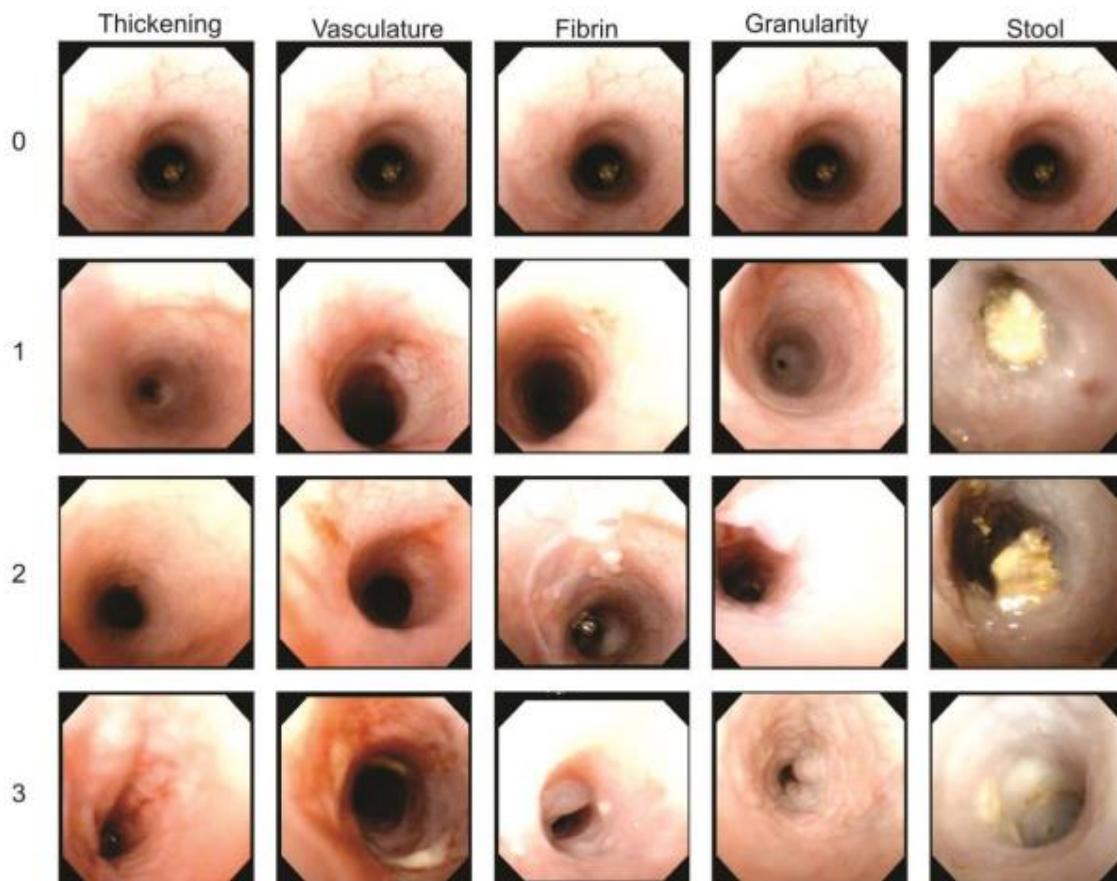
Score	Lésion histologique
0	Aucune
1	Infiltrat inflammatoire et érosions muqueuses < 30% de la section
2	30% < Infiltrat inflammatoire et érosion < 70% de la section
3	Infiltrat inflammatoire et érosions > 70% de la section
4	Ulcérations muqueuses < 30% de la section
5	30% < ulcérations muqueuses < 70% de la section
6	Ulcérations muqueuses > 70% de la section

Figure 16 : Score des lésions histologiques

## 7. Endoscopie digestive

Il a été mis en place une méthode d'exploration par endoscopie au sein de notre laboratoire au cours du Master 2 d'Aurélie Blondeaux, permettant de visualiser la zone anastomotique et de distinguer les différentes lésions pouvant être observées dans la MC (ulcération, érythème, saignement). L'endoscopie chez le rat était réalisée à l'aide d'un endoscope souple (nasofibroscope bronchique pédiatrique, Pentax FB 8V de diamètre de 2,7 mm) relié à une source de lumière et à une caméra reliée à un ordinateur permettant d'obtenir des images en temps réel. Un canal opérateur permettait l'injection d'eau afin de libérer la muqueuse des résidus de selles. La préparation colique était effectuée 24 heures avant l'examen endoscopique à l'aide d'un laxatif osmotique, selon un protocole adapté de celui utilisé chez l'Homme (1 sachet de Klean Prep de 59 g et 30 g de saccharose par litre d'eau).

L'évaluation endoscopique était effectuée à la 15<sup>ième</sup> semaine par deux opérateurs (S15) (A. Blondeaux et C. Dubuquoy) en repérant l'anastomose à l'aide des fils utilisés pendant la chirurgie. La sévérité des lésions étaient évaluées à l'aide du score « MEICS » pour « *Murine Endoscopic Index of Colitis Severity* » (Figure 17) permettant de grader la sévérité de l'atteinte en fonction de 5 paramètres (épaississement muqueux, caractère granuleux de la muqueuse, vascularisation, quantité de fibrine et aspect des selles) et allant de 0 à 15. Les résultats ont été exprimés en médiane avec IQR.



Endoscopy scoring Item

Score	Thickening	Vasculature	Fibrin	Granularity	Stool
0	transparent	normal	none	none	normal
1	moderate	moderate	little	moderate	still shaped
2	marked	marked	marked	marked	unshaped
3	intransparent	absent/bleeding	extreme	extreme	spread

*Figure 17 : Score MEICS*

Source : Koelink et al., J Crohn Colitis (2018) (295)

## 8. Analyse bactériologique

La flore luminale a été recueillie de manière hebdomadaire de la 11<sup>ème</sup> semaine (S11) à S18 chez chaque rat (échantillon de 10 à 600 mg de selles après massage abdominal). Afin de quantifier la flore adhérente, des fragments de muqueuse (10-100 mg) ont été recueillis au



niveau iléal au moment de la chirurgie (S12) et de la muqueuse anastomotique et iléale au moment du sacrifice (S18) chez tous les rats (Figure 18). Les prélèvements de selles et de fragments de muqueuse ont été réalisés dans des conditions d'asepsie et placés dans 1,5 ml d'une solution de ringer cystéiné.

Après plusieurs dilutions, les prélèvements étaient incubés 24-72 heures à 37°C sur des géloses d'Agar dans un milieu de culture Drigalski contenant 100 µg/ml de STREPTOMYCINE afin de sélectionner et de mieux détecter la souche LF82 parmi les autres entérobactéries. Les résultats ont été exprimés en médiane avec IQR. L'analyse bactériologique des prélèvements a été effectuée en aveugle.

## **9. Évaluation de la flore intestinale par analyse métagénomique**

Les techniques de métagénomique moléculaires permettent d'analyser l'ensemble de la flore intestinale à un temps donné et ceci de manière exhaustive. Il s'agit d'une technique de séquençage du génome bactérien extraite d'un échantillon par l'approche dite du « *shotgun* ». A cet effet, des échantillons de selles ont été prélevés sur 9 rats (3 Tg PBS, 4 Tg Tofa, 1 nTg PBS et 1 nTg Tofa), à différents moments (9<sup>ième</sup> semaine (S9), S12 et S18). L'analyse a été conduite par l'entreprise Genoscreen®.

## **10. Quantification des ARNm de la muqueuse**

Des prélèvements tissulaires de la zone iléale ont été effectués au moment de la chirurgie (S12) et au moment du sacrifice (S18). Les prélèvements ont été congelés à -80°C puis les ARN totaux ont été extraits à l'aide du kit Nucleospin RNA (Macherey Nagel). Après inactivation

des RNAses, les traces d'ADN génomiques ont été supprimés des échantillons à l'aide d'un traitement par DNAses puis les ARN totaux ont été élués dans de l'eau RNAses free. La quantité en ARN des échantillons était ensuite mesurée en utilisant un Nanodrop spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). La rétrotranscription était réalisée à l'aide du kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technology). Un  $\mu\text{g}$  de la solution d'ARN totaux était ensuite mis en présence d'enzyme transcriptase inverse (Multiscribe, cDNA Reverse Transcriptase), d'amorces aléatoires (random primers), et de tampon (RT Buffer) dans l'automate Gene Amp<sup>®</sup> PCR System 9700 (Thermo Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, Etats-Unis) pendant 10 minutes à 25°C, puis 2 heures à 37°C et enfin 5 minutes à 85°C. Tous les kits ont été utilisés selon les protocoles des fabricants.

La quantification des ARN de l'IL-1 $\beta$ , de l'IL-6, du TNF  $\alpha$ , de l'IFN  $\gamma$ , de l'IL-17, de l'IL-23, de l'IL-10 et du CEACAM6 murin a été réalisée par qPCR en temps réel de 40 cycles en utilisant le système StepOnePlus<sup>™</sup> Real-Time PCR Systems (Thermo Fischer Scientific, Waltham, Massachusetts, Etats-Unis) à l'aide du SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystem). Les quantifications des signaux PCR ont été exprimés de manière relative à l'expression de la  $\beta$ -actine, utilisée comme gène de référence. Les valeurs obtenues pour l'expression relative de chaque gène ont été exprimés en médiane avec IQR.

## **11. Protocoles des deux études**

- a. Première partie : Prévention de la RPO AIEC-induite par administration de la levure *S. cerevisiae* CNCM I-3856

Soixante-quatre rats ont été opérés d'une RIC avec anastomose termino-terminale à S12 (36 Tg et 26 nTg). L'intervention était réalisée en aveugle du statut (Tg et nTg) et du groupe

par deux opérateurs (C. Dubuquoy et C. Valibouze) (Figure 18). Les rats Tg étaient répartis en 4 groupes :

- Un groupe Tg recevant la LF82 seule (Tg LF82, n=8)
- Un groupe Tg recevant une co-administration de CNCM I-3856 et de LF82 (Tg CNCM I-3856+LF82, n=18)
- Un groupe Tg recevant seulement CNCM I-3856 (Tg CNCM I-3856, n=7)
- Un groupe Tg recevant du PBS seul (Tg PBS, n=5)

Des groupes de rats nTg recevant des administrations orales selon les mêmes conditions que les groupes Tg ont été constitués et ont servis de groupes contrôles :

- Un groupe nTg recevant la LF82 seule (nTg LF82, n=5)
- Un groupe nTg recevant une co-administration de CNCM I-3856 et de LF82 (nTg CNCM I-3856+LF82, n=9)
- Un groupe nTg recevant seulement CNCM I-3856 (nTg CNCM I-3856, n=7)
- Un groupe nTg recevant du PBS seul (nTg PBS, n=5)

Toutes les administrations étaient réalisées par gavage oral. L'administration de CNCM I-3856 était réalisée de manière quotidienne, le matin, de S10 (10<sup>ième</sup> semaine de vie) au sacrifice à S18 à la concentration de 10<sup>9</sup> CFU/jour. L'administration de PBS était réalisée de manière quotidienne, le matin, de S10 à S18. L'administration de LF82 était réalisée de manière quotidienne dans l'après-midi de la 11<sup>ième</sup> semaine de vie (S11) au sacrifice à S18 à la concentration de 10<sup>9</sup> CFU/jour. Dans le but de faciliter la persistance des AIEC, de la streptomycine était administrée dans l'eau de boisson à la concentration de 0,5 mg/ml les trois derniers jours de S10 chez tous les groupes de rats.

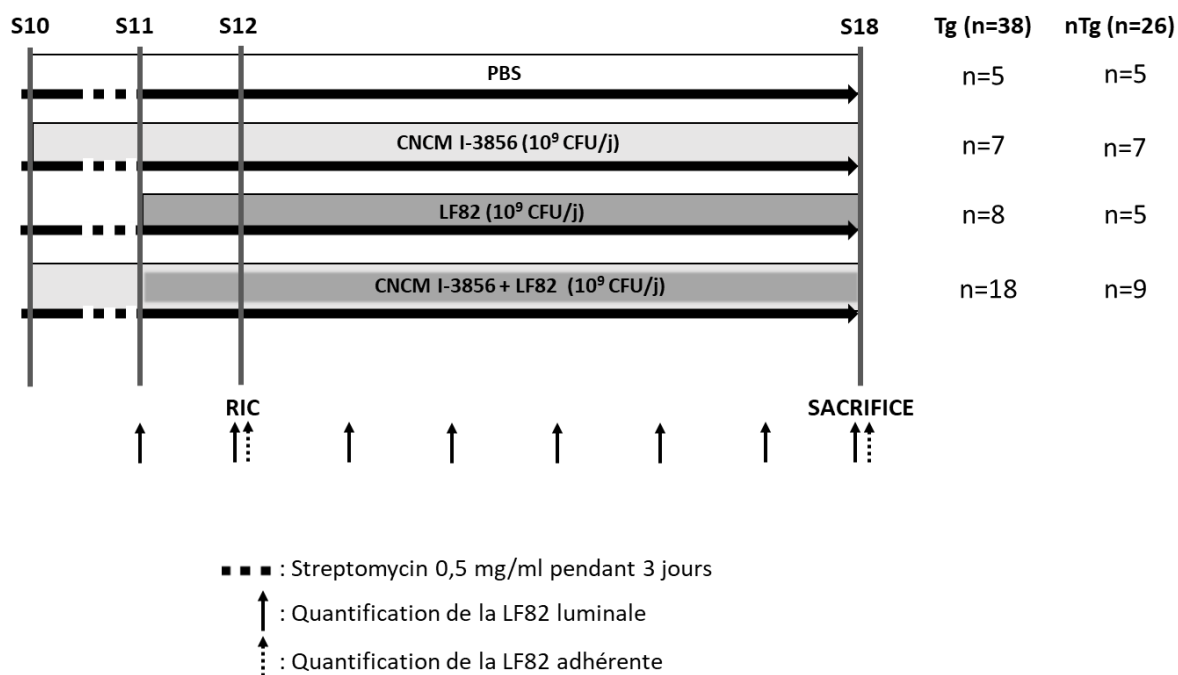


Figure 18 : Design de l'étude évaluant la prévention par *S. cerevisiae* CNCM I-3856 de la RPO AIEC-induite

Abréviations : j : jours, RIC : résection iléo-caecale.

Les rats étaient suivis de manière hebdomadaire sur le plan clinique (pourcentage de perte de poids, mortalité).

La présence d'une récurrence macroscopique et sa sévérité étaient évaluées au moment du sacrifice à S18 selon le score de lésion macroscopique (Figure 15).

La sévérité des lésions histologiques était évaluée au moment du sacrifice à S18 selon le score des lésions histologiques (Figure 16).

Le taux de LF82 luminale a été quantifié de manière hebdomadaire dans les selles et le taux de LF82 adhérente a été quantifié au moment de la chirurgie à S12 et au moment du sacrifice à S18.

Une quantification des ARNm de différentes protéines médiatrices de l'inflammation (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF  $\alpha$ , IFN  $\gamma$ , IL-17, IL-23 et IL-10) a été réalisée au moment de la chirurgie du sacrifice.

b. Seconde partie : Evaluation de l'effet d'un traitement par Tofacitinib dans la prévention de la RPO

Vingt-neuf rats Tg ont été répartis en deux groupes (Figure 19) :

- Un groupe de rat Tg recevant du Tofacitinib (Tg Tofa, n=15)
- Un groupe de rat Tg contrôle recevant du PBS (Tg PBS, n=14)

Quatre rats nTg ont été répartis en deux groupes contrôle des groupes de rat Tg :

- Un groupe de rat nTg recevant du Tofacitinib (nTg Tofa, n=2)
- Un groupe de rat nTg contrôle recevant du PBS (Tg PBS, n=2)

Le Tofacitinib était dissout dans du PBS à la concentration de 5 mg/ml puis administré de manière biquotidienne par gavage oral (de 300 à 500  $\mu$ L en fonction du poids des animaux) à partir de S10 et jusqu'au sacrifice. La posologie optimale a été obtenue à partir des études antérieures effectuées dans des modèles murins, en tenant compte de la posologie quotidienne recommandée chez l'homme dans le traitement de la RCH (296,297) (Figure 19).

Tous les rats ont été opérés à S12 d'une RIC avec anastomose termino-terminale selon le protocole de RIC décrit dans le paragraphe 2. « Protocole chirurgical », en aveugle du statut et du groupe.

Les rats étaient suivis de manière hebdomadaire sur le plan clinique (pourcentage de perte de poids, mortalité).

La présence et la sévérité de lésions macroscopique étaient évaluées à S15 à l'aide du score endoscopique (Figure 17).

La présence d'une récurrence macroscopique et sa sévérité étaient évaluées au moment du sacrifice à S18 selon le score de lésion macroscopique (Figure 15).

La sévérité des lésions histologiques était évaluée au moment du sacrifice à S18 selon le score des lésions histologiques (Figure 16).

Des prélèvements pour l'analyse en métagénomique de la flore intestinale était réalisés à S9, lors de la chirurgie à S12 et lors du sacrifice à S18 (Figure 19).

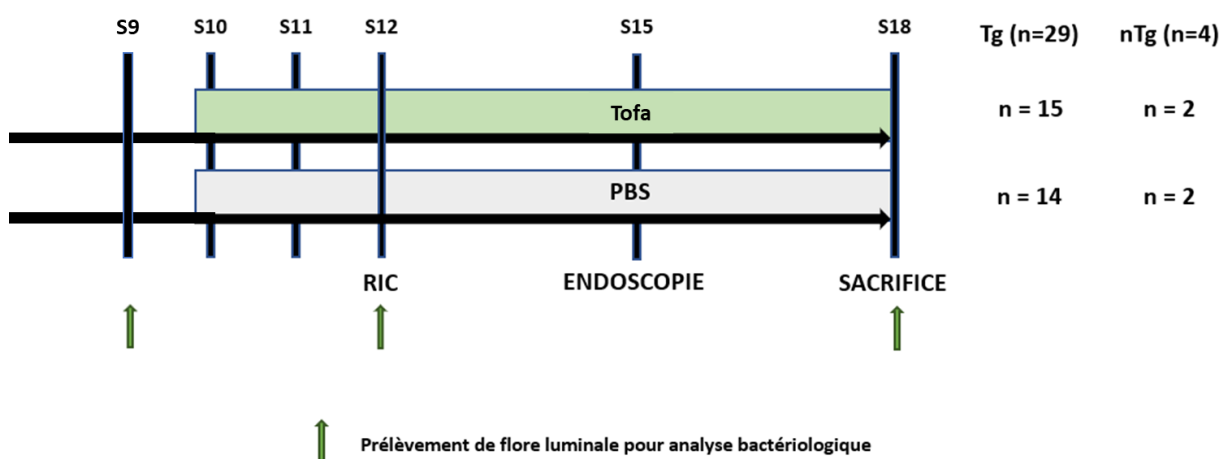


Figure 19 : Design de l'étude évaluant l'effet du Tofacitinib sur la RPO

RIC : résection iléo-caecale.

## 12. Analyse statistique

Les données quantitatives ont été exprimées en médianes avec IQR (médiane [IQR]). Les analyses de comparaison des variables quantitatives non paramétriques ont été réalisées à l'aide des test bilatéraux de Mann-Whitney pour les données non appariées, et de Wilcoxon

pour les données appariées. Un test du  $\chi^2$  (bilatéral) a été utilisé pour les analyses de contingences. Les analyses de corrélation ont été réalisées à l'aide d'un test bilatéral de Spearman. Pour classer les rats dans les catégories hautement ou moyennement infectés par la LF82, et dans les catégories lésions sévères ou modérées endoscopiques, une valeur seuil a été déterminée à l'aide d'une courbe ROC (*receiver operating characteristic*). Les risques de récurrence en fonction de l'appartenance à l'une des différentes catégories précédentes ont été comparés à l'aide d'un test bilatéral du  $\chi^2$ . Les différences étaient considérées comme significatives lorsque la valeur de p était strictement inférieure à 0,05. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Graphpad Prism 5.00 software package pour PC (Graphpad Software, San Diego, CA) et Xlstat 2020.1 pour la courbe ROC.

# RÉSULTATS

**Première partie :**

**Prévention de la RPO AIEC-induite par  
administration de la levure *S. cerevisiae*  
CNCM I-3856**



## 1. Suivi clinique

Aucune mortalité, diarrhée ou selle sanglante n'a été constatée dans le post-opératoire. On observait la même tendance évolutive de variation de poids dans tous les groupes Tg et nTg : il existait une perte de poids la semaine suivant l'intervention, à S13, suivie d'une récupération progressive avec une phase de plateau jusqu'au sacrifice (Figure 20 A et B).

La variation de poids globale au cours du suivi, mesurée par la différence relative de perte de poids entre S11 et S18, était similaire dans les 4 groupes, et non significative. Il existait une perte de poids à S13 significativement moins importante dans le groupe de rats Tg CNCM I-3856+LF82 que dans le groupe de rats Tg recevant la LF82 seule (95,7 [92,4-97,2] vs 85,4 [81,1-94],  $p = 0,007$ ) (Figure 20 B).

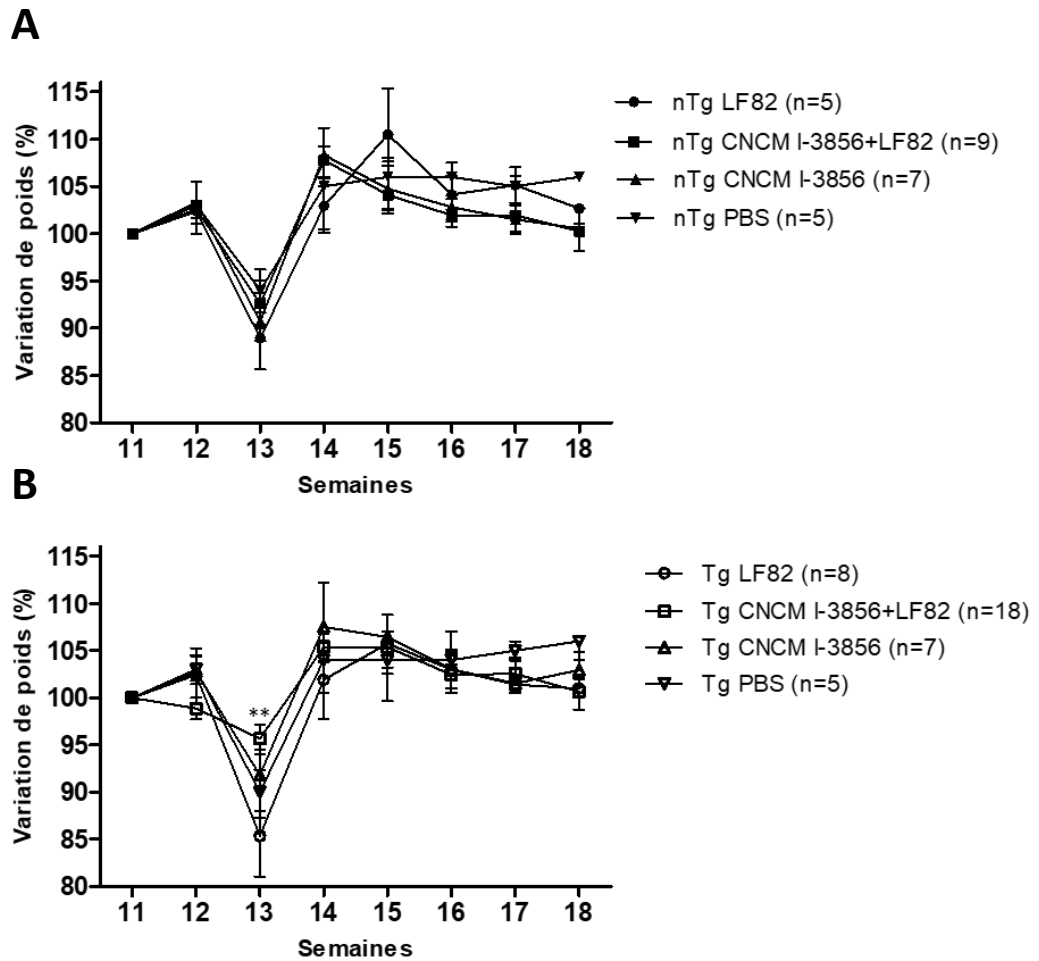


Figure 20 : Evolution des variations de poids au cours du temps

Evolution du poids en comparaison avec le poids la semaine précédant l'intervention (S11) dans les groupes de rats non transgéniques (nTg) (A) et dans les groupes de rats transgéniques (Tg) (B). \*\* :  $p < 0,01$ .

## 2. Effet de CNCM I-3856 sur les lésions macroscopiques et la RPO

Il n'existait aucune lésion intestinale macroscopique iléale à S12 dans l'ensemble des groupes de rats Tg et nTg.

Au moment du sacrifice, aucune lésion macroscopique significative et par conséquent aucune RPO macroscopique n'a été observée dans les groupes de rats nTg recevant du PBS, CNCM I-3856, LF82 ou l'association CNCM I-3856+LF82 (Figure 21 A). Un même score

macroscopique médian a été observé chez les rats Tg recevant du PBS ou CNCM I-3856 seul (1 [0-1]), sans différence significative retrouvée avec les groupes de rats nTg contrôles (Figure 21 A).

A l'inverse, des lésions macroscopiques sévères (érosions et ulcérations de plus de 20% de la circonférence anastomotique, sans sténose) ont été observées chez les rats Tg LF82 (3,5 [2-4]) menant à un taux de récurrence de 87,5% (Figures 21 A-B). En comparaison, un traitement par CNCM I-3856 concomitant à l'administration de LF82 (groupe Tg CNCM I-3856+LF82) permettait une réduction significative de plus de 60% du score macroscopique (1 [0-2] vs 3,5 [2-4],  $p = 0,002$ ) et du taux de RPO (87.5% vs 33.3%,  $p = 0,01$ ) (Figures 21 A-B).

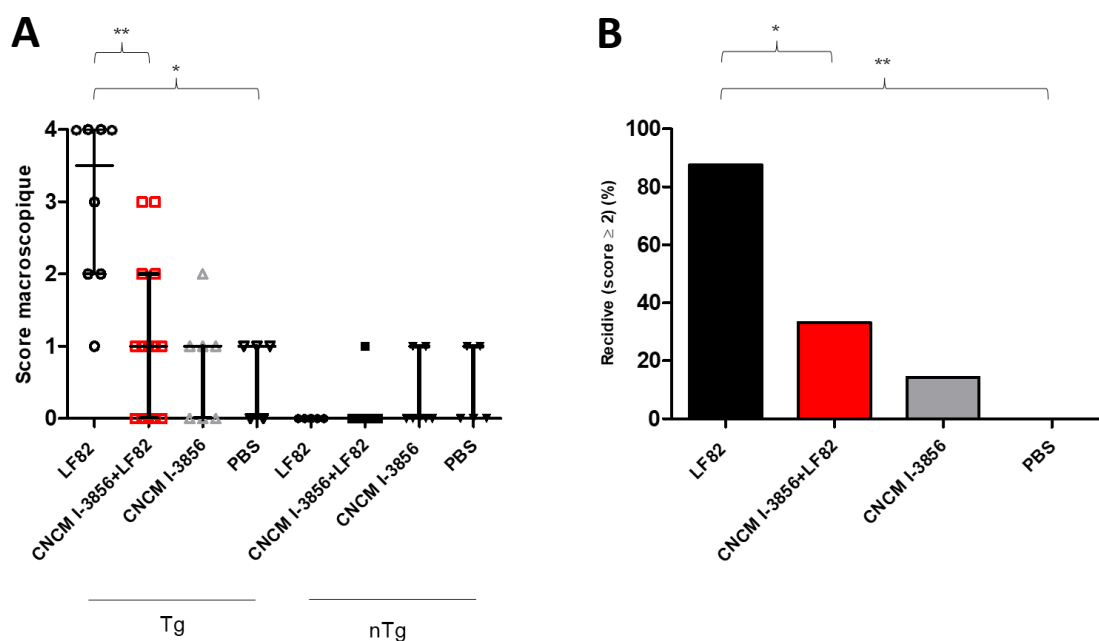


Figure 21 : Lésions macroscopiques et RPO au moment du sacrifice

**A** : Scores macroscopiques à S18 dans les différents groupes de rats transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) ; **B** : % de RPO (score macroscopique  $\geq 2$ ) dans les groupes de rats Tg à S18. \* :  $p < 0,05$ .

### 3. Effet de CNMI-3856 sur les lésions histologiques

Aucune lésion histologique significative n'était présente au niveau iléal au moment de la chirurgie à S12 chez tous les groupes de rats Tg et nTg.

À S18, aucune lésion histologique significative (présence de zones présentant une légère infiltration leucocytaire et quelques érosions, d'une longueur n'excédant pas 30% du prélèvement et pouvant être expliquées par le contexte post-opératoire) n'a été observée dans les groupes de rats nTg (Figure 22).

Des lésions histologiques correspondant à des ulcérations et des érosions sévères associées à une infiltration neutrophilique ont été observées à S18 chez les rats Tg recevant la LF82 seule (4.5 [3,3-5,8]). En comparaison avec les rats Tg recevant la LF82 seule, la co-administration de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 permettait la réduction significative de plus de 50% du score de lésion histologique (4,5 [3,3-5,8] vs 2 [1,3-3],  $p = 0,003$ ). Aucune lésion significative n'a été observée chez les rats Tg recevant CNCM I-3856 seule (Figure 22).

Il n'existait pas de différence significative entre le score histologique du groupe Tg CNCM I-3856 et les scores histologiques des groupes nTg contrôles (Figure 22)

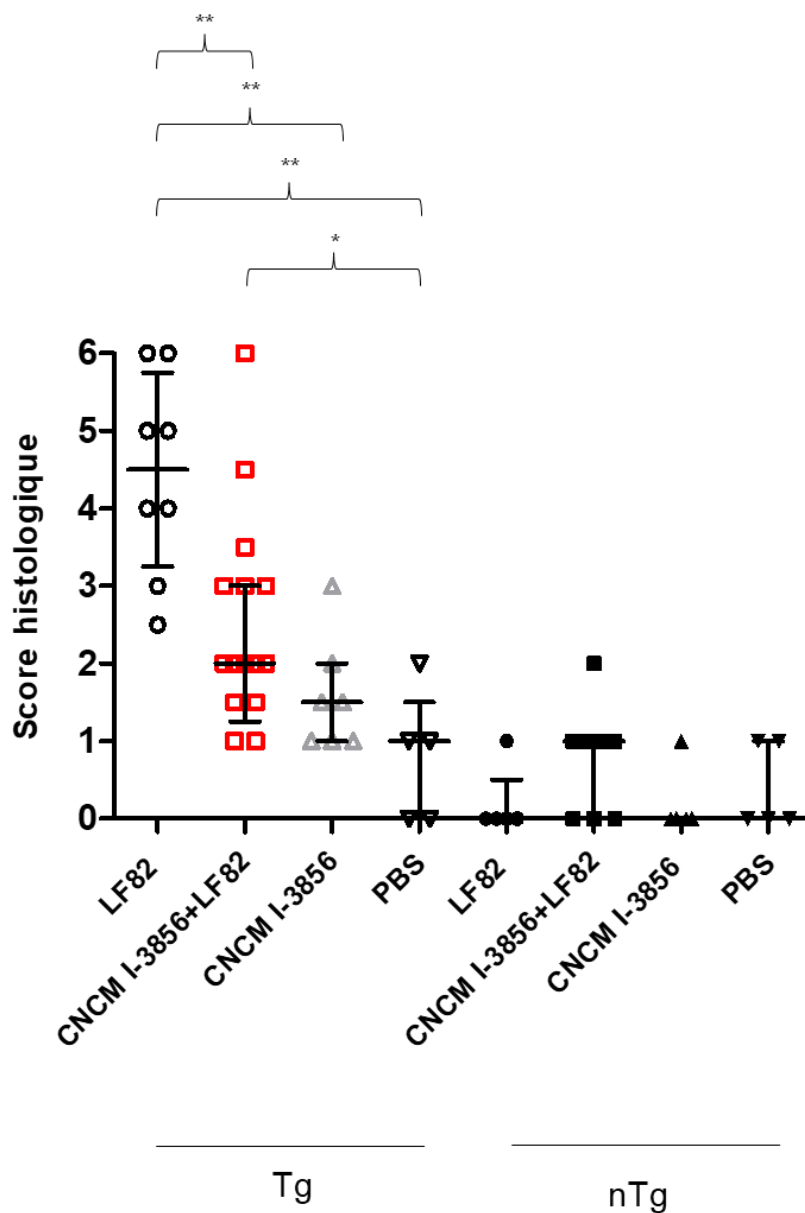


Figure 22 : Lésions histologiques lors du sacrifice

Scores histologiques dans les différents groupes de rats transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S18. \* :  $p < 0,05$ , \*\* :  $p < 0,01$ .

#### 4. Effets de CNCM I-3856 sur la persistance de la LF82 luminaire et adhérente

A S12, soit une semaine après le début de l'administration de la LF82 ( $10^9$  CFU/jour) et une semaine après la chirurgie, les quantités de LF82 luminaires (Figure 23) et adhérentes (Figure

24) étaient similaires dans tous les groupes de rats Tg et nTg recevant la LF82 seule ou en association avec CNCM I-3856.

Alors qu'on observait des niveaux de LF82 luminale et adhérente similaire entre S12 et S18 dans le groupe de rats Tg LF82 (Figures 23 et 24), une diminution significative des taux de LF82 luminale et adhérente entre S12 et S18 était observée dans le groupe Tg CNCM I-3856+LF82 (respectivement 4,6 [3,5-5,2] vs 1,8 [1,7-2,3],  $p = 0,0002$  et 3,1 [2,5-3,6] vs 2,5 [2,3-2,6],  $p = 0,0005$ ) (Figures 23 et 24).

De plus, la persistance globale de la LF82 luminale après la chirurgie et durant les 5 dernières semaines du suivi était significativement plus importante dans le groupe de rats Tg LF82 en comparaison avec le groupe de rat recevant la co-administration CNCM I-3856+LF82 ( $0,22 [2,1 \cdot 10^{-8}-0,7]$  vs  $-0,6 [-0,7-0,3]$ ,  $p = 0,0004$ ) (Figure 25).

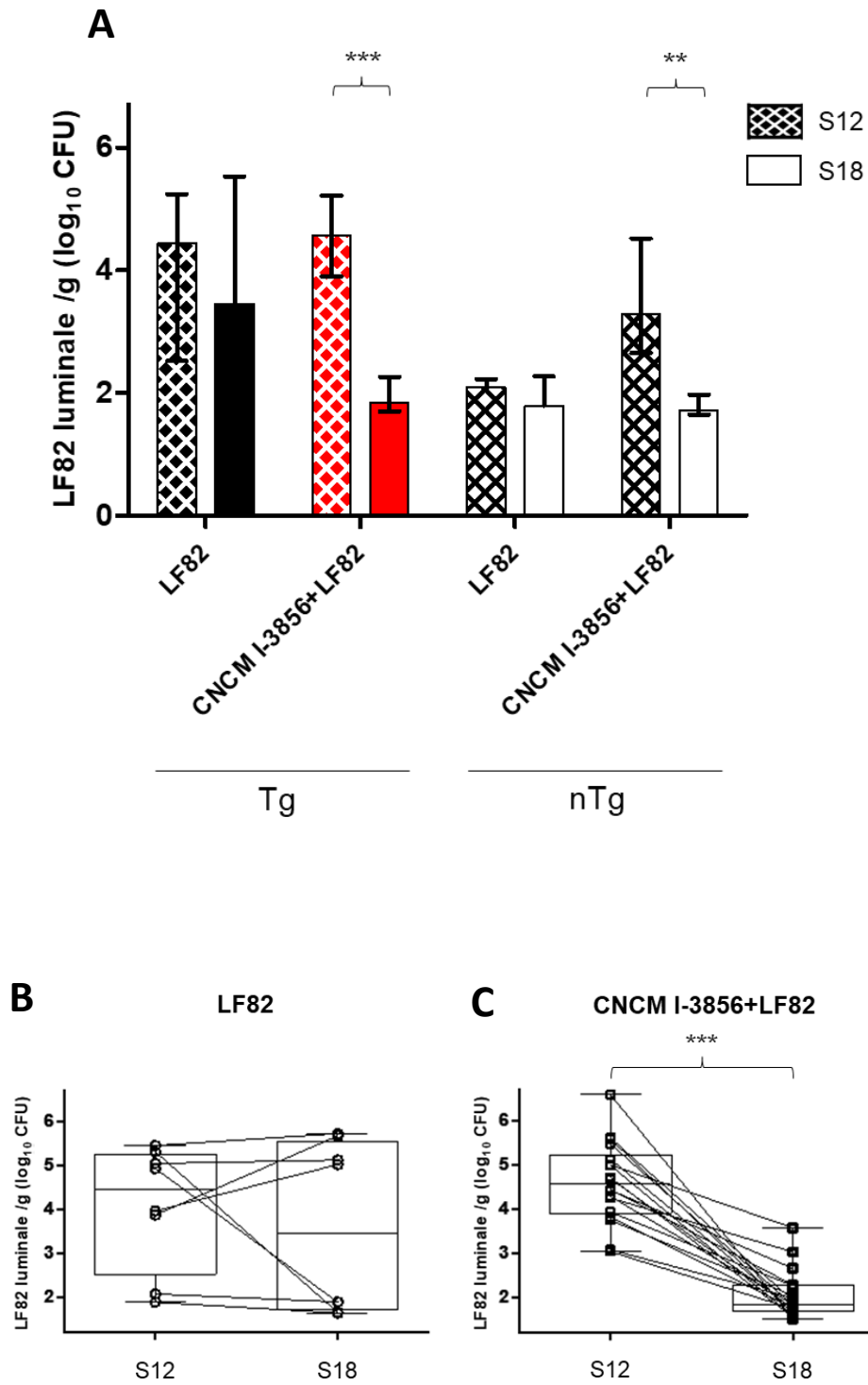


Figure 23 : Niveaux de LF82 luminaire à S12 et à S18

Niveaux de LF82 luminaire à S12 et à S18. **A** : dans les différents groupes de rats Tg et nTg à S18 ; **B** : en apparié pour chaque rat Tg recevant CNCM I-3856 et la LF82 ; **C** : en apparié pour chaque rat Tg recevant de la LF82 seule. \*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*  $p < 0,001$ .

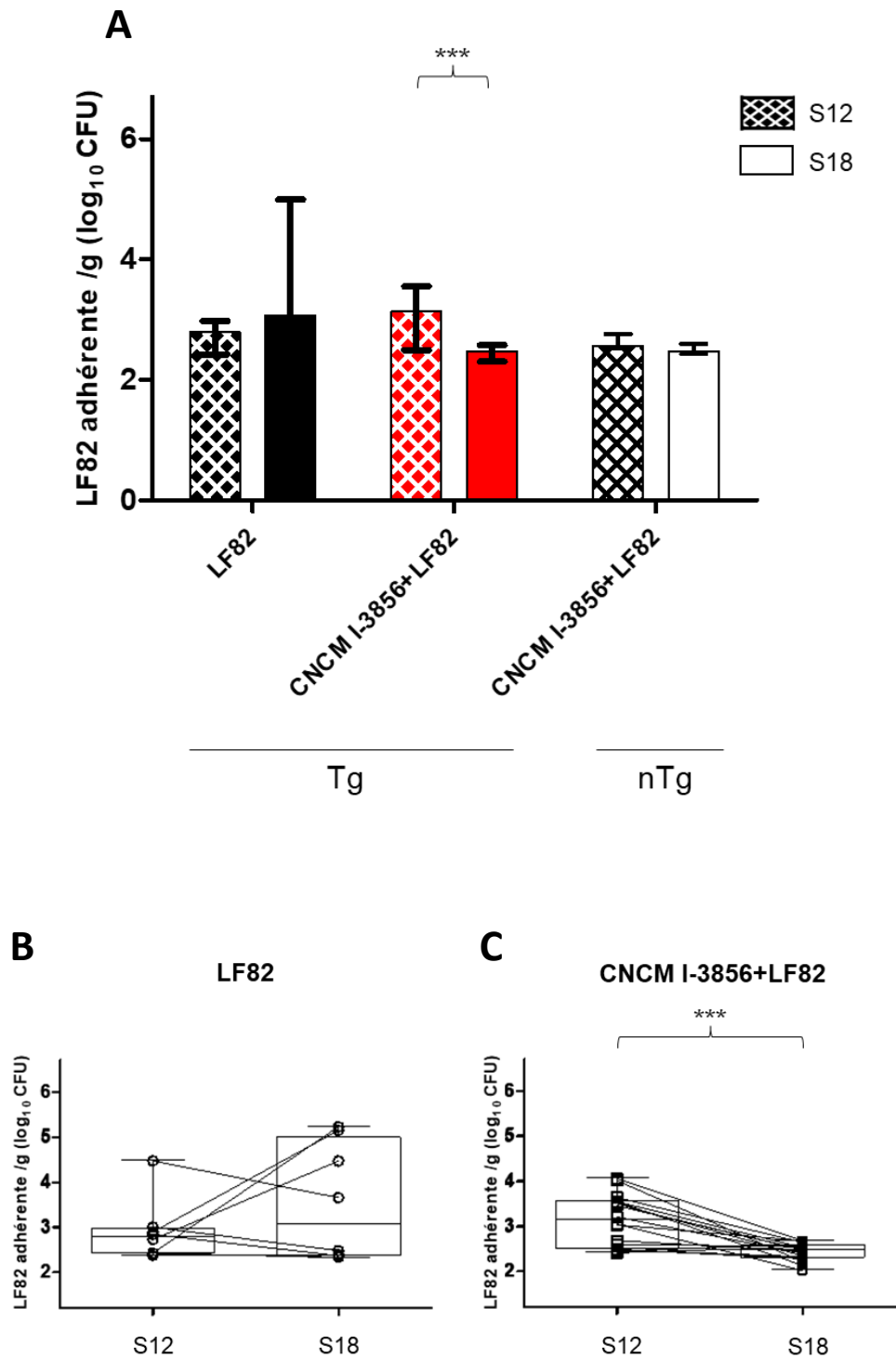


Figure 24 : Niveaux de LF82 adhérente à S12 et S18

Niveaux de LF82 adhérente à S12 et à S18. **A** : dans les différents groupes de rats Tg et nTg à S18 ; **B** : en apparié pour chaque rat Tg recevant CNCM I-3856 et LF82 ; **C** : en apparié pour chaque rat Tg recevant de la LF82 seule.



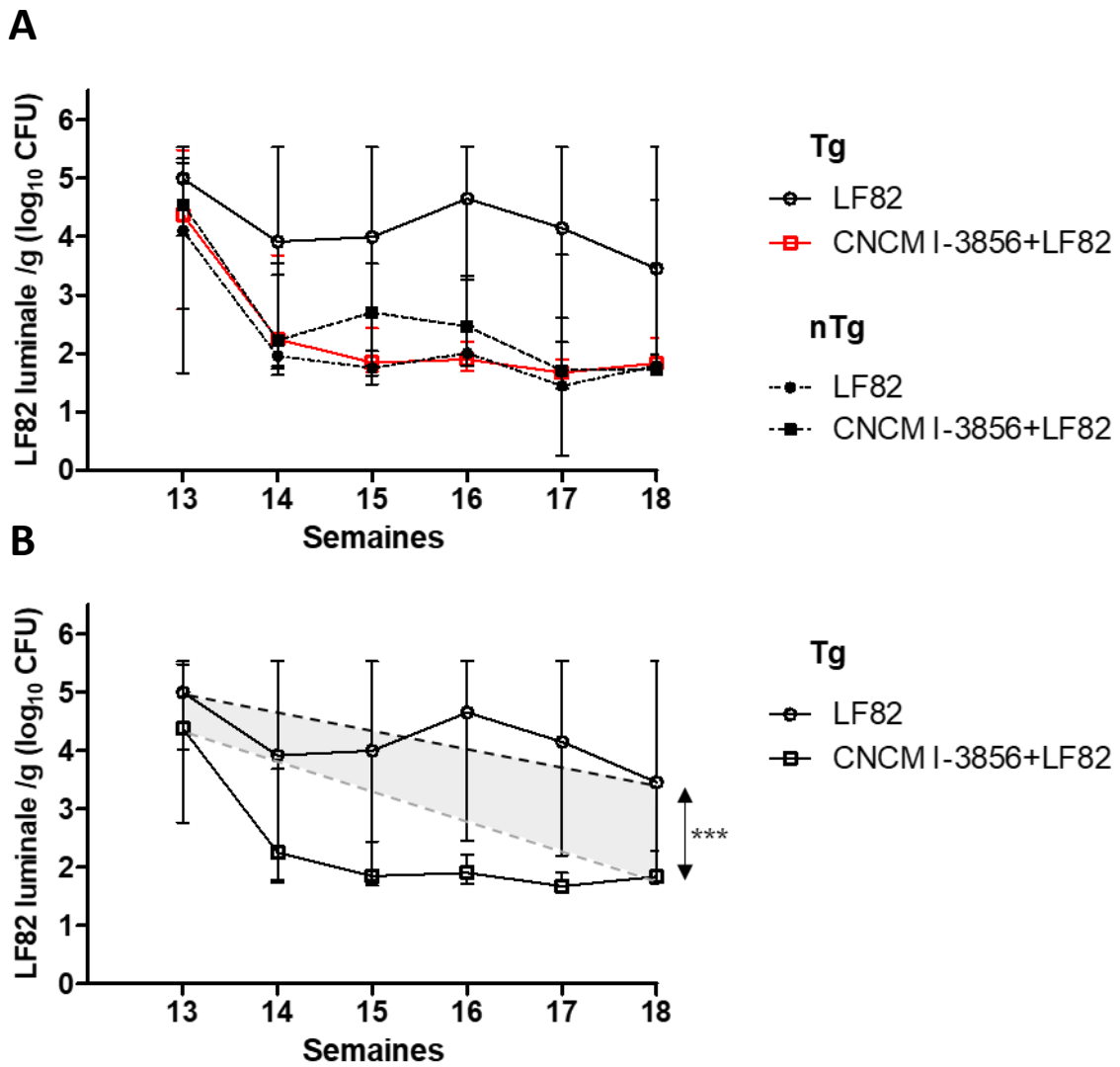


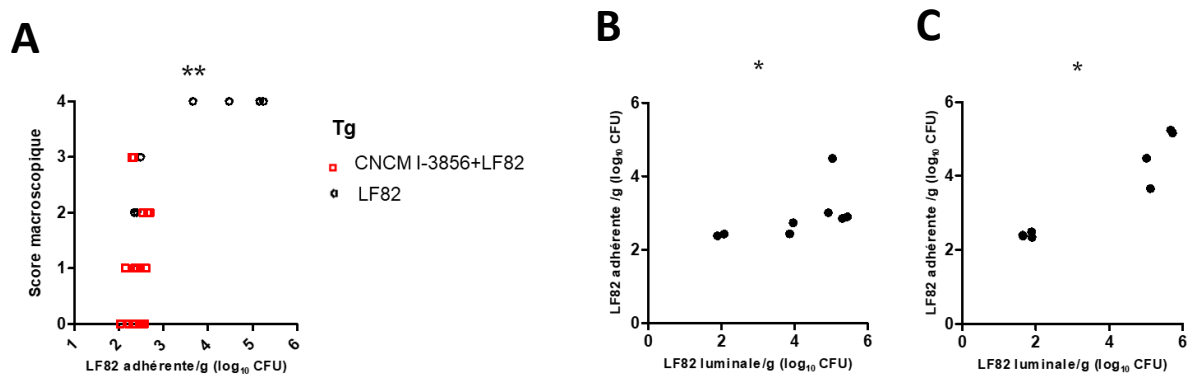
Figure 25 : Evolution de la LF82 luminaire après la chirurgie

**A** : Evaluation hebdomadaire du niveau de LF82 luminaire après chirurgie dans les groupes de rats transgéniques (Tg) HLA-B27 et dans les groupes de rats contrôles non transgéniques (nTg) ; **B** : Evaluation de la persistance globale de LF82 dans les selles après chirurgie dans les groupes Tg . \*\*\* :  $p < 0,001$ .

## 5. Corrélation entre niveau de la colonisation par la LF82 et sévérité des lésions macroscopiques chez les rats Tg

Au sacrifice, il existait une corrélation entre la sévérité des lésions macroscopiques et le niveau de LF82 adhérente chez les groupes de rats Tg qui recevaient la LF82 seule ou en

association avec le CNCM I-3856 ( $r = 0,49$ ,  $p = 0,006$ ) (Figure 26 A). Par ailleurs, le niveau de LF82 adhérente était aussi significativement corrélé avec les taux de LF82 luminale à S12 ( $r = 0,91$ ,  $p = 0,02$ ) et à S18 ( $r = 0,79$ ,  $p = 0,01$ ) chez les rats Tg recevant la LF82 seule (Figure 26 B et C).



*Figure 26 : Corrélation entre score macroscopique et niveau de LF82 adhérente et luminale*

**A** : Corrélation entre score macroscopique et LF82 adhérente en apparié dans les groupes de rats Tg recevant la LF82 seule ou en association avec CNCM I-3856 ( $r = 0,49$ ,  $p = 0,006$ ) ; **B** : Corrélation entre LF82 adhérente et LF82 luminale à S12 pour chaque rat dans le groupe Tg LF82 ( $r = 0,91$ ,  $p = 0,02$ ) ; **C** : Corrélation entre LF82 adhérente et LF82 luminale à S18 pour chaque rat dans le groupe Tg LF82 ( $r = 0,79$ ,  $p = 0,01$ ). \* :  $p < 0,05$ , \*\* :  $p < 0,01$ .

Partant de ces constatations, il a ensuite été évalué si un taux de LF82 luminale au cours du suivi post-opératoire pouvait être prédictif d'une RPO à la S18 chez les rats Tg recevant la LF82 avec ou sans co-administration de CNCM I-3856. En utilisant la valeur seuil de 2,262 log<sub>10</sub> CFU de LF82 luminale à S14 déterminée à l'aide d'une courbe ROC, 14 rats Tg ont été classés en hautement infectés (HI) à la LF82 et 12 comme moyennement infectés (MI) à S14 (Figure 27 A et B). La survenue d'une RPO était significativement plus fréquente dans le groupe de rats HI en comparaison avec le groupe de rats MI (71,4% vs 25%,  $p = 0,02$ ) (Figure 27 B). La valeur

seuil de 2,262 log<sub>10</sub> CFU de LF82 luminale à S14 présentait une sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de RPO respectivement de 80%, 69,2%, 71,4% et 75%.

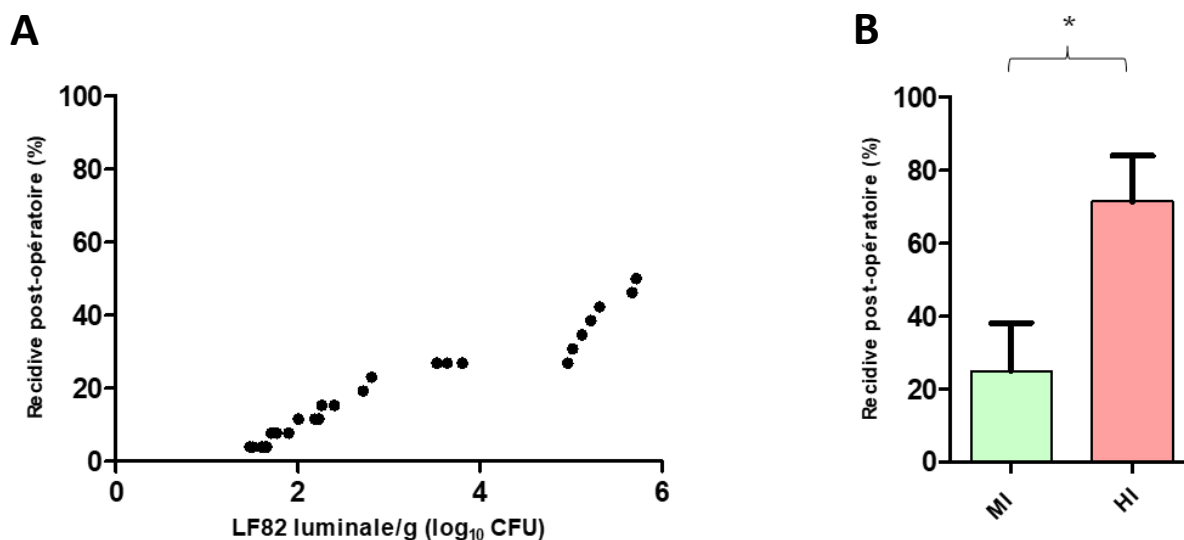


Figure 27 : Valeur pronostique de la LF82 luminale à S14 sur la RPO

**A** : Corrélation entre niveaux de LF82 luminale à S14 et risque de RPO à S18 dans les groupes de rats Tg recevant la LF82 (seule ou en association avec CNCM I-3856) ; **B** : Augmentation de la fréquence de la RPO chez les rats Tg LF82 ou Tg LF82+CNCM I-3856 hautement infectés par la LF82 (HI, défini par taux de LF82 luminale à S14 > 2,262 log<sub>10</sub> CFU) en comparaison avec les rats moyennement infectés (MI, défini par taux de LF82 luminale à S14 < 2,262 log<sub>10</sub> CFU (71.4% vs 25%, p = 0,02). \* : p < 0,05.

## 6. Quantification des ARNm péri-anastomotiques

Des niveaux variables d'ARNm de l'IL-1 $\beta$ , de l'IFN  $\gamma$  et du CEACAM6 ont été constatés dans les prélèvements de S12 et S18 chez les groupes de rats Tg et nTg, et ceci indépendamment de la présence d'une RPO, ou de l'administration reçue. Les groupes de rats nTg ne présentaient pas de variations significatives au cours du temps des taux d'ARNm des différentes cytokines testées.

Concernant la cytokine IL-10, une augmentation significative des ARNm entre S12 et S18 n'a été constatée qu'en analyse appariée chez les groupes de rats Tg qui recevaient CNCM I-3856. L'administration de CNCM I-3856 avec ou sans LF82 entraînait une augmentation très significative de la production d'ARNm d'IL-10 dans la zone péri-anastomotique entre la chirurgie et le sacrifice (respectivement  $2,5 \cdot 10^5$  [ $1,7 \cdot 10^5$ - $2,6 \cdot 10^5$ ] vs  $4,9 \cdot 10^5$  [ $3,3 \cdot 10^5$ - $9 \cdot 10^5$ ],  $p = 0,017$  et  $2,6 \cdot 10^5$  [ $1,5 \cdot 10^5$ - $3,9 \cdot 10^5$ ] vs  $7,4 \cdot 10^5$  [ $5,3 \cdot 10^5$ - $0,4 \cdot 10^5$ ],  $p = 0,031$ ) alors que dans le groupe de rats LF82 des niveaux similaires étaient constatés (Figure 28 A-B et C).

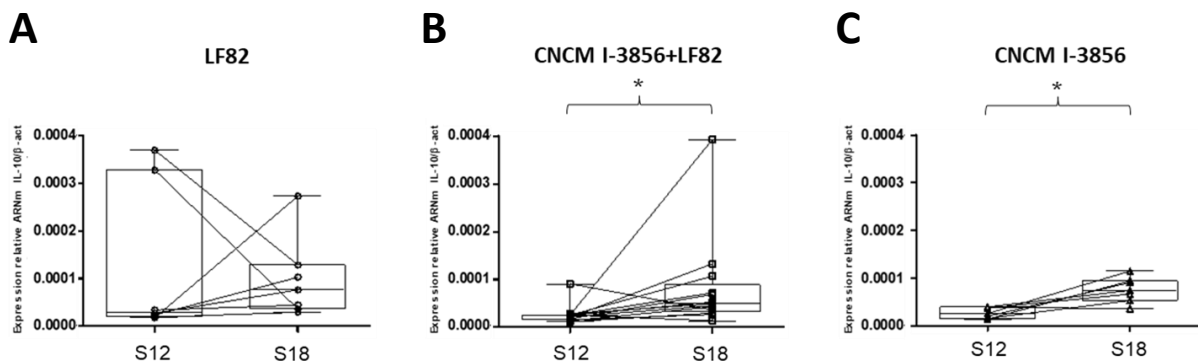


Figure 28 : Quantification péri-anastomotique de l'ARNm de la cytokine IL-10

Quantification des ARNm d'IL-10 entre la chirurgie (S12) et le sacrifice (S18) en analyse appariée dans le dans le groupe de rats Tg recevant la LF82 seule (A), dans le groupe de rat Tg recevant la co-administration CNCM I-3856 et la LF82 (B), et dans le groupe de rat Tg recevant CNCM I-3856 seule (C). \* :  $p < 0,05$ .

Concernant les cytokines pro-inflammatoires, l'administration de la LF82 chez les rats Tg entraînait une augmentation significative des ARNm de l'IL-23 à S18 par rapport aux groupes de rats Tg traités par CNCM I-3856, avec ou sans LF82 (respectivement  $p = 0,04$  et  $p = 0,006$ ) (Figure 29 A). De plus, l'analyse en apparié montrait une augmentation significative de la production d'IL-23 entre la chirurgie et le sacrifice dans le groupe Tg recevant la LF82 ( $2,2 \cdot 10^4$

[ $1,8 \cdot 10^4$ - $8 \cdot 10^4$ ] vs  $26,9 \cdot 10^4$  [ $6,1 \cdot 10^4$ - $6 \cdot 10^4$ ],  $p = 0,008$ ) alors qu'aucune différence significative n'était observée dans les groupes Tg traités par CNCM I-3856 avec ou sans administration de LF82 (Figures 29 B-C-D).

L'analyse des niveaux d'ARNm de l'IL-17 a révélé des taux significativement plus élevés à S18 chez les rats Tg recevant la LF82 seule par rapport au groupe Tg recevant CNCM I-3856+LF82 ( $2,7 \cdot 10^4$  [ $0,8 \cdot 10^4$ - $9,5 \cdot 10^4$ ] vs  $0,4 \cdot 10^4$  [ $0,2 \cdot 10^4$ - $0,6 \cdot 10^4$ ],  $p = 0,015$ ) (Figure 30 A). En analyse appariée, on constatait une augmentation significative des taux d'ARNm entre la chirurgie et le sacrifice dans l'ensemble des groupes de rats Tg, quel que soit le produit administré (Figure 30 B-C-D). En revanche, lorsque l'augmentation de la production inflammatoire de la cytokine IL-17 était mise en rapport avec la production de cytokine anti-inflammatoire IL-10, exprimé par le ratio IL-17/IL-10 pour chaque rat, on observait un déséquilibre significatif vers un profil pro-inflammatoire uniquement dans le groupe de rats Tg recevant la LF82 seule (Figure 31 A-B-C).

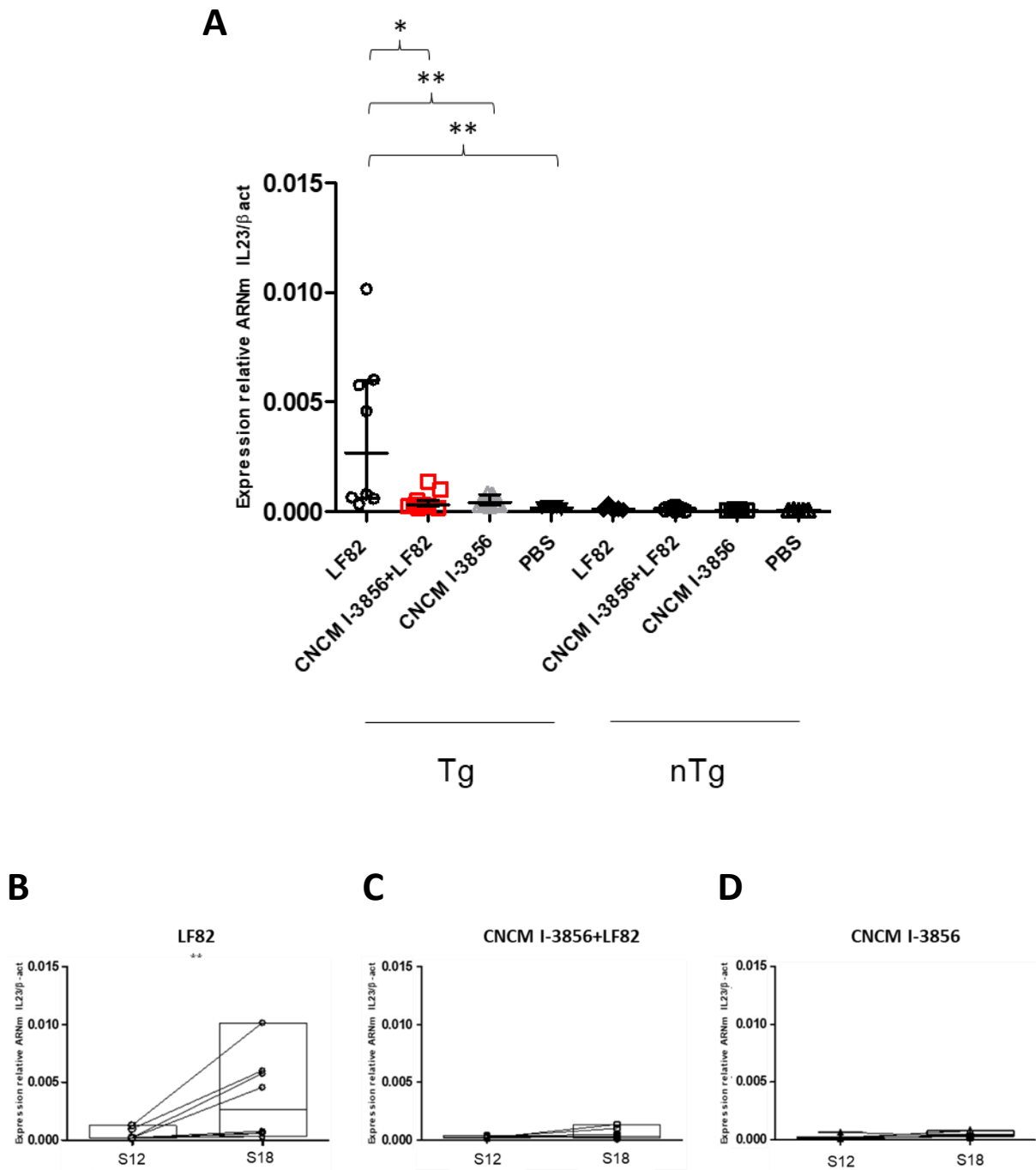
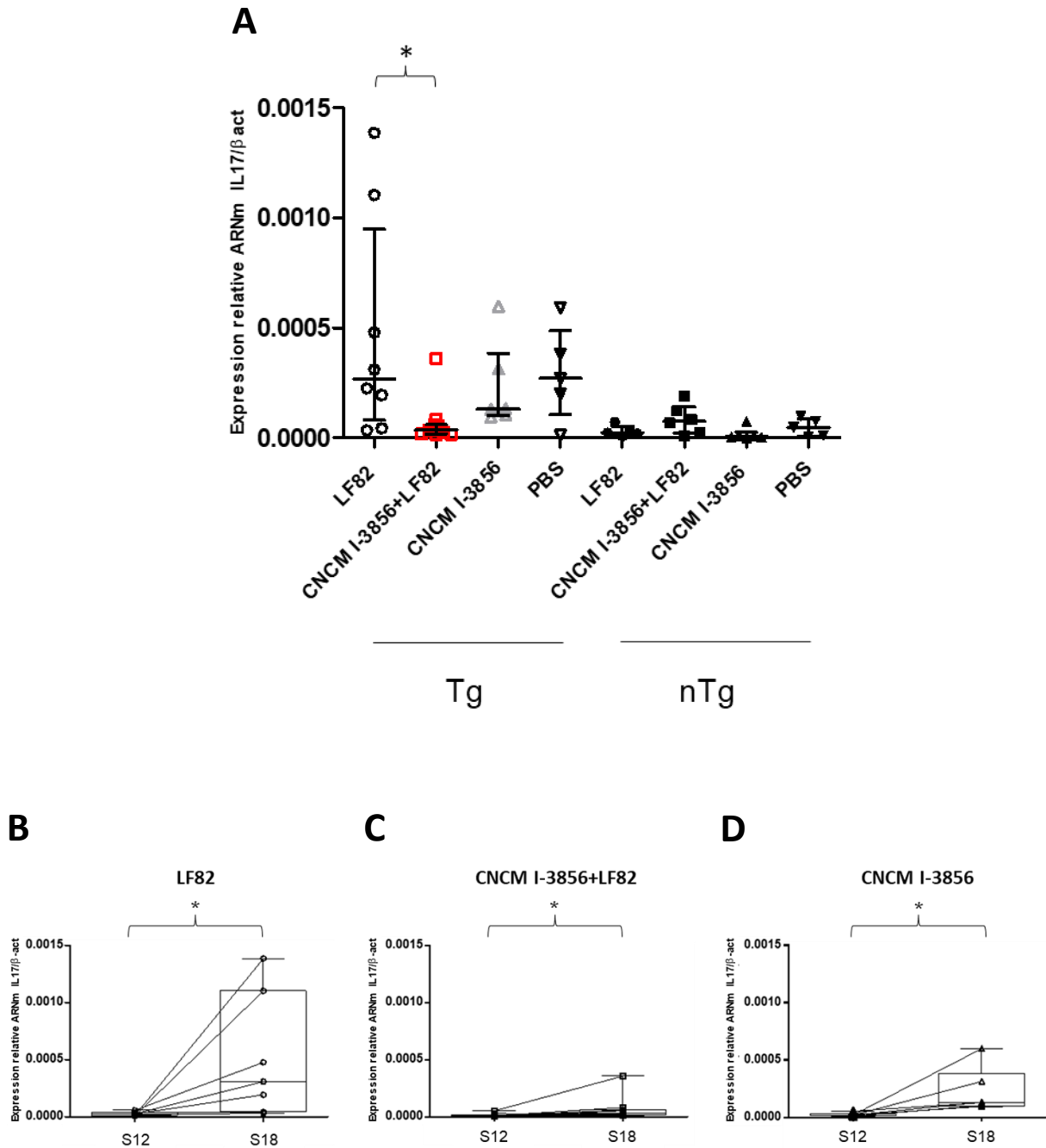


Figure 29 : Quantification péri-anastomotique de l'ARNm de la cytokine IL-23

**A** : quantification des ARNm d'IL-23 dans l'ensemble des groupes transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S18. **B-C-D** : quantification des ARNm d'IL-23 entre la chirurgie (S12) et le sacrifice (S18) en analyse appariée dans le groupe de rats Tg recevant la LF82 seule (**B**), dans le groupe de rats Tg recevant la co-administration CNCM I-3856+LF82 (**C**), et dans le groupe de rats Tg recevant CNCM I-3856 seul (**D**). \* :  $p < 0,05$ , \*\* :  $p < 0,01$ .



*Figure 30 : Quantification péri-anastomotique de l'ARNm de la cytokine IL-17*

**A** : quantification des ARNm d'IL-17 dans l'ensemble des groupes transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S18. **B-C-D** : quantification des ARNm d'IL-17 entre la chirurgie (S12) et le sacrifice (S18) en analyse appariée dans le groupe de rats Tg recevant la LF82 seule (**B**), dans le groupe de rats Tg recevant la co-administration CNCM I-3856+LF82 (**C**), et dans le groupe de rats Tg recevant CNCM I-3856 seul (**D**). \* :  $p < 0,05$ .

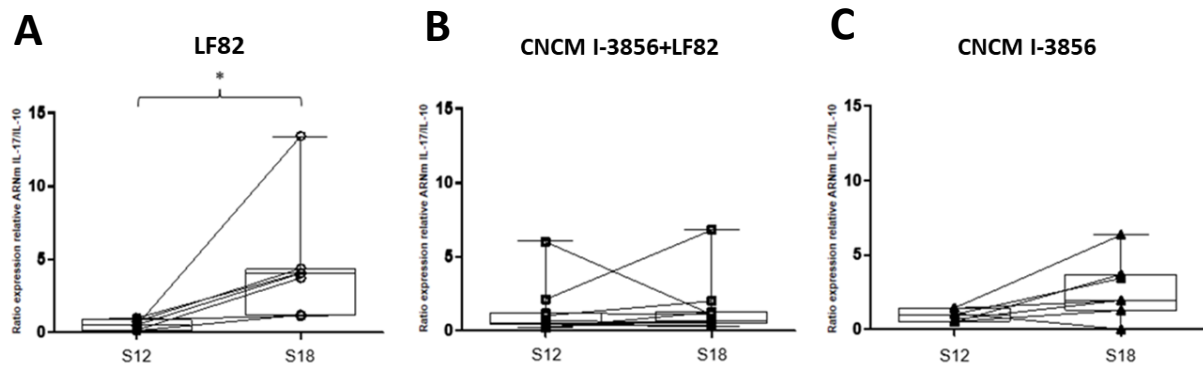


Figure 31 : Ratio IL-17/IL-10

Profil inflammatoire des rats transgéniques (Tg) analysé en fonction du rapport IL-17/IL-10 en analyse appariée entre S12 et S18 : **A** : dans le groupe de rat Tg recevant la LF82 ; **B** : dans le groupe de rats Tg recevant la LF82 et le CNCM I-3856 ; **C** : dans le groupe de rats Tg recevant uniquement le CNCM I-3856. \* :  $p < 0,05$ .

Concernant les autres cytokines pro-inflammatoires testées, on observait une augmentation du taux d'IL-6 et de TNF  $\alpha$  à la S18 dans le groupe Tg LF82 en comparaison avec les groupes Tg recevant du CNCM I-3856, avec ou sans co-administration de LF82, sans que toutefois cette différence atteigne une significativité (Figure 32).



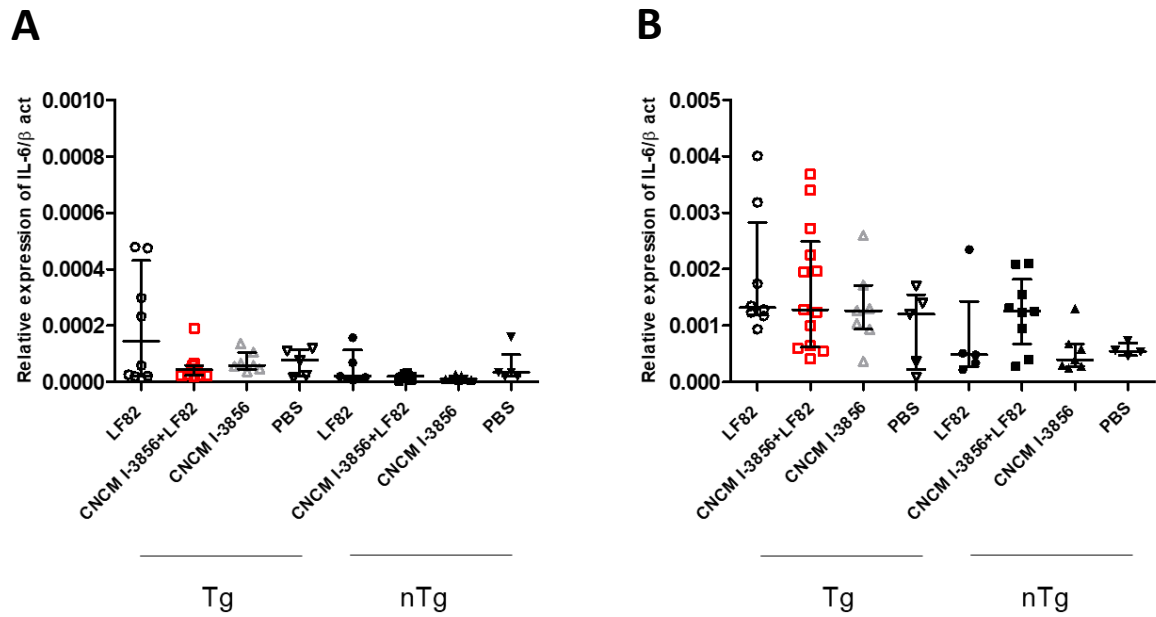


Figure 32 : Quantification péri-anastomotique de l'ARNm de l'IL-6 et du TNF  $\alpha$

**A** : quantification des ARNm d'IL-6 dans l'ensemble des groupes transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S18 ; **B** quantification des ARNm du TNF  $\alpha$  dans l'ensemble des groupes transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S18.

## 7. Synthèse des résultats de la première partie

Sur le plan clinique, l'administration de CNCM I-3856 était associée à une réduction significative de la perte de poids la semaine suivant la chirurgie chez les rats Tg recevant la LF82 seule ( $p = 0,007$ ). Un traitement péri-opératoire par CNCM I-3856 permettait une réduction significative de plus de 60% de la sévérité des lésions macroscopiques induites par les AIEC (1 [0-2] vs 3,5 [2-4],  $p = 0,002$ ) et de la RPO (87,5% vs 33,3%,  $p = 0,01$ ). De manière similaire, la sévérité des lésions histologiques était prévenue par l'administration de CNCM I-3856 (4,5 [3,3-5,8] vs 2 [1,3-3],  $p = 0,003$ ). La diminution très significative de la persistance de la LF82 dans les selles et au niveau de la flore adhérente semble confirmer les propriétés anti-adhésives de *S. cerevisiae* CNCM I-3856, ciblant spécifiquement les AIEC. Par ailleurs, une activité immunomodulatrice de la levure a été mise en évidence, avec une stimulation de la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 et l'inhibition de la voie pro-inflammatoire IL-23/ IL-17.

**Seconde partie :**

**Effet du Tofacitinib dans la prévention de la  
RPO post RIC dans le modèle du rat HLA-B27**

## 1. Suivi clinique

Parmi les 34 rats opérés, un rat Tg du groupe Tofacitinib a été exclu des analyses du fait d'une sténose d'origine chirurgicale décelée lors de l'endoscopie digestive de S15, et confirmée lors du sacrifice à S18. Au cours du suivi, aucune mortalité ou présence de sang dans les selles n'a été constatée dans les différents groupes de rats Tg et nTg.

Une perte de poids a été constatée dans l'ensemble des groupes la semaine suivant la chirurgie, suivie d'une reprise pondérale progressive, sans différence significative entre les différents groupes (Figure 33).

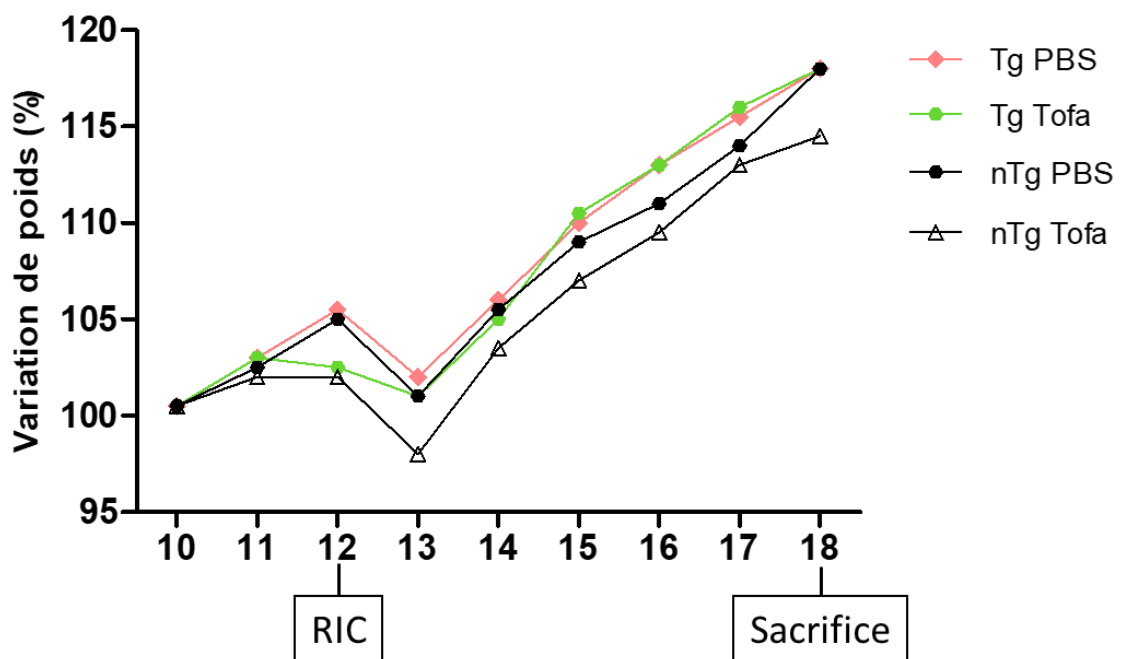


Figure 33 : Variation de poids au cours du suivi

RIC : résection iléo-caecale.

## 2. Lésions endoscopiques à la semaine 15

Aucune lésion endoscopique significative n'a été observée chez les 4 rats nTg (Figure 34).

Chez les rats Tg non traités (Tg PBS) on constatait un score endoscopique médian de 9,5 (IQR [9-10,3]). Chez les rats Tg, l'administration péri-opératoire quotidienne de Tofacitinib permettait une diminution de 30% de la sévérité des lésions endoscopiques à S15 (9,5 [9-10,3] vs 6 [3-6],  $p < 0,0001$ ) (Figure 34).

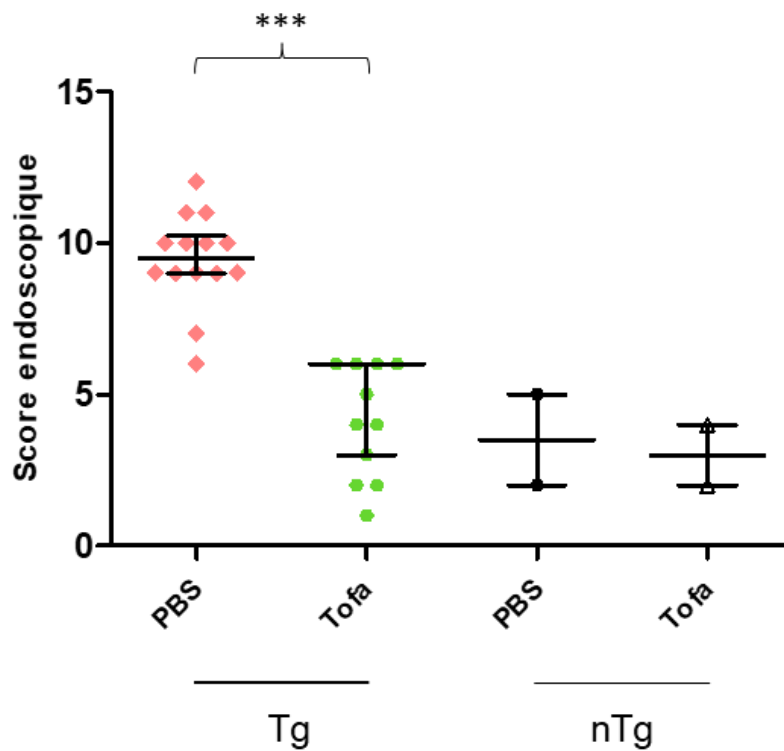


Figure 34 : Score endoscopique à S15

Scores endoscopiques dans les différents groupes de rats transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S15. \*\*\* :  $p < 0,001$ .

### 3. Effet du Tofacitinib sur les lésions macroscopiques et la RPO

Aucune lésion macroscopique significative n'a été observée dans les deux groupes de rats nTg à S18 (Figure 35 A).

Dans les groupes de rats Tg, on observait une diminution très significative de la sévérité des lésions macroscopiques à S18 dans le groupe de rats recevant le Tofacitinib en comparaison avec le groupe de rat Tg contrôle recevant le PBS (0 [0-1] vs 2 [1-2,25],  $p = 0,0006$ ) (Figure 35 A). Concernant la récurrence macroscopique, on observait plus de 4 fois moins de récurrence dans le groupe de rats traité par Tofacitinib en comparaison avec le groupe Tg PBS contrôle (13,3%, vs 57,1%,  $p = 0,013$ ) (Figure 35 B).

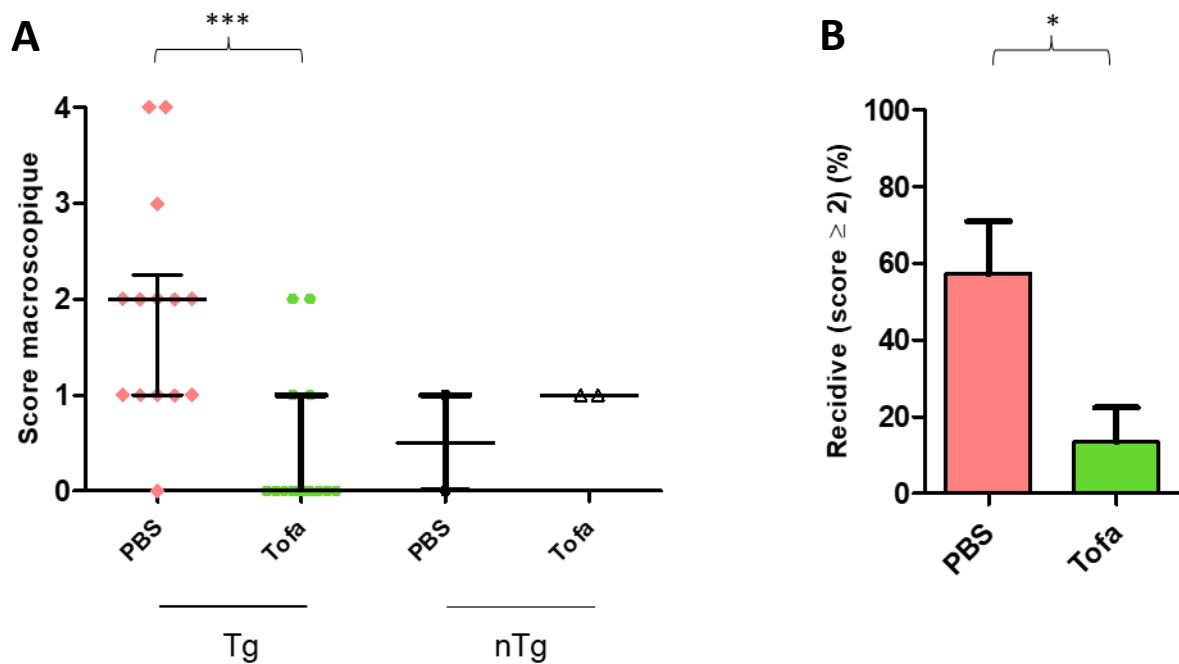


Figure 35 : Récidive post-opératoire et score macroscopique anastomotique

**A** : Scores macroscopique dans les différents groupes de rats transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) au moment du sacrifice (S18) ; **B** : % de récurrence post-opératoire (score macroscopique  $\geq 2$ ) dans les deux groupes de rats Tg à S18. \* :  $p < 0,05$ , \*\*\* :  $p < 0,001$ .

#### 4. Corrélation entre score endoscopique et RPO

Une corrélation significative a été constatée entre le score endoscopique à S15 et le score de récidence macroscopique à S18 ( $r = 0,78$ , IC 95% |0,57-0,89|,  $p < 0,0001$ ) ainsi qu'entre le score endoscopique et le score histologique à S18 ( $r = 0,54$ , IC 95%|0,21-0,76|,  $p = 0,002$ ) (Figure 36).

Partant de ces constatations, il a été déterminé à l'aide d'une courbe ROC qu'un score endoscopique de 9 était la meilleure valeur seuil prédictive d'une récidence lors du sacrifice. Cette valeur seuil a permis de classer les rats Tg en deux groupes : un groupe de 10 rats présentant des lésions sévères (score  $\geq 9$ ) et un groupe de 19 rats présentant des lésions modérées (score  $< 9$ ), avec une différence significative entre les deux groupes en termes de RPO (80% vs 21,1%,  $p = 0,002$ ).

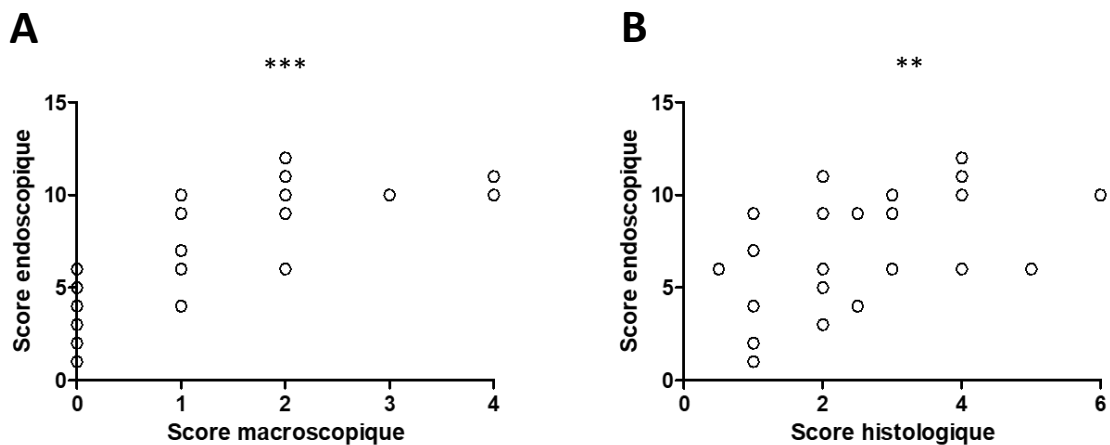


Figure 36 : Corrélation entre le score endoscopique à S15 et les scores macroscopiques et histologiques à S18

A : Corrélation entre score endoscopique à S15 et score macroscopique à S18 ; B : Corrélation entre score endoscopique à S15 et score histologique à S18 ; \*\* :  $p < 0,01$ , \*\*\* :  $p < 0,001$ .

## 5. Effet du Tofacitinib sur les lésions histologiques

Aucune lésion histologique significative n'était observée chez les deux groupes de rats nTg au moment du sacrifice (Figure 37).

Les rats contrôles Tg présentaient un score médian de 3 (IQR 2-4), correspondant à la présence d'érosions associées à une infiltration leucocytaire et un œdème sous muqueux sur la quasi-totalité de la section étudiée. L'administration de Tofacitinib était associée à une diminution significative de la sévérité et de l'étendue des lésions histologiques en comparaison avec les rats Tg contrôles PBS (2 [1-3] vs 3 [2-4],  $p = 0,04$ ).

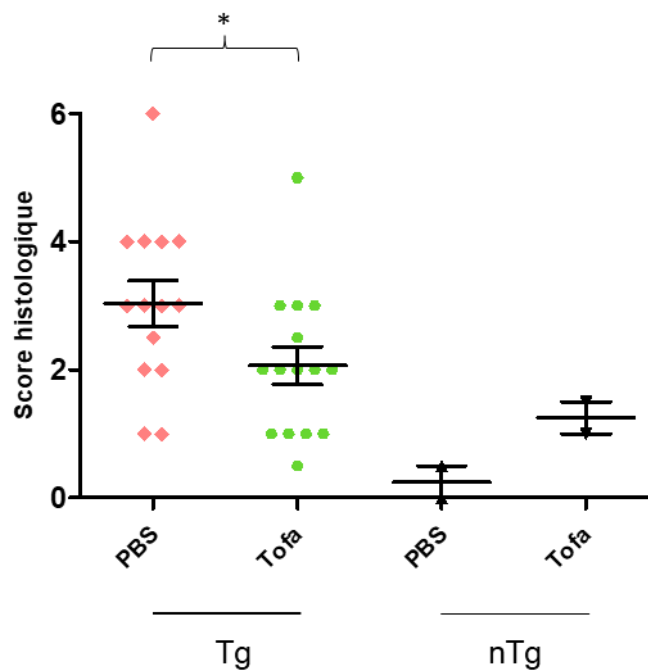


Figure 37 : Score histologique anastomotique

Scores histologiques dans les différents groupes de rats transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg) à S18. \* :  $p < 0,05$ .



## **6. Etude par métagénomique de l'effet du Tofacitinib et de la chirurgie sur la flore intestinale.**

Afin d'étudier la flore intestinale par métagénomique, les selles de 9 rats (3 rats Tg PBS, 1 rat nTg PBS, 4 rats Tg Tofa et 1 rat nTg Tofa) ont été prélevées avant traitement (S9), au moment de la chirurgie (S12) et au moment du sacrifice (S18).

Aucune différence n'a été mise en évidence entre les différents groupes avant le début du traitement à S9 (Figure 38 A). Après 3 semaines d'administration de Tofacitinib, aucun effet n'était constaté sur les flores intestinales des deux groupes de rats Tg (Figure 38 B). Après 9 semaines d'administration de Tofacitinib, on observait une tendance à une diminution de la proportion des bactéries du phylum des Bacteroidetes et une augmentation des bactéries du phylum des Firmicutes, sans que cette tendance n'atteigne une significativité (respectivement  $p = 0,075$  et  $p = 0,23$ ) (Figure 38 C).

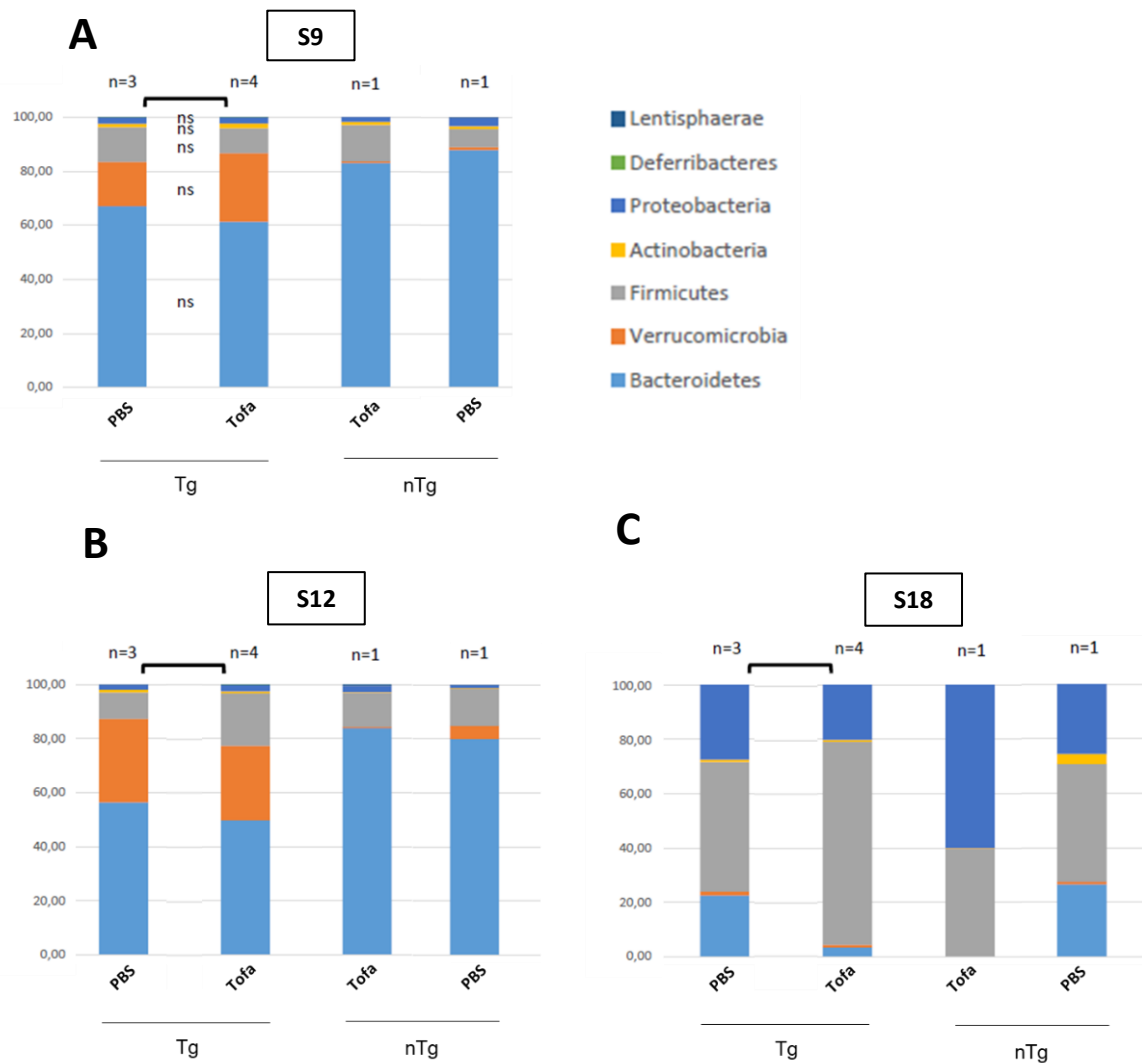


Figure 38 : Effet du Tofacitinib sur la flore intestinale

Répartition des phylums bactériens dans les différents groupes de rats transgéniques (Tg) et non Tg (nTg) à S9 (A), à S12 (B) et à S18 (C).

En revanche, on constatait une modification drastique de la répartition des phylums bactériens entre la chirurgie et le sacrifice, avec une diminution significative de la diversité  $\alpha$ , et ce quelle que soit l'administration reçue par les animaux Tg et nTg (Figure 39). Dans le groupe Tg PBS et Tg Tofa, la chirurgie entraînait une augmentation significative de la proportion des Firmicutes et des Protéobactéries (respectivement  $p = 0,02$  et  $p = 0,01$ ) et une diminution significative des Verrumicrobia (respectivement  $p = 0,02$  et  $p = 0,01$ ). Concernant

le phylum des Bacteroidetes, on observait une réduction significative dans le groupe Tofa ( $p = 0,01$ ) et également une nette réduction dans le groupe PBS, sans que cependant cette tendance n'atteigne une significativité (Figure 39).

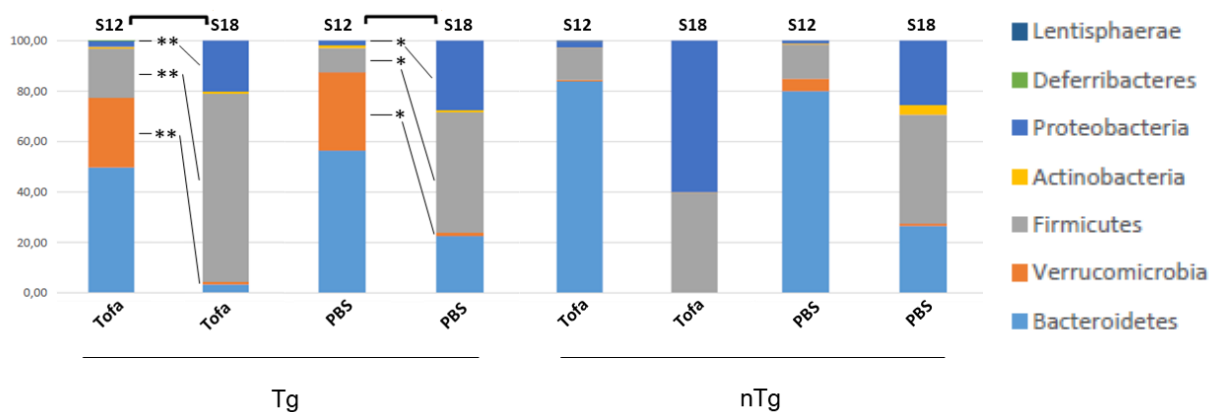


Figure 39 : Effet de la chirurgie sur la flore intestinale

Effet de la chirurgie sur la répartition des phylums bactériens majoritaires de la flore intestinale chez les rats transgéniques (Tg) et non transgéniques (nTg). \* :  $p < 0,05$ , \*\* :  $p < 0,01$

## 7. Synthèse des résultats de la seconde partie

Aucune différence n'a été mise en évidence entre les différents groupes de rats au cours du suivi clinique, notamment sur la perte de poids. Un traitement péri-opératoire par Tofacitinib était associé à une prévention de l'apparition de lésions endoscopiques à S15 (9,5 [9-10,3] vs 6 [3-6]), à une diminution significative des lésions macroscopiques à S18 (0 [0-1] vs 2 [1-2,25],  $p = 0,0006$ ) et permettait de diminuer par quatre le taux de RPO (13,3%, vs 57,1%,  $p = 0,013$ ). On observait également une prévention de la sévérité des lésions histologiques (2 [1-3] vs 3 [2-4],  $p = 0,04$ ). Une valeur seuil du score endoscopique à S15, prédictive d'une RPO macroscopique, a pu être déterminée. Le développement de l'endoscopie dans notre modèle

et les études en métagénomique de la flore intestinale ont permis de caractériser d'avantage notre modèle de RPO après RIC.

## DISCUSSION

Malgré des progrès dans la compréhension de la physiopathologie de la MC et la mise en place d'un traitement préventif dans le post-opératoire, la survenue de la RPO peine à être freinée. Les thérapeutiques actuelles de prévention ont pour but d'inhiber ou de freiner la cascade du système immunitaire mais aucune n'agit sur la composante dysbiotique de la MC. Pourtant, il est bien connu que la flore intestinale joue un rôle prépondérant dans la RPO. Ainsi, développer des thérapies ciblées contre certaines bactéries pathogènes bien identifiées pourrait permettre une prévention personnalisée de la récurrence, sans les effets secondaires d'une antibiothérapie à large spectre. Parmi les cibles bactériennes potentielles, de nombreux travaux désignent les AIEC comme une espèce bactérienne pathogène particulièrement impliquée dans la précocité et la sévérité de la RPO (180). Dans cette étude nous avons montré que l'administration de la levure *S. cerevisiae* CNCM I-3856 permettait une prévention efficace et ciblée de la RPO induite par les AIEC, 6 semaines après une RIC, chez les rats Tg HLA-B27. A notre connaissance, il s'agit de la première fois qu'un traitement probiotique montre une telle efficacité dans un modèle pré-clinique murin de RPO de MC.

La stratégie la plus étudiée dans le développement de traitements anti-AIEC est celle permettant de saturer les protéines d'adhésion bactériennes par des molécules ou des microorganismes, comme *S. cerevisiae*. La levure *S. cerevisiae* CNCM I-3856 est un probiotique dont l'innocuité et l'efficacité sur les douleurs abdominales des patients présentant des troubles fonctionnels intestinaux a déjà été prouvée dans des études cliniques de grande envergure (262,298-300). Dans cette étude, l'administration orale quotidienne de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 a parfaitement été tolérée, et a permis de diminuer de plus de 60% le score macroscopique et la fréquence de la RPO. De plus, une absence totale de lésions

macroscopiques induites par les AIEC a été observée chez 40% des rats Tg recevant le traitement par *S. cerevisiae* CNCM I-3856 alors que tous les rats Tg du groupe recevant la LF82 présentaient des lésions macroscopiques, majoritairement cotées comme sévères.

La levure *S. cerevisiae* CNCM I-3856 semble agir selon plusieurs mécanismes. Le plus évident et le plus étudié est la décolonisation des AIEC de la flore luminale et de la flore adhérente grâce à un mécanisme compétitif anti-adhésif. Dans notre étude, nous avons effectivement constaté une diminution drastique de la persistance des AIEC luminaux lors de l'administration de *S. cerevisiae* CNCM I-3856. De plus, cette administration était associée à une diminution très significative du taux d'AIEC adhérents entre la chirurgie et le sacrifice, contrairement au groupe de rats Tg recevant les AIEC seuls. Dans leur étude de 2015 sur un modèle de colite induite par les AIEC chez des souris Tg CEABAC10, Sivignon et al. avaient également constaté la capacité de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 à décoloniser les selles des AIEC chez des animaux Tg infectés (178). Cette propriété est imputée à la paroi de la levure possédant une abondance de résidus oligomannoses entrant en compétition avec les résidus mannoses des récepteurs à l'apex des CEI. Cette capacité permettrait à la levure de saturer les récepteurs bactériens, empêchant ainsi les bactéries d'adhérer à la muqueuse et entraînerait une diminution de leur persistance dans le tractus digestif. Une étude récente a conclu que l'utilisation de fragments solubles de glucane extraits de la paroi de *S. cerevisiae* CNCM I-3856, selon un ratio spécifique de  $\beta$ 6-glucanes,  $\alpha$ 4-glucanes et de mannanes, pouvait également inhiber fortement et de manière dose-dépendante l'adhésion des AIEC aux cellules épithéliales *in vitro*, et la persistance des AIEC dans les selles de souris Tg CEABAC10 (301). Chez les patients atteints de MC, l'utilisation de molécules inactives, plutôt que d'un organisme vivant entier pourrait s'avérer préférable. En effet, l'impact de l'adjonction d'un microorganisme vivant sur la dysbiose préexistante du patient atteint de MC, y compris un

organisme non pathogène, n'est pas connu. Par ailleurs, le rôle des oligomannoses semble également s'étendre aux fonctions immunomodulatrices de la flore intestinale. En effet les oligosaccharides de mannoses servent aussi de substrats à la production bactérienne des acides gras à chaînes courtes ou *short chain fatty acids* (SCFA), dont le butyrate. Les SCFA jouent un rôle majeur dans la régulation de la fonction de la barrière intestinale et dans l'homéostasie immunitaire digestive, notamment par la production d'IL-10 (302,303). L'utilisation de fragments de paroi fera l'objet d'études ultérieures sur notre modèle animal et pourra également être couplée à une analyse de la flore intestinale par métagénomique lors de l'administration du probiote entier ou de fragments.

La stratégie anti-adhésive est également éprouvée par des études sur l'utilisation de mannoses de synthèse, conçus pour inhiber spécifiquement l'adhésine FimH des pili de type 1 des AIEC. La principale limite de cette technique serait de garantir la stabilité de la molécule au cours de son voyage dans le tractus digestif où elle est soumise à des processus lytiques. *In vitro*, une efficacité de ces « *FimH blockers* » a pu être montrée (263). Chez l'homme, les essais n'en sont encore qu'à leurs prémices. Une étude multicentrique de phase 1b a montré une bonne tolérance de l'administration d'un antagoniste de FimH par voie orale, avec peu de passage systémique, et des résultats encourageants sur la diminution des marqueurs de l'inflammation dans les selles (cytokines pro-inflammatoires et calprotectine fécale) (304). À notre connaissance, des études de phases ultérieures n'ont pas encore été ouvertes.

Une autre stratégie innovante apparue récemment vise à priver la bactérie de ses carburants cellulaires. Gerner et al. ont développé une stratégie thérapeutique anti-AIEC se basant sur la réalisation d'une immunisation contre les sidérophores, des protéines d'origine bactérienne, ayant pour fonction de lier et de faciliter l'internalisation du fer luminal nécessaire à la survie bactérienne. Les auteurs ont montré dans un modèle murin de colite

induite chez des souris Tg déficitaires en IL-10, et colonisées par les AIEC, que l'immunisation anti-sidérophore entraînait une diminution de la colite AIEC-induite grâce à une diminution de l'adhésion bactérienne, sans que ce dernier phénomène soit pour l'instant parfaitement compris (305). Cependant, le sidérophore est exprimé par les entérobactéries en général, et l'impact d'une immunisation anti-sidérophores sur l'ensemble de la flore intestinale n'a pas été évalué.

La seconde grande option dans les thérapies anti-AIEC serait de développer un traitement bactéricide. Cette possibilité fait obligatoirement évoquer le traitement par antibiothérapie. Cependant, au-delà des effets secondaires inhérents à l'utilisation prolongée des antibiotiques, peu d'études ont étudié spécifiquement l'utilisation des antibiotiques sur les souches d'AIEC. Une étude de 2008 a suggéré une efficacité *in vitro* d'un cocktail de trois antibiotiques (ciprofloxacine, tetracycline et triméthoprime) sur la réplication intra macrophagique des AIEC LF82, et plus récemment Dogan et al. ont constaté une efficacité de la rifaximine sur l'adhésion et l'invasion des AIEC (218,306). Actuellement, aucune étude sur ce sujet n'a encore été réalisée dans un modèle pré-clinique ou chez l'homme. De plus, les AIEC semblent présenter des facteurs de résistance aux antibiotiques classiques, et notamment aux  $\beta$ -lactamines, contrairement aux *E. coli* commensaux (307). La phagothérapie constitue par contre une piste de recherche majeure et actuelle dans les thérapies bactéricides anti-AIEC (308,309). Les phages sont des virus bactériophages ne ciblant qu'une seule bactérie qu'ils envahissent et utilisent pour leur réplication avant d'en entraîner la lyse. Très récemment, Titécat et al. ont montré dans un modèle murin de colite induite, que l'administration d'un cocktail de phages anti-AIEC permettait la diminution de la sévérité de l'inflammation microscopique et également des symptômes cliniques, sans entraîner de dysbiose selon l'étude de la flore en métagénomique (310). Une étude new-yorkaise de phase



1/2 prospective randomisée en double aveugle évaluant l'impact de l'administration de ce même cocktail de phage est en cours d'inclusion depuis 2019 (NCT03808103) (311). Actuellement, aucun médicament comprenant des bactériophages n'est disponible en Europe ou aux Etats-Unis (312).

Si le mécanisme d'action le plus évident de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 est sa capacité anti-adhésion des AIEC, il semble également jouer un rôle immunomodulateur. En effet, nous avons constaté qu'en plus du phénomène de décolonisation bactérienne, l'administration de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 entraînait une augmentation significative de la production de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 et normalisait l'hyperactivation locale de la production d'IL-17 et IL-23 associée à RPO induite par les AIEC. Cette capacité de la levure *S. cerevisiae* CNCM I-3856 à induire la production d'IL-10 avait déjà été mise en évidence in vitro dans des cellules dendritiques de moelle osseuse, et dans des cellules épithéliales jéjunales porcines (160,313). Au sein du tractus digestif, l'IL-10 est produite par les leucocytes et les CEI et joue un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie digestive et dans l'harmonisation de l'interaction entre l'immunité de l'hôte et les organismes présents au niveau de la lumière digestive (160,313). Dans une étude sur 79 patients nécessitant une première chirurgie par RIC avec rétablissement de la continuité digestive, il avait été observé qu'un faible taux d'ARNm d'IL-10 au niveau iléal au moment de la chirurgie était significativement prédictif de la survenue d'une RPO endoscopique 6 mois plus tard (132). Ainsi, la capacité de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 à induire la production intestinale d'IL-10 pourrait représenter un facteur clé dans la prévention de la RPO dans notre modèle, et ce résultat pourrait être transposable à la physiopathologie de la RPO chez l'homme.

Par ailleurs, dans notre modèle, la survenue d'une RPO était constatée dans plus de 87% des cas et était corrélée de manière dose-dépendante au taux de LF82 adhérente. Ces lésions

de RPO observées dans notre modèle étaient similaires aux lésions de RPO endoscopiques des patients, tant sur l'aspect macroscopique (érosions et ulcérations pouvant mener à une sténose), qu'histologique (infiltrat inflammatoire leucocytaire), que moléculaire (implication de la voie cytokinique pro-inflammatoire IL-23/IL-17). Nous avons également montré qu'un taux élevé d'AIEC luminaux à S14 pouvait prédire la récurrence au moment du sacrifice avec une valeur prédictive positive de 70%. L'utilisation de ce marqueur biologique non invasif pourrait améliorer l'identification de patients à risque de récurrence afin d'organiser une prise en charge rapprochée, voire d'introduire un traitement préventif ciblé de manière précoce. A notre connaissance, le monitoring bactérien des selles n'a jamais été utilisé chez l'homme afin de prédire la récurrence, et pourrait faire l'objet d'études cliniques ultérieures.

D'autres bactéries pathogènes pourraient faire l'objet de recherches de thérapies ciblées comme *P. mirabilis*, une bactérie présentant également des capacités d'adhésion et d'invasion des CEI. Le taux de *P. mirabilis* est augmenté dans la flore intestinale des patients porteurs d'une MC et sa présence au niveau de la flore iléale adhérente a récemment été associée à une augmentation de 13 fois du risque de RPO endoscopique à 6 mois (143,314). Une étude de 2015 a également montré que la présence de *P. mirabilis* au niveau luminal au moment de la chirurgie était prédictive d'une récurrence endoscopique à 6 mois de la chirurgie (315).

Dans notre étude, l'analyse en métagénomique de la flore luminale a montré des résultats intéressants et concordants avec des études cliniques récentes. Nous avons constaté une diminution significative de la diversité bactérienne luminale suite à la chirurgie chez l'ensemble des rats étudiés mais également une variation considérable des proportions des différents phylums. Cette dernière décennie, la modification de la flore intestinale lors de la chirurgie a été reconnue dans de nombreux travaux chez les patients atteints d'une MC (65,140,316). Une étude prospective de 2021 sur 79 patients atteints d'une MC a montré que

la chirurgie diminuait de manière persistante la diversité  $\alpha$  du microbiome et du métabolome et augmentait fortement les proportions d'*E. coli*. Par ailleurs, les auteurs ont constaté parmi les facteurs étudiés (type d'atteinte, activité de la maladie, traitement antibiotique) que la chirurgie était le plus grand facteur pourvoyeur de modification du microbiome (317). S'il existe des résultats contradictoires dans la littérature sur l'association entre réduction de la diversité  $\alpha$  et RPO endoscopique, la réduction de la diversité  $\beta$  a, quant à elle, été systématiquement associée à la RPO de la MC à 6 mois mais également à plus long terme (18 mois après la chirurgie). Dans nos travaux, le lien entre la modification de la diversité  $\alpha$  et  $\beta$  à la suite de la chirurgie et la RPO n'a pas été étudié et pourrait faire l'objet d'études ultérieures, afin de caractériser encore mieux ce modèle animal.

Concernant le Tofacitinib, il s'agit notre connaissance de sa première évaluation dans un modèle animal de RPO de MC. Dans cette étude, nous avons constaté que l'administration orale péri-opératoire de Tofacitinib, à une posologie similaire à celle utilisée chez l'homme, entraînait une diminution significative de 30% de la sévérité des lésions endoscopiques à S15, et une réduction de plus de 4 fois du risque de RPO à S18. Nous avons également constaté une réduction des lésions histologiques chez les rats traités. Ainsi, les résultats décevants des précédentes études cliniques sur l'effet du Tofacitinib dans la MC méritent d'être revus et les anti-JAK ont peut-être une place dans la stratégie de prévention de la RPO de la MC.

Les modifications de la diversité de la flore intestinale obtenues dans notre modèle de rats Tg HLA-B27, semblables à celles observées chez les patients atteints de MC, renforcent encore sa crédibilité comme modèle pré-clinique de RPO de MC. L'utilisation de l'endoscopie digestive a complété la performance de ce modèle de RPO avec, à terme, l'espoir de mettre en place un système de biopsies, ou encore de modifier le suivi avec un étalonnage des lésions au cours du temps, y compris au-delà de S18, sans nécessiter de sacrifier les animaux.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Nos travaux ont identifié *S. cerevisiae* CNCM I-3856 comme un possible et nouveau traitement dans la prévention de la RPO après RIC, induite par les AIEC. Son innocuité et son efficacité, tant sur le plan macroscopique qu'histologique, pourrait en faire une thérapeutique de choix chez les patients colonisés par les AIEC. À cet effet, le dépistage des AIEC dans les selles pourrait permettre d'adapter précocement la stratégie de prévention de la RPO. La quantification du risque de RPO par la détermination de valeurs seuils d'AIEC luminaux chez les patients pourrait constituer une voie de recherche possible. Par ailleurs, le développement de traitements immunomodulateurs dans la MC se poursuit, et l'adjonction des anti-JAK pourrait venir compléter l'arsenal thérapeutique disponible pour prévenir la RPO. Dans ce contexte, le Tofacitinib a montré des résultats prometteurs dans la RPO endoscopique et macroscopique dans notre modèle murin. Le rat Tg HLA-B27 a confirmé au cours du temps sa reproductibilité et sa robustesse en tant que modèle de RPO de la MC, notamment grâce à la mise en place d'améliorations techniques innovantes telles que l'endoscopie ou la caractérisation de sa flore par métagénomique.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Regional ileitis; a pathologic and clinical entity. *Am J Med.* 1932;13(5):583-90.
2. Seth HN, Mehrotra RM, Mangalik VS. Chronic granulomas of the ileocaecal region: a histological and bacteriological study. *J Indian Med Assoc.* juin 1954;23(9):369-74.
3. Gajendran M, Loganathan P, Catinella AP, Hashash JG. A comprehensive review and update on Crohn's disease. *Disease-a-Month.* févr 2018;64(2):20-57.
4. Mak WY, Zhao M, Ng SC, Burisch J. The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets west. *J Gastroenterol Hepatol.* mars 2020;35(3):380-9.
5. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* déc 2015;12(12):720-7.
6. Vegh Z, Burisch J, Pedersen N, Kaimakliotis I, Duricova D, Bortlik M, et al. Incidence and initial disease course of inflammatory bowel diseases in 2011 in Europe and Australia: results of the 2011 ECCO-EpiCom inception cohort. *J Crohns Colitis.* nov 2014;8(11):1506-15.
7. Ghione S, Sarter H, Fumery M, Armengol-Debeir L, Savoye G, Ley D, et al. Dramatic Increase in Incidence of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease (1988-2011): A Population-Based Study of French Adolescents. *Am J Gastroenterol.* févr 2018;113(2):265-72.
8. Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology.* mai 2004;126(6):1504-17.
9. Roda G, Chien Ng S, Kotze PG, Argollo M, Panaccione R, Spinelli A, et al. Crohn's disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2 avr 2020;6(1):22.
10. Brant SR, Nguyen GC. Is there a gender difference in the prevalence of Crohn's disease or ulcerative colitis? *Inflamm Bowel Dis.* oct 2008;14 Suppl 2:S2-3.
11. Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis.* févr 2000;6(1):8-15.
12. Louis E, Collard A, Oger AF, Degroote E, Aboul Nasr El Yafi FA, Belaiche J. Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease. *Gut.* déc 2001;49(6):777-82.
13. Mineccia M, Menonna F, Germani P, Gentile V, Massucco P, Rocca R, et al. A retrospective study on efficacy of the ERAS protocol in patients undergoing surgery for Crohn disease: A propensity score analysis. *Dig Liver Dis.* juin 2020;52(6):625-9.
14. Adamina M, Bonovas S, Raine T, Spinelli A, Warusavitarne J, Armuzzi A, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Surgical Treatment. *J Crohns Colitis.* 10 févr 2020;14(2):155-68.

15. Abdalla S, Brouquet A, Maggiori L, Zerbib P, Denost Q, Germain A, et al. Postoperative Morbidity After Iterative Ileocolonic Resection for Crohn's Disease: Should we be Worried? A Prospective Multicentric Cohort Study of the GETAID Chirurgie. *J Crohns Colitis*. 10 déc 2019;13(12):1510-7.
16. Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott IDR, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. sept 2005;19 Suppl A:5A-36A.
17. Thia KT, Sandborn WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Loftus EV. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. *Gastroenterology*. oct 2010;139(4):1147-55.
18. Uchino M, Ikeuchi H, Hata K, Minagawa T, Horio Y, Kuwahara R, et al. Intestinal cancer in patients with Crohn's disease: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. févr 2021;36(2):329-36.
19. Petagna L, Antonelli A, Ganini C, Bellato V, Campanelli M, Divizia A, et al. Pathophysiology of Crohn's disease inflammation and recurrence. *Biol Direct*. 7 nov 2020;15(1):23.
20. de Groof EJ, Gardenbroek TJ, Buskens CJ, Tanis PJ, Ponsioen CY, D'Haens GR a. M, et al. The association between intensified medical treatment, time to surgery and ileocolic specimen length in Crohn's disease. *Colorectal Dis*. juin 2017;19(6):551-8.
21. Burke JP, Velupillai Y, O'Connell PR, Coffey JC. National trends in intestinal resection for Crohn's disease in the post-biologic era. *Int J Colorectal Dis*. oct 2013;28(10):1401-6.
22. Bouguen G, Peyrin-Biroulet L. Surgery for adult Crohn's disease: what is the actual risk? *Gut*. sept 2011;60(9):1178-81.
23. Buisson A, Chevaux JB, Allen PB, Bommelaer G, Peyrin-Biroulet L. Review article: the natural history of postoperative Crohn's disease recurrence. *Aliment Pharmacol Ther*. mars 2012;35(6):625-33.
24. Bayart P, Duveau N, Nachury M, Zerbib P, Gerard R, Branche J, et al. Ileal or Anastomotic Location of Lesions Does Not Impact Rate of Postoperative Recurrence in Crohn's Disease Patients Classified i2 on the Rutgeerts Score. *Dig Dis Sci*. oct 2016;61(10):2986-92.
25. Bachour SP, Shah RS, Lyu R, Rieder F, Qazi T, Lashner B, et al. Mild neoterminal ileal post-operative recurrence of Crohn's disease conveys higher risk for severe endoscopic disease progression than isolated anastomotic lesions. *Aliment Pharmacol Ther*. mai 2022;55(9):1139-50.
26. Ollech JE, Aharoni-Golan M, Weissshof R, Normatov I, Sapp AR, Kalakonda A, et al. Differential risk of disease progression between isolated anastomotic ulcers and mild ileal recurrence after ileocolonic resection in patients with Crohn's disease. *Gastrointest Endosc*. août 2019;90(2):269-75.
27. Rivière P, Pekow J, Hammoudi N, Wils P, De Cruz P, Wang CP, et al. Comparison of the risk of Crohn's disease postoperative recurrence between modified Rutgeerts score i2a and i2b categories: an individual patient data meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 18 sept 2022;jjac137.

28. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clin Proc.* juill 2017;92(7):1088-103.
29. de Buck van Overstraeten A, Eshuis EJ, Vermeire S, Van Assche G, Ferrante M, D'Haens GR, et al. Short- and medium-term outcomes following primary ileocaecal resection for Crohn's disease in two specialist centres. *Br J Surg.* nov 2017;104(12):1713-22.
30. Abraham C, Medzhitov R. Interactions between the host innate immune system and microbes in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* mai 2011;140(6):1729-37.
31. Gionchetti P, Dignass A, Danese S, Magro Dias FJ, Rogler G, Lakatos PL, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations. *J Crohns Colitis.* 1 févr 2017;11(2):135-49.
32. Coffey JC, O'Leary DP, Kiernan MG, Faul P. The mesentery in Crohn's disease: friend or foe? *Curr Opin Gastroenterol.* 2016;32(4):267-73.
33. Soucy G, Wang HH, Farraye FA, Schmidt JF, Farris AB, Lauwers GY, et al. Clinical and pathological analysis of colonic Crohn's disease, including a subgroup with ulcerative colitis-like features. *Mod Pathol.* févr 2012;25(2):295-307.
34. Coffey CJ, Kiernan MG, Sahebally SM, Jarrar A, Burke JP, Kiely PA, et al. Inclusion of the Mesentery in Ileocolic Resection for Crohn's Disease is Associated With Reduced Surgical Recurrence. *J Crohns Colitis.* 9 nov 2018;12(10):1139-50.
35. Burman JH, Thompson H, Cooke WT, Williams JA. The effects of diversion of intestinal contents on the progress of Crohn's disease of the large bowel. *Gut.* janv 1971;12(1):11-5.
36. D'Haens GR, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology.* févr 1998;114(2):262-7.
37. Greenstein AJ, Lachman P, Sachar DB, Springhorn J, Heimann T, Janowitz HD, et al. Perforating and non-perforating indications for repeated operations in Crohn's disease: evidence for two clinical forms. *Gut.* mai 1988;29(5):588-92.
38. Simillis C, Yamamoto T, Reese GE, Umegae S, Matsumoto K, Darzi AW, et al. A meta-analysis comparing incidence of recurrence and indication for reoperation after surgery for perforating versus nonperforating Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* janv 2008;103(1):196-205.
39. Maggiori L, Brouquet A, Zerbib P, Lefevre JH, Denost Q, Germain A, et al. Penetrating Crohn Disease Is Not Associated With a Higher Risk of Recurrence After Surgery: A Prospective Nationwide Cohort Conducted by the Getaid Chirurgie Group. *Ann Surg.* nov 2019;270(5):827-34.
40. Azzam N, AlRuthia Y, Al Thaher A, Almadi M, Alharbi O, Altuwaijri M, et al. Rate and risk factors of postoperative endoscopic recurrence of moderate- to high-risk Crohn's disease patients - A real-world experience from a Middle Eastern cohort. *Saudi J Gastroenterol.* juin 2022;28(3):201-8.
41. Yamamoto T. Factors affecting recurrence after surgery for Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 14 juill 2005;11(26):3971-9.

42. Atienza P, Ksiao M. Particular aspects of proctology for anoperineal lesions in Crohn's disease. *J Visc Surg.* avr 2015;152(2 Suppl):S45-53.
43. Hughes LE. Clinical classification of perianal Crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* oct 1992;35(10):928-32.
44. Usual therapy improves perianal Crohn's disease as measured by a new disease activity index. McMaster IBD Study Group - PubMed [Internet]. [cité 1 sept 2022]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov.ressources-electroniques.univ-lille.fr/7884173/>
45. Tang LY, Rawsthorne P, Bernstein CN. Are perineal and luminal fistulas associated in Crohn's disease? A population-based study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* sept 2006;4(9):1130-4.
46. Vasudevan A, Bruining DH, Loftus EV, Faubion W, Ehman EC, Raffals L. Approach to medical therapy in perianal Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 7 juill 2021;27(25):3693-704.
47. Pogacnik JS, Salgado G. Perianal Crohn's Disease. *Clin Colon Rectal Surg.* sept 2019;32(5):377-85.
48. Smith R, Hicks D, Tomljanovich PI, Lele SB, Rajput A, Dunn KB. Adenocarcinoma arising from chronic perianal Crohn's disease: case report and review of the literature. *Am Surg.* janv 2008;74(1):59-61.
49. Bemelman WA, Warusavitarne J, Sampietro GM, Serclova Z, Zmora O, Luglio G, et al. ECCO-ESCP Consensus on Surgery for Crohn's Disease. *J Crohns Colitis.* 5 janv 2018;12(1):1-16.
50. Chen ZX, Chen YL, Huang XM, Lin XT, He XW, Lan P. Risk factors for recurrence after bowel resection for Crohn's disease. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 15 oct 2019;10(4):67-74.
51. Beaugerie L, Seksik P, Nion-Larmurier I, Gendre JP, Cosnes J. Predictors of Crohn's disease. *Gastroenterology.* mars 2006;130(3):650-6.
52. Bernell O, Lapidus A, Hellers G. Risk Factors for Surgery and Postoperative Recurrence in Crohn's Disease. *Ann Surg.* janv 2000;231(1):38.
53. Polle SW, Slors JFM, Weverling GJ, Gouma DJ, Hommes DW, Bemelman WA. Recurrence after segmental resection for colonic Crohn's disease. *Br J Surg.* sept 2005;92(9):1143-9.
54. Veloso FT. Clinical predictors of Crohn's disease course. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* oct 2016;28(10):1122-5.
55. Ingle SB, Loftus EV. The natural history of perianal Crohn's disease. *Dig Liver Dis.* oct 2007;39(10):963-9.
56. Biedermann L, Renz L, Fournier N, Rossel JB, Butter M, Bluemel S, et al. Uveitis manifestations in patients of the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort Study. *Therap Adv Gastroenterol.* 2019;12:1756284819865142.
57. Veloso FT, Carvalho J, Magro F. Immune-related systemic manifestations of inflammatory bowel disease. A prospective study of 792 patients. *J Clin Gastroenterol.* juill 1996;23(1):29-34.
58. Ardizzone S, Puttini PS, Cassinotti A, Porro GB. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis.* juill 2008;40 Suppl 2:S253-259.



59. Harbord M, Annese V, Vavricka SR, Allez M, Barreiro-de Acosta M, Boberg KM, et al. The First European Evidence-based Consensus on Extra-intestinal Manifestations in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. mars 2016;10(3):239-54.
60. Vavricka SR, Schoepfer A, Scharl M, Lakatos PL, Navarini A, Rogler G. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. août 2015;21(8):1982-92.
61. Danese S, Semeraro S, Papa A, Roberto I, Scaldaferrri F, Fedeli G, et al. Extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 14 déc 2005;11(46):7227-36.
62. Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. avr 2015;12(4):205-17.
63. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *Lancet*. 29 avr 2017;389(10080):1741-55.
64. Moller FT, Andersen V, Wohlfahrt J, Jess T. Familial risk of inflammatory bowel disease: a population-based cohort study 1977-2011. *Am J Gastroenterol*. avr 2015;110(4):564-71.
65. Halfvarson J, Bodin L, Tysk C, Lindberg E, Järnerot G. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*. juin 2003;124(7):1767-73.
66. Bengtson MB, Solberg C, Aamodt G, Jahnsen J, Moum B, Sauar J, et al. Clustering in time of familial IBD separates ulcerative colitis from Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. déc 2009;15(12):1867-74.
67. Cho JH. The Nod2 gene in Crohn's disease: implications for future research into the genetics and immunology of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. août 2001;7(3):271-5.
68. Ogura Y, Inohara N, Benito A, Chen FF, Yamaoka S, Nunez G. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem*. 16 févr 2001;276(7):4812-8.
69. Brant SR, Wang MH, Rawsthorne P, Sargent M, Datta LW, Nouvet F, et al. A population-based case-control study of CARD15 and other risk factors in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. févr 2007;102(2):313-23.
70. Wang MH, Picco MF. Crohn's Disease: Genetics Update. *Gastroenterol Clin North Am*. sept 2017;46(3):449-61.
71. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 31 mai 2001;411(6837):603-6.
72. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. mai 2001;411(6837):599-603.
73. Hoffmann P, Lamerz D, Hill P, Kirchner M, Gauss A. Gene Polymorphisms of NOD2, IL23R, PTPN2 and ATG16L1 in Patients with Crohn's Disease: On the Way to Personalized Medicine? *Genes (Basel)*. 5 juin 2021;12(6):866.

74. Ogura Y, Lala S, Xin W, Smith E, Dowds TA, Chen FF, et al. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis. *Gut*. nov 2003;52(11):1591-7.
75. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, et al. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem*. 21 févr 2003;278(8):5509-12.
76. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 15 juin 2011;474(7351):307-17.
77. Solon JG, Burke JP, Walsh SR, Coffey JC. The effect of NOD2 polymorphism on postsurgical recurrence in Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis of available literature. *Inflamm Bowel Dis*. avr 2013;19(5):1099-105.
78. Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 7 janv 2014;20(1):6-21.
79. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet*. févr 2007;39(2):207-11.
80. Sehgal R, Berg A, Polinski JJ, Hegarty JP, Lin Z, McKenna KJ, et al. Mutations in IRGM are associated with more frequent need for surgery in patients with ileocolonic Crohn's disease. *Dis Colon Rectum*. févr 2012;55(2):115-21.
81. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*. 1 déc 2006;314(5804):1461-3.
82. Zhu L, Shi T, Zhong C, Wang Y, Chang M, Liu X. IL-10 and IL-10 Receptor Mutations in Very Early Onset Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology Res*. avr 2017;10(2):65-9.
83. Fowler SA, Ananthakrishnan AN, Gardet A, Stevens CR, Korzenik JR, Sands BE, et al. SMAD3 gene variant is a risk factor for recurrent surgery in patients with Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. août 2014;8(8):845-51.
84. Massagué J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:753-91.
85. Germain A, Guéant RM, Chamillard M, Bresler L, Guéant JL, Peyrin-Biroulet L. CARD8 gene variant is a risk factor for recurrent surgery in patients with Crohn's disease. *Dig Liver Dis*. nov 2015;47(11):938-42.
86. Sensi B, Siragusa L, Efrati C, Petagna L, Franceschilli M, Bellato V, et al. The Role of Inflammation in Crohn's Disease Recurrence after Surgical Treatment. *J Immunol Res*. 2020;2020:8846982.
87. Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet*. 3 nov 2012;380(9853):1590-605.
88. Benchimol EI, Mack DR, Guttman A, Nguyen GC, To T, Mojaverian N, et al. Inflammatory bowel disease in immigrants to Canada and their children: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol*. avr 2015;110(4):553-63.
89. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and Inflammatory Bowel Disease: A Meta-analysis. *Mayo Clinic Proceedings*. 1 nov 2006;81(11):1462-71.

90. Cosnes J, Carbonnel F, Beaugerie L, Le Quintrec Y, Gendre JP. Effects of cigarette smoking on the long-term course of Crohn's disease. *Gastroenterology*. févr 1996;110(2):424-31.
91. Pascal V, Pozuelo M, Borrueal N, Casellas F, Campos D, Santiago A, et al. A microbial signature for Crohn's disease. *Gut*. mai 2017;66(5):813-22.
92. Reese GE, Nanidis T, Borysiewicz C, Yamamoto T, Orchard T, Tekkis PP. The effect of smoking after surgery for Crohn's disease: a meta-analysis of observational studies. *Int J Colorectal Dis*. déc 2008;23(12):1213-21.
93. Nunes T, Etchevers MJ, García-Sánchez V, Ginard D, Martí E, Barreiro-de Acosta M, et al. Impact of Smoking Cessation on the Clinical Course of Crohn's Disease Under Current Therapeutic Algorithms: A Multicenter Prospective Study. *Am J Gastroenterol*. mars 2016;111(3):411-9.
94. Bolckmans R, Kalman T, Singh S, Ratnatunga KC, Myrelid P, Travis S, et al. Does Smoking Cessation Reduce Surgical Recurrence After Primary Ileocolic Resection for Crohn's Disease? *Dis Colon Rectum*. 2020;63(2):200-6.
95. Hatoum OA, Heidemann J, Binion DG. The intestinal microvasculature as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Ann N Y Acad Sci*. août 2006;1072:78-97.
96. Persson PG, Hellers G, Ahlbom A. Use of oral moist snuff and inflammatory bowel disease. *Int J Epidemiol*. déc 1993;22(6):1101-3.
97. Gui X, Yang Z, Li MD. Effect of Cigarette Smoke on Gut Microbiota: State of Knowledge. *Front Physiol*. 2021;12:673341.
98. Arnsen Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun*. mai 2010;34(3):J258-265.
99. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics and new diagnoses of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. déc 2011;106(12):2133-42.
100. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics*. oct 2012;130(4):e794-803.
101. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol*. mars 2014;14(3):141-53.
102. Nooredinwand HA, Poullis A. Emerging role of colorectal mucus in gastroenterology diagnostics. *World J Gastroenterol*. 28 mars 2022;28(12):1220-5.
103. Van der Sluis M, De Koning BAE, De Bruijn ACJM, Velcich A, Meijerink JPP, Van Goudoever JB, et al. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology*. juill 2006;131(1):117-29.
104. Kang Y, Park H, Choe BH, Kang B. The Role and Function of Mucins and Its Relationship to Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:848344.
105. Hashash JG, Beatty PL, Critelli K, Hartman DJ, Regueiro M, Tamim H, et al. Altered Expression of the Epithelial Mucin MUC1 Accompanies Endoscopic Recurrence of Postoperative Crohn's Disease. *J Clin Gastroenterol*. 1 févr 2021;55(2):127-33.

106. Kadayakkara DK, Beatty PL, Turner MS, Janjic JM, Ahrens ET, Finn OJ. Inflammation driven by overexpression of the hypoglycosylated abnormal mucin 1 (MUC1) links inflammatory bowel disease and pancreatitis. *Pancreas*. mai 2010;39(4):510-5.
107. Jung H, Kim JS, Lee KH, Tizaoui K, Terrazzino S, Cargnin S, et al. Roles of microRNAs in inflammatory bowel disease. *Int J Biol Sci*. 2021;17(8):2112-23.
108. Michielan A, D'Incà R. Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:628157.
109. Teshima CW, Dieleman LA, Meddings JB. Abnormal intestinal permeability in Crohn's disease pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. juill 2012;1258:159-65.
110. Caparrós E, Wiest R, Scharl M, Rogler G, Gutiérrez Casbas A, Yilmaz B, et al. Dysbiotic microbiota interactions in Crohn's disease. *Gut Microbes*. déc 2021;13(1):1949096.
111. Benjamin JL, Sumpter R, Levine B, Hooper LV. Intestinal epithelial autophagy is essential for host defense against invasive bacteria. *Cell Host Microbe*. 12 juin 2013;13(6):723-34.
112. Nowarski R, Jackson R, Gagliani N, de Zoete MR, Palm NW, Bailis W, et al. Epithelial IL-18 Equilibrium Controls Barrier Function in Colitis. *Cell*. 3 déc 2015;163(6):1444-56.
113. Ouellette AJ. Paneth cells and innate mucosal immunity. *Curr Opin Gastroenterol*. nov 2010;26(6):547-53.
114. Park SW, Zhen G, Verhaeghe C, Nakagami Y, Nguyenvu LT, Barczak AJ, et al. The protein disulfide isomerase AGR2 is essential for production of intestinal mucus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 avr 2009;106(17):6950-5.
115. Kobayashi H, Miura S, Nagata H, Tsuzuki Y, Hokari R, Ogino T, et al. In situ demonstration of dendritic cell migration from rat intestine to mesenteric lymph nodes: relationships to maturation and role of chemokines. *J Leukoc Biol*. mars 2004;75(3):434-42.
116. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:767-811.
117. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Azuma M, Okumura K, Lanier LL, et al. B70/B7-2 is identical to CD86 and is the major functional ligand for CD28 expressed on human dendritic cells. *J Exp Med*. 1 nov 1994;180(5):1841-7.
118. Sakuraba A, Sato T, Kamada N, Kitazume M, Sugita A, Hibi T. Th1/Th17 immune response is induced by mesenteric lymph node dendritic cells in Crohn's disease. *Gastroenterology*. nov 2009;137(5):1736-45.
119. Gren ST, Grip O. Role of Monocytes and Intestinal Macrophages in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis*. août 2016;22(8):1992-8.
120. Hayashi Y, Nakase H. The Molecular Mechanisms of Intestinal Inflammation and Fibrosis in Crohn's Disease. *Front Physiol*. 2022;13:845078.
121. Leppkes M, Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel diseases - Update 2020. *Pharmacol Res*. août 2020;158:104835.

122. Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol*. févr 2013;13(2):145-9.
123. Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, Ivanov II, Littman DR, Maloy KJ, et al. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature*. 29 avr 2010;464(7293):1371-5.
124. Geremia A, Arancibia-Cárcamo CV, Fleming MPP, Rust N, Singh B, Mortensen NJ, et al. IL-23-responsive innate lymphoid cells are increased in inflammatory bowel disease. *J Exp Med*. 6 juin 2011;208(6):1127-33.
125. Geremia A, Arancibia-Cárcamo CV. Innate Lymphoid Cells in Intestinal Inflammation. *Front Immunol*. 2017;8:1296.
126. Hutchins AP, Diez D, Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: recent developments and future challenges. *Brief Funct Genomics*. nov 2013;12(6):489-98.
127. Krause P, Morris V, Greenbaum JA, Park Y, Bjoerheden U, Mikulski Z, et al. IL-10-producing intestinal macrophages prevent excessive antibacterial innate immunity by limiting IL-23 synthesis. *Nat Commun*. 11 mai 2015;6:7055.
128. Murray PJ. Understanding and exploiting the endogenous interleukin-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response. *Curr Opin Pharmacol*. août 2006;6(4):379-86.
129. Pickert G, Neufert C, Leppkes M, Zheng Y, Wittkopf N, Warntjen M, et al. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing. *J Exp Med*. 6 juill 2009;206(7):1465-72.
130. Kühn R, Löhler J, Rennick D, Rajewsky K, Müller W. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell*. 22 oct 1993;75(2):263-74.
131. Yen D, Cheung J, Scheerens H, Poulet F, McClanahan T, McKenzie B, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest*. mai 2006;116(5):1310-6.
132. Meresse B, Rutgeerts P, Malchow H, Dubucquoi S, Dessaint JP, Cohard M, et al. Low ileal interleukin 10 concentrations are predictive of endoscopic recurrence in patients with Crohn's disease. *Gut*. janv 2002;50(1):25-8.
133. Feagan BG, Sandborn WJ, Gasink C, Jacobstein D, Lang Y, Friedman JR, et al. Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. *N Engl J Med*. 17 nov 2016;375(20):1946-60.
134. Múzes G, Molnár B, Sipos F. Regulatory T cells in inflammatory bowel diseases and colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 28 oct 2012;18(40):5688-94.
135. Clough JN, Omer OS, Tasker S, Lord GM, Irving PM. Regulatory T-cell therapy in Crohn's disease: challenges and advances. *Gut*. mai 2020;69(5):942-52.
136. Kugathasan S, Saubermann LJ, Smith L, Kou D, Itoh J, Binion DG, et al. Mucosal T-cell immunoregulation varies in early and late inflammatory bowel disease. *Gut*. déc 2007;56(12):1696-705.

137. Desreumaux P, Brandt E, Gambiez L, Emilie D, Geboes K, Klein O, et al. Distinct cytokine patterns in early and chronic ileal lesions of Crohn's disease. *Gastroenterology*. juill 1997;113(1):118-26.
138. Brandt E, Colombel JF, Ectors N, Gambiez L, Emilie D, Geboes K, et al. Enhanced production of IL-8 in chronic but not in early ileal lesions of Crohn's disease (CD). *Clin Exp Immunol*. nov 2000;122(2):180-5.
139. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut*. mars 2016;65(3):415-25.
140. Yilmaz B, Juillerat P, Øyås O, Ramon C, Bravo FD, Franc Y, et al. Microbial network disturbances in relapsing refractory Crohn's disease. *Nat Med*. 2019;25(2):323-36.
141. Hall AB, Yassour M, Sauk J, Garner A, Jiang X, Arthur T, et al. A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory bowel disease patients. *Genome Med*. 28 nov 2017;9(1):103.
142. Rashid T, Ebringer A, Wilson C. The role of *Klebsiella* in Crohn's disease with a potential for the use of antimicrobial measures. *Int J Rheumatol*. 2013;2013:610393.
143. Zhang J, Hoedt EC, Liu Q, Berendsen E, Teh JJ, Hamilton A, et al. Elucidation of *Proteus mirabilis* as a Key Bacterium in Crohn's Disease Inflammation. *Gastroenterology*. janv 2021;160(1):317-330.e11.
144. Luceri C, Bigagli E, Agostiniani S, Giudici F, Zambonin D, Scaringi S, et al. Analysis of Oxidative Stress-Related Markers in Crohn's Disease Patients at Surgery and Correlations with Clinical Findings. *Antioxidants (Basel)*. 6 sept 2019;8(9):378.
145. Suau A, Rochet V, Sghir A, Gramet G, Brewaeys S, Sutren M, et al. *Fusobacterium prausnitzii* and related species represent a dominant group within the human fecal flora. *Syst Appl Microbiol*. avr 2001;24(1):139-45.
146. Hold GL, Schwiertz A, Aminov RI, Blaut M, Flint HJ. Oligonucleotide probes that detect quantitatively significant groups of butyrate-producing bacteria in human feces. *Appl Environ Microbiol*. juill 2003;69(7):4320-4.
147. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, et al. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. août 2009;15(8):1183-9.
148. Zhao H, Xu H, Chen S, He J, Zhou Y, Nie Y. Systematic review and meta-analysis of the role of *Faecalibacterium prausnitzii* alteration in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol*. févr 2021;36(2):320-8.
149. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 28 oct 2008;105(43):16731-6.
150. Zhou L, Zhang M, Wang Y, Dorfman RG, Liu H, Yu T, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase 1. *Inflamm Bowel Dis*. 16 août 2018;24(9):1926-40.

151. Silva JPB, Navegantes-Lima KC, Oliveira ALB, Rodrigues DVS, Gaspar SLF, Monteiro VVS, et al. Protective Mechanisms of Butyrate on Inflammatory Bowel Disease. *Curr Pharm Des.* 2018;24(35):4154-66.
152. Zhang M, Qiu X, Zhang H, Yang X, Hong N, Yang Y, et al. Faecalibacterium prausnitzii inhibits interleukin-17 to ameliorate colorectal colitis in rats. *PLoS One.* 2014;9(10):e109146.
153. Alameddine J, Godefroy E, Papargyris L, Sarrabayrouse G, Tabiasco J, Bridonneau C, et al. Faecalibacterium prausnitzii Skews Human DC to Prime IL10-Producing T Cells Through TLR2/6/JNK Signaling and IL-10, IL-27, CD39, andIDO-1 Induction. *Front Immunol.* 2019;10:143.
154. Martín R, Chain F, Miquel S, Lu J, Gratadoux JJ, Sokol H, et al. The commensal bacterium Faecalibacterium prausnitzii is protective in DNBS-induced chronic moderate and severe colitis models. *Inflamm Bowel Dis.* mars 2014;20(3):417-30.
155. Wright EK, Kamm MA, Teo SM, Inouye M, Wagner J, Kirkwood CD. Recent advances in characterizing the gastrointestinal microbiome in Crohn's disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis.* juin 2015;21(6):1219-28.
156. Henke MT, Kenny DJ, Cassilly CD, Vlamakis H, Xavier RJ, Clardy J. Ruminococcus gnavus, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 25 juin 2019;116(26):12672-7.
157. Pal D, Naskar M, Bera A, Mukhopadhyay B. Chemical synthesis of the pentasaccharide repeating unit of the O-specific polysaccharide from Ruminococcus gnavus. *Carbohydr Res.* sept 2021;507:108384.
158. Ananthakrishnan AN, Issa M, Binion DG. Clostridium difficile and inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am.* janv 2010;94(1):135-53.
159. Sartor RB. Does Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis cause Crohn's disease? *Gut.* juill 2005;54(7):896-8.
160. Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut.* juin 2017;66(6):1039-48.
161. Standaert-Vitse A, Sendid B, Joossens M, François N, Vandewalle-El Khoury P, Branche J, et al. Candida albicans colonization and ASCA in familial Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* juill 2009;104(7):1745-53.
162. Rutgeerts P, Goobes K, Peeters M, Hiele M, Penninckx F, Aerts R, et al. Effect of faecal stream diversion on recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum. *Lancet.* 28 sept 1991;338(8770):771-4.
163. Cameron JL, Hamilton SR, Coleman J, Sitzmann JV, Bayless TM. Patterns of ileal recurrence in Crohn's disease. A prospective randomized study. *Ann Surg.* mai 1992;215(5):546-51; discussion 551-552.
164. Rutgeerts P, Hiele M, Geboes K, Peeters M, Penninckx F, Aerts R, et al. Controlled trial of metronidazole treatment for prevention of Crohn's recurrence after ileal resection. *Gastroenterology.* juin 1995;108(6):1617-21.

165. Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S, D'Haens G, Baert F, Noman M, et al. Ornidazole for prophylaxis of postoperative Crohn's disease recurrence: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. avr 2005;128(4):856-61.
166. Sokol H, Brot L, Stefanescu C, Auzolle C, Barnich N, Buisson A, et al. Prominence of ileal mucosa-associated microbiota to predict postoperative endoscopic recurrence in Crohn's disease. *Gut*. 2020;69(3):462-72.
167. Machiels K, Pozuelo Del Río M, Martinez-De la Torre A, Xie Z, Pascal Andreu V, Sabino J, et al. Early postoperative endoscopic recurrence in Crohn's disease is characterized by distinct microbiota recolonization. *J Crohns Colitis*. 25 avr 2020;
168. Hamilton AL, Kamm MA, De Cruz P, Wright EK, Feng H, Wagner J, et al. Luminal microbiota related to Crohn's disease recurrence after surgery. *Gut Microbes*. 1 nov 2020;11(6):1713-28.
169. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 99(4):956-63.
170. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N, et al. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. août 2004;127(2):412-21.
171. Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans ADL, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol*. juill 2002;68(7):3401-7.
172. Shahir NM, Wang JR, Wolber EA, Schaner MS, Frank DN, Ir D, et al. Crohn's Disease Differentially Affects Region-Specific Composition and Aerotolerance Profiles of Mucosally Adherent Bacteria. *Inflamm Bowel Dis*. 19 nov 2020;26(12):1843-55.
173. Palmela C, Chevarin C, Xu Z, Torres J, Sevrin G, Hirten R, et al. Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2018;67(3):574-87.
174. Abdelhalim KA, Uzel A, Gülşen Ünal N. Virulence determinants and genetic diversity of adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) strains isolated from patients with Crohn's disease. *Microb Pathog*. août 2020;145:104233.
175. Darfeuille-Michaud A, Neut C, Barnich N, Lederman E, Di Martino P, Desreumaux P, et al. Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. déc 1998;115(6):1405-13.
176. De la Fuente M, Franchi L, Araya D, Díaz-Jiménez D, Olivares M, Álvarez-Lobos M, et al. *Escherichia coli* isolates from inflammatory bowel diseases patients survive in macrophages and activate NLRP3 inflammasome. *Int J Med Microbiol*. mai 2014;304(3-4):384-92.
177. Kamali Dolatabadi R, Feizi A, Halaji M, Fazeli H, Adibi P. The Prevalence of Adherent-Invasive *Escherichia coli* and Its Association With Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:730243.
178. Sivignon A, de Vallée A, Barnich N, Denizot J, Darcha C, Pignède G, et al. *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 prevents colitis induced by AIEC bacteria in the transgenic mouse model mimicking Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. févr 2015;21(2):276-86.



179. Shawki A, Ramirez R, Spalinger MR, Ruegger PM, Sayoc-Becerra A, Santos AN, et al. The autoimmune susceptibility gene, PTPN2, restricts expansion of a novel mouse adherent-invasive *E. coli*. *Gut Microbes*. 1 nov 2020;11(6):1547-66.
180. Buisson A, Sokol H, Hammoudi N, Nancey S, Treton X, Nachury M, et al. Role of adherent and invasive *Escherichia coli* in Crohn's disease: lessons from the postoperative recurrence model. *Gut*. 31 mars 2022;gutjnl-2021-325971.
181. Martinez-Medina M, Aldegue X, Lopez-Siles M, González-Huix F, López-Oliu C, Dahbi G, et al. Molecular diversity of *Escherichia coli* in the human gut: new ecological evidence supporting the role of adherent-invasive *E. coli* (AIEC) in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. juin 2009;15(6):872-82.
182. Rolhion N, Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive *Escherichia coli* in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. oct 2007;13(10):1277-83.
183. Miquel S, Peyretailade E, Claret L, de Vallée A, Dossat C, Vacherie B, et al. Complete genome sequence of Crohn's disease-associated adherent-invasive *E. coli* strain LF82. *PLoS One*. 17 sept 2010;5(9):e12714.
184. Chervy M, Barnich N, Denizot J. Adherent-Invasive *E. coli*: Update on the Lifestyle of a Troublemaker in Crohn's Disease. *Int J Mol Sci*. 25 mai 2020;21(10):E3734.
185. Gibold L, Garenaux E, Dalmaso G, Gallucci C, Cia D, Mottet-Auselo B, et al. The Vat-AIEC protease promotes crossing of the intestinal mucus layer by Crohn's disease-associated *Escherichia coli*. *Cell Microbiol*. mai 2016;18(5):617-31.
186. Chassaing B, Koren O, Carvalho FA, Ley RE, Gewirtz AT. AIEC pathobiont instigates chronic colitis in susceptible hosts by altering microbiota composition. *Gut*. juill 2014;63(7):1069-80.
187. Boudeau J, Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Type 1 pili-mediated adherence of *Escherichia coli* strain LF82 isolated from Crohn's disease is involved in bacterial invasion of intestinal epithelial cells. *Mol Microbiol*. mars 2001;39(5):1272-84.
188. Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Abnormal CEACAM6 expression in Crohn disease patients favors gut colonization and inflammation by adherent-invasive *E. coli*. *Virulence*. août 2010;1(4):281-2.
189. Barnich N, Carvalho FA, Glasser AL, Darcha C, Jantscheff P, Allez M, et al. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest*. juin 2007;117(6):1566-74.
190. Dumych T, Yamakawa N, Sivignon A, Garenaux E, Robakiewicz S, Coddeville B, et al. Oligomannose-Rich Membranes of Dying Intestinal Epithelial Cells Promote Host Colonization by Adherent-Invasive *E. coli*. *Front Microbiol*. 2018;9:742.
191. Low D, Tran HT, Lee IA, Dreux N, Kamba A, Reinecker HC, et al. Chitin-binding domains of *Escherichia coli* ChiA mediate interactions with intestinal epithelial cells in mice with colitis. *Gastroenterology*. sept 2013;145(3):602-612.e9.
192. Rolhion N, Barnich N, Bringer MA, Glasser AL, Ranc J, Hébuterne X, et al. Abnormally expressed ER stress response chaperone Gp96 in CD favours adherent-invasive *Escherichia coli* invasion. *Gut*. oct 2010;59(10):1355-62.

193. Rolhion N, Hofman P, Darfeuille-Michaud A. The endoplasmic reticulum stress response chaperone: Gp96, a host receptor for Crohn disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli*. *Gut Microbes*. avr 2011;2(2):115-9.
194. Vazeille E, Chassaing B, Buisson A, Dubois A, de Vallée A, Billard E, et al. GipA Factor Supports Colonization of Peyer's Patches by Crohn's Disease-associated *Escherichia Coli*. *Inflamm Bowel Dis*. janv 2016;22(1):68-81.
195. Hase K, Kawano K, Nochi T, Pontes GS, Fukuda S, Ebisawa M, et al. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature*. 12 nov 2009;462(7270):226-30.
196. Chassaing B, Rolhion N, de Vallée A, Salim SY, Prorok-Hamon M, Neut C, et al. Crohn disease--associated adherent-invasive *E. coli* bacteria target mouse and human Peyer's patches via long polar fimbriae. *J Clin Invest*. mars 2011;121(3):966-75.
197. Wine E, Ossa JC, Gray-Owen SD, Sherman PM. Adherent-invasive *Escherichia coli*, strain LF82 disrupts apical junctional complexes in polarized epithelia. *BMC Microbiol*. 26 août 2009;9:180.
198. Denizot J, Sivignon A, Barreau F, Darcha C, Chan HFC, Stanners CP, et al. Adherent-invasive *Escherichia coli* induce claudin-2 expression and barrier defect in CEABAC10 mice and Crohn's disease patients. *Inflamm Bowel Dis*. févr 2012;18(2):294-304.
199. Ellermann M, Gharaibeh RZ, Fulbright L, Dogan B, Moore LN, Broberg CA, et al. Yersiniabactin-Producing Adherent/Invasive *Escherichia coli* Promotes Inflammation-Associated Fibrosis in Gnotobiotic Il10<sup>-/-</sup> Mice. *Infect Immun*. nov 2019;87(11):e00587-19.
200. Agus A, Massier S, Darfeuille-Michaud A, Billard E, Barnich N. Understanding host-adherent-invasive *Escherichia coli* interaction in Crohn's disease: opening up new therapeutic strategies. *Biomed Res Int*. 2014;2014:567929.
201. Bringer MA, Billard E, Glasser AL, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. Replication of Crohn's disease-associated AIEC within macrophages is dependent on TNF- $\alpha$  secretion. *Lab Invest*. mars 2012;92(3):411-9.
202. Glasser AL, Boudeau J, Barnich N, Perruchot MH, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn's disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. *Infect Immun*. sept 2001;69(9):5529-37.
203. Buisson A, Douadi C, Ouchchane L, Goutte M, Hugot JP, Dubois A, et al. Macrophages Inability to Mediate Adherent-Invasive *E. coli* Replication is Linked to Autophagy in Crohn's Disease Patients. *Cells*. 5 nov 2019;8(11):E1394.
204. Larabi A, Dalmaso G, Delmas J, Barnich N, Nguyen HTT. Exosomes transfer miRNAs from cell-to-cell to inhibit autophagy during infection with Crohn's disease-associated adherent-invasive *E. coli*. *Gut Microbes*. 1 nov 2020;11(6):1677-94.
205. Bringer MA, Glasser AL, Tung CH, Méresse S, Darfeuille-Michaud A. The Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* strain LF82 replicates in mature phagolysosomes within J774 macrophages. *Cell Microbiol*. mars 2006;8(3):471-84.
206. Spalinger MR, Shawki A, Chatterjee P, Canale V, Santos A, Sayoc-Becerra A, et al. Autoimmune susceptibility gene PTPN2 is required for clearance of adherent-invasive *Escherichia coli* by integrating bacterial uptake and lysosomal defence. *Gut*. janv 2022;71(1):89-99.

207. Zhao T, Su Z, Li Y, Zhang X, You Q. Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 14 sept 2020;5(1):201.
208. Douadi C, Vazeille E, Chambon C, Hébraud M, Fargeas M, Dodel M, et al. Anti-TNF Agents Restrict Adherent-invasive *Escherichia coli* Replication Within Macrophages Through Modulation of Chitinase 3-like 1 in Patients with Crohn's Disease. *J Crohns Colitis.* 4 août 2022;16(7):1140-50.
209. Lapaquette P, Bringer MA, Darfeuille-Michaud A. Defects in autophagy favour adherent-invasive *Escherichia coli* persistence within macrophages leading to increased pro-inflammatory response. *Cell Microbiol.* juin 2012;14(6):791-807.
210. Dunne KA, Allam A, McIntosh A, Houston SA, Cerovic V, Goodyear CS, et al. Increased S-nitrosylation and proteasomal degradation of caspase-3 during infection contribute to the persistence of adherent invasive *Escherichia coli* (AIEC) in immune cells. *PLoS One.* 2013;8(7):e68386.
211. Lapaquette P, Glasser AL, Huett A, Xavier RJ, Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated adherent-invasive *E. coli* are selectively favoured by impaired autophagy to replicate intracellularly. *Cell Microbiol.* janv 2010;12(1):99-113.
212. Brest P, Lapaquette P, Souidi M, Lebrigand K, Cesaro A, Vouret-Craviari V, et al. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR-196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. *Nat Genet.* mars 2011;43(3):242-5.
213. Peeters H, Bogaert S, Laukens D, Rottiers P, De Keyser F, Darfeuille-Michaud A, et al. CARD15 variants determine a disturbed early response of monocytes to adherent-invasive *Escherichia coli* strain LF82 in Crohn's disease. *Int J Immunogenet.* juin 2007;34(3):181-91.
214. Chargui A, Cesaro A, Mimouna S, Fareh M, Brest P, Naquet P, et al. Subversion of autophagy in adherent invasive *Escherichia coli*-infected neutrophils induces inflammation and cell death. *PLoS One.* 2012;7(12):e51727.
215. Guo Z, Cai X, Guo X, Xu Y, Gong J, Li Y, et al. Let-7b ameliorates Crohn's disease-associated adherent-invasive *E coli* induced intestinal inflammation via modulating Toll-Like Receptor 4 expression in intestinal epithelial cells. *Biochem Pharmacol.* oct 2018;156:196-203.
216. Carvalho FA, Barnich N, Sauvanet P, Darcha C, Gelot A, Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated *Escherichia coli* LF82 aggravates colitis in injured mouse colon via signaling by flagellin. *Inflamm Bowel Dis.* août 2008;14(8):1051-60.
217. Eaves-Pyles T, Allen CA, Taormina J, Swidsinski A, Tutt CB, Jezek GE, et al. *Escherichia coli* isolated from a Crohn's disease patient adheres, invades, and induces inflammatory responses in polarized intestinal epithelial cells. *Int J Med Microbiol.* juill 2008;298(5-6):397-409.
218. Subramanian S, Rhodes JM, Hart CA, Tam B, Roberts CL, Smith SL, et al. Characterization of epithelial IL-8 response to inflammatory bowel disease mucosal *E. coli* and its inhibition by mesalamine. *Inflamm Bowel Dis.* févr 2008;14(2):162-75.
219. Li LZ, Zhang YY, Cui XF, Ma JJ, Wang D, Zhang HJ. [The association between mesenteric fat hypertrophy and behavior and activity of Crohn's disease]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi.* 1 sept 2020;59(9):711-5.

220. Li Y, Zhu W, Gong J, Zhang W, Gu L, Guo Z, et al. Visceral fat area is associated with a high risk for early postoperative recurrence in Crohn's disease. *Colorectal Dis.* mars 2015;17(3):225-34.
221. Zhu Y, Qian W, Huang L, Xu Y, Guo Z, Cao L, et al. Role of Extended Mesenteric Excision in Postoperative Recurrence of Crohn's Colitis: A Single-Center Study. *Clin Transl Gastroenterol.* 1 oct 2021;12(10):e00407.
222. Mineccia M, Maconi G, Daperno M, Cigognini M, Cherubini V, Colombo F, et al. Has the Removing of the Mesentery during Ileo-Colic Resection an Impact on Post-Operative Complications and Recurrence in Crohn's Disease? Results from the Resection of the Mesentery Study (Remedy). *J Clin Med.* 1 avr 2022;11(7):1961.
223. Holubar SD, Gunter RL, Click BH, Achkar JP, Lightner AL, Lipman JM, et al. Mesenteric Excision and Exclusion for Ileocolic Crohn's Disease: Feasibility and Safety of an Innovative, Combined Surgical Approach With Extended Mesenteric Excision and Kono-S Anastomosis. *Dis Colon Rectum.* 1 janv 2022;65(1):e5-13.
224. van der Does de Willebois EML, SPICY study group. Mesenteric SPArInG versus extensive mesentereCtomY in primary ileocolic resection for ileocaecal Crohn's disease (SPICY): study protocol for randomized controlled trial. *BJS Open.* 6 janv 2022;6(1):zrab136.
225. Bsai M, Chapuy L, Rubio M, Wassef R, Richard C, Schwenter F, et al. Differential Pathogenic Th17 Profile in Mesenteric Lymph Nodes of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis Patients. *Front Immunol.* 2019;10:1177.
226. Diehl GE, Longman RS, Zhang JX, Breart B, Galan C, Cuesta A, et al. Microbiota restricts trafficking of bacteria to mesenteric lymph nodes by CX(3)CR1(hi) cells. *Nature.* 7 févr 2013;494(7435):116-20.
227. Ambrose NS, Johnson M, Burdon DW, Keighley MR. Incidence of pathogenic bacteria from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. *Br J Surg.* août 1984;71(8):623-5.
228. Takesue Y, Ohge H, Uemura K, Imamura Y, Murakami Y, Yokoyama T, et al. Bacterial translocation in patients with Crohn's disease undergoing surgery. *Dis Colon Rectum.* déc 2002;45(12):1665-71.
229. Guedj K, Abitbol Y, Cazals-Hatem D, Morvan M, Maggiori L, Panis Y, et al. Adipocytes orchestrate the formation of tertiary lymphoid organs in the creeping fat of Crohn's disease affected mesentery. *J Autoimmun.* sept 2019;103:102281.
230. Unger LW, Argeny S, Stift A, Yang Y, Karall A, Freilinger T, et al. Mesenteric granulomas independently predict long-term risk of surgical recurrence in Crohn's disease. *Colorectal Dis.* févr 2020;22(2):170-7.
231. Ferrante M, de Hertogh G, Hlavaty T, D'Haens G, Penninckx F, D'Hoore A, et al. The value of myenteric plexitis to predict early postoperative Crohn's disease recurrence. *Gastroenterology.* mai 2006;130(6):1595-606.
232. Ryan JM, Rogers AC, O'Toole A, Burke JP. Meta-analysis of Histological Margin Positivity in the Prediction of Recurrence After Crohn's Resection. *Dis Colon Rectum.* 2019;62(7):882-92.
233. Simillis C, Jacovides M, Reese GE, Yamamoto T, Tekkis PP. Meta-analysis of the role of granulomas in the recurrence of Crohn disease. *Dis Colon Rectum.* févr 2010;53(2):177-85.

234. Tandon P, Malhi G, Abdali D, Pogue E, Marshall JK, de Buck van Overstraeten A, et al. Active Margins, Plexitis, and Granulomas Increase Postoperative Crohn's Recurrence: Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 12 août 2020;
235. Ikeuchi H, Kusunoki M, Yamamura T. Long-term results of stapled and hand-sewn anastomoses in patients with Crohn's disease. *Dig Surg.* 2000;17(5):493-6.
236. Simillis C, Purkayastha S, Yamamoto T, Strong SA, Darzi AW, Tekkis PP. A meta-analysis comparing conventional end-to-end anastomosis vs. other anastomotic configurations after resection in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* oct 2007;50(10):1674-87.
237. Iesalnieks I, Kilger A, Glass H, Müller-Wille R, Klebl F, Ott C, et al. Intraabdominal septic complications following bowel resection for Crohn's disease: detrimental influence on long-term outcome. *Int J Colorectal Dis.* déc 2008;23(12):1167-74.
238. Bachour SP, Shah R, Rieder F, Qazi T, Achkar JP, Philpott J, et al. Intraabdominal septic complications after ileocolic resection increases risk for endoscopic and surgical postoperative Crohn's disease recurrence. *J Crohns Colitis.* 15 juin 2022;jjac078.
239. He X, Chen Z, Huang J, Lian L, Rouniyar S, Wu X, et al. Stapled side-to-side anastomosis might be better than handsewn end-to-end anastomosis in ileocolic resection for Crohn's disease: a meta-analysis. *Dig Dis Sci.* juill 2014;59(7):1544-51.
240. Feng JS, Li JY, Yang Z, Chen XY, Mo JJ, Li SH. Stapled side-to-side anastomosis might be benefit in intestinal resection for Crohn's disease: A systematic review and network meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* avr 2018;97(15):e0315.
241. Zollinger RM, Ellison EC. *Zollinger's Atlas of surgical operations.* 2021<sup>e</sup> éd.
242. Kono T, Ashida T, Ebisawa Y, Chisato N, Okamoto K, Katsuno H, et al. A new antimesenteric functional end-to-end handsewn anastomosis: surgical prevention of anastomotic recurrence in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum.* mai 2011;54(5):586-92.
243. Shimada N, Ohge H, Kono T, Sugitani A, Yano R, Watadani Y, et al. Surgical Recurrence at Anastomotic Site After Bowel Resection in Crohn's Disease: Comparison of Kono-S and End-to-end Anastomosis. *J Gastrointest Surg.* 2019;23(2):312-9.
244. Valibouze C, Desreumaux P, Zerbib P. Post-surgical recurrence of Crohn's disease: Situational analysis and future prospects. *J Visc Surg.* oct 2021;158(5):401-10.
245. Weill Medical College of Cornell University. Prospective Randomized Study of the Kono-S Anastomosis Versus the Side-to-side Functional End Anastomosis in the Prevention of Post-operative Recurrence of Crohn's Disease [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 mars [cité 1 sept 2022]. Report No.: NCT03256240. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03256240>
246. Bislenghi G, Devriendt S, Wolthuis A, D'Hoore A. Totally stapled Kono-S anastomosis for Crohn's disease. *Tech Coloproctol.* mars 2022;26(3):213-6.
247. Uchino M, Ikeuchi H, Matsuoka H, Matsumoto T, Takesue Y, Tomita N. Long-term efficacy of strictureplasty for Crohn's disease. *Surg Today.* oct 2010;40(10):949-53.

248. Bislenghi G, Ferrante M, Sabino J, Verstockt B, Martin-Perez B, Fieuids S, et al. Short- and Long-term Outcomes Following Side-to-side Strictureplasty and its Modification Over the Ileocaecal Valve for Extensive Crohn's Ileitis. *J Crohns Colitis*. 5 oct 2020;14(10):1378-84.
249. Rieder F, Zimmermann EM, Remzi FH, Sandborn WJ. Crohn's disease complicated by strictures: a systematic review. *Gut*. juill 2013;62(7):1072-84.
250. Lim WC, Wang Y, MacDonald JK, Hanauer S. Aminosalicylates for induction of remission or response in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 3 juill 2016;7:CD008870.
251. Gordon M, Naidoo K, Thomas AG, Akobeng AK. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of surgically-induced remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 19 jan 2011;(1):CD008414.
252. Gjuladin-Hellon T, Gordon M, Ihezor-Ejiofor Z, Akobeng AK. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of surgically-induced remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 20 2019;6:CD008414.
253. Beelen EMJ, Nieboer D, Arkenbosch JHC, Regueiro MD, Satsangi J, Ardizzone S, et al. Risk Prediction and Comparative Efficacy of Anti-TNF vs Thiopurines, for Preventing Postoperative Recurrence in Crohn's Disease: A Pooled Analysis of 6 Trials. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 20 oct 2021;S1542-3565(21)01134-4.
254. Yoshida K, Fukunaga K, Ikeuchi H, Kamikozuru K, Hida N, Ohda Y, et al. Scheduled infliximab monotherapy to prevent recurrence of Crohn's disease following ileocolic or ileal resection: a 3-year prospective randomized open trial. *Inflamm Bowel Dis*. sept 2012;18(9):1617-23.
255. Jain SR, Ow ZGW, Chin YH, Lim WH, Kong G, Tham HY, et al. Quantifying the rate of recurrence of postoperative Crohn's disease with biological therapy. A meta-analysis. *J Dig Dis*. juill 2021;22(7):399-407.
256. Targownik LE, Benchimol EI, Witt J, Bernstein CN, Singh H, Lix L, et al. The Effect of Initiation of Anti-TNF Therapy on the Subsequent Direct Health Care Costs of Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 18 sept 2019;25(10):1718-28.
257. Broide E, Eindor-Abarbanel A, Naftali T, Shirin H, Shalem T, Richter V, et al. Early Surgery Versus Biologic Therapy in Limited Nonstricturing Ileocecal Crohn's Disease-A Decision-making Analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 23 oct 2020;26(11):1648-57.
258. Allez M, Karmiris K, Louis E, Van Assche G, Ben-Horin S, Klein A, et al. Report of the ECCO pathogenesis workshop on anti-TNF therapy failures in inflammatory bowel diseases: definitions, frequency and pharmacological aspects. *J Crohns Colitis*. oct 2010;4(4):355-66.
259. Rokkas T, Ekmektzoglou K, Niv Y. Comparative Efficacy and Tolerability of Janus Kinase Inhibitor Therapies for Moderate to Severe Crohn's Disease: A Network Meta-analysis. *J Gastrointest Liver Dis*. 21 sept 2021;30(3):388-97.
260. Mack DR. Probiotics-mixed messages. *Can Fam Physician*. nov 2005;51:1455-7, 1462-4.
261. Tullio V. Yeast Genomics and Its Applications in Biotechnological Processes: What Is Our Present and Near Future? *J Fungi (Basel)*. 20 juill 2022;8(7):752.

262. Pineton de Chambrun G, Neut C, Chau A, Cazaubiel M, Pelerin F, Justen P, et al. A randomized clinical trial of *Saccharomyces cerevisiae* versus placebo in the irritable bowel syndrome. *Dig Liver Dis.* févr 2015;47(2):119-24.
263. Alvarez Dorta D, Sivignon A, Chalopin T, Dumych TI, Roos G, Bilyy RO, et al. The Antiadhesive Strategy in Crohn's Disease: Orally Active Mannosides to Decolonize Pathogenic *Escherichia coli* from the Gut. *Chembiochem.* 17 mai 2016;17(10):936-52.
264. Salas A, Hernandez-Rocha C, Duijvestein M, Faubion W, McGovern D, Vermeire S, et al. JAK-STAT pathway targeting for the treatment of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* juin 2020;17(6):323-37.
265. [JAK inhibitors: Perspectives in internal medicine] - PubMed [Internet]. [cité 8 nov 2021]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31699450/>
266. Texler B, Zollner A, Reinstadler V, Reider SJ, Macheiner S, Jelusic B, et al. Tofacitinib-Induced Modulation of Intestinal Adaptive and Innate Immunity and Factors Driving Cellular and Systemic Pharmacokinetics. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2022;13(2):383-404.
267. XELJANZ (tofacitinib) [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 18 août 2022]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2912419/fr/xeljanz-tofacitinib](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2912419/fr/xeljanz-tofacitinib)
268. Khanna D, Padilla CM, Tsoi LC, Nagaraja V, Khanna P, Tabib T, et al. Tofacitinib blocks interferon-regulated biomarker genes in skin fibroblasts and keratinocytes in a systemic sclerosis trial. *JCI Insight.* 9 août 2022;e159566.
269. Brand RM, Moore BA, Zyhowski A, Siegel A, Uttam S, Metter EJ, et al. Tofacitinib inhibits inflammatory cytokines from ulcerative colitis and healthy mucosal explants and is associated with pSTAT1/3 reduction in T-cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1 mars 2021;320(3):G396-410.
270. Panés J, Sandborn WJ, Schreiber S, Sands BE, Vermeire S, D'Haens G, et al. Tofacitinib for induction and maintenance therapy of Crohn's disease: results of two phase IIb randomised placebo-controlled trials. *Gut.* juin 2017;66(6):1049-59.
271. Sandborn WJ, Ghosh S, Panes J, Vranic I, Wang W, Niezychowski W, et al. A phase 2 study of tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* sept 2014;12(9):1485-1493.e2.
272. Uzzan M. Tofacitinib: A Small Molecule for Biologic-Refractory Crohn's Disease? *Dig Dis Sci.* août 2022;67(8):3479-80.
273. El Jammal T, Gerfaud-Valentin M, Sève P, Jamilloux Y. [JAK inhibitors: Perspectives in internal medicine]. *Rev Med Interne.* déc 2019;40(12):816-25.
274. Rizzo A, Ferrante A, Guggino G, Ciccia F. Gut inflammation in spondyloarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* déc 2017;31(6):863-76.
275. Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, Caffrey M, James DC, Sturrock RD. Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet.* 28 avr 1973;1(7809):904-7.
276. Møller P, Vinje O, Kåss E, Berg K. The distribution of clinical findings in Bechterew's syndrome (ankylosing spondylitis) suggests distinct genetic subgroups. *Clin Genet.* oct 1982;22(4):151-9.

277. Leirisalo-Repo M, Turunen U, Stenman S, Helenius P, Seppälä K. High frequency of silent inflammatory bowel disease in spondylarthropathy. *Arthritis Rheum.* janv 1994;37(1):23-31.
278. De Keyser F, Elewaut D, De Vos M, De Vlam K, Cuvelier C, Mielants H, et al. Bowel inflammation and the spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am.* nov 1998;24(4):785-813, ix-x.
279. de Vlam K, Mielants H, Cuvelier C, De Keyser F, Veys EM, De Vos M. Spondyloarthropathy is underestimated in inflammatory bowel disease: prevalence and HLA association. *J Rheumatol.* déc 2000;27(12):2860-5.
280. Jacques P, Mielants H, Coppieters K, De Vos M, Elewaut D. The intimate relationship between gut and joint in spondyloarthropathies. *Curr Opin Rheumatol.* juill 2007;19(4):353-7.
281. Palm O, Moum B, Ongre A, Gran JT. Prevalence of ankylosing spondylitis and other spondyloarthropathies among patients with inflammatory bowel disease: a population study (the IBSEN study). *J Rheumatol.* mars 2002;29(3):511-5.
282. Purrmann J, Zeidler H, Bertrams J, Juli E, Cleveland S, Berges W, et al. HLA antigens in ankylosing spondylitis associated with Crohn's disease. Increased frequency of the HLA phenotype B27,B44. *J Rheumatol.* nov 1988;15(11):1658-61.
283. Mielants H, Veys EM, De Vos M, Cuvelier C, Goemaere S, De Clercq L, et al. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. I. Clinical aspects. *J Rheumatol.* déc 1995;22(12):2266-72.
284. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, et al. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. III. Relation between gut and joint. *J Rheumatol.* déc 1995;22(12):2279-84.
285. Mielants H, Veys EM, Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, et al. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. II. Histological aspects. *J Rheumatol.* déc 1995;22(12):2273-8.
286. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell.* 30 nov 1990;63(5):1099-112.
287. Onderdonk AB, Richardson JA, Hammer RE, Taurog JD. Correlation of cecal microflora of HLA-B27 transgenic rats with inflammatory bowel disease. *Infect Immun.* déc 1998;66(12):6022-3.
288. Taurog JD, Maika SD, Simmons WA, Breban M, Hammer RE. Susceptibility to inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rat lines correlates with the level of B27 expression. *J Immunol.* 1 mai 1993;150(9):4168-78.
289. Chater C. Développement d'un modèle d'iléite post-chirurgicale chez le rat HLA-B27 mimant la maladie de Crohn. *Mémoire Master 2.* 2014.
290. Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, Simmons WA, Zhou M, Fernández-Sueiro JL, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. *J Exp Med.* 1 déc 1994;180(6):2359-64.
291. Chau A, Lucil S, Chater C, Specca S, Djouina M, Dubuquoy C, et al. P049 HLA B27 transgenic rat: a new animal model of ileitis post-surgery reproducing inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis.* 16 janv 2018;12:S116-7.



292. Schneider L. Mécanismes physiopathologiques impliqués dans la récurrence post-chirurgicale de la maladie de Crohn : modèle d'étude du rat HLA-B27. Mémoire Master 2. 2016.
293. M'BA L. Rôle des bactéries AIEC dans un modèle murin d'iléite de Crohn et évaluation des lésions par la tomographie à émission de positrons couplée à la tomodensitométrie. Mémoire Master 2. 2017.
294. Valibouze C, Speca S, Lambin T, Dubuquoy C, Dubuquoy L, M'Ba L, et al. Su1807 – Post-Operative Recurrence After Ileo-Caecal Resection for Crohn's Disease: Towards an Anti-Adherent Invasive Escherichia Coli (AIEC) Strategy with Rationally Selected Saccharomyces Cerevisiae Probiotic. *Gastroenterology*. 1 mai 2019;156:S-620.
295. Koelink PJ, Wildenberg ME, Stitt LW, Feagan BG, Koldijk M, van 't Wout AB, et al. Development of Reliable, Valid and Responsive Scoring Systems for Endoscopy and Histology in Animal Models for Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 28 juin 2018;12(7):794-803.
296. Sandborn WJ, Ghosh S, Panes J, Vranic I, Su C, Rousell S, et al. Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in active ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 16 août 2012;367(7):616-24.
297. Beattie DT, Pulido-Rios MT, Shen F, Ho M, Situ E, Tsuruda PR, et al. Intestinally-restricted Janus Kinase inhibition: a potential approach to maximize the therapeutic index in inflammatory bowel disease therapy. *J Inflamm (Lond)*. 2017;14:28.
298. Mourey F, Decherf A, Jeanne JF, Clément-Ziza M, Grisoni ML, Machuron F, et al. Saccharomyces cerevisiae I-3856 in irritable bowel syndrome with predominant constipation. *World J Gastroenterol*. 14 juin 2022;28(22):2509-22.
299. Spiller R, Pélerin F, Cayzeele Decherf A, Maudet C, Housez B, Cazaubiel M, et al. Randomized double blind placebo-controlled trial of Saccharomyces cerevisiae CNCM I-3856 in irritable bowel syndrome: improvement in abdominal pain and bloating in those with predominant constipation. *United European Gastroenterol J*. juin 2016;4(3):353-62.
300. Gayathri R, Aruna T, Malar S, Shilpa B, Dhanasekar KR. Efficacy of Saccharomyces cerevisiae CNCM I-3856 as an add-on therapy for irritable bowel syndrome. *Int J Colorectal Dis*. janv 2020;35(1):139-45.
301. Sivignon A, Yu SY, Ballet N, Vandekerckove P, Barnich N, Guerardel Y. Heteropolysaccharides from *S. cerevisiae* show anti-adhesive properties against *E. coli* associated with Crohn's disease. *Carbohydr Polym*. 1 nov 2021;271:118415.
302. Jana UK, Kango N, Pletschke B. Hemicellulose-Derived Oligosaccharides: Emerging Prebiotics in Disease Alleviation. *Front Nutr*. 2021;8:670817.
303. Piotrowska M, Binienda A, Fichna J. The role of fatty acids in Crohn's disease pathophysiology - An overview. *Mol Cell Endocrinol*. 1 déc 2021;538:111448.
304. Reinisch W, Hébuterne X, Buisson A, Schreiber S, Desreumaux P, Primas C, et al. Safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic study of sibofimloc, a novel FimH blocker in patients with active Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol*. mai 2022;37(5):832-40.
305. Gerner RR, Hossain S, Sargun A, Siada K, Norton GJ, Zheng T, et al. Siderophore Immunization Restricted Colonization of Adherent-Invasive Escherichia coli and Ameliorated Experimental Colitis. *mBio*. 12 sept 2022;e0218422.

306. Dogan B, Fu J, Zhang S, Scherl EJ, Simpson KW. Rifaximin decreases virulence of Crohn's disease-associated *Escherichia coli* and epithelial inflammatory responses. *J Antibiot (Tokyo)*. mai 2018;71(5):485-94.
307. Martinez-Medina M, Strozzi F, Castillo BRD, Serrano-Morillas N, Bustins NF, Martínez-Martínez L. Antimicrobial Resistance Profiles of Adherent Invasive *Escherichia coli* Show Increased Resistance to  $\beta$ -Lactams. *Antibiotics (Basel)*. 13 mai 2020;9(5):E251.
308. Gutiérrez B, Domingo-Calap P. Phage Therapy in Gastrointestinal Diseases. *Microorganisms*. 16 sept 2020;8(9):E1420.
309. Galtier M, De Sordi L, Sivignon A, de Vallée A, Maura D, Neut C, et al. Bacteriophages Targeting Adherent Invasive *Escherichia coli* Strains as a Promising New Treatment for Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 1 juill 2017;11(7):840-7.
310. Titécat M, Rousseaux C, Dubuquoy C, Foligné B, Rahmouni O, Mahieux S, et al. Safety and Efficacy of an AIEC-targeted Bacteriophage Cocktail in a Mice Colitis Model. *J Crohns Colitis*. 23 août 2022;jjac064.
311. Intralytix, Inc. A Phase 1/2a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial to Assess the Safety and Efficacy of Oral Administration of EcoActive on Intestinal Adherent Invasive *Escherichia coli* (AIEC) in Patients With Inactive Crohn's Disease (CD) [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 août [cité 6 oct 2022]. Report No.: NCT03808103. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03808103>
312. Actualité - Phagothérapie : l'ANSM autorise un accès compassionnel pour des bactériophages dans les infections ostéo-articulaires - ANSM [Internet]. [cité 8 oct 2022]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/phagotherapie-lansm-autorise-un-acces-compassionnel-pour-des-bacteriophages-dans-les-infections-osteo-articulaires>
313. Zhang M, Jin X, Yang YF, Cao GF.  $\beta$ -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* is involved in immunostimulation of ovine ruminal explants. *Can J Vet Res*. oct 2020;84(4):283-93.
314. Wright EK, Kamm MA, Wagner J, Teo SM, Cruz PD, Hamilton AL, et al. Microbial Factors Associated with Postoperative Crohn's Disease Recurrence. *J Crohns Colitis*. févr 2017;11(2):191-203.
315. Mondot S, Lepage P, Seksik P, Allez M, Tréton X, Bouhnik Y, et al. Structural robustness of the gut mucosal microbiota is associated with Crohn's disease remission after surgery. *Gut*. 2016;65(6):954-62.
316. De Cruz P, Kang S, Wagner J, Buckley M, Sim WH, Prideaux L, et al. Association between specific mucosa-associated microbiota in Crohn's disease at the time of resection and subsequent disease recurrence: a pilot study. *J Gastroenterol Hepatol*. févr 2015;30(2):268-78.
317. Fang X, Vázquez-Baeza Y, Elijah E, Vargas F, Ackermann G, Humphrey G, et al. Gastrointestinal Surgery for Inflammatory Bowel Disease Persistently Lowers Microbiome and Metabolome Diversity. *Inflamm Bowel Dis*. 15 avr 2021;27(5):603-16.

# TRAVAUX PERSONNELS

## 1. La récurrence post-opératoire de la maladie de Crohn : état des lieux et perspectives en 2020

### La récurrence post-opératoire de la maladie de Crohn : état des lieux et perspectives en 2020.

C Valibouze<sup>1 2</sup>, P Desreumaux<sup>2 3</sup>, P Zerbib<sup>1 2</sup>

1 Service de Chirurgie Digestive et Transplantation, Université Lille Nord de France, Hôpital Claude Huriez, CHU de Lille, 59037 Lille, France.

2 Université de Lille, INSERM, U1286 - Infinite - Institute for Translational Research in Inflammation, Lille, France.

3 Service d'Hépatogastroentérologie, Université Lille Nord de France, Hôpital Claude Huriez, CHRU de Lille, 59037 Lille, France.

Auteur correspondant : Caroline Valibouze

Email : caroline\_valibouze@hotmail.fr

Numéro de téléphone : +33 3 20 44 44 64

Numéro de Fax : +33 3 20 44 63 64

Adresse : Service de Chirurgie Digestive et Transplantation, Hôpital CLAUDE HURIEZ, Rue Michel Polonovski, 59037 LILLE CEDEX

## Résumé

Si la chirurgie garde un rôle thérapeutique majeur dans la maladie de Crohn, la prévention de la récurrence post-opératoire est un enjeu essentiel. En effet, malgré l'essor des biothérapies, la quasi-totalité des patients opérés vont présenter une récurrence d'abord endoscopique puis clinique pour finalement conduire à une seconde intervention dans 15 à 20% des cas. Certains facteurs de risque de récurrence comme le tabac, les résections itératives et/ou étendues, les lésions ano-périnéales, la plexite myentérique, les granulomes épithélioïdes, le phénotype pénétrant et l'absence de traitement prophylactique post-opératoire ont été bien établis. Actuellement la prévention de la récurrence post-opératoire repose principalement sur le sevrage tabagique chez tous les patients et la prescription d'anti-TNF $\alpha$  dès lors qu'il existe au moins 2 facteurs de risque de récurrence (haut risque de récurrence). Cependant, de nouvelles techniques chirurgicales ont été récemment décrites, et pourraient modifier les stratégies de prévention post-opératoire. L'anastomose latéro-latérale anti mésentérique de Kono a été montrée comme diminuant significativement la récurrence clinique et endoscopique en comparaison avec les techniques d'anastomoses conventionnelles. Les stricturoplasties longues latéro-latérales isopéristaltiques ont montré leur faisabilité et un faible taux de récurrence chirurgicale à long terme. Les résections digestives avec exérèse mésentérique extensive ont diminué le taux de récurrence en comparaison avec des patients opérés de manière conventionnelle (2,9 vs 40% à 5 ans). Si les résultats de ces nouvelles techniques chirurgicales se confirmaient, les indications de traitements immuno-modulateurs post-opératoires pourraient être revus à la baisse chez les patients considérés à haut risque de récurrence.

**Mots Clés :** Maladie de Crohn, Récurrence, Résection iléo-caecale, Anastomose

## Points essentiels

- Les patients atteints d'une maladie de Crohn seront opérés dans 30 à 50 % des cas au cours de leur vie, amenant ainsi la résolution des symptômes obstructifs à plus ou moins long terme. Cependant, la récurrence endoscopique post-opératoire concerne la quasi-totalité des patients et son dépistage est essentiel puisqu'elle précède la récurrence clinique puis chirurgicale. Ainsi, 15 à 20% des malades vont nécessiter une nouvelle résection intestinale.
- Plusieurs facteurs de risque ont été impliqués dans la récurrence post-opératoire : le tabac, les résections itératives et/ou étendues (> 50 cm), les lésions ano-périnéales, la plexite myentérique, les granulomes épithélioïdes et l'absence de traitement prophylactique post-opératoire. Le phénotype pénétrant de la maladie de Crohn classiquement reconnu comme favorisant la récurrence post-opératoire a récemment été identifié comme un facteur protecteur de la récurrence.
- Actuellement, la prophylaxie de la récurrence impose dans tous les cas l'arrêt du tabac et la prescription d'anti-TNF chez les patients à haut risque de récurrence (> 1 facteur de risque). L'efficacité des anti-TNF est cependant limitée et se dégrade avec le temps.
- Le consensus ECCO (European Crohn's and Colitis Organisation) privilégie l'anastomose latéro-latérale mécanique en cas de résection iléo-caecale et considère la stricturoplastie comme une alternative valable à la résection pour les sténoses courtes ou longues de l'intestin grêle, en dehors des formes perforantes où seules les résections sont envisageables. Les techniques de stricturoplasties longues pour des sténoses étendues ont donné des résultats encourageants sur la cicatrisation endoscopique et la récurrence chirurgicale à long terme.

- **L'anastomose latéro-latérale de Kono et les résections intestinales avec exérèse méésentérique extensive ont montré des résultats prometteurs avec une diminution de la récurrence endoscopique, clinique et chirurgicale. Ces nouvelles techniques pourraient ainsi limiter la prescription post-opératoire d'immuno-modulateurs chez les patients considérés à haut risque de récurrence.**

## **1. Introduction**

La chirurgie occupe une place essentielle dans la prise en charge des patients atteints de maladie de Crohn (MC). Le taux de patients opérés a été diversement apprécié dans la littérature et des différences significatives ont été montrées entre les études de populations et les données issues des centres de référence. On considère néanmoins que 30 à 50% des malades vont nécessiter au moins une résection chirurgicale au cours de leur vie (1). Les biothérapies peinent encore à montrer une diminution du taux global d'interventions chirurgicales. En effet, malgré un nombre croissant de patients sous traitements biologiques, le taux de résections coliques droites (résections iléo-cæcales (RIC) et héli-colectomies droites) et l'étendue des résections sont restés stables dans le temps (2). On a même observé une augmentation du taux de résection des formes perforantes (3). La chirurgie a l'avantage de supprimer l'ensemble des lésions macroscopiques, de soulager immédiatement les symptômes obstructifs, d'améliorer la qualité de vie, au prix d'une morbidité faible et d'une mortalité nulle, et d'avoir un coût sociétal plus faible qu'un traitement par biothérapie (4,5). Néanmoins, une grande majorité des patients va présenter une récurrence endoscopique dans l'année post-opératoire (6). On sait par ailleurs que cette récurrence endoscopique précède la récurrence clinique puis chirurgicale. Ainsi, la prévention, le dépistage ou la prise en charge de

cette récurrence endoscopique sont essentiels puisqu'elle annonce une nouvelle résection chirurgicale constatée pour 15 à 20% des patients (7).

Certains facteurs de risque de récurrence post-opératoire ont été bien identifiés. Il s'agit du tabagisme actif, des résections itératives et/ou étendues (> 50 cm), des lésions ano-périnéales, de la plexite myentérique, des granulomes épithélioïdes sur pièce opératoire, et de l'absence de traitement prophylactique post-opératoire (8). Le phénotype pénétrant de la MC a initialement été associé à un taux de récurrence post-opératoire plus important comparé au phénotype sténosant ou inflammatoire (8) mais une récente étude de cohorte a montré des résultats contradictoires (9). Par ailleurs, de solides données sont disponibles dans la littérature sur le rôle du flux fécal et du microbiote intestinal sur la récurrence post-opératoire, et des données plus récentes soulignent enfin le rôle du mésentère dans cette récurrence (10–12).

Le but de ce travail a été, au travers d'une revue de la littérature, de mettre à jour nos connaissances sur la prise en charge médicale et chirurgicale de la récurrence post-opératoire de la MC.

## **2. Influence du tabac sur la récurrence post-opératoire**

Le rôle délétère du tabac sur l'évolution de la MC a été souligné pour la première fois en 1984 et a été confirmé dans des études plus récentes (13). Le tabac a augmenté le risque de récurrence clinique et endoscopique après chirurgie (14). Le sevrage tabagique a diminué significativement le taux de récurrence clinique et endoscopique dans des études prospectives multicentriques (15). L'arrêt du tabac dans les suites d'une RIC a diminué par 4 le taux de récurrence chirurgicale (38 vs 10%,  $p=0,02$ ) (16). Les mécanismes lésionnels du tabac sur le tube digestif sont encore imparfaitement compris et impliqueraient une altération du système

immunitaire et du microbiote intestinal, ainsi que la modification de la perméabilité et de la mobilité intestinale (17).

### **3. Rôle du flux fécal et de la flore intestinale sur la récurrence post-opératoire**

L'implication du flux fécal dans la physiopathogénie des lésions inflammatoires liées à la MC a largement été soulignée. L'isolement du segment intestinal par la dérivation du flux fécal au moyen d'une stomie de dérivation a permis en effet l'amélioration rapide des symptômes cliniques mais aussi des lésions muqueuses (11). En pratique quotidienne, nous avons constaté que certains patients s'opposaient à toute idée de rétablissement de la continuité digestive par peur d'une détérioration clinique. Cependant, les résultats à long-terme de ces dérivations digestives ont été décevants pour 20 à 40% des patients chez qui une résection digestive a été nécessaire pour des lésions récidivantes ou évolutives en amont ou en aval de la stomie (18,19). La dérivation digestive a donc permis une amélioration partielle des lésions inflammatoires liées à la MC mais pas de cicatrisation complète et le rétablissement de la continuité digestive s'est soldé par une récurrence des lésions dans l'immense majorité des cas (20). Le reflux des matières fécales vers l'intestin grêle d'amont après RIC, lié en partie à la perte de la valvule de Bauhin, serait responsable de la récurrence pré-anastomotique (21). Les bactéries de la flore intestinale coloniseraient la muqueuse de l'intestin grêle d'amont et favoriseraient ainsi la récurrence des lésions. La réintroduction d'une flore intestinale autologue en aval d'une stomie de dérivation a été responsable d'une inflammation muqueuse dès le 8<sup>ème</sup> jour (12). Des techniques de valves anti-reflux après RIC ont été évaluées avec des résultats intéressants sur la récurrence endoscopique et chirurgicale (respectivement, 46% à 3 ans et 16% à 5 ans) (22).



La flore intestinale est le siège de profondes modifications dans la MC avec une réduction de sa biodiversité. Cette dysbiose se traduit par une diminution de bactéries anti-inflammatoires et/ou une augmentation des bactéries pro-inflammatoires et pourrait être à l'origine du déclenchement de la MC et de la récurrence (23). Par exemple, la diminution au sein de la flore intestinale de la bactérie anti-inflammatoire *Faecalibacterium prausnitzii* a été associée à une augmentation de la récurrence endoscopique à 6 mois (24). Inversement, une forme particulière d'*Escherichia coli* ayant la capacité d'envahir la muqueuse intestinale (*E. coli* adhérent et invasif ou AEIC) puis de se répliquer au sein des macrophages en induisant la production de TNF  $\alpha$  a été mise en cause dans la récurrence post-opératoire (25). Récemment, la présence d'AEIC dans la muqueuse iléale a été corrélée à la sévérité de la récurrence endoscopique à 6 mois (26).

#### **4. Influence des techniques chirurgicales sur la récurrence post-opératoire**

##### **a. Type d'intervention**

La fréquence de la récurrence post-opératoire a varié selon la localisation de l'atteinte digestive avec des résultats différents en fonction des époques et des études. En 1975, Greenstein et al. ont suggéré que les RIC étaient plus à risque de récurrence que les résections coliques (53% vs 11%), sans que la différence soit toutefois significative (27). Onali et al. ont rapporté sur 537 patients opérés entre 2001 et 2007 que la RIC était plus à risque de récurrence endoscopique mais moins à risque de récurrence clinique que les autres types de résections sur une durée de suivi moyenne de 8 ans (28). Très récemment, une étude a suggéré que les RIC avaient un risque significativement inférieur de récurrence chirurgicale à 5 ans comparé aux résections entérales et coliques (29). Il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandation sur

le traitement prophylactique en fonction de la localisation initiale de la maladie ou de l'intervention réalisée.

b. Type d'anastomose

i. Anastomose conventionnelle

La morphologie anastomotique est susceptible de modifier le taux de récurrence post-opératoire en agissant sur différents facteurs : elle influencerait la stase fécale et la pullulation microbienne locale, le reflux fécal dans l'anse digestive d'amont, et la vascularisation intestinale (30,31). Idéalement, l'anastomose doit être la plus large possible et devrait limiter le reflux vers l'intestin grêle d'amont, sans sténose ischémique à long-terme. Cependant, le taux de récurrence post-opératoire après différents types d'anastomoses a été diversement apprécié dans la littérature avec des résultats contradictoires.

Dans une étude prospective randomisée incluant des anastomoses iléo-coliques, grêlo-grêliques et colo-coliques, le taux de récurrence a été moins important pour les anastomoses mécaniques comparé aux anastomoses manuelles (30). Dans une méta-analyse de 2007, Simillis et al. ont conclu que les anastomoses latéro-latérales et les anastomoses mécaniques se compliquaient moins que les anastomoses termino-terminales manuelles avec des taux de récurrences post-opératoires comparables (31). L'agrafage mécanique, par une diminution des manipulations tissulaires et un espacement uniforme entre les agrafes, semble diminuer le taux de fistules anastomotiques. En effet, la revue systématique d'études prospectives de la Cochrane de 2011 sur les RIC pour étiologies cancéreuses et non cancéreuses a comparé les anastomoses latéro-latérales mécaniques aux anastomoses termino-terminales manuelles en montrant un taux de complications post-opératoires inférieur pour les anastomoses

mécaniques (32). Dans cette étude, l'analyse en sous-groupe des patients porteurs de MC ne montrait néanmoins pas de différence entre les 2 types d'anastomoses. Les mêmes résultats ont été rapportés dans une étude prospective multicentrique randomisée dans la MC dans laquelle les taux de complications et de récurrences post-opératoires étaient identiques pour les anastomoses mécaniques ou manuelles (33). Dans une étude rétrospective incluant 141 RIC pour MC, le taux de récurrence après anastomoses manuelles latéro-latérales a été moins important qu'après anastomoses mécaniques termino-latérales (34). Une méta-analyse de 2013 ne montrait pas de différence en termes de complications et de récurrences des anastomoses latéro-latérales comparées aux anastomoses termino-terminales pour MC (35). Des résultats contradictoires ont été rapportés dans une méta-analyse de 2014 sur les RIC pour MC, où les anastomoses mécaniques latéro-latérales étaient associées à un risque inférieur de complications et de récurrence clinique et chirurgicale que les anastomoses manuelles termino-terminales (36). Plus récemment, une méta-analyse concluait dans la MC à la supériorité de l'anastomose mécanique latéro-latérale sur l'anastomose manuelle termino-terminale avec moins de récurrences cliniques (OR : 0,32, IC 95% [0,13-0,77]) et chirurgicales (OR : 0,22, IC 95% [0,05-0,95]) quel que soit le type de résection intestinale (37).

Ainsi, les anastomoses iléo-coliques et grêlo-grêliques latéro-latérales mécaniques semblent faire consensus dans la MC (8,38). Il n'existe pas à notre connaissance de recommandation pour les anastomoses colo-coliques et iléo-rectales.

#### ii. L'anastomose de Kono (Figure 1).

En 2011, une équipe japonaise décrit une nouvelle anastomose et introduit la notion de torsion mécanique dans le processus de récurrence post-opératoire. Une anastomose latéro-latérale manuelle (antimesenteric functional end-to-end handsewn anastomosis) était

réalisée après confection d'une « colonne de support » par adossement des 2 lignes de section mécaniques intestinales. En effet, les segments intestinaux étaient sectionnés à l'aide d'une pince linéaire mécanique dans un axe perpendiculaire au plan du mésentère. Après renforcement des points d'angles digestifs, les 2 lignes de section étaient réunies par 5 à 7 points de suture séparés pour créer la colonne de support. L'intestin grêle et le colon étaient ensuite ouverts longitudinalement sur respectivement 7 et 8 cm en démarrant l'ouverture à 1 cm de la ligne d'agrafe. L'anastomose était alors réalisée transversalement à l'aide de surjets et de points séparés puis la brèche mésentérique était refermée à points séparés (39).

Plusieurs éléments expliqueraient l'intérêt de cette technique d'anastomose : la colonne de support permettrait de maintenir le diamètre anastomotique et d'éviter la torsion et la sténose de l'anastomose. On a souligné avec cette technique un diamètre anastomotique plus important que lors d'anastomoses latéro-latérales mécaniques ou termino-terminales (8cm vs 6 et 2 cm, respectivement) (39). De plus, cette colonne de support placée en arrière de l'anastomose se comporterait comme une barrière protégeant d'une récurrence de la maladie à partir du mésentère (cf. Rôle du mésentère) (39,40). L'anastomose latéro-latérale sur le versant anti-mésentérique aurait l'avantage théorique de conserver intacte la vascularisation et l'innervation intestinale et permettrait d'éviter la suture toujours difficile des bords libres intestinaux mésentériques comme c'est le cas pour les anastomoses termino-terminales. Enfin, à l'inverse d'une anastomose mécanique, la ligne de suture manuelle garderait une certaine souplesse et favoriserait l'efficacité de futures dilatations endoscopiques en cas de sténoses.

En 2011, Kono et al. ont rapporté les résultats d'une étude rétrospective et multicentrique de 69 patients opérés d'anastomoses iléo-coliques, grêlo-grêliques ou colo-coliques selon Kono en les comparant à une série historique de 73 patients avec une anastomose latéro-

latérale ou termino-terminale manuelle ou mécanique (39). Des contrôles endoscopiques à 6 mois et à 1 an post-opératoires étaient réalisés par un gastroentérologue en aveugle de la technique chirurgicale. Le score de Rutgeerts à 1 an et le taux de récurrence chirurgicale étaient significativement diminués dans le groupe anastomose de Kono (respectivement, 2,6 vs 3,4 ;  $p=0,008$  et 0 vs 15% ;  $p=0,0013$ ). Une autre étude prospective et multicentrique (4 hôpitaux japonais et 1 américain) menée par la même équipe a rapporté les résultats de cette anastomose sur 187 patients. Avec un suivi moyen de 65 mois, le taux de récurrence chirurgicale a été de 1% (41). Très récemment, une équipe napolitaine a rapporté les résultats de l'anastomose de Kono après RIC dans une étude prospective randomisée sur 79 patients. Trente-six patients opérés selon Kono ont été comparés à 43 patients avec une anastomose latéro-latérale mécanique. Les taux de récurrence endoscopique à 6 mois, de récurrence clinique et de récurrence chirurgicale à 2 ans ont été inférieurs chez les patients opérés selon Kono (respectivement 22,6 vs 62,8% ;  $p < 0,001$ , 18 vs 30,2% ;  $p = 0,004$ , et 0 vs 4,6% ;  $p = 0,3$ ) (42). Certains biais méthodologiques ont cependant limité les conclusions de cette étude. En effet, le caractère monocentrique de l'étude, le taux important de patients opérés par laparotomie (48%) avec des formes récidivantes (59,5%) invitent à confirmer ces résultats et à l'heure actuelle, l'anastomose de Kono n'est pas recommandée en pratique courante.

Les résultats des principales études sur l'anastomose de Kono ont été rappelés dans le Tableau 1.

### iii. Stricturoplastie

La MC est avec l'ischémie intestinale aiguë l'étiologie la plus fréquente du syndrome de grêle court. Les techniques de stricturoplasties se sont progressivement développées, d'abord pour des sténoses courtes puis pour des sténoses plus longues supérieures à 20 cm (44), avec

pour ambition d'éviter les résections intestinales. La faisabilité de ces « plasties d'élargissement » a été bien montrée dans une méta-analyse sur 1112 patients incluant 3259 stricturoplasties (81% Heineke-Mikulicz, 10% Finney, 5% latéro-latérales isopéristaltiques) avec 13% de complications post-opératoires, 4% de complications septiques (fistules anastomotiques et abcès) et une mortalité nulle (38). Les localisations sténosantes candidates à un traitement par stricturoplastie ont été duodénales, jéjunales, médio-grêliques ou iléales terminales. En 2016, une équipe belge de Louvain a rapporté chez 36 patients les résultats d'une stricturoplastie longue isopéristaltique « modifiée », en sectionnant l'iléon malade dans sa partie médiane et en réalisant une anastomose latéro-latérale isopéristaltique incluant la valvule iléo-caecale. Avec un suivi médian de 18,9 mois, 14 patients ont présenté une récurrence clinique, 1 patient a été réopéré à 63 mois mais aucune stricturoplastie n'a dû être révisée (45). Les résultats ont été réactualisés en 2020 par cette même équipe, sur 52 patients avec une mortalité nulle et une faible morbidité (7,7% de fistules). Avec une durée médiane de suivi de 5,9 ans, les taux de récurrences cliniques et chirurgicales ont été respectivement de 40% et 13% à 5 ans, avec une rémission endoscopique et clinique complète chez 25,7% des patients. Aucun cas de cancer n'a été décelé sur le long terme (45).

Ainsi, les stricturoplasties dites conventionnelles (Heineke-Mickulicz, Finney) et les stricturoplasties longues latéro-latérales isopéristaltiques de type Michelassi ont été retenues comme une alternative possible à la résection par le consensus ECCO pour les atteintes étendues de l'intestin grêle avec de meilleurs résultats en termes de récurrence chirurgicale (38). Les stricturoplasties coliques ne sont actuellement pas recommandées et la forme perforante de MC (présence d'abcès, de phlegmon ou de fistules complexes) reste une contre-indication classique aux stricturoplasties de l'intestin grêle (38,45).

### c. Rôle du mésentère dans la récurrence post-opératoire

L'épaississement mésentérique et l'enroulement de cette hypertrophie graisseuse autour de l'intestin (fat-wrapping) est quasi-pathognomonique de la MC. Il a été montré une accumulation de graisse intra-abdominale chez les patients atteints de la MC et cette « obésité mésentérique » existait même avec un indice de masse corporelle normale et en dehors de toute pathologie métabolique (46). Pendant longtemps, on s'est attaché à décrire les lésions digestives (formes pénétrantes, sténosantes) sans tenir compte des modifications associées du mésentère, considérées secondaires à l'inflammation intestinale. Les modalités chirurgicales se sont adaptées aux caractéristiques d'une maladie bénigne en ne réséquant que les lésions intestinales macroscopiques avec des marges de sécurité minimales sans emporter le mésentère adjacent à l'inverse de ce qu'impose la chirurgie carcinologique. Cependant, plusieurs éléments laissent supposer que la maladie débute dans le mésentère et que l'atteinte digestive n'est qu'une conséquence d'une progression de l'inflammation vers le bord mésentérique de l'intestin. Les lésions intestinales sont précisément situées en regard de cette hypertrophie mésentérique avec une zone transitionnelle correspondante entre le mésentère et le tube digestif (47). Les lésions muqueuses de la MC peuvent être circonférentielles mais prédominent sur le versant intestinal mésentérique (63). Microscopiquement, on a observé la même hyperplasie adipocytaire et le même épaississement du tissu conjonctif dans le mésentère et la sous-muqueuse intestinale en regard (10).

En 2018, Coffey et al. a évalué les résultats des RIC associées à une résection mésentérique extensive chez 34 malades en les comparant à une série historique de 30 patients pour lesquels la RIC était réalisée au ras du tube digestif sans exérèse mésentérique (48). Le taux de récurrence chirurgicale était significativement diminué en cas de résection mésentérique

associée (2,9 vs 40% ;  $p = 0,003$ ). La longueur de résection intestinale et le taux de marges de résection positives étaient également inférieurs en cas de résection mésentérique. Le mésentère semble donc jouer un rôle important dans la physiopathologie et dans la récurrence post-opératoire de la MC. Les auteurs ont par ailleurs établi un score d'activité mésentérique en fonction de l'aspect du mésentère (épaisseur du mésentère et importance du fat-wrapping) et l'ont corrélé au risque de récurrence chirurgicale. Une étude de cohorte rétrospective sur le mésorectum de patients atteints de MC opérés de proctectomies est allée dans le même sens (49). Le taux de complications périnéales (abcès pelviens, sinus périnéal persistant, hémorragies pelviennes) était inférieur en cas d'exérèse totale du mésorectum comparé aux patients chez qui la proctectomie avait été réalisée au contact du rectum (17,6% vs 59,5% ;  $p = 0,007$ ) avec un taux de cicatrisation périnéale à 6 mois supérieur (51,4% vs 88,2% ;  $p = 0,014$ ). En immunohistochimie, des marqueurs pro-inflammatoires (macrophages CD14+ producteurs de TNF  $\alpha$ ) isolés dans le mésorectum, expliqueraient les meilleurs résultats chez les patients opérés d'une exérèse totale du mésorectum. Une étude internationale, multicentrique, randomisée comparant la résection mésentérique extensive à la résection conventionnelle dans les RIC est actuellement en cours avec comme objectif principal l'étude de la récurrence chirurgicale (50). Mais à l'heure actuelle, il n'existe pas de recommandation sur la nécessité d'une résection extensive du mésentère.

#### d. Rôle de la circulation lymphatique sur la récurrence post-opératoire

Le rôle de l'obstruction des canaux lymphatiques mésentériques dans la physiopathologie de la MC a été rappelé en 2008 (51), mais depuis longtemps déjà, les premiers anatomopathologistes décrivaient sur les pièces fraîches de colectomies une obstruction des canaux lymphatiques mésentériques comme lésion fondamentale et commune à tous les patients



atteints de MC. L'étude des pièces fraîches de résection intestinales pour MC, non soumises à l'effet des antibiotiques, des corticoïdes ou des immuno-modulateurs, montrait une lymphangite chronique par obstruction lymphatique lymphocytaire et granulomateuse. D'autre part, l'obstruction des canaux lymphatiques dans un modèle expérimental chez le rat puis chez le porc (52,53) a reproduit à l'identique les lésions segmentaires intestinales caractéristiques de la MC : épaissement pariétal intestinal, fistules entéro-entérales et entéro-cutanées. L'obstruction lymphatique serait à l'origine d'une stimulation des adipocytes et de la production de cytokines, expliquant ainsi les troubles immunitaires et la réponse inflammatoire exacerbée dans la MC (54). Ainsi, l'interruption de la circulation lymphatique mésentérique pourrait être à l'origine des lésions intestinales de la MC. La section du mésentère au cours des résections chirurgicales interrompt la circulation lymphatique mésentérique et favoriserait les récives des lésions de MC. Il n'existe pas à l'heure actuelle de traitement pour rétablir la circulation dans des canaux lymphatiques obstrués. Une façon indirecte de rétablir la circulation lymphatique après une résection intestinale serait d'interposer de l'épiploon, particulièrement riche en vaisseaux lymphatiques, dans la brèche mésentérique débarrassée au préalable du péritoine viscéral. Sur une série de 20 patients opérés pour MC avec épiploplastie trans-mésentérique (ETM), Del Gaudio rapporte l'absence de récive clinique et tomodynamométrique à 5 ans (55). Le rétablissement de la circulation lymphatique dans le mésentère grâce à cette ETM serait à l'origine de ces bons résultats à long terme. Cette technique n'est cependant pas recommandée en pratique courante.

## 5. Autres facteurs de risque de récive

### a. Facteurs histologiques influençant la récive post-opératoire

La stratégie chirurgicale d'épargne digestive dans la MC avec des marges de sécurité courtes amène parfois à réaliser une anastomose sur un intestin en zone microscopiquement atteinte par l'inflammation. La présence de différents marqueurs histologiques de l'inflammation au sein des pièces opératoires et de leurs berges d'exérèse a donc été évalués sur la récurrence. Le granulome épithélioïde, contenant des cellules épithélioïdes, des macrophages et des lymphocytes, a été la lésion histologique la mieux corrélée au diagnostic de MC même si elle n'a été retrouvée que chez 37 à 60% des patients (56). Son rôle comme facteur de risque de récurrence a longtemps été débattu. Deux méta analyses sur plus de 2000 patients ont montré que le granulome épithélioïde était associé à un taux supérieur de récurrence endoscopique (RR=1.37; 95% IC 95% [1-1,87]) et chirurgicale (OR=2.38, IC 95% [1,43-3,95], p=0, 001) (56,57).

La plexite myentérique est définie par la présence d'au moins une cellule inflammatoire chronique contiguë ou à l'intérieur d'un ganglion ou d'un faisceau nerveux. Elle favoriserait la récurrence post-opératoire via les ganglions et les faisceaux nerveux laissés en place (58) qui libèreraient des médiateurs pro-inflammatoires. Ferrante et al. ont conclu sur 59 patients opérés de RIC que la présence d'une plexite myentérique sur la marge de résection proximale iléale augmentait de 13 fois le risque de récurrence endoscopique à 1 an (IC 95% [1,45-16,99]) et que la sévérité de cette récurrence était significativement corrélée à la sévérité de la plexite et au nombre de ganglions inflammatoires au sein du plexus (58). Decousus et al. ont également conclu sur 75 patients que les plexites myentériques au sein des marges de résection proximales étaient associées à une augmentation de 8,83 (IC 95% [1,45-16,99]) du risque de récurrence endoscopique à 1 an (59). La méta-analyse récente de Ryan et al. a également confirmé cette association avec la récurrence endoscopique sans toutefois montrer de corrélation avec la récurrence chirurgicale (59). Par ailleurs, la plexite myentérique pourrait

augmenter la récurrence en augmentant le taux de complications post-opératoires. En effet, les fistules anastomotiques post-opératoires ont été responsables d'une augmentation du taux de récurrence chirurgicale (60). Or, 50% des patients développant des complications anastomotiques ont présenté des marges intestinales pathologiques en histologie (granulomes, glandes muqueuses pathologiques ou présences de plexite myentérique) (61).

L'examen extemporané des berges de résection intestinales n'est cependant pas recommandé.

#### b. Facteurs intrinsèques de récurrence post-opératoire

La présence concomitante de lésions ano-périnéales, les antécédents de résections digestives et/ou la nécessité d'une résection de plus de 50 cm d'intestin grêle ont été associées à une augmentation significative du risque de récurrence clinique après chirurgie (8). Le phénotype pénétrant reste un facteur de risque de récurrence classique (8) mais une récente étude de cohorte sur 346 patients opérés de RIC pour MC a montré des résultats contradictoires en identifiant le phénotype pénétrant comme un facteur prédictif indépendant de protection de la récurrence post-opératoire (9).

### 6. Place du traitement médical

#### a. Traitements médicaux

- **Les traitements par probiotiques** n'ont pas montré d'efficacité dans la prévention de la récurrence post-opératoire de la MC et leur utilisation n'est pas recommandée en pratique (8,38).

- **Les traitements par 5-ASA** sont inefficaces dans l'induction et le maintien de la rémission de la MC (62). La RIC emportant la majorité des lésions macroscopiques intestinales est une situation clinique particulière au cours de la MC. Huit études randomisées en double aveugle incluant plus de 1100 patients avec MC ont montré la supériorité d'un traitement oral par 5-ASA aux doses de 2-4 g/j par rapport au placebo dans la prévention de la récurrence clinique survenant dans les 12 à 36 mois après chirurgie (OR 0,68, IC 95% [0,52-0,9]) (63). Cependant, même si les traitements par 5-ASA ont été bien tolérés sans effet indésirable majeur, leur bénéfice dans cette situation a été modeste avec la nécessité de traiter entre 16 et 19 malades pour éviter une récurrence clinique (64). La méta-analyse plus récente de Gjuladin-Hellon et al. a mis en évidence des résultats similaires avec un risque de récurrence clinique 12 à 72 mois après la chirurgie chez 36% des malades traités par 5-ASA vs 43% dans le groupe placebo (64). En pratique, l'indication d'un traitement prophylactique de la récurrence post-opératoire par 5-ASA est limitée aux malades à faible risque de récurrence qui refusent de rester sans traitement médical avant l'endoscopie de dépistage réalisée 6 à 12 mois plus tard.

- **Les traitements antibiotiques par imidazolés** (métronidazole et ornidazole) au long cours administrés entre 3 mois et 1 an ont montré leur efficacité dans 2 études randomisées en double aveugle permettant une prévention à 1 an de la récurrence endoscopique (OR : 0,31, IC 95% [0,10-0,94]) et clinique (OR : 0,14, IC 95% [0,0037-0,546]) (65,66). Malheureusement, ces bons résultats ont été associés à des effets indésirables fréquents et des arrêts de traitements précoces qui ont limité l'indication de ces antibiotiques aux patients ayant des contre-indications aux traitements immuno-modulateurs et notamment en cas d'infections post-opératoires. Certains auteurs ont également proposé l'utilisation des imidazolés en postopératoire immédiat en attente d'un traitement par anti-TNF  $\alpha$  (67).

- **Les corticoïdes locaux ou systémiques** ne sont pas efficaces dans le maintien de la rémission clinique de la MC après RIC (8).

- **L'utilisation des traitements par thiopurines** (azathioprine et 6-mercaptopurine) dans la prévention de la récurrence post-opératoire a été décevante. Sept essais contrôlés en double aveugle ainsi que la méta-analyse Cochrane ont montré un effet modeste des traitements par thiopurines dans la prévention de la récurrence clinique post-opératoire, sans supériorité significative par rapport à un traitement par 5-ASA mais avec des effets indésirables plus importants (68). Le rapport bénéfice/risque des thiopurines a donc été faible et ne laisse pas de place à ces traitements dans la prévention de la récurrence post-opératoire, excepté peut être chez les patients ayant des contre-indications à un traitement par anti-TNF  $\alpha$ .

- **Les anti-TNF  $\alpha$  ont été les traitements les plus efficaces** dans la prévention de la récurrence post-opératoire au cours de la MC (69). La majorité des études contrôlées réalisées en particulier avec l'infliximab débuté dans les 4 semaines après l'intervention a montré une efficacité dans la prévention de la récurrence endoscopique post-opératoire 1 an après la chirurgie, globalement sans augmentation du risque de complications post-opératoires, en particulier infectieuses (69). L'efficacité sur la prévention de la récurrence clinique à 1 et 3 ans après la chirurgie a été en revanche faible avec un score CDAI identique avec ou sans anti-TNF  $\alpha$  (70).

b. Comment prévenir en pratique la récurrence post-opératoire au cours de la MC ?

Etant donné la fréquence de la diarrhée et des douleurs abdominales après RIC en dehors de toute activité inflammatoire de la maladie, la récurrence clinique post-opératoire de MC reste un diagnostic difficile à poser. En pratique, l'objectif principal du traitement médical est de diminuer le risque de récurrence endoscopique 6 mois à 1 an après la chirurgie, risque dont

l'intensité est corrélée à celui de la récurrence clinique. La décision de traiter et le choix du traitement doit dépendre alors des facteurs de risque de récurrence du patient, du rapport bénéfice/risque de chaque traitement et de la préférence du malade.

Pour tous les patients, l'arrêt du tabac est fortement recommandé ainsi qu'une coloscopie de dépistage 6 mois à un an après l'intervention (8).

- **Pour les patients à faible risque de récurrence**, un traitement médical préventif systématique n'est pas recommandé avant la coloscopie de dépistage. Un traitement par 5-ASA peut être proposé pour les patients anxieux ou pour éviter de perdre de vue les malades.

- **Pour les patients ayant 1 facteur de risque**, un traitement par métronidazole à faible dose (250mgX3/j) pendant 6 mois ou par thiopurine, notamment chez les fumeurs incapables d'être sevrés, ou par anti-TNF  $\alpha$  peut être proposé.

- **Pour les patients à haut risque de récurrence (2 facteurs de risque ou plus)**, le traitement par anti-TNF  $\alpha$  doit être privilégié. Pour les patients non répondeurs primaires aux anti-TNF  $\alpha$  ou présentant des anticorps anti-TNF  $\alpha$ , un traitement par vedolizumab ou ustekinumab peut être discuté, même si l'on manque de preuves de leur efficacité dans cette situation.

La prévention de la récurrence post-opératoire est synthétisée dans la Figure 2.

## 7. Conclusion

La chirurgie dans la MC garde une place majeure et la période post-opératoire est souvent vécue comme une « lune de miel » par le patient « blanchi » de ses lésions, sans traitement et sans activité inflammatoire. Cela dit, la récurrence post-opératoire reste une préoccupation importante et même si l'avènement des biothérapies a permis une diminution des taux de récurrence endoscopique, le taux de récurrence clinique à long terme reste encore élevé et une seconde intervention est nécessaire pour 1 patient sur 5. Les traitements prophylactiques

post-opératoires chez les patients à haut risque de récurrence ne seront peut-être plus systématiques si les nouvelles techniques chirurgicales confirment leurs résultats sur la diminution de la récurrence. Ainsi, l'anastomose selon Kono, la résection extensive du mésentère ou la stricturoplastie latéro-latérale isopéristaltique modifiée permettront peut-être de n'envisager de traitement qu'en cas de récurrence endoscopique à 6 mois ou 1 an et pourraient éviter le traitement « à l'aveugle » des malades à haut risque de récurrence.

**Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt.**

**Figure 1 :** Les différentes étapes de l'anastomose de Kono après résection iléo-caecale.

**A :** Temps de résection iléocolique au ras du tube digestif. **B :** Section digestive à la pince mécanique linéaire perpendiculaire au plan des mésos. **C :** Renforcement des points d'angles digestifs. **D :** Création de la colonne de support par adossement des deux lignes de section. **E :** ouverture longitudinale antimésentérique de l'intestin grêle et du colon. **F :** Anastomose transversale. **G :** Aspect final de l'anastomose.

**Figure 2 :** Stratégie thérapeutique de la prévention de la récurrence post-opératoire.

FdR : facteurs de risque, LAP : lésions ano-périnéales, AC : anticorps

## Références bibliographiques

1. Bouguen G, Peyrin-Biroulet L. Surgery for adult Crohn's disease: what is the actual risk? *Gut*. 2011 ; 60(9):1178-81.
2. de Groof EJ, Gardenbroek TJ, Buskens CJ, et al. The association between intensified medical treatment, time to surgery and ileocolic specimen length in Crohn's disease. *Colorectal Dis*. 2017 ; 19(6):551-8.
3. Jones DW, Finlayson SRG. Trends in surgery for Crohn's disease in the era of infliximab. *Ann Surg*. 2010 ; 252(2):307-12.
4. Brouquet A, Maggiori L, Zerbib P, et al. Anti-TNF Therapy Is Associated With an Increased Risk of Postoperative Morbidity After Surgery for Ileocolonic Crohn Disease: Results of a Prospective Nationwide Cohort. *Ann Surg*. 2018 ; 267(2):221-8.
5. de Groof EJ, Stevens TW, Eshuis EJ, et al. Cost-effectiveness of laparoscopic ileocaecal resection versus infliximab treatment of terminal ileitis in Crohn's disease: the LIR!C Trial. *Gut*. 2019 ; 68(10):1774-80.
6. Olaison G, Smedh K, Sjö Dahl R. Natural course of Crohn's disease after ileocolic resection: endoscopically visualised ileal ulcers preceding symptoms. *Gut*. 1992 ; 33(3):331-5.
7. de Buck van Overstraeten A, Eshuis EJ, Vermeire S, et al. Short- and medium-term outcomes following primary ileocaecal resection for Crohn's disease in two specialist centres. *Br J Surg*. 2017 ; 104(12):1713-22.
8. Gionchetti P, Dignass A, Danese S, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations. *J Crohns Colitis*. 2017 ; 11(2):135-49.
9. Maggiori L, Brouquet A, Zerbib P, et al. Penetrating Crohn Disease Is Not Associated With a Higher Risk of Recurrence After Surgery: A Prospective Nationwide Cohort Conducted by the Getaid Chirurgie Group. *Ann Surg*. 2019 ; 270(5):827-34.
10. Soucy G, Wang HH, Farraye FA, et al. Clinical and pathological analysis of colonic Crohn's disease, including a subgroup with ulcerative colitis-like features. *Mod Pathol*. 2012 ; 25(2):295-307.
11. Burman JH, Thompson H, Cooke WT, Williams JA. The effects of diversion of intestinal contents on the progress of Crohn's disease of the large bowel. *Gut*. 1971 ; 12(1):11-5.
12. D'Haens GR, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology*. 1998 ; 114(2):262-7.
13. Lunney PC, Kariyawasam VC, Wang RR, et al. Smoking prevalence and its influence on disease course and surgery in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015 ; 42(1):61-70.
14. Reese GE, Nanidis T, Borysiewicz C, Yamamoto T, Orchard T, Tekkis PP. The effect of smoking after surgery for Crohn's disease: a meta-analysis of observational studies. *Int J Colorectal Dis*. 2008 ; 23(12):1213-21.



15. Nunes T, Etchevers MJ, García-Sánchez V, et al. Impact of Smoking Cessation on the Clinical Course of Crohn's Disease Under Current Therapeutic Algorithms: A Multicenter Prospective Study. *Am J Gastroenterol*. 2016 ; 111(3):411-9.
16. Bolckmans R, Kalman T, Singh S, et al. Does Smoking Cessation Reduce Surgical Recurrence After Primary Ileocolic Resection for Crohn's Disease? *Dis Colon Rectum*. 2020 ; 63(2):200-6.
17. Birrenbach T, Böcker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis*. 2004 ;10(6):848-59.
18. Fumery M, Dulai PS, Meirick P, et al. Systematic review with meta-analysis: recurrence of Crohn's disease after total colectomy with permanent ileostomy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 ; 45(3):381-90.
19. Koriche D, Gower-Rousseau C, Chater C, et al. Post-operative recurrence of Crohn's disease after definitive stoma: an underestimated risk. *Int J Colorectal Dis*. 2017 ; 32(4):453-8.
20. Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1990 ; 99(4):956-63.
21. Cameron JL, Hamilton SR, Coleman J, Sitzmann JV, Bayless TM. Patterns of ileal recurrence in Crohn's disease. A prospective randomized study. *Ann Surg*. 1992; 215(5):546-51; discussion 551-552.
22. Bakkevold KE. Construction of an ileocolic neosphincter - Nipple valve anastomosis for prevention of postoperative recurrence of Crohn's disease in the neoterminal ileum after ileocecal or ileocolic resection. A long-term follow-up study. *J Crohns Colitis*. 2009 ;3(3):183-8.
23. Rajca S, Grondin V, Louis E, et al. Alterations in the intestinal microbiome (dysbiosis) as a predictor of relapse after infliximab withdrawal in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2014 ; 20(6):978-86.
24. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008 ; 105(43):16731-6.
25. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, et al. High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004 ; 127(2):412-21.
26. Barnich N, Buisson A, Auzolle C, et al. P772 The presence of adherent-invasive Escherichia coli strains on the surgical specimen is a predictor of severe endoscopic postoperative recurrence in Crohn's disease. *J Crohns Colitis*. 2017 ; 11(Issue suppl\_1,1):S475-6.
27. Greenstein AJ, Sachar DB, Pasternack BS, Janowitz HD. Reoperation and recurrence in Crohn's colitis and ileocolitis Crude and cumulative rates. *N Engl J Med*. 1975 ; 293(14):685-90.
28. Onali S, Petruzzello C, Calabrese E, et al. Frequency, pattern, and risk factors of postoperative recurrence of Crohn's disease after resection different from ileo-colonic. *J Gastrointest Surg*. 2009 ; 13(2):246-52.
29. Aaltonen G, Carpelan-Holmström M, Keränen I, Lepistö A. Surgical recurrence in Crohn's disease: a comparison between different types of bowel resections. *Int J Colorectal Dis*. 2018 ; 33(4):473-7.

30. Ikeuchi H, Kusunoki M, Yamamura T. Long-term results of stapled and hand-sewn anastomoses in patients with Crohn's disease. *Dig Surg*. 2000 ; 17(5):493-6.
31. Simillis C, Purkayastha S, Yamamoto T, Strong SA, Darzi AW, Tekkis PP. A meta-analysis comparing conventional end-to-end anastomosis vs. other anastomotic configurations after resection in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum*. 2007 ; 50(10):1674-87.
32. Choy PYG, Bissett IP, Docherty JG, Parry BR, Merrie A, Fitzgerald A. Stapled versus handsewn methods for ileocolic anastomoses. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 ; (9):CD004320.
33. McLeod RS, Wolff BG, Ross S, Parkes R, McKenzie M, Investigators of the CAST Trial. Recurrence of Crohn's disease after ileocolic resection is not affected by anastomotic type: results of a multicenter, randomized, controlled trial. *Dis Colon Rectum*. 2009 ; 52(5):919-27.
34. Scarpa M, Ruffolo C, Bertin E, et al. Surgical predictors of recurrence of Crohn's disease after ileocolonic resection. *Int J Colorectal Dis*. 2007 ; 22(9):1061-9.
35. Guo Z, Li Y, Zhu W, Gong J, Li N, Li J. Comparing outcomes between side-to-side anastomosis and other anastomotic configurations after intestinal resection for patients with Crohn's disease: a meta-analysis. *World J Surg*. 2013 ; 37(4):893-901.
36. He X, Chen Z, Huang J, et al. Stapled side-to-side anastomosis might be better than handsewn end-to-end anastomosis in ileocolic resection for Crohn's disease: a meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 2014 ; 59(7):1544-51.
37. Feng J-S, Li J-Y, Yang Z, Chen X-Y, Mo J-J, Li S-H. Stapled side-to-side anastomosis might be benefit in intestinal resection for Crohn's disease: A systematic review and network meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018 ; 97(15):e0315.
38. Adamina M, Bonovas S, Raine T, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Surgical Treatment. *J Crohns Colitis*. 2020 ; 14(2):155-68.
39. Kono T, Ashida T, Ebisawa Y, et al. A new antimesenteric functional end-to-end handsewn anastomosis: surgical prevention of anastomotic recurrence in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum*. 2011 ; 54(5):586-92.
40. Shimada N, Ohge H, Kono T, et al. Surgical Recurrence at Anastomotic Site After Bowel Resection in Crohn's Disease: Comparison of Kono-S and End-to-end Anastomosis. *J Gastrointest Surg*. 2019 ; 23(2):312-9.
41. Kono T, Fichera A, Maeda K, et al. Kono-S Anastomosis for Surgical Prophylaxis of Anastomotic Recurrence in Crohn's Disease: an International Multicenter Study. *J Gastrointest Surg*. 2016 ; 20(4):783-90.
42. Luglio G, Rispo A, Imperatore N, et al. Surgical Prevention of Anastomotic Recurrence by Excluding Mesentery in Crohn's Disease: The SuPREMe-CD Study - A Randomized Clinical Trial. *Ann Surg*. 2020 ; 272(2):210-7.
43. Katsuno H, Maeda K, Hanai T, Masumori K, Koide Y, Kono T. Novel antimesenteric functional end-to-end handsewn (Kono-S) anastomoses for Crohn's disease: a report of surgical procedure and short-term outcomes. *Dig Surg*. 2015 ; 32(1):39-44.

44. Campbell L, Ambe R, Weaver J, Marcus SM, Cagir B. Comparison of conventional and nonconventional strictureplasties in Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum*. 2012 ; 55(6):714-26.
45. Bislenghi G, Ferrante M, Sabino J, et al. Short- and Long-term Outcomes Following Side-to-side Strictureplasty and its Modification Over the Ileocaecal Valve for Extensive Crohn's Ileitis. *J Crohns Colitis*. 2020 ; 14(10):1378-84.
46. Desreumaux P, Ernst O, Geboes K, et al. Inflammatory alterations in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1999 ; 117(1):73-81.
47. Coffey JC, O'Leary DP, Kiernan MG, Faul P. The mesentery in Crohn's disease: friend or foe? *Curr Opin Gastroenterol*. 2016 ; 32(4):267-73.
48. Coffey CJ, Kiernan MG, Sahebally SM, et al. Inclusion of the Mesentery in Ileocolic Resection for Crohn's Disease is Associated With Reduced Surgical Recurrence. *J Crohns Colitis*. 2018 ; 12(10):1139-50.
49. de Groof EJ, van der Meer JHM, Tanis PJ, et al. Persistent Mesorectal Inflammatory Activity is Associated With Complications After Proctectomy in Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2019 ; 13(3):285-93.
50. Li Y, Mohan H, Lan N, et al. Mesenteric excision surgery or conservative limited resection in Crohn's disease: study protocol for an international, multicenter, randomized controlled trial. *Trials*. 2020 ; 21(1):210.
51. Van Kruiningen HJ, Colombel J-F. The forgotten role of lymphangitis in Crohn's disease. *Gut*. 2008 ; 57(1):1-4.
52. Kalima TV. Experimental lymphatic obstruction in the ileum. *Ann Chir Gynaecol Fenn*. 1970 ; 59(4):187-201.
53. Kalima TV, Saloniemi H, Rahko T. Experimental regional enteritis in pigs. *Scand J Gastroenterol*. 1976 ; 11(4):353-62.
54. von der Weid P-Y, Rehal S, Ferraz JG. Role of the lymphatic system in the pathogenesis of Crohn's disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2011 ; 27(4):335-41.
55. del Gaudio A, Bragaglia RB, Boschi L, del Gaudio GA, Accorsi D. A new approach in the management of Crohn's disease: observations in 20 consecutive cases. *Hepatogastroenterology*. 1997 ; 44(16):1095-103.
56. Simillis C, Jacovides M, Reese GE, Yamamoto T, Tekkis PP. Meta-analysis of the role of granulomas in the recurrence of Crohn disease. *Dis Colon Rectum*. 2010 ; 53(2):177-85.
57. Tandon P, Malhi G, Abdali D, et al. Active Margins, Plexitis, and Granulomas Increase Postoperative Crohn's Recurrence: Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 12 août 2020 (online ahead of print).
58. Ferrante M, de Hertogh G, Hlavaty T, et al. The value of myenteric plexitis to predict early postoperative Crohn's disease recurrence. *Gastroenterology*. 2006 ; 130(6):1595-606.
59. Ryan JM, Rogers AC, O'Toole A, Burke JP. Meta-analysis of Histological Margin Positivity in the Prediction of Recurrence After Crohn's Resection. *Dis Colon Rectum*. 2019 ; 62(7):882-92.

60. Ilesalnieks I, Kilger A, Glass H, et al. Intraabdominal septic complications following bowel resection for Crohn's disease: detrimental influence on long-term outcome. *Int J Colorectal Dis.* 2008 ; 23(12):1167-74.
61. Garofalo E, Lucarini A, Flashman KG, Celentano V. A positive proximal resection margin is associated with anastomotic complications following primary ileocaecal resection for Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis.* 2019 ; 34(9):1585-90.
62. Lim W-C, Wang Y, MacDonald JK, Hanauer S. Aminosalicylates for induction of remission or response in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 ; 7:CD008870.
63. Gordon M, Naidoo K, Thomas AG, Akobeng AK. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of surgically-induced remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 ; (1):CD008414.
64. Gjuladin-Hellon T, Gordon M, Ihezor-Ejiofor Z, Akobeng AK. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of surgically-induced remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 ; 6:CD008414.
65. Rutgeerts P, Hiele M, Geboes K, et al. Controlled trial of metronidazole treatment for prevention of Crohn's recurrence after ileal resection. *Gastroenterology.* 1995 ; 108(6):1617-21.
66. Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S, et al. Ornidazole for prophylaxis of postoperative Crohn's disease recurrence: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology.* 2005 ; 128(4):856-61.
67. Vuitton L, Peyrin-Biroulet L. Pharmacological Prevention of Postoperative Recurrence in Crohn's Disease. *Drugs.* 2020 ; 80(4):385-99.
68. Gordon M, Taylor K, Akobeng AK, Thomas AG. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of surgically-induced remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 1 2014 ; (8):CD010233.
69. Singh S, Al-Darmaki A, Frolkis AD, et al. Postoperative Mortality Among Patients With Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review and Meta-analysis of Population-Based Studies. *Gastroenterology.* 2015 ; 149(4):928-37.
70. Yoshida K, Fukunaga K, Ikeuchi H, et al. Scheduled infliximab monotherapy to prevent recurrence of Crohn's disease following ileocolic or ileal resection: a 3-year prospective randomized open trial. *Inflamm Bowel Dis.* 2012 ; 18(9):1617-23.

Figure 1

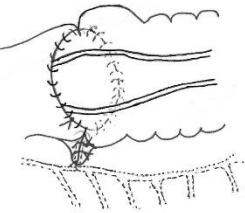
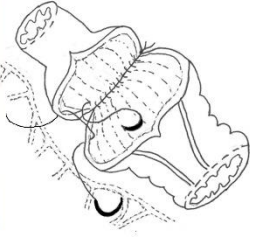
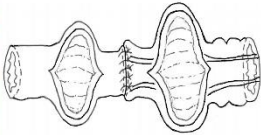
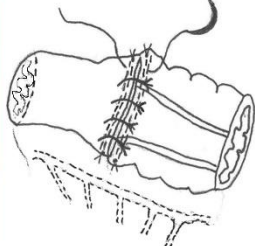
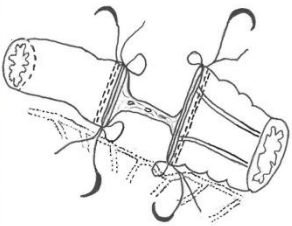
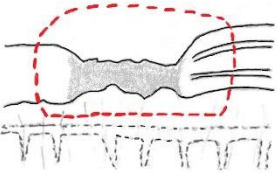
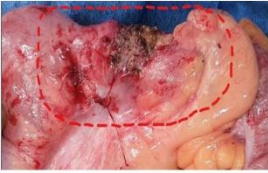
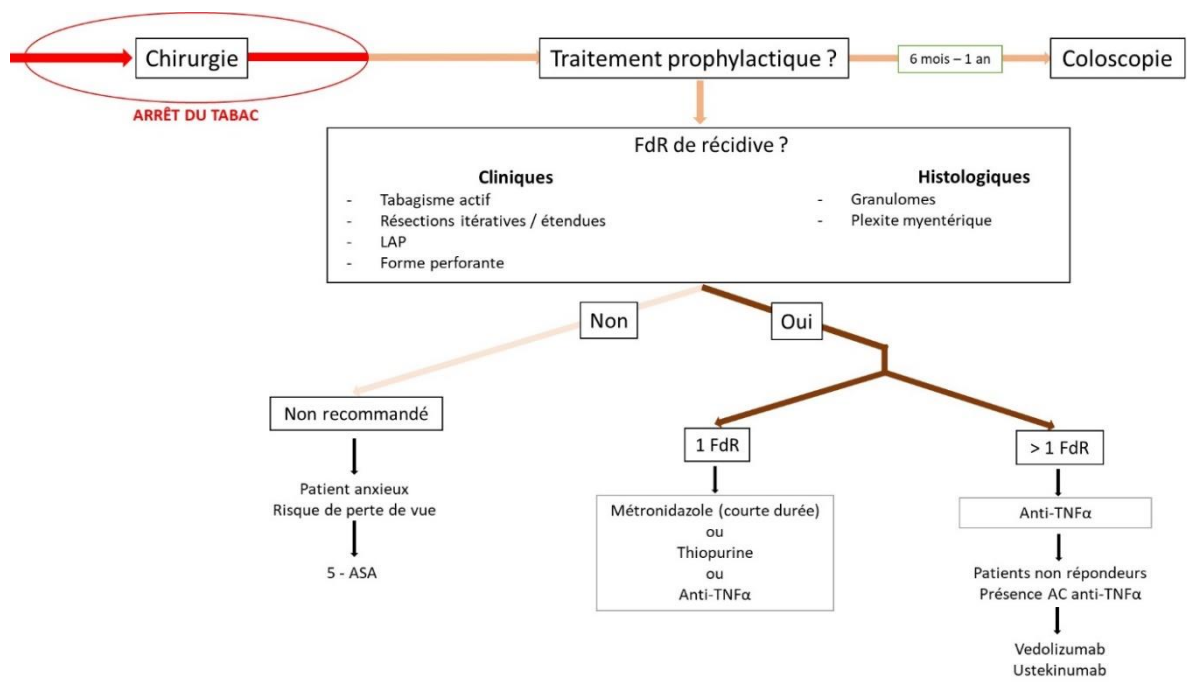


Figure 2



**Tableau 1: Résultats de l'anastomose de Kono dans la littérature sur la récidence endoscopique et chirurgicale.**

Type d'étude	Dates d'inclusion	Nombre de patients		Récidence endoscopique				Récidence chirurgicale			
		AK	AC	Mesurée à	AK (%)	AC (%)	p	Mesurée à	AK (%)	AC (%)	p
Kono et al., 2011 (39)	2003-2009	69	73	1 an	83	79	NS	5 ans	0	15	0,0013
Katsumo et al., 2015 (43)	2009-2013	30	-	-	-	-	-	3 ans	0	-	-
Kono et al., 2016 (41)	2003-2011	144	-	-	-	-	-	10 ans	1,4	-	-
• Groupe Japon		43	-	-	-	-	-	32 mois	0	-	-
• Groupe USA											
Shimada et al., 2019 (40)	2002-2016	117	98	-	-	-	-	4 ans ½	3,4	24,4	<0,001
Luglio et al., 2020 (42)	2015-2017	36	43	6 mois	22,2	62,9	<0,001	2 ans	0	4,6	0,37

AK : anastomose de Kono, AC : anastomose conventionnelle, NS : non significatif

## 2. *Saccharomyces cerevisiae* prevents postoperative recurrence of Crohn's disease modeled by ileocecal resection in HLA-B27 transgenic rats

### **Basic Study**

#### ***Saccharomyces cerevisiae* prevents postoperative recurrence of Crohn's disease modeled by ileocecal resection in HLA-B27 transgenic rats**

Valibouze C *et al.* *S. cerevisiae* for prevention of CD recurrence

Caroline Valibouze, Silvia Specca, Caroline Dubuquoy, Florian Mourey, Lena M'Ba, Lucil Schneider, Marie Titecat, Benoit Foligne, Michael Genin, Christel Neut, Philippe Zerbib, Pierre Desreumaux

**Caroline Valibouze, Lena M'Ba, Lucil Schneider, Philippe Zerbib**, Department of Digestive Surgery and Transplantation, Lille University Hospital, Lille, France

**Caroline Dubuquoy**, Intestinal Biotech Development, 59045 Lille, France

**Caroline Valibouze, Silvia Specca, Marie Titecat, Benoit Foligne, Pierre Desreumaux, Christel Neut, Philippe Zerbib**, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, U1286 - INFINITE - Institute for Translational Research in Inflammation, F-59000, Lille, France

**Florian Mourey** Research and Applications Department, Gnosis by Lesaffre, Lesaffre Group, 101 rue de Menin, Marcq-en-Baroeul 59700, France

**Michael Genin**, Univ. Lille, CHU Lille, ULR 2694 – METRICS : Évaluation des technologies de santé et des pratiques médicales, F-59000 Lille, France

**Pierre Desreumaux**, Hepato-Gastroenterology Department, Lille University Hospital, Lille, France



ORCID Numbers:

Caroline Valibouze [0000-0002-2198-1392](https://orcid.org/0000-0002-2198-1392), Silvia Speca [0000-0001-8494-3329](https://orcid.org/0000-0001-8494-3329), Caroline Dubuquoy [0000-0003-1584-3601](https://orcid.org/0000-0003-1584-3601), Florian Mourey [0000-0002-0826-9632](https://orcid.org/0000-0002-0826-9632), Lena M’Ba [0000-0002-9564-9472](https://orcid.org/0000-0002-9564-9472), Lucil Schneider [0000-0001-7486-5099](https://orcid.org/0000-0001-7486-5099), Marie Titecat [0000-0002-5860-0936](https://orcid.org/0000-0002-5860-0936), Benoit Foligne [0000-0001-9263-9706](https://orcid.org/0000-0001-9263-9706), Michael Genin [0000-0002-9098-7528](https://orcid.org/0000-0002-9098-7528), Christel Neut [0000-0002-2036-6152](https://orcid.org/0000-0002-2036-6152), Philippe Zerbib [0000-0002-6466-0716](https://orcid.org/0000-0002-6466-0716), Pierre Desreumaux [0000-0002-6127-5281](https://orcid.org/0000-0002-6127-5281)

**Author contributions:**

Desreumaux P, Dubuquoy C and Valibouze C designed the study; Valibouze C, Dubuquoy C, M’Ba L, Schneider L and Neut C acquired the data; Genin M supervised the statistical analysis; all authors interpreted the data; C. Valibouze and P. Desreumaux drafted the article; all authors critically reviewed the manuscript and approved the final version for submission.

**Corresponding author: Caroline Valibouze, MD, Surgeon, Service de Chirurgie Digestive et Transplantation, Hôpital CLAUDE HURIEZ, Rue Michel Polonovski, 59037 LILLE CEDEX, France.**  
[caroline.valibouze@chu-lille.fr](mailto:caroline.valibouze@chu-lille.fr)

## Abstract

### BACKGROUND

Postoperative recurrence (POR) after ileocecal resection (ICR) affects most Crohn's disease patients within 3-5 years after surgery. Adherent and invasive *Escherichia coli* (AIEC) typified by the LF82 strain are pathobionts frequently detected in POR of Crohn's disease and have a potential role in the early stages of the disease pathogenesis. *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 is a probiotic yeast reported to inhibit AIEC adhesion to intestinal epithelial cells and to favor their elimination from the gut.

### AIM

To evaluate the efficacy of CNCM I-3856 in preventing POR induced by LF82 in an HLA-B27 transgenic (TgB27) rat model.

### METHODS

Sixty-four rats (strain F344, 38 TgB27, 26 control non Tg (nTg)) were operated on by ICR at the 12th week of life (W12) and sacrificed at the 18th week (W18) of life. TgB27 rats were challenged daily with the oral administration of LF82 ( $10^9$  CFU/day, n=8), PBS (n=5), CNCM I-3856 ( $10^9$  CFU/day, n=7) or a combination of LF82 and CNCM I-3856 (n=18). nTg rats receiving LF82 (n=5), PBS (n=5), CNCM I-3856 (n=7) or CNCM I-3856 and LF82 (n=9) under the same conditions were used as controls. POR was analyzed using macroscopic (from 0 to 4) and histologic (from 0 to 6) scores. Luminal LF82 quantifications were performed weekly for each animal. Adherent LF82 and inflammatory/regulatory cytokines were quantified in biopsies at W12 and W18. Data are expressed as the median with interquartile range (IQR).

### RESULTS

nTg animals did not develop POR. A total of 7/8 (87%) of TgB27 rats receiving LF82 alone had POR (macroscopic score  $\geq 2$ ), which was significantly prevented by CNCM I-3856 administration (6/18 (33%) TgB27 rats,  $p=0.01$ ). Macroscopic lesions were located 2 cm above the anastomosis in the TgB27 rats receiving LF82 alone and consisted of ulcerations with a score of 3.5 (2-4). Seven out of 18 TgB27 rats (39%) receiving LF82+CNCM I-3856 had no macroscopic lesions. Compared to untreated TgB27 animals receiving LF82 alone, coadministration of CNCM I-3856 and LF82 significantly reduced the macroscopic (3.5 (2-4) vs.

1 (0-3),  $p=0.002$ ) and histological lesions by more than 50% (4.5 (3.3-5.8) vs. 2 (1.3-3),  $p=0.003$ ). Levels of adherent LF82 were correlated with anastomotic macroscopic scores in TgB27 rats ( $r=0.49$ ,  $p=0.006$ ), with a higher risk of POR in animals having high levels of luminal LF82 (71.4% vs. 25%,  $p=0.02$ ). Administration of CNCM I-3856 significantly reduced the levels of luminal and adherent LF82, increased the production of IL-10 and decreased the production of IL-23 and IL-17 in TgB27 rats.

## CONCLUSION

In a reliable model of POR induced by LF82 in TgB27 rats, CNCM I-3856 prevents macroscopic POR by decreasing LF82 infection and gut inflammation.

**Key words:** Crohn's disease; Recurrence; *Escherichia coli*; Probiotic; *Saccharomyces cerevisiae*; Colorectal surgery

## Core tip:

Gut dysbiosis plays a main role in the postoperative recurrence (POR) of Crohn's disease (CD). CD dysbiosis is characterized by a lower microbiota diversity with an increase in pathogenic species. Among them, adherent and invasive *Escherichia coli* (AIEC) has been linked to POR. *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) CNCM I-3856 is a probiotic yeast that specifically targets AIEC by preventing the bacterial adhesion process and inhibiting its persistence within the bowel. This study confirmed the capacity of *S. cerevisiae* CNCM I-3856 to prevent AIEC-induced POR by decreasing the infection in a transgenic HLA-B27 rat model of POR after ileocecal resection.

## INTRODUCTION

Crohn's disease (CD) is a complex chronic inflammatory bowel disease that requires surgical resection of macroscopic lesions in approximately 30-50% of patients in their lifetime [1]. Unfortunately, surgery is not curative, and endoscopic recurrence at the anastomotic site occurs in up to 70% of patients in the first year after surgery, followed by clinical recurrence a few years later [2]. Postoperative management of these patients is crucial to identify those at highest risk of recurrence to begin rapid prophylactic treatments targeting mainly tumor necrosis factor (TNF  $\alpha$ ) [3], interleukins 12/23 and  $\alpha 4\beta 7$  integrins on leukocytes [4]. Given the high rate of recurrence after intestinal resection for CD and the cost and potential adverse effects of biologic therapies used in prophylaxis, there is a clear need to identify the mechanisms leading to postoperative recurrence (POR), to develop noninvasive methods predicting recurrence and to propose new evidence-based therapeutic strategies.

The physiopathology sustaining POR of CD remains partially unknown. Abnormal interactions between the mucosal/mesenteric immune system and the intestinal microbiota favored by surgical techniques and environmental factors are pivotal hallmarks in POR dynamics [5]. Recently, ileal transcriptome analyses found in CD patients a gene signature of POR characterized by an upregulation of the IL23 and IL17 pathways together with abnormal JAK/STAT activation [6]. Numerous changes in the microbial composition and reduction in species diversity have been observed in the intestinal flora of CD patients [7], and a few studies have identified an intestinal microbial signature associated with POR. Recolonization of the neoterminal ileum by *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacteroides*, *Fusobacteriaceae* and a depletion of *Streptococcaceae*, *Actinomycineae* and *Faecalibacterium* are associated with endoscopic recurrence of CD [8]. Among these microorganisms, adherent and invasive *E. coli* (AIEC) isolated more than 20 years ago by Darfeuille-Michaud et al. from the ileal mucosa of a patient with CD [9,10] remains one of the most prominent and influential strains associated with CD. AIEC are pathobionts found in approximately 30% of CD patients and in 10% of healthy controls [11]. They are not strictly pathogenic bacteria, and their influence on CD physiopathology remains incompletely understood. However, AIEC is associated with early stages of CD and is predictive of endoscopic POR at 6 months [12], reinforcing the need for interventional studies targeting these bacteria to better understand their direct impact on mucosal inflammation and to find new opportunities to treat CD patients.

Several therapeutic strategies, including the use of antibiotics [13], pre/probiotics [14] and fecal microbiota transplantation [15], have been proposed to target the intestinal flora in CD. Due to side effects or limited efficacy, their routine utilization cannot be recommended [16,17]. Other strategies to inhibit adhesion or to specifically erase AIEC using FimH blockers [18,19] or specific bacteriophages [20,21] are ongoing and seem more promising in preclinical studies. In this context, *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) CNCM I-3856 is a probiotic yeast with good tolerance and beneficial effects on gastrointestinal symptoms [22,23] that has been shown to agglutinate the LF82 adherent invasive *E. coli* strain and to prevent its adhesion to intestinal epithelial cells *in vitro*, favoring LF82 elimination from the gut of mice [24]. Among the thousands of strains belonging to the AIEC family and identified from European and USA isolates, LF82 remains the most studied reference strain that can both adhere to and invade epithelial cells and, moreover, survive and replicate within macrophages without inducing cellular death [25,26].

In the present study, we developed a new animal model of POR of CD occurring 6 weeks after ileocecal resection (ICR) in HLA-B27 transgenic (Tg) rats [27,28] infected by the LF82 AIEC strain [29] to better evaluate the causal role of LF82 on the early steps of CD lesions and the effectiveness of a rationally selected *S. cerevisiae* CNCM I-3856 probiotic to prevent recurrence of the disease.

## **MATERIALS AND METHODS**

### ***Animals***

HLA-B27 transgenic (Tg) and nontransgenic (nTg) control Fisher rats (strain F344) were provided by Professor M. Breban (Cochin Institute, INSERM U1016, Paris, France). Sixty-four rats were maintained in a specific pathogen-free facility at the Institut Pasteur (Lille, France) and were fed a standard diet with free access to water. Animals were maintained at a constant temperature with a 12-hour light/dark cycle. Intra-gastric gavage administration was carried out with conscious animals using straight gavage needles appropriate for the animal size. Surgery was performed under general anesthesia, and postoperative analgesia by opioid treatment was provided. All animals were euthanized by cervical dislocation under general anesthesia. Experiments were realized according to the European directive 2016/63/UE enforced by the decree n°2013-118 and authorized by the departmental ethics committee (n°CEEA 01292-01).

### ***LF82 and CNCM I-3856 strains***

The streptomycin-kanamycin-resistant AIEC strain LF82 isolated from an ileal biopsy of a patient with CD was provided by Professor Nicolas Barnich (Clermont-Auvergne University, France) and used as an AIEC reference strain [30]. Bacteria were routinely grown at 37 °C in Brain-Heart broth or on Drigalski agar plates. The dry *S. cerevisiae* CNCM I-3856 yeast strain was provided by Lesaffre International (Marcq-en-Baroeul, France). The LF82 and CNCM I-3856 strains were rehydrated at room temperature in phosphate buffered saline (PBS, pH=7.2, 2X10<sup>9</sup> CFU/mL) before gavage.

### ***Experimental design***

ICR with end-to-end anastomosis was performed at 12 weeks (W) of life (W12) in 64 rats (38 Tg, 26 nTg) (Figure 1). ICR was performed blindly by two operators (CD and CV) in Tg and nTg animals. Tg rats were challenged daily by oral gavage in the morning with PBS (Tg PBS, n=5), CNCM I-3856 alone (10<sup>9</sup> CFU/d) (Tg CNCM I-3856, n=7), LF82 alone (10<sup>9</sup> CFU/d) in the afternoon (Tg LF82, n=8), or an association of CNCM I-3856 (10<sup>9</sup> CFU/d) and LF82 (10<sup>9</sup> CFU/d) (Tg CNCM I-3856+LF82, n=18) given respectively in the morning and in the afternoon. Age-matched nTg rats receiving PBS (nTg PBS, n=5), CNCMI-3856 alone (nTg CNCM I-3856, n=7), LF82 alone (nTg LF82, n=5), or an association of CNCM I-3856 and LF82 (nTg CNCM I-3856+LF82, n=9) under the same conditions were used as controls. LF82 was administered from W11 to W18, and CNCM I-3856 was similarly administered from W10 to W18 in Tg and nTg rats. Streptomycin was given in drinking water at 0.5 mg/ml for the last 3 days (d) of W10 in Tg and control animals. The rats were followed during the eight-week procedure for weight changes (% of change compared to initial body weight at W11), diarrhea and the presence of macroscopic bloody stools and were killed at W18.

### ***Macroscopic and histologic lesions***

At W18, the whole intestine was excised and photographed. Anastomotic macroscopic lesions ( $\pm$  2 cm above anastomosis) were assessed blindly using a macroscopic grading scale adapted from the Rutgeerts score ranging from 0 to 4 (Figure 2) [2]. By analogy with endoscopic recurrence after surgery in patients with Crohn's disease (25), postsurgical recurrence was defined by a macroscopic score of  $\geq$  2 corresponding to the presence of ulcerations  $\pm$  stenosis. The results were expressed as the median with interquartile range (IQR).

Transparietal biopsies of anastomotic areas were collected during surgery at W12 and W18. Tissues were fixed in 4% buffered formaldehyde, embedded in paraffin and stained by May Grunwald Giemsa for scoring (from 0 to 6) using the adapted score of Geboes (Table 1) [31]. Identical areas of each section of the different biopsy specimens were examined at magnification X10 by two blinded observers familiar with the scoring system (CD and CV). Anastomotic histologic scores were expressed as the median score with IQR when an interobserver coefficient of variation < 15% was obtained.

### ***Luminal and adherent quantification of LF82***

Feces (10-600 mg) were collected weekly from W11 to W18 for each animal after abdominal massage for the quantification of luminal LF82. Mucosal anastomotic swabs (10-100 mg) were performed at W12 during surgery and at sacrifice (W18) in all animals for the quantification of anastomotic adherent LF82. Fresh feces and swabs were collected in 1.5 ml of sterile solution of cysteinated Ringer's solution. After serial dilutions, samples were incubated for 24-48 hours at 37 °C in Drigalski agar containing 100 µg/ml streptomycin to select and quantify LF82 expressed in log<sub>10</sub> CFU per gram of feces. The results are expressed as the median with interquartile range.

### ***mRNA quantification in anastomotic biopsies at W12 and W18***

Anastomotic biopsies were frozen at -80 °C, and total RNAs were extracted using a Nucleospin RNA kit (Macherey Nagel). After RNAses inactivation, genomic DNA was suppressed from the samples by DNase treatment, and total RNAs were eluted in RNase-free water. RNA content was measured using a NanoDrop Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Retro-transcription of total RNA was achieved using a High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific). Random primers, RT buffer and reverse transcriptase were added to 1 µg of total RNA for 10 minutes at 25 °C, then 2 hours at 37 °C and finally 5 minutes at 85 °C in the Gene AmpPCR System 9700 automaton (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). All kits were used according to the manufacturers' protocols. IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF  $\alpha$ , IFN  $\gamma$ , IL-17, IL-23 and IL-10 were quantified by qPCR in real time for 40 cycles in the StepOnePlus™ Real Time PCR system (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) using SYBR Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific). qPCR signal quantification was expressed relative to the expression of  $\beta$ -actin used as a reference gene. The results are expressed as the median with interquartile range.

### ***Statistical analysis***

Data are expressed as the median with IQR. Comparisons were performed using the nonparametric Mann–Whitney test for unmatched data and the Wilcoxon signed-rank test for matched data. Pearson’s chi-square test was used for contingency analysis. The correlation between macroscopic scores and the number of LF82 was tested using Spearman’s test. To classify animals with low or high quantities of LF82, a cutoff value was determined using a receiver operating characteristic (ROC) curve. The risk of recurrence for low and high producers was compared using Pearson’s chi-square test. All statistical tests were two-tailed and considered statistically significant if  $p < 0.05$ . Statistical analyses were conducted using GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Software, San Diego, CA) software package for PC and Xlstat 2020.1 version for the ROC curve.

## **RESULTS**

### ***Effect of CNCM I-3856 on clinical signs***

No mortality, diarrhea or bloody stools were observed in any animals receiving PBS, LF82 alone, CNCM I-3856 alone or CNCM I-3856+LF82 during the 8-week observation study.

A similar pattern of weight evolution was observed in nTg (Figure 3A) and Tg animals (Figure 3B), with a significant weight loss occurring one week after surgery followed by a weight recovery phase. A more important weight loss was transitorily observed at W13 in Tg rats receiving LF82 vs. CNCM I-3856+LF82 (95.7 IQR: 92-97 vs. 85.4 IQR: 81-94,  $p=0.007$ ). The global weight changes assessed by the relative difference in weight variation between W11 and W18 were similar in the 4 groups of Tg and nTg animals.

### ***Effect of CNCM I-3856 on anastomotic macroscopic lesions and postsurgical recurrence***

No intestinal lesions were present at W12 in any animal. No macroscopic lesions (or therefore, postsurgical recurrence) were observed at W18 in control nTg animals receiving PBS, CNCM I-3856 alone, LF82 alone, or CNCM I-3856+LF82 (Figure 4A). In contrast, anastomotic macroscopic lesions corresponding mainly to edema and ulcerations on more than 20% of the anastomotic area without stenosis were observed in Tg rats receiving LF82 (3.5 IQR: 2-4), leading to 87.5% postsurgical recurrence in this group of animals (Figures 4A-B). Compared to untreated Tg rats receiving LF82 (3.5 IQR: 2-4), coadministration of CNCM I-3856+LF82 significantly reduced the macroscopic score (1 IQR: 0-2,  $p=0.002$ ) and postsurgical recurrence



(87.5% vs. 33.3%,  $p=0.01$ ) by more than 60% (Figures 4A-B). Anastomotic macroscopic lesions were similar in Tg rats receiving PBS or CNCM I-3856 alone or CNCM I-3856+LF82, without a difference from control nTg animals (Figure 4A).

#### ***Effect of CNCM I-3856 on anastomotic histologic lesions***

No histologic lesions were present at W12 in any animal (data not shown). At W18, no significant and only mild histologic lesions characterized by neutrophil infiltration not exceeding 30% of lamina propria cells were observed in control nTg animals receiving either PBS, LF82 alone, CNCM I-3856 alone or CNCM I-3856+LF82 (Figure 5). In contrast, erosions and mucosal ulcerations associated with moderate neutrophil infiltration were observed at W18 in Tg rats receiving LF82 (4.5 IQR: 3.3-5.8) (Figure 5). Compared to untreated Tg animals receiving LF82, coadministration of CNCM I-3856 and LF82 significantly reduced the histological lesions by more than 50% (4.5 IQR: 3.3-5.8 vs. 2 IQR: 1.3-3,  $p=0.003$ ) (Figure 5). No significant lesions were observed in Tg rats receiving PBS or CNCM I-3856 alone, which was not different from the findings in control nTg animals (Figure 5).

#### ***Effect of CNCM I-3856 on luminal and adherent LF82 levels (W12-W18)***

At week 12, i.e., one week after the beginning of LF82 administration (109 CFU/d), the quantities of luminal (Figure 6A) and adherent (Figure 7A) LF82 were similar in Tg and nTg rats receiving LF82 alone or CNCM I-3856+LF82. While the levels of luminal (4.4 IQR: 2.5-5.2 vs. 3.4 IQR: 1.7-5.5) and adherent (2.7 IQR: 2.4-3 vs. 3.1 IQR: 2.3-5) LF82 remained similar between week 12 and W18 in Tg rats receiving LF82 alone (Figures 6-7), a significant decrease in luminal (4.6 IQR: 3.5-5.2 vs. 1.8 IQR: 1.7-2.3,  $p=0.0002$ ) and adherent (3.1 IQR: 2.5-3.6 vs. 2.5 IQR: 2.3-2.6,  $p=0.0005$ ) LF82 was observed in paired Tg animals receiving CNCM I-3856+LF82 between W12 and W18 (Figures 6-7).

In addition, the global persistence of viable luminal LF82 after surgery and during the last 5 weeks of the study was significantly higher in the stools of Tg rats receiving LF82 alone (0.22 IQR: 2.071e-008-0.7) compared to Tg rats receiving CNCM I-3856+ LF82 (-0.6 IQR: -0,7-0.3,  $p=0.0004$ ) (Figure 8).

#### ***Correlation between LF82 levels and macroscopic lesions in Tg rats***

A correlation was found between the levels of adherent LF82 and the scores of anastomotic macroscopic lesions observed at W18 in Tg animals receiving LF82 alone or in combination

with CNCM I-3856 ( $r=0.49$ ,  $p=0.006$ ) (Figure 9A). These levels of anastomotic adherent LF82 were correlated at W12 ( $r=0.81$ ,  $p=0.02$ ) and W18 ( $r=0.79$ ,  $p=0.03$ ) with the levels of luminal LF82 in paired Tg animals receiving LF82 alone (Figures 9B-C). Next, we analyzed whether luminal LF82 levels at W14 may be predictive of postsurgical recurrence in the 26 Tg rats receiving LF82 alone ( $n=8$ ) or in combination with CNCM I-3856 ( $n=18$ ). Using a cutoff value of 2.262 log<sub>10</sub> CFU of luminal LF82 per g of stool determined by ROC curve, 14 animals at W14 were classified as highly infected by LF82, and 12 were classified as mildly infected (Figure 10A). Postsurgical recurrence was significantly more frequent in the highly infected Tg rats than in the mildly infected Tg rats (71.4% vs. 25%,  $p=0.02$ ) (Figure 10B). A value of 2.262 log<sub>10</sub> CFU luminal LF82 per g of stools at W14 had an 80% sensitivity, 69.2% specificity, 71.4% positive predictive value and 75% negative predictive value for postsurgical recurrence.

### ***Anastomotic cytokine mRNA quantification***

Levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF  $\alpha$  and IFN  $\gamma$  mRNA were variable and similar in all Tg and nTg animals at W12 and W18, regardless of the presence of POR, LF82 administration or treatment with CNCM I-3856 (data not shown).

Concerning IL-10 mRNA levels, the only significant difference found by paired analysis in the different groups of animals revealed higher levels of IL-10 mRNA at W18 compared to W12 in animals receiving CNCM I-3856. In the Tg groups, administration of CNCM I-3856 with or without coadministration of LF82 induced a significant increase in IL-10 production between surgery and sacrifice (respectively 2.5·10<sup>5</sup> IQR: 1.7·10<sup>5</sup>-2.6·10<sup>5</sup> vs. 4.9·10<sup>5</sup> IQR: 3.3·10<sup>5</sup>-9·10<sup>5</sup>,  $p=0.017$  and 2.6·10<sup>5</sup> IQR: 1.5·10<sup>5</sup>-3.9·10<sup>5</sup> vs. 7.4·10<sup>5</sup> IQR: 5.3·10<sup>5</sup>-0.4·10<sup>6</sup>,  $p=0.031$ ), while similar IL-10 levels were found in animals receiving LF82 alone (Figures 11 A-B-C).

Concerning IL-23 mRNA levels, a significant increase was observed at W18 in Tg animals receiving LF82 alone in comparison to groups of rats treated by CNCM I-3856 with or without administration of LF82 (respectively  $p=0.04$  and  $p=0.006$ ) (Figure 12 A). Additionally, using a paired t test, a significant increase in inflammatory IL-23 production was observed between surgery and sacrifice in the Tg group receiving LF82 alone (2.2·10<sup>4</sup> IQR: 1.8·10<sup>4</sup>-8·10<sup>4</sup> vs. 26.9·10<sup>4</sup> IQR: 6.1·10<sup>4</sup>-6·10<sup>5</sup>,  $p=0.008$ ), while no significant difference was observed in the Tg groups treated with CNCM I-3856 with or without administration of LF82 (Figures 12 B-C-D). Analysis of IL-17 mRNA levels found significantly higher rates at W18 in Tg rats receiving LF82 in comparison with the Tg group receiving CNCM I-3856+LF82 (2.7·10<sup>4</sup>; IQR: 0.8·10<sup>4</sup>-9.5·10<sup>4</sup> vs. 0.4·10<sup>4</sup>; IQR: 0.2·10<sup>4</sup>-0.6·10<sup>4</sup>,  $p=0.015$ ) (Figure 13 A).

## DISCUSSION

The role of the intestinal microbiota composition and diversity in POR of CD is important. Among intestinal microorganisms potentially involved in POR, many studies support the roles of AIEC in early ileal lesions of CD and particularly in endoscopic postoperative recurrence occurring 6 months after CD-related ileocolonic resection [12]. In the present study, we show that the probiotic *S. cerevisiae* CNCM I-3856 prevents LF82-induced POR occurring 6 weeks after ICR in susceptible HLA-B27 Tg rats. In our model, oral administration of the LF82 AIEC strain induced POR in 85% of HLA-B27 Tg rats raised in a controlled pathogen-free facility. The lesions developed in a concentration-dependent manner to adherent LF82; moreover, they shared many similarities with CD lesions, including erosions and ulcers that could lead to stenosis, transperietal neutrophil infiltration, and a shift of cytokine profiles toward an IL-23/IL-17 axis. The goal of postoperative management of CD is to identify patients at highest risk for recurrence in order to begin prophylactic treatment with biotherapies [8]. In our study, a high fecal concentration of LF82 had a 70% predictive positive value for POR occurring 4 weeks later. The utility of this noninvasive diagnostic biomarker for predicting POR should be considered in future clinical studies evaluating the postoperative management of CD patients.

*S. cerevisiae* CNCM I-3856 [22] is a probiotic yeast already evaluated in large-scale clinical studies showing the safety and efficacy of this strain for abdominal pain management in patients with irritable bowel syndrome [22,32–34]. In the present study, daily oral administration of *S. cerevisiae* CNCM I-3856 at 109 CFU/d was perfectly tolerated and reduced the severity and frequency of POR by more than 60% in HLA-B27 Tg rats. Moreover, an absence of LF82-induced POR without any macroscopic lesions was observed in 40% of transgenic animals treated preventively with CNCM I-3856. To our knowledge, this is the first time that a probiotic treatment showed such efficacy to prevent POR in a rodent preclinical model of POR CD.

Different mechanisms of action may be involved by *S. cerevisiae* CNCM I-3856 in its therapeutic preventive effect against POR. Specific fractions of  $\beta$ 6-glucan and  $\alpha$ 4-glucan expressed by *S. cerevisiae* CNCM I-3856 are the strongest anti-adhesive yeast cell walls against AIEC adhesion [24,35]. In our study, prevention of LF82-induced POR by *S. cerevisiae* was associated with a significant decrease in adherent LF82 in the intestinal mucosa of animals together with a decrease in the persistence of luminal LF82, demonstrating the ability of CNCM I-3856 to decolonize AIEC from the gut of rats. Additional preclinical studies will be

performed in our model using specific soluble glucan fractions of *S. cerevisiae* CNCM I-3856 to avoid the constraints of a live probiotic and to optimize the therapeutic efficacy. Another possible mechanism by which *S. cerevisiae* prevents POR resides in its immunomodulatory and anti-inflammatory capacities [36]. We observed that the administration of *S. cerevisiae* CNCM I-3856 significantly increased IL-10 production in the intestine of rats and restored the local upregulation of IL-17 and IL-23 associated with LF82-induced POR in transgenic animals. The capacity of *S. cerevisiae* to induce IL-10 production has already been highlighted in vitro in bone-marrow dendritic cells and in porcine jejunal epithelial cells [36,37]. In the gut, IL-10 is produced by leukocytes and intestinal epithelial cells and plays important roles in maintaining gut homeostasis and harmonizing the interaction between host immunity and luminal microorganisms [38]. In a previous study of 79 patients with Crohn's disease having a first ileocolic resection and ileocolonic anastomosis, we reported that a low ileal IL-10 mRNA concentration was predictive of endoscopic recurrence occurring 3 months later [39]. Thus, the ability of *S. cerevisiae* CNCM I-3856 to induce the intestinal production of IL-10 could be a key factor in preventing POR in our model.

## **CONCLUSION**

In conclusion, our results identified *S. cerevisiae* CNCM I-3856 as a new and original candidate for the prevention of POR in selected AIEC-infected Crohn's disease patients. In a reliable model of ICR in HLA-B27 transgenic rats mimicking postoperative recurrence of Crohn's disease, *S. cerevisiae* CNCM I-3856 was found to prevent macroscopic and histologic POR through a pathobiont AIEC-targeted mechanism and its ability to induce intestinal IL-10 production. Given that the majority of patients with Crohn's disease wish to have safe natural nonchemotherapeutic treatment, the *S. cerevisiae* CNCM I-3856 probiotic, which is already an alternative solution for the management of patients with irritable bowel syndrome because of its ability to alleviate abdominal pain and to improve quality of life, should represent a promising therapeutic solution in the management of postoperative Crohn's disease.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

We thank the Foundation DigestScience for its help in the breeding of the HLA-B27 transgenic animals and Lesaffre Company for the provision of *S. cerevisiae* CNCM I-3856.

## REFERENCES

- 1 **Bouguen G**, Peyrin-Biroulet L. Surgery for adult Crohn's disease: what is the actual risk? *Gut* 2011; **60**: 1178-1181 [PMID: 21610273 DOI: 10.1136/gut.2010.234617]
- 2 **Rutgeerts P**, Geboes K, Vantrappen G, Beyls J, Kerremans R, Hiele M. Predictability of the postoperative course of Crohn's disease. *Gastroenterology* 1990; **99**: 956-963 [PMID: 2394349 DOI: 10.1016/0016-5085(90)90613-6]
- 3 **Shah RS**, Click BH. Medical therapies for postoperative Crohn's disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2021; **14**: 1756284821993581 [PMID: 33643440 DOI: 10.1177/1756284821993581]
- 4 **Mañosa M**, Fernández-Clotet A, Nos P, Martín-Arranz MD, Manceñido N, Carbajo A, Hinojosa E, Hernández-Camba A, Muñoz-Pérez R, Boscá-Watts M, Calvo M, Sierra-Ausín M, Sánchez-Rodríguez E, Barreiro-de Acosta M, Núñez-Alonso A, Zabana Y, Márquez L, Gisbert JP, Guardiola J, Sáinz E, Delgado-Guillena P, Busquets D, van Domselaar M, Girona E, Lorente R, Casas-Deza D, Huguet JM, Maestro S, Cabello 29, Castro MJ, Iborra M, Cañete F, Calafat M, Domènech E, ENEIDA registry by GETECCU. Ustekinumab and vedolizumab for the prevention of postoperative recurrence of Crohn's disease: Results from the ENEIDA registry. *Dig Liver Dis* 2022; S1590-8658(22)00618-1 [PMID: 35948459 DOI: 10.1016/j.dld.2022.07.013]
- 5 **Chaim FHM**, Negreiros LMV, Steigleder KM, Siqueira NSN, Genaro LM, Oliveira PSP, Martinez CAR, Ayrizono MLS, Fagundes JJ, Leal RF. Aspects Towards the Anastomotic Healing in Crohn's Disease: Clinical Approach and Current Gaps in Research. *Front Surg* 2022; **9**: 882625 [PMID: 35813046 DOI:10.3389/fsurg.2022.882625]
- 6 **Ngollo M**, Perez K, Hammoudi N, Gorelik Y, Delord M, Auzolle A, Bottois H, Cazals-Hatem D, Bezault M, Nancey S, Nachury M, Treton X, Fumery M, Buisson A, Barnich N, Seksik P, REMIND Study Group Investigators, Shen-Orr SS, Le Bourhis L, Allez M. Identification of gene expression profiles associated with an increased risk of post-operative recurrence in Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2022; **16**: 1269-1280 [PMID: 35143619 DOI:10.1093/ecco-jcc/jjac021]
- 7 **Caparrós E**, Wiest R, Scharl M, Rogler G, Gutiérrez Casbas A, Yilmaz B, Wawrzyniak M, Francés R. Dysbiotic microbiota interactions in Crohn's disease. *Gut Microbes* 2021; **13**: 1949096 [PMID: 34313550 DOI: 10.1080/19490976.2021.1949096]
- 8 **Battat R**, Sandborn WJ. Advances in the Comprehensive Management of Postoperative Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2022; **20**: 1436-1449 [PMID: 33819666 DOI: 10.1016/j.cgh.2021.03.048]

- 9 **Darfeuille-Michaud A**, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N, Bringer MA, Swidsinski A, Beaugerie L, Colombel JF. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2004; **127**: 412-421 [PMID: 15300573 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.04.061]
- 10 **Nadalian B**, Yadegar A, Houry H, Olfatifar M, Shahrokh S, Asadzadeh Aghdaei H, Suzuki H, Zali MR. Prevalence of the pathobiont adherent-invasive *Escherichia coli* and inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2021; **36**: 852-863 [PMID: 32929762 DOI: 10.1111/jgh.15260]
- 11 **Kamali Dolatabadi R**, Feizi A, Halaji M, Fazeli H, Adibi P. The Prevalence of Adherent-Invasive *Escherichia coli* and Its Association With Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)* 2021; **8**: 730243 [PMID: 34926490 DOI: 10.3389/fmed.2021.730243]
- 12 **Buisson A**, Sokol H, Hammoudi N, Nancey S, Treton X, Nachury M, Fumery M, Hébuterne X, Rodrigues M, Hugot JP, Boschetti G, Stefanescu C, Wils P, Seksik P, Le Bourhis L, Bezault M, Sauvanet P, Pereira B, Allez M, Barnich N, Remind study group. Role of adherent and invasive *Escherichia coli* in Crohn's disease: lessons from the postoperative recurrence model. *Gut* 2022; gutjnl-2021-325971 [PMID: 35361684 DOI: 10.1136/gutjnl-2021-325971]
- 13 **Elhag DA**, Kumar M, Saadaoui M, Akobeng AK, Al-Mudahka F, Elawad M, Al Khodor S. Inflammatory Bowel Disease Treatments and Predictive Biomarkers of Therapeutic Response. *Int J Mol Sci* 2022; **23**: 6966 [PMID: 35805965 DOI: 10.3390/ijms23136966]
- 14 **Mishra J**, Stubbs M, Kuang L, Vara N, Kumar P, Kumar N. Inflammatory Bowel Disease Therapeutics: A Focus on Probiotic Engineering. *Mediators Inflamm* 2022; 2022:9621668 [PMID: 35082553 DOI: 10.1155/2022/9621668]
- 15 **Borody TJ**, Dolai S, Gunaratne AW, Clancy RL. Targeting the microbiome in Crohn's disease. *Expert Rev Clin Immunol* 2022; **18**: 873-877 [PMID: 35731859 DOI: 10.1080/1744666X.2022.2093186]
- 16 **Di Sario A**, Sassaroli P, Daretti L, Annulli G, Schiada L, Falcioni G, Bendia E, Antuono S, Benedetti A. Postoperative Recurrence of Crohn's Disease: Pathophysiology, Diagnosis and Treatment. *Curr Pharm Biotechnol* 2017; **18**: 979-988 [PMID: 29453848 DOI: 10.2174/1389201019666180216152805]
- 17 **Bourreille A**, Cadiot G, Le Dreau G, Laharie L, Beaugerie L, Dupas JL, Marteau P, Rampal P, Moyse D, Saleh A, Le Guern ME, Galmiche JP, FLORABEST Study Group. *Saccharomyces*

boulardii does not prevent relapse of Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; **11**: 982-987 [PMID: 23466709 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.02.021]

18 **Chevalier G**, Laveissière A, Desachy G, Barnich N, Sivignon A, Maresca M, Nicoletti C, Di Pasquale E, Martinez-Medina M, Simpson KW, Yajnik V, Sokol H. MOBIDIC Study Investigators; Jonathan Plassais 2, Francesco Strozzi 2, Alessandra Cervino 2, Rachel Morra 2, Christophe Bonny 2 Blockage of bacterial FimH prevents mucosal inflammation associated with Crohn's disease. *Microbiome* 2021; **9**: 176 [PMID: 34425887 DOI: 10.1186/s40168-021-01135-5]

19 **Reinisch W**, Hébuterne X, Buisson A, Schreiber S, Desreumaux P, Primas C, Paillarse JM, Chevalier G, Bonny C. Safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic study of sibofimloc, a novel FimH blocker in patients with active Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2022; **37**: 832-840 [PMID: 35266174 DOI: 10.1111/jgh.15828]

20 **Galtier M**, De Sordi L, Sivignon A, Vallée A, Maura D, Neut C, Rahmouni O, Wannerberger K, Darfeuille-Michaud A, Desreumaux P, Barnich N, Debarbieux L. Bacteriophages Targeting Adherent Invasive Escherichia coli Strains as a Promising New Treatment for Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 2017; **11**: 840-847 [PMID: 28130329 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjw224]

21 **Titécat M**, Rousseaux C, Dubuquoy C, Foligné B, Rahmouni O, Mahieux S, Pierre Desreumaux P, Woolston J, Sulakvelidze A, Wannerberger K, Neut C. Safety and Efficacy of an AIEC-targeted Bacteriophage Cocktail in a Mice Colitis Model. *J Crohns Colitis* 2022; jjac064 [PMID: 35997152 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjac064]

22 **Mourey F**, Decherf A, Jeanne JF, Clément-Ziza M, Grisoni ML, Machuron F, Legrain-Raspaud S, Bourreille A, Desreumaux P. Saccharomyces cerevisiae I-3856 in irritable bowel syndrome with predominant constipation. *World J Gastroenterol* 2022; **28**: 2509-2522 [PMID: 28127207 DOI: 10.3748/wjg.v23.i2.336]

23 **Cayzeele-Decherf A**, Pélerin F, Leuillet S, Douillard B, Housez B, Cazaubiel M, Jacobson GK, Jüsten P, Desreumaux P. Saccharomyces cerevisiae CNCM I-3856 in irritable bowel syndrome: An individual subject meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2017; **23**: 336-344 [PMID: 35979259 DOI: 10.3748/wjg.v28.i22.2509]

24 **Sivignon A**, de Vallée A, Barnich N, Denizot J, Darcha C, Pignède G, Vandekerckove P, Darfeuille-Michaud A. Saccharomyces cerevisiae CNCM I-3856 prevents colitis induced by AIEC bacteria in the transgenic mouse model mimicking Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015; **21**: 276-286 [PMID: 25569734 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000280]

- 25 **Martinez-Medina M**, Aldeguer X, Lopez-Siles M, González-Huix F, López-Oliu C, Dahbi G, Blanco JE, Blanco J, Garcia-Gil LJ, Darfeuille-Michaud A. Molecular diversity of Escherichia coli in the human gut: new ecological evidence supporting the role of adherent-invasive E. coli (AIEC) in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; **15**: 872-882 [PMID: 19235912 DOI: 10.1002/ibd.20860]
- 26 **Darfeuille-Michaud A**, Neut C, Barnich N, Lederman E, Di Martino P, Desreumaux P, Gambiez L, Joly B, Cortot A, Colombel J F. Presence of adherent Escherichia coli strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1998; **115**: 1405-1413 [PMID: 9834268 DOI: 10.1016/s0016-5085(98)70019-8]
- 27 **Blondeaux A**, Speca S, Valibouze C, Lambin T, Dubuquoy C, Titecat M, Blanquart H, Neut C, Genin M, Zerbib P, Foligne B, Desreumaux P. Sa1539: Tofacitinib treatment prevents post-operative recurrence of crohn's disease modeled by ileocecal resection in HLA-B27 transgenic rats. *Gastroenterology* 2022; **162**: S-406 [DOI:10.1016/S0016-5085(22)60966-1]
- 28 **Chau A**, Lucil S, Chater C, Speca S, Djouina M, Dubuquoy C, Koriche D, Dubuquoy L, Neut C, Pruvot FR, Desreumaux P, Zerbib P, Pariente B. 1053 - Hla B27 Transgenic Rat: A New Animal Model of Ileitis Post Surgery Reproducing Inflammatory Disease. *Gastroenterology* 2018; **154**: S-199 [DOI: 10.1016/S0016-5085(18)31068-0]
- 29 **Valibouze C**, Speca S, Lambin T, Dubuquoy C, Dubuquoy L, M'Ba L, Schneider L, Rousseaux C, Ballet N, Decherf A, Titecat M, Foligne B, Desreumaux P, Neut C, Zerbib P. Su1807 – Post-Operative Recurrence After Ileo-Caecal Resection for Crohn's Disease: Towards an Anti-Adherent Invasive Escherichia Coli (AIEC) Strategy with Rationally Selected Saccharomyces Cerevisiae Probiotic. *Gastroenterology* 2019; **156**: S-620 [DOI: 10.1016/S0016-5085(19)38444-6].
- 30 **Boudeau J**, Glasser AL, Masseret E, Joly B, Darfeuille-Michaud A. Invasive ability of an Escherichia coli strain isolated from the ileal mucosa of a patient with Crohn's disease. *Infect Immun* 1999; **67**: 4499-4509 [PMID: 10456892 DOI: 10.1128/IAI.67.9.4499-4509.1999]
- 31 **D'Haens GR**, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology* 1998; **114**: 262-267 [PMID: 9453485 DOI: 10.1016/s0016-5085(98)70476-7]
- 32 **Pineton de Chambrun G**, Neut C, Chau A, Cazaubiel M, Pelerin F, Justen P, Desreumaux P. A randomized clinical trial of Saccharomyces cerevisiae versus placebo in the irritable bowel syndrome. *Dig Liver Dis* 2015; **47**: 119-124 [PMID: DOI: 10.1016/j.dld.2014.11.007]



- 33 **Spiller R**, Pélerin F, Cayzeele Decherf A, Maudet C, Housez B, Cazaubiel M, Jüsten P. Randomized double blind placebo-controlled trial of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 in irritable bowel syndrome: improvement in abdominal pain and bloating in those with predominant constipation. *United European Gastroenterol J* 2016; 4: 353-362 [PMID: 27403301 DOI: 10.1177/2050640615602571]
- 34 **Gayathri R**, Aruna T, Malar S, Shilpa B, Dhanasekar KR. Efficacy of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856 as an add-on therapy for irritable bowel syndrome. *Int J Colorectal Dis* 2020; 35: 139-145 [PMID: 31807856 DOI: 10.1007/s00384-019-03462-4]
- 35 **Sivignon A**, Yu SY, Ballet N, Vandekerckove P, Barnich N, Guerardel Y. Heteropolysaccharides from *S. cerevisiae* show anti-adhesive properties against *E. coli* associated with Crohn's disease. *Carbohydr Polym* 2021; 271: 118415 [PMID: 34364556 DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118415]
- 36 **Zhang M**, Jin X, Yang YF, Cao GF.  $\beta$ -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* is involved in immunostimulation of ovine ruminal explants. *Can J Vet Res* 2020; 84: 283-293 [PMID: 33012977]
- 37 **Sokol H**, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, Cohen D, Liguori G, Bourrier A, Nion-Larmurier I, Cosnes J, Seksik P, Langella P, Skurnik D, Richard ML, Beaugerie L. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut* 2017; 66: 1039-1048 [PMID: 26843508 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310746]
- 38 **Nguyen HD**, Aljamaei HM, Stadnyk AW. The Production and Function of Endogenous Interleukin-10 in Intestinal Epithelial Cells and Gut Homeostasis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2021; 12: 1343-1352 [PMID: 34271223 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2021.07.005]
- 39 **Meresse B**, Rutgeerts P, Malchow H, Dubucquoi S, Dessaint JP, Cohard M, Colombel JF, Desreumaux P. Low ileal interleukin 10 concentrations are predictive of endoscopic recurrence in patients with Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 25-28 [PMID: 25488056 DOI: 10.1016/j.dld.2014.11.007]

## Footnotes

**Institutional review board statement:** Experiments were realized at the Institut Pasteur of Lille, according to the European directive 2016/63/UE enforced by decree n°2013-118 under the number D 59 350 009.

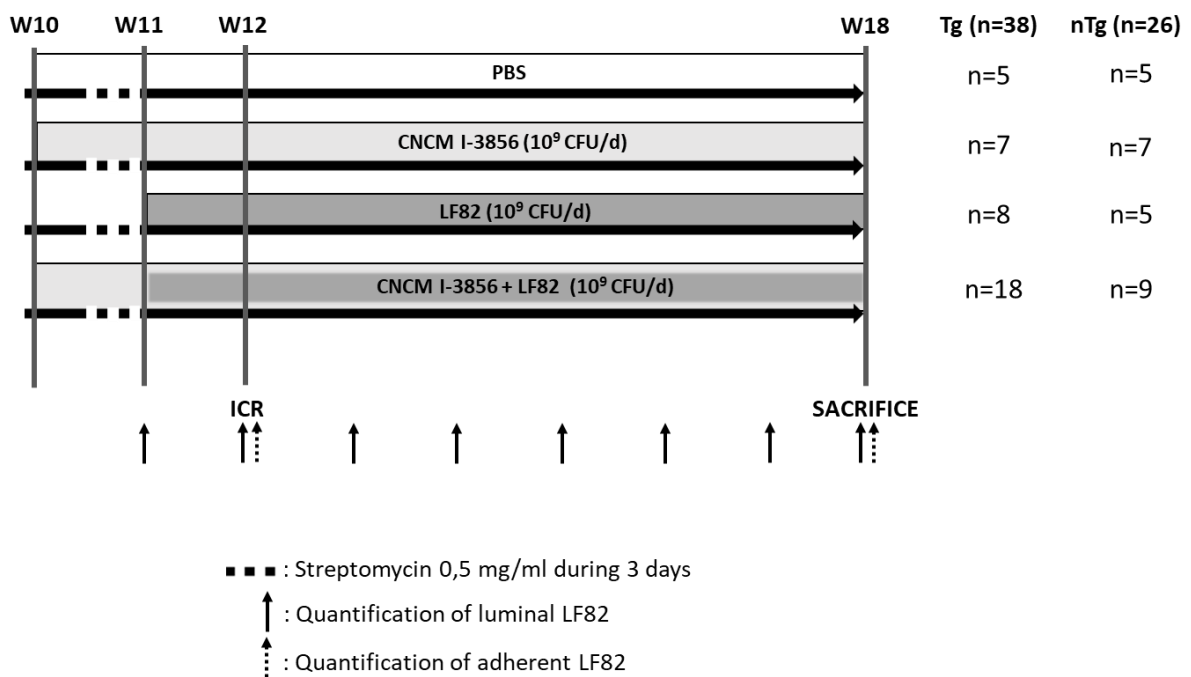
**Institutional animal care and use committee statement:** Animal experiments were authorized by the departmental ethics committee (n°CEEA 01292-01).

**Conflict-of-interest statement:** Mourey F is an employee of Lesaffre, Desreumaux P reports personal fees from Abbvie, personal fees from Abbott, personal fees from Amgen, personal fees from Biocodex, personal fees from Biofortis, personal fees from Biogen, personal fees from Biokuris, personal fees from Ferring, personal fees from Fresenius, personal fees from Janssen, personal fees from Kitozyme, personal fees from Lesaffre, personal fees from MSD, personal fees from Norgine, personal fees from Pfizer, personal fees from Sandoz, personal fees from Shire, personal fees from Takeda, personal fees from Tillotts, and personal fees from UCB, outside the submitted work; In addition, Dr. Desreumaux has a patent (WO2009103884) issued. All other authors have nothing to disclose.

**Data sharing statement:** dataset available from the corresponding author at [caroline.valibouze@univ-lille.fr](mailto:caroline.valibouze@univ-lille.fr).





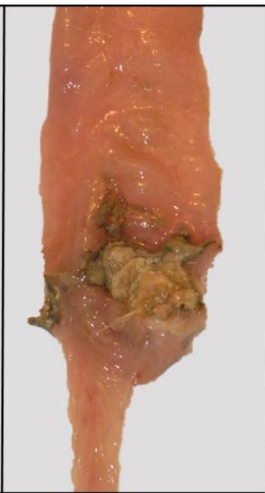
**ARRIVE guidelines statement:** The authors read the ARRIVE guidelines, and the manuscript was prepared and revised according to the ARRIVE guidelines.

## Figure Legends

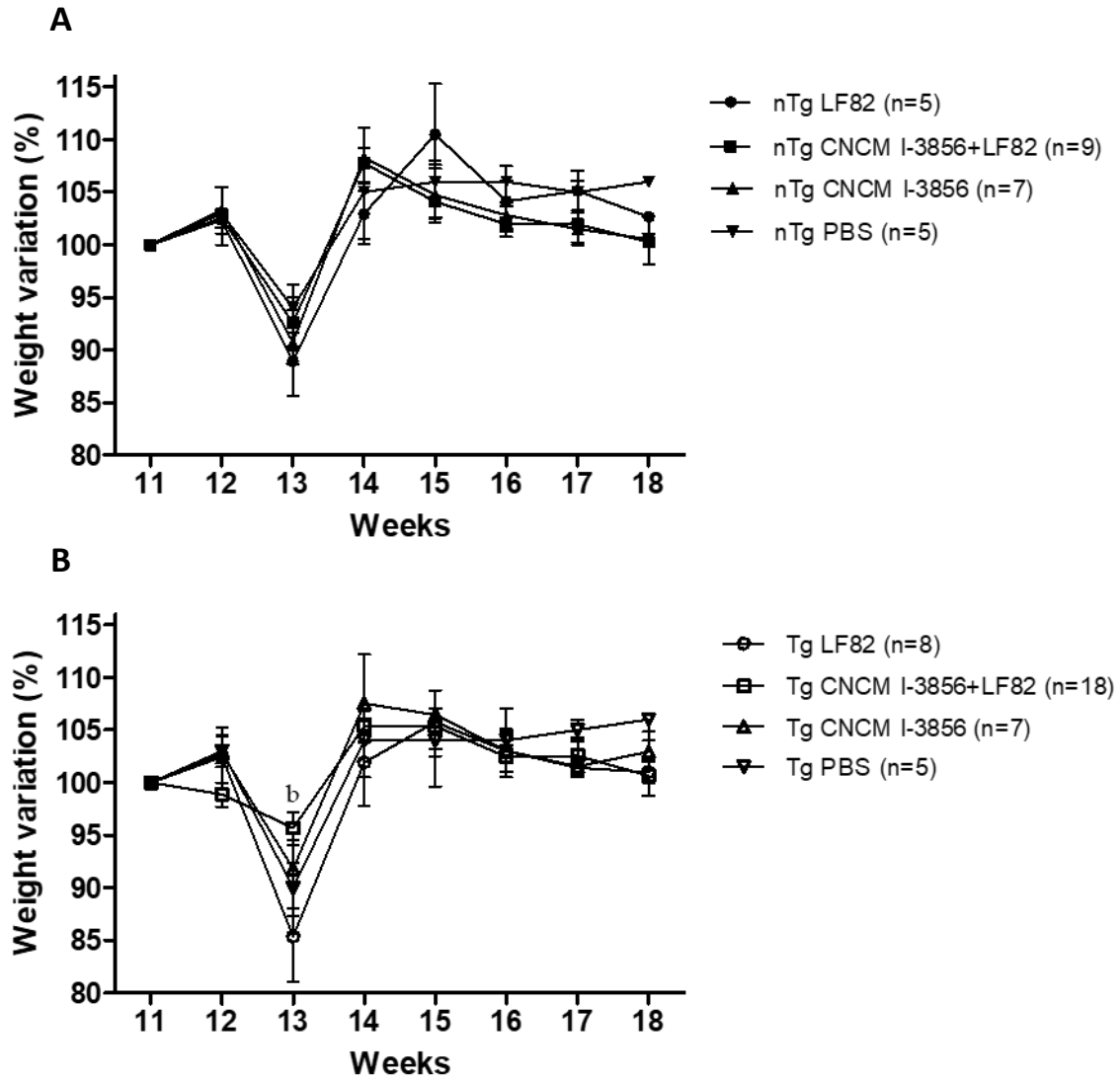


### Figure 1 Study design

HLA-B27 transgenic rats (Tg) and wild-type rats (nTg) were randomized to receive PBS (n = 10), CNCM I-3856 (n = 14), LF82 (n = 13), or CNCM I-3856+LF82 (n = 27) by oral gavage from week (W) 10 or 11 to W18. Ileocecal resection (ICR) was performed at W12, and animals were sacrificed at W18. Streptomycin (dotted line) was given on the last 3 days of W10 in all rats. Luminal (arrows) and/or adherent (dotted arrows) LF82 were quantified weekly during the 8-week study. d: day.

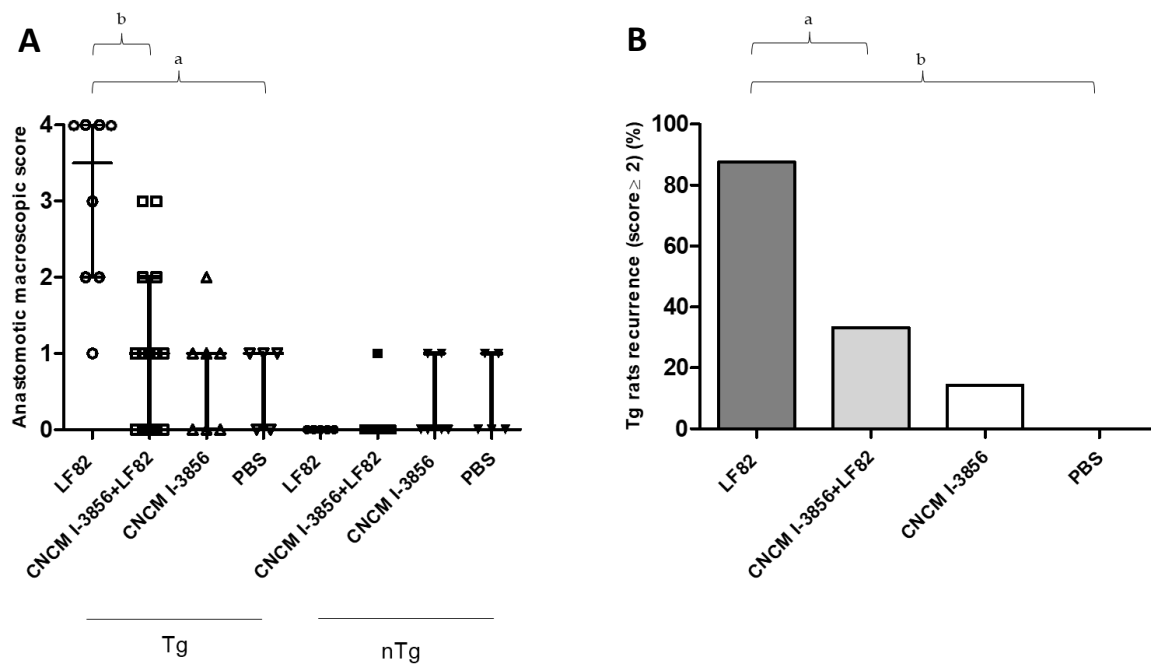
				
0	1	2	3	4
None	Congestive	Ulceration < 20% (without stenosis)	Ulceration > 20% (without stenosis)	Inflammatory stenosis

**Figure 2 Anastomotic macroscopic score (0-4)**



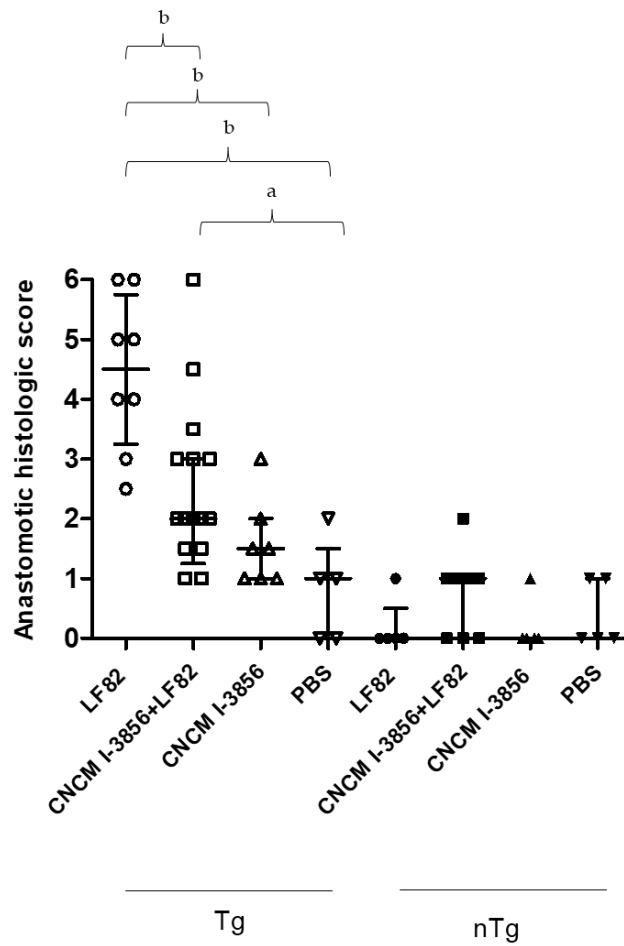
**Figure 3 Body weight evolution**

Evolution of the weight changes (median, IQR) compared to the body weight at W11 in nontransgenic (nTg) (A) and transgenic (Tg) (B) rats. <sup>b</sup> $P < 0.01$ .



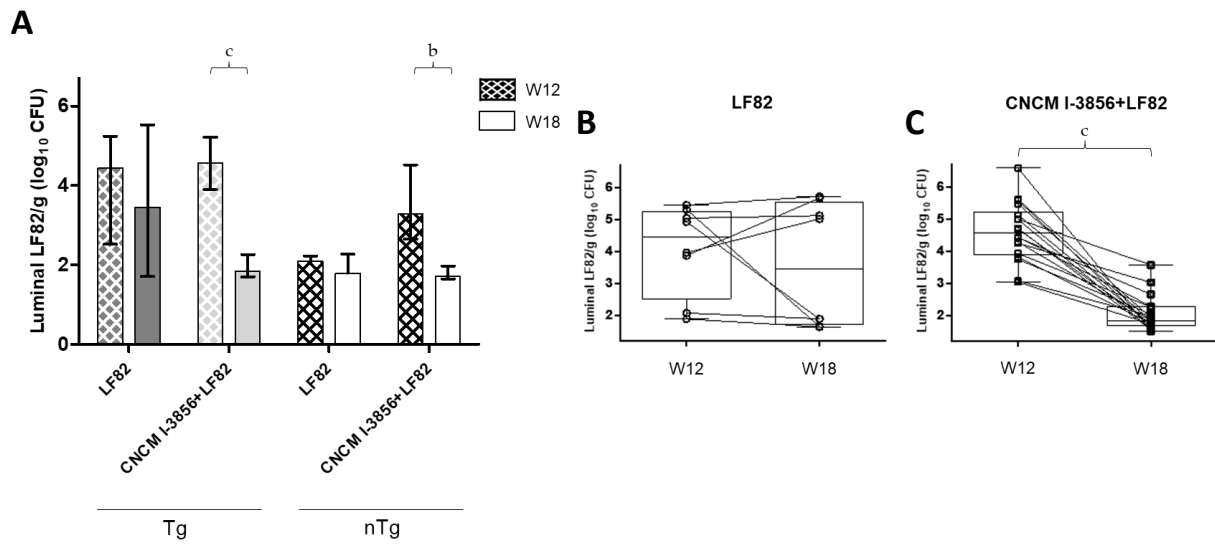
**Figure 4 Anastomotic macroscopic lesions (A) and postoperative recurrence (B) at sacrifice**

**A:** Anastomotic macroscopic scores in the different groups of HLA-B27 transgenic (Tg) rats and wild-type (nTg) rats at W18 (median, IQR); **B:** % of postsurgical recurrence (anastomotic macroscopic score  $\geq 2$ ) at W18 in HLA-B27 Tg rats. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .



**Figure 5 Anastomotic histologic lesions at sacrifice**

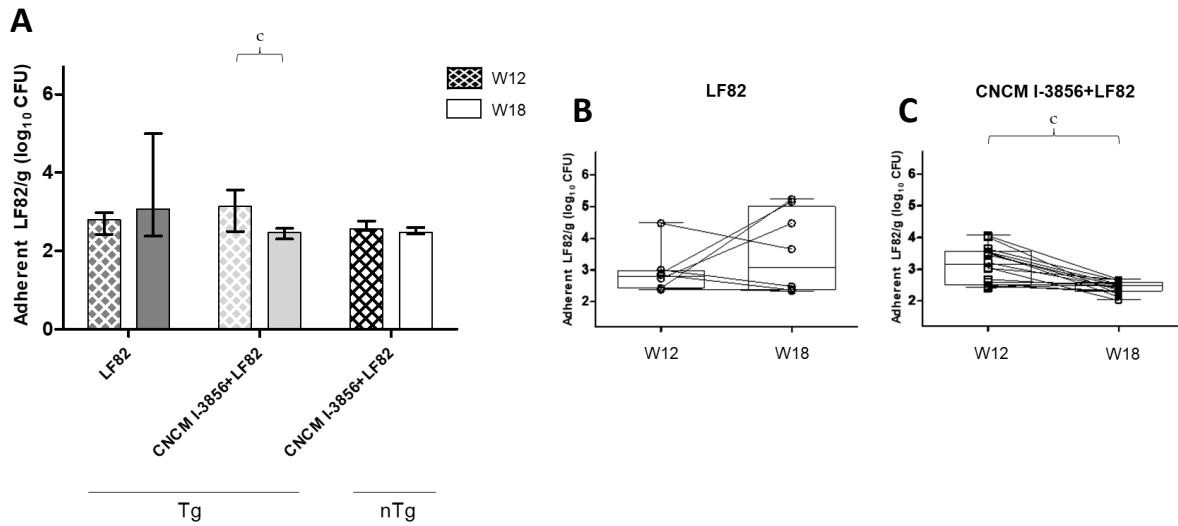
Anastomotic histologic scores in the different groups of HLA-B27 transgenic (Tg) rats and wild-type (nTg) rats at W18 (median, IQR). <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .



**Figure 6 Levels of luminal LF82 at week (W) 12 and W18**

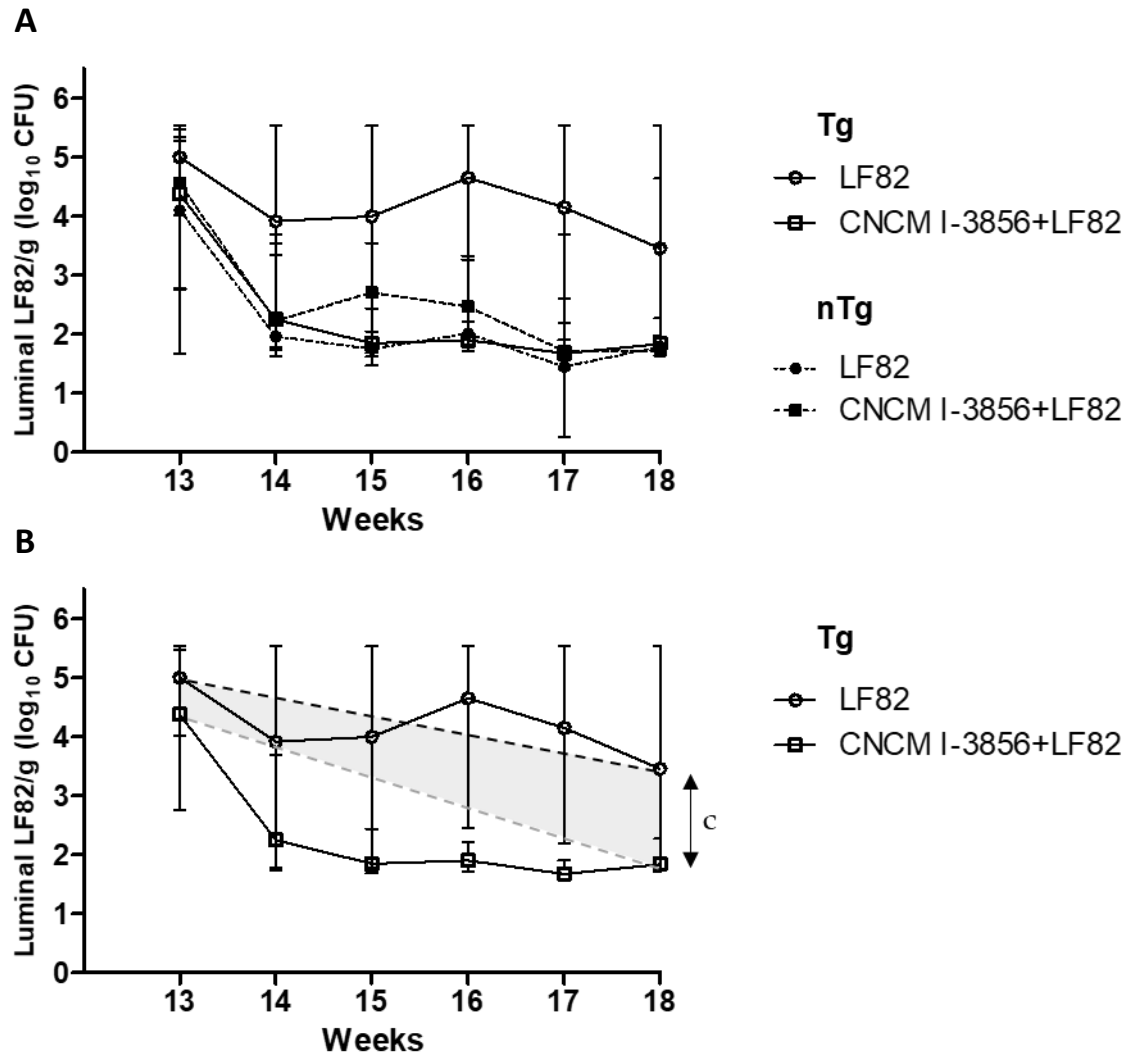
Luminal levels of LF82 at week (W) 12 and W18 (median, IQR). **A:** in the different groups of HLA-B27 transgenic (Tg) rats and wild-type (nTg) rats; **B:** in paired Tg rats receiving LF82 alone; **C:** in paired Tg rats receiving CNCM I-3856+LF82. <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.001$ .





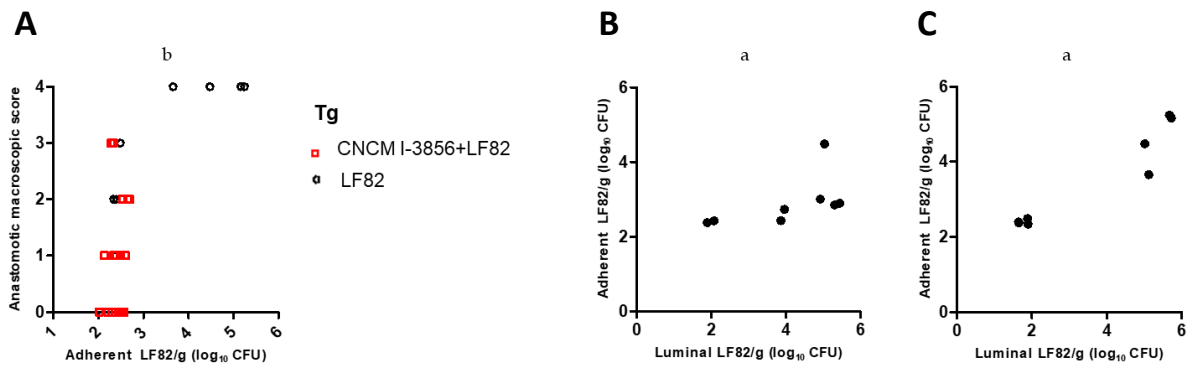
**Figure 7 Levels of anastomotic adherent LF82 at week 12 and week 18**

Adherent levels of LF82 at week (W) 12 and W18 (median, IQR). **A:** in the different groups of HLA-B27 transgenic (Tg) rats and wild-type (nTg) rats, **B:** in paired Tg rats receiving LF82 alone; **C:** in paired Tg rats receiving CNCM I-3856+LF82 alone. <sup>c</sup>*P* < 0.001.



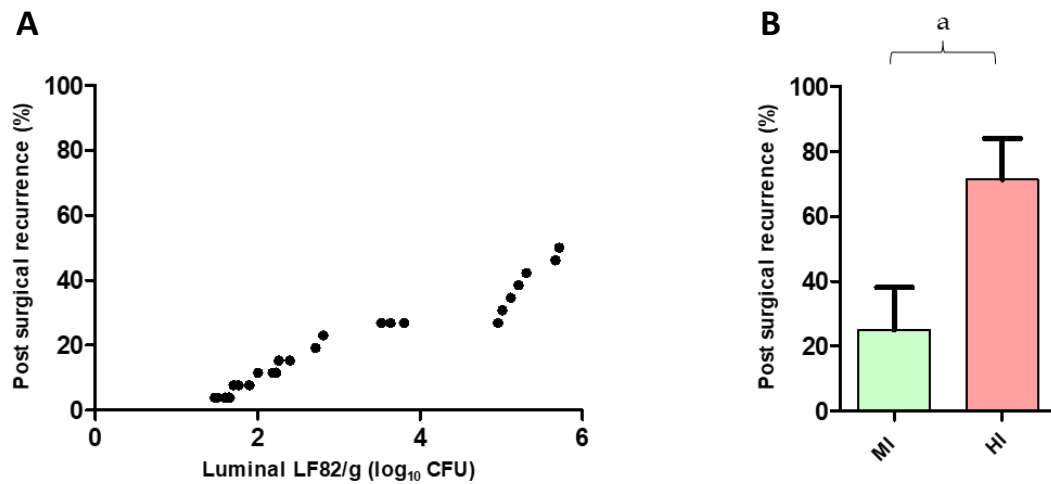
**Figure 8 Evolution of the levels of luminal LF82 after surgery**

Weekly evaluation of the luminal LF82 levels (median IQR) after surgery in HLA-B27 transgenic (Tg) (A and B) rats and wild-type (nTg) rats (A) receiving CNCM I-3856+ LF82 or LF82 alone. <sup>c</sup>*P* < 0.001.



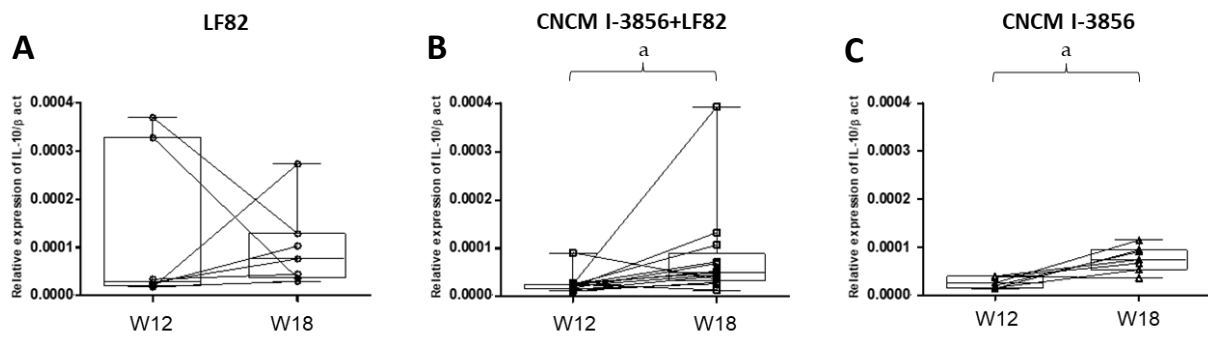
**Figure 9 Correlation between anastomotic macroscopic scores and adherent and luminal LF82 levels**

**A:** Levels of adherent LF82 at week (W) 18 were correlated with anastomotic macroscopic scores at sacrifice in paired transgenic (Tg) animals receiving LF82 alone or in combination with CNCM I-3856; **B:** at W12, levels of adherent LF82 were correlated with luminal LF82 levels in paired Tg animals receiving LF82 alone; **C:** at W18, levels of adherent LF82 were correlated with luminal LF82 levels in paired Tg animals receiving LF82 alone. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ .



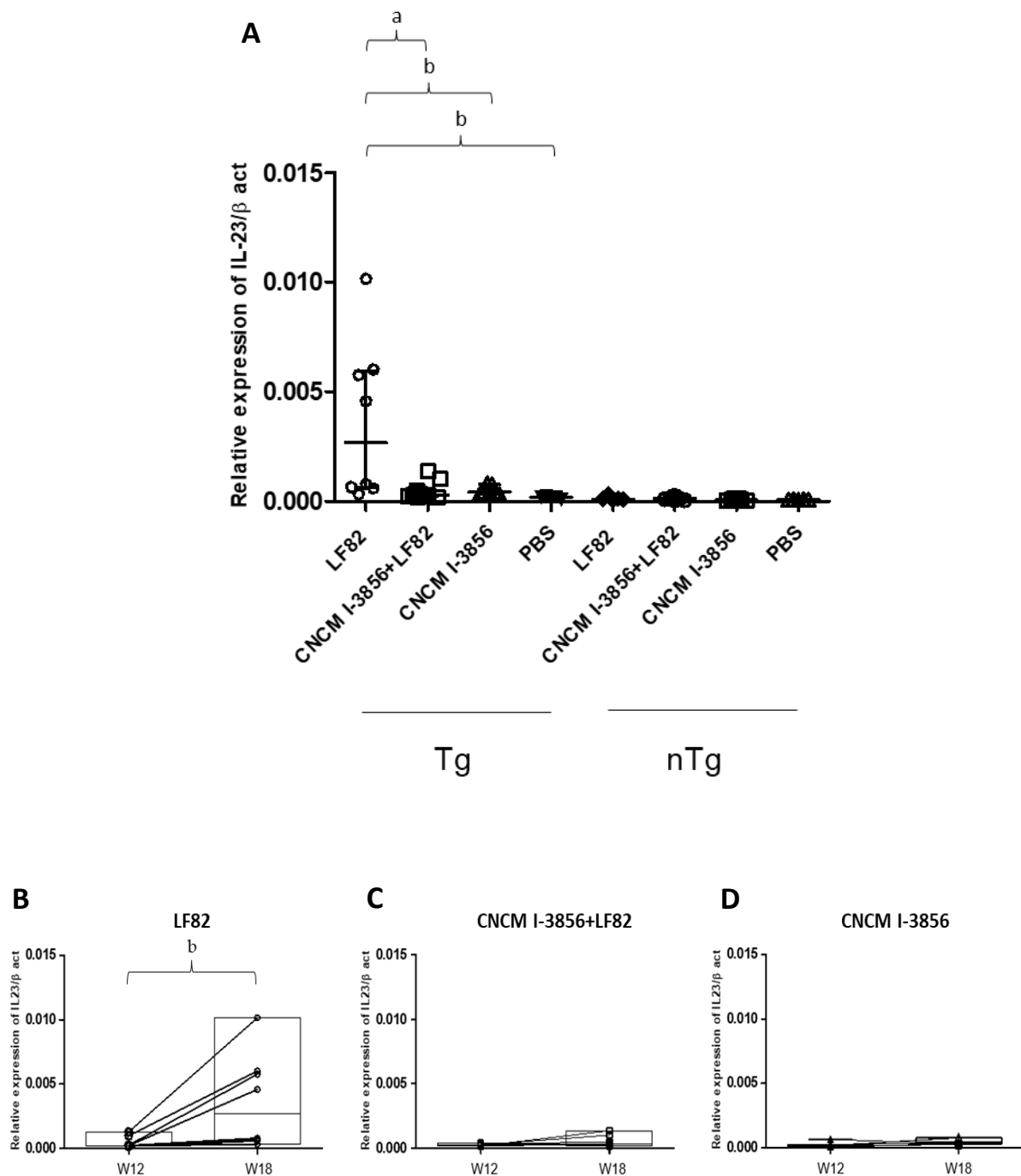
**Figure 10 Prognostic value of luminal LF82 levels in postsurgical recurrence**

**A:** Correlation between luminal LF82 levels at week (W) 14 and the risk of postsurgical recurrence at W18 in transgenic (Tg) animals receiving LF82 alone or LF82+CNCM I-3856; **B:** higher frequency of postsurgical recurrence in highly infected (HI) Tg animals receiving LF82 alone or LF82+CNCM I-3856 as defined by a cutoff value of 2.262 log<sub>10</sub> CFU of luminal LF82 per gram of stools at W14 in comparison with midly infected (MI) Tg rats (71.4% vs. 25%, p=0.02).  
<sup>a</sup>P < 0.05.



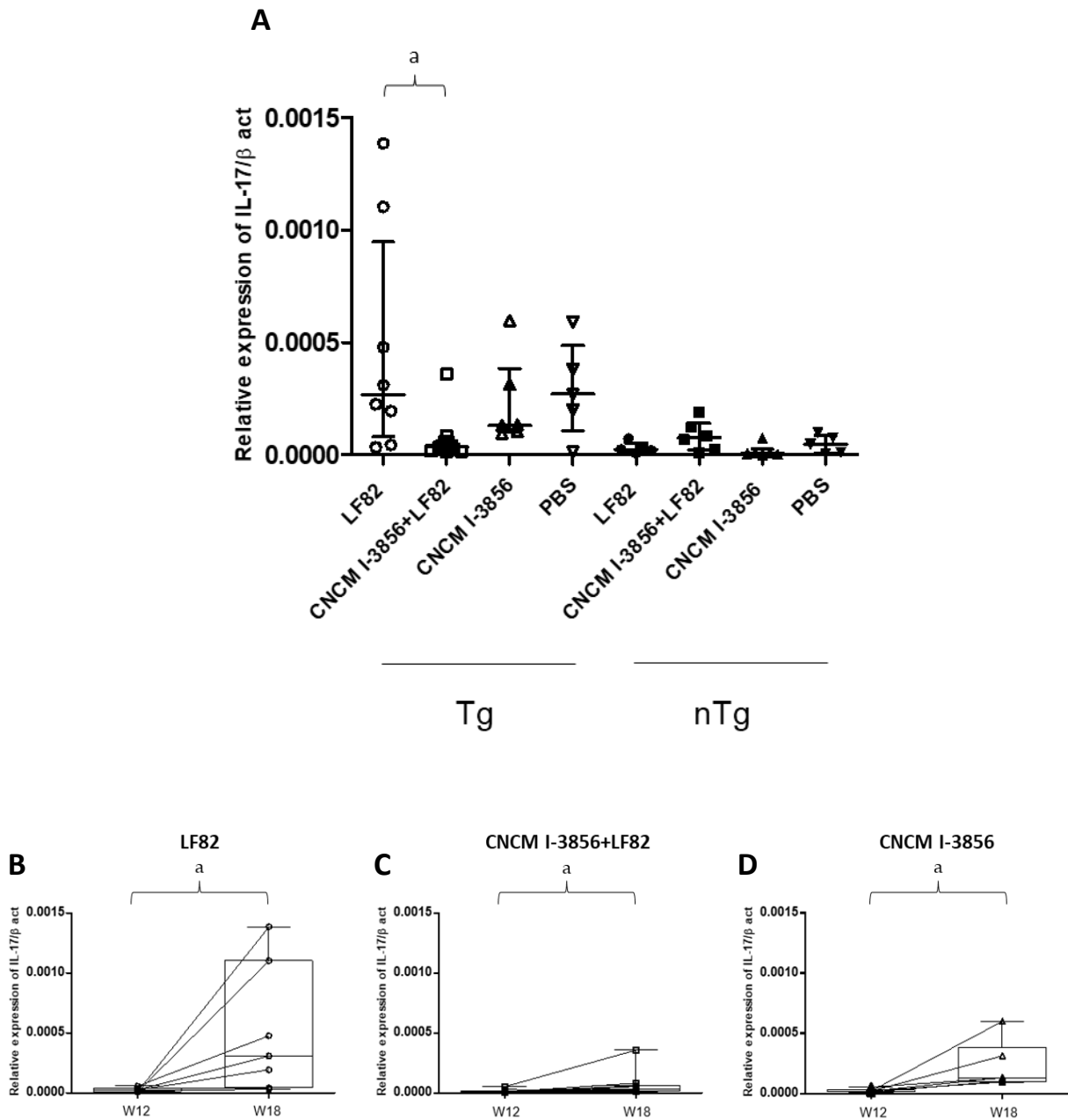
**Figure 11 IL-10 mRNA expression in the anastomotic mucosa**

IL-10 mRNA expression between surgery (week (W) 12, W12) and sacrifice (W18). **A:** In paired Tg rats receiving LF82 alone; **B:** in paired Tg rats receiving CNCM I-3856+LF82; **C:** In paired Tg rats receiving CNCM I-3856 alone. <sup>a</sup> $P < 0.05$ .



**Figure 12 IL-23 mRNA expression in the anastomotic mucosa**

**A:** Expression of IL-23 mRNA in the perianastomotic mucosa in all transgenic (Tg) and nontransgenic (nTg) groups at sacrifice. **B-C-D:** IL-23 mRNA expression between surgery (week (W) 12, W12) and sacrifice (W18) in paired Tg rats receiving LF82 alone (**B**), coadministration of CNCM I-3856 and LF82 (**C**) or CNCM I-3856 alone (**D**). <sup>a</sup>*P* < 0.05, <sup>b</sup>*P* < 0.01.



**Figure 13 IL-17 mRNA expression in the anastomotic mucosa**

**A:** Expression of IL-17 mRNA in the perianastomotic mucosa in all transgenic (Tg) and nontransgenic (nTg) groups at sacrifice. **B-C-D:** IL-17 mRNA expression between surgery (week (W) 12, W12) and sacrifice (W18) in paired Tg rats receiving LF82 alone (**B**), coadministration of CNCM I-3856 and LF82 (**C**) or CNCM I-3856 alone (**D**). <sup>a</sup> $P < 0.05$ .

**Table 1: Anastomotic histologic score (0-6)**

<b>Score</b>	<b>Histologic lesions</b>
0	None
1	Inflammatory infiltrate and mucosal erosions < 30% of the section
2	30% < inflammatory infiltrate and mucosal erosions < 70% of the section
3	Inflammatory infiltrate and mucosal erosions < 70% of the section
4	Mucosal ulceration < 30% of the section
5	30%< mucosal ulceration < 70% of the section
6	Mucosal ulceration > 70% of the section



# RÉSUMÉ

Malgré le développement constant de nouvelles thérapeutiques, la chirurgie garde un rôle majeur dans la maladie de Crohn (MC) et la survenue d'une récidive post-opératoire (RPO) peine à être freinée. La prévention de la RPO est donc un enjeu essentiel dans la prise en charge des patients atteints de MC. En effet, la quasi-totalité des patients opérés présentent une RPO endoscopique, puis clinique et on estime que jusqu'à 20% des patients seront opérés d'une seconde résection intestinale. La dysbiose joue un rôle majeur dans cette récidive, et, depuis une vingtaine d'années, nombre d'études ont mis en lumière le rôle des *Escherichia coli* adhérents et invasifs (AIEC) dans la survenue de la RPO et la sévérité des lésions. Le traitement des patients par une antibiothérapie prolongée ne peut être envisagé en raison d'effets secondaires notables ; dans ce contexte les stratégies de thérapies ciblées anti-bactériennes représentent une nouvelle piste thérapeutique. *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) CNCM I-3856 est une levure probiotique dont l'innocuité, et l'efficacité dans les symptômes des troubles fonctionnels intestinaux, ont déjà été démontrées chez l'homme. La première partie de notre étude visait à étudier le rôle préventif de *S. cerevisiae* sur la RPO AIEC-induite après résection iléo-caecale (RIC) dans un modèle murin transgénique (Tg) HLA-B27 mimant la MC. Nous avons mis en évidence une prévention significative de la RPO AIEC-induite lors du traitement oral des rats Tg par *S. cerevisiae* CNCM I-3856, en association avec une diminution significative de la sévérité des lésions macroscopiques et histologiques. Nous avons constaté que le niveau de colonisation de la flore adhérente et luminale par les AIEC était corrélé à la RPO, et que l'administration de *S. cerevisiae* CNCM I-3856 était associée à une diminution de la persistance des AIEC luminaux et adhérents, grâce à un mécanisme compétitif anti-adhésif. Par ailleurs, on observait également une stimulation de la production

de la cytokine anti-inflammatoire IL-10 chez les rats Tg recevant le traitement par *S. cerevisiae* CNCM I-3856, ainsi qu'une inhibition de la production locale d'IL-17 et d'IL-23 induite par les AIEC.

La seconde partie du travail a consisté à étudier l'impact de l'administration orale de Tofacitinib, une molécule inhibitrice de Janus kinase, dans la prévention de la RPO après RIC dans le modèle du rat Tg HLA-B27. Il a été mis en évidence une diminution des lésions macroscopiques, histologiques et endoscopiques lors du traitement par Tofacitinib en comparaison avec les rats Tg contrôles recevant du PBS.

*S. cerevisiae* CNCM I-3856 et le Tofacitinib semblent pouvoir représenter de nouvelles perspectives de prise en charge de la RPO chez les patients atteints de MC.

## **MOTS CLÉS**

Maladie de Crohn ; Récidive ; *Escherichia coli* ; Probiotique ; *Saccharomyces cerevisiae* ; Chirurgie Colo-rectale

## ABSTRACT

Despite the constant development of new therapies, surgery retains a major role in Crohn's disease (CD) and the occurrence of postoperative recurrence (POR) is struggling to be slowed down. Prevention of POR is therefore an essential issue in the management of CD patients. Indeed, almost all of the operated patients present with an endoscopic, then clinical POR and up to 20% of the patients will be operated on for a second intestinal resection. Dysbiosis plays a major role in CD recurrence, and over the past twenty years, many studies have highlighted the role of adherent and invasive *Escherichia coli* (AIEC) in the occurrence of POR and the severity of the lesions. The treatment of patients with prolonged antibiotic therapy cannot be considered due to significant side effects, this is why anti-bacterial targeted therapy strategies represent a new area of research. *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) CNCM I-3856 is a probiotic yeast whose safety and efficacy in the symptoms of irritable bowel disease has already been demonstrated in clinical studies. The first part of our study aimed to investigate the preventive role of *S. cerevisiae* on AIEC-induced POR after ileocecal resection (ICR) in HLA-B27 transgenic (Tg) mouse model mimicking CD. We have demonstrated a significant prevention of AIEC-induced POR in Tg rats orally challenged with *S. cerevisiae* CNCM I-3856, in association with a significant decrease in the severity of macroscopic and histological lesions. We found that the level of adherent and luminal flora colonization by AIECs was correlated with the POR and that the administration of *S. cerevisiae* CNCM I-3856 was associated with a decrease in the persistence of luminal and adherent AIECs, due to a competitive anti-adhesion mechanism. In addition, stimulation of the production of anti-inflammatory cytokine IL-10 was also observed in the Tg rats receiving the treatment with *S.*

*cerevisiae* CNCM I-3856, as well as an inhibition of the local AIEC-induced production of IL-17 and IL-23.

The second part of this work consisted in studying the impact of oral administration of Tofacitinib, a Janus Kinase inhibitor, in the prevention of POR after ICR in the Tg HLA-B27 rat model. A decrease in macroscopic, histological and endoscopic lesions was demonstrated during treatment with Tofacitinib in comparison with control Tg rats receiving PBS.

*S. cerevisiae* CNCM I-3856 and Tofacitinib seem to represent new perspectives for the management of POR in CD patients.

## **Key words**

Crohn's disease; Recurrence; *Escherichia coli*; Probiotic; *Saccharomyces cerevisiae*; Colorectal surgery