

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE
DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 07/09/2018,
Par M. KAZE Edmond**

**LE LIEN ENTRE LE MICROBIOTE INTESTINAL
ET
LE CANCER COLORECTAL**

Membres du jury :

Président (Directeur de thèse) : Dr Christel NEUT
Maitre de conférences, Laboratoire de
bactériologie, Faculté de Pharmacie Lille

Assesseur : Dr Nicolas KAMBIA
Maitre de conférences, Laboratoire de
Pharmacologie, Faculté de Pharmacie Lille

Membre extérieur : Dr Ibrahim AIDARA Pharmacien titulaire,
Pharmacie du Parvis Saint Michel

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Damien CUNY
Vice-présidente Formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président Recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président Relations Internationales :	François-Olivier SEYS
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-Doyen et Assesseur à la Recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux Relations Internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur à la Vie de la Faculté et aux Relations avec le Monde Professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la Pédagogie :	Benjamin BERTIN
Assesseur à la Scolarité :	Christophe BOCHU
Responsable des Services :	Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	ICPAL
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	EI Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Onco et Neurochimie
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	ICPAL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	DEPREZ	Rebecca	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNE	Benoît	Bactériologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Onco et Neurochimie
M.	MILLET	Régis	ICPAL
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY	Anne Catherine	Législation
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Législation
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Lab. de Médicaments et Molécules

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mme	CHARTON	Julie	Lab. de Médicaments et Molécules
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
Mme	DUTOUT-AGOURIDAS	Laurence	Onco et Neurochimie
M.	EL BAKALI	Jamal	Onco et Neurochimie
M.	FARCE	Amaury	ICPAL
Mme	FLIPO	Marion	Lab. de Médicaments et Molécules
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	FURMAN	Christophe	ICPAL
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	ICPAL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Onco et Neurochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation

Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RAVEZ	Séverine	Onco et Neurochimie
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Lab. de Médicaments et Molécules
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Onco et Neurochimie
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Lab. Médicaments et Molécules
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie Pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

DEDICACES

Je dédie cet évènement marquant de ma vie à papa **Sonkwa Paul** et à Mlle **Tchoupou Sonkwa solange** disparus trop tôt. J'espère que de la haut vous êtes fier de moi je pense à vous tous les jours.

Maman **Jou christine** je te dédie cette thèse qui est le fruit de ton travail de toujours, longue vie à toi.

Cette thèse est l'aboutissement du soutien et des encouragements prodigués tout au long de mes études par la famille de Lille **Serge Takenne, Guillaume Saha, Blaise Moafo, Nouara Saha, Marlyse Moafo, Michelle ange**, par la famille **Sonkwa** au Cameroun **Marius, Simplicie, Alliance, Valery, Narcisse, Charlène, Saurelle** sans oublier la très grande famille **Saha** au Cameroun.

REMERCIEMENTS

AUX MEMBRES DU JURY

Dr Christel NEUT (Président du jury et conseiller de thèse)

Merci d'avoir été présente à chaque sollicitation durant la longue période de conception de cette thèse, ce malgré votre emploi du temps chargé.

Dr Nicolas KAMBIA

Merci d'avoir répondu favorablement à notre demande et pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Dr Ibrahim AIDARA

Merci d'avoir accepté de siéger au sein du jury, et aussi pour m'avoir appris le métier durant ma formation.

A MA FAMILLE de FRANCE

Je remercie particulièrement **Christian Moafo** et **Thierry Lontouo** pour leurs soutiens et pour les moments inoubliables passer ensemble durant toutes ces années.

Sans oublier **Prince, Olivier, Cédric, Clarisse, Christelle, Stéphanie, Monique, Honoré, Marco, Loïc** et tous mes neveux, pour leurs amours et tous les merveilleux moments passer ensemble.

PHARMACIE TAKENNE

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à l'équipe de la pharmacie Roubaix Est, qui ont été à mes côtés durant mes études. Je remercie particulièrement **Mr Serge Takenne**, qui a su me donner une dernière chance dans la vie et cela m'a permis d'être l'homme que je suis aujourd'hui.

A MES AMIS

TEAM DERANGEURS

Bienvenu, Irich, Claude, Ivan, Falama, Steve, Lamy, Elisabeth, Larissa, Bijoux

Merci pour tous ces moments de bonheur et de fous rires. Allez l'équipe pour cette thèse laisser moi gagner au prochain karting. Ne changer surtout pas, on a le titre de champion du monde de pakgne à remporter.

TEAM FACULTE

Eric Gnahoré (mon binôme à vie depuis le lycée et à la faculté), **Chiekh Salime momo** les gars qui aurait cru tous ces nuits blanches durant toutes ces années d'études, des moments que je n'oublierai jamais merci à vous les gars.

Tagne Romuald et **Laure** merci pour ces moments passer ensemble a la résidence châtelet.

TEAM FC 2 ZERO PARISIEN

Moi BTOS alias Mr Quaresma je vous dis merci de me permettre de taper sur un ballon lors des différentes rencontres de football tous les dimanches et merci pour les troisièmes mi-temps.

LE MEILLEUR POUR LA FIN TEAM AMOUR

A toi l'amour de ma vie **Bodie Godis**, je remercie Dieu tous les jours de t'avoir mis sur mon chemin le 12 janvier 2012 à Mbouda terre de mes ancêtres. On est une équipe gagnante et les temps à venir seront plus heureux et divertissants dans notre nouvelle vie car la distance qui nous séparait est terminée, place au pur bonheur. Merci pour l'amour que tu me témoignes, pour tes conseils et ton aide précieuse pour la mise en forme de ma thèse.

Je suis un homme heureux, je t'aime pour la vie.

LISTE ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique
AGCC=SCFAs : Acide Gras Chaîne Courte
APC : Adenomatous Polyposis Coli
ARN : Acide Ribonucléique
B.fragilis : Bacteroides fragilis
Bft : Bacteroides fragilis toxin
BLI : Bioluminescente
BRAF : v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
BAT-26 : marqueur microsatellite instable mononucéotide BAT-26
CCR : Cancer colorectal = Cancers Colorectaux
CDT : Cytolethal Distending Toxin
CFU : Colony Forming Unit
CIF : Cycle Inhibiting Factor
CIMP : CpG Island Methylator Phenotype
CIP/CHIP : Chimiothérapie Intrapéritonéale +/- Hyperthermie
C-MYC : oncogène C Myelocytose
CNF: Cytotoxic Necrotizing Factor
CT: Chimiothérapie
CXCL9 : Chimiokine ligand (motif CXC 9)
E.Coli : Escherichia Coli
ETBF : Bacteroides fragilis Entérotoxigène
EspF : E.coli secreted protein F
FIP ou FIPA : Fusobacterial Immunosuppressive Protein A
F.Nucleatum : Fusobacterium Nucleatum
FOXP3 : Forkhead box P3
HAS : Haute Autorité de Santé
HNPPC : Cancer Hériditaire du côlon Non Polypose
HP : Polype Hyperplasique
HB : Hémoglobine
IGA : Immunoglobuline A
IL : Interleukine
INCA : Institut National du cancer
INVS : Institut National de Veille Sanitaire
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
IV : Intraveineuse
KRAS : V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LEE : Lieu Effacement des Enterocytes
LDH : Lactate Deshydrogénase
MAMP : Microbe-Associated Molecular Patterns
MII : Maladies Intestin Irritables
MiR-31 : MicroRNA-31
MLH1 : MutL Homolog1
MMPs : Métalloprotéinase Matricielle
MSI : Microsatellites Instables
MSS : Séquences Microsatellites Stables
MPO : Myeloperoxydase
MYH : MutY Homolog
NFS : Numeration Formule Sanguine
NTBF : Bacteroides fragilis Non Toxicogènes
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PB : Paire de Bases
PAF : Polyposis Adénomateuse Familiale
PAL : Phosphatases Alcalines
PIK3A : Phosphatidyl Inositol-3-Kinase A
RCH : Recto Colites Hémorragiques
RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire
RCT : Chimio-Radiothérapie
RT : Radiothérapie
SSA : Sessile Serrated Adenoma
TEP-scan ou TEP : Tomographie par Emission de Protons scanne
TP53: Protéine Tumorale 53
TSA : Traditional Serrated Adenoma

SOMMAIRE

INTRODUCTION	12
I. LA FLORE INTESTINALE.....	13
I.1. Définition et généralité	13
I.1.1. Définition	13
I.1.2. Généralités	13
I.2. Composition et fonctions.....	14
I.2.1. Composition.....	14
I.2.2. Fonctions	16
I.2.2.1. Fonction de défense « barrière »	17
I.2.2.2. Fonctions métaboliques.....	17
I.2.2.2.i Métabolisme des glucides.....	17
I.2.2.2.ii Formation de gaz	18
I.2.2.3. Métabolisme des lipides.....	18
I.2.2.4. Fonction immunitaire	19
I.2.2.5. Synthèse de facteurs vitaminiques	19
I.3. Le Microbiote intestinal au cours de la vie.....	20
I.4. Exploration du microbiote	21
II. LE CANCER COLORECTAL	22
II.1. Définition et généralités	22
II.1.1. Définition	22
II.1.2. Généralités	22
II.2. Epidémiologie	24
II.3. Etiologie.....	24
II.4. Facteurs de risques et facteurs protecteurs	26
II.4.1. Facteurs de risques.....	26
II.4.2. Facteurs protecteurs	26
II.5. Population a risque	27
II.5.1. Population à risque moyen	27
II.5.2. Population à risque élevé.....	27
II.5.3. Population à risque très élevé	28
II.6. Les différents stades du CCR.....	28
II.7. Du dépistage au diagnostic	30
II.7.1. Tests non invasifs de dépistage.....	31
II.7.1.1. Test au guaiac (Hemoccult)	31
II.7.1.2. Test immunologique.....	32

II.7.1.3.	Autres tests fécaux.....	33
II.7.1.4.	Tests sanguins	33
II.7.2.	Examens invasifs de dépistage	34
II.7.2.1.	La rectosigmoïdoscopie.....	34
II.7.2.2.	La coloscopie.....	34
II.7.2.3.	Le colo-CT	34
II.7.2.4.	Examen par vidéo-capsule du côlon	34
II.7.3.	Diagnostic	35
II.7.3.1.	Le bilan initial.....	35
II.7.3.2.	Le bilan d'extension	35
II.8.	Traitements	36
II.8.1.	Prise en charge du cancer du côlon.....	36
II.8.1.1.	Cancer colique non métastatique.....	37
II.8.1.1.i	Chirurgie	37
II.8.1.1.ii	Chimiothérapie ou traitement adjuvant.....	37
II.8.2.	Prise en charge du cancer du rectum	38
II.8.2.1.	Cancer du rectum non métastatique	38
II.8.2.1.i	Chirurgie	38
II.8.2.1.ii	Traitements adjuvants ou néo-adjuvants.....	39
III.	LE LIEN ENTRE LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LE CANCER COLORECTAL	41
III.1.	Microbiote intestinal cancérigène	41
III.1.1.	<i>Bacteroides fragilis (B. fragilis)</i>	41
III.1.1.1.	Description	41
III.1.1.2.	Fréquence d'isolement de <i>B. fragilis</i> dans le CCR	42
III.1.1.2.i	Association de l'ETBF avec MII et le CCR	42
III.1.1.2.ii	Rôle possible de l'ETBF dans l'étiologie du CCR	43
III.1.1.3.	Caractère de pathogénicité cancérogène	45
III.1.2.	<i>Escherichia coli (E coli)</i>	47
III.1.2.1.	Description	47
III.1.2.2.	Fréquence d'isolement d' <i>E. coli</i> dans le CCR.....	49
III.1.2.2.i	Rôle possible d' <i>E. coli</i> dans l'étiologie du CCR	49
III.1.2.2.ii	Développement du CCR induit par <i>E. coli</i>	55
III.1.2.3.	Caractère de pathogénicité cancérogène	58
III.1.3.	<i>Fusobacterium</i>	59
III.1.3.1.	Description	59
III.1.3.2.	Fréquence d'isolement <i>F.nucleatum</i> dans le CCR	61
III.1.3.2.i	Rôle possible de <i>F. nucleatum</i> dans l'étiologie du CCR	61
III.1.3.2.ii	Etudes métagénomique de <i>F. nucleatum</i> dans le CCR.....	67
III.1.3.3.	Caractère de pathogénicité cancérogène	70

IV. METABOLITES BACTÉRIENS ET PROCÈDES CANCÉRIGÈNES	71
IV.1. Voies de putréfaction induite par les bactéries et son implication dans le CCR	72
IV.1.1. Identification des voies de putréfaction bactériennes associées à la libération de composés nocifs.....	73
IV.2. Réactions inflammatoires	78
IV.2.1. Effets anti-inflammatoires induit par les métabolites	78
IV.2.2. Effets pro-inflammatoires induit par les métabolites	79
IV.3. Lésion de l'ADN inductibles par des métabolites bactériens	80
IV.4. Senescence cellulaire et la sénescence associée au phénotype sécrétoire	81
CONCLUSION.....	83
BIBLIOGRAPHIE.....	84

INTRODUCTION

Le cancer colorectal (CCR) représente depuis plusieurs décennies un important problème de santé publique. Il s'agit d'un des cancers les plus fréquents dans le monde, se classe au 3^{ème} rang des cancers avec 1,4 million de nouveaux cas diagnostiqués chaque année et une mortalité avoisinant les 50% chaque année. En France selon les différents organismes (HAS, InCA, et l'InVS), l'incidence du CCR est estimée à plus de 40 000 nouveaux cas chaque année. Occupant le 3^{ème} rang des tumeurs les plus fréquentes chez l'homme derrière celui de la prostate, et le 2^{ème} rang chez la femme derrière celui du sein, c'est la 2^{ème} cause de mortalité par cancer.

Le CCR se développe à partir des cellules (muqueuses saines) qui tapissent la paroi interne du côlon et du rectum, par accumulation de mutations et modifications épigénétiques. Dans plus de 80 % des cas, il provient d'une tumeur bénigne, appelée polype adénomateux, qui évolue lentement et finit par devenir cancéreuse. Ce processus nommée séquence adénome-cancer est assez long et peut s'étendre sur plus de 10 ans. Généralement 10 % des cas de CCR sont héréditaires, 90 % sont sporadiques (c'est-à-dire sans antécédents familiaux). Les facteurs environnementaux ainsi que les facteurs de risque tels que le tabagisme, l'alcoolisme, la sédentarité, l'inactivité physique, le surpoids, l'obésité, l'alimentation avec une consommation faible en fibres, excessive de viande rouge ou de viandes transformées joueraient un rôle important dans le développement du CCR. Il existe un lien bien établi entre l'inflammation et le développement du CCR.

Les bactéries sont généralement perçues comme néfastes pour la santé, car on les assimile toutes, à tort, à des pathogènes. Le microbiote intestinal entretient une relation mutualiste forte avec l'hôte, qui selon la situation sera qualifié d'«eubiose» ou de «dysbiose». Il semblerait que le microbiote intestinal soit un des acteurs majeurs impliqués dans la carcinogenèse. Cette hypothèse semble se confirmer au fil des différentes études. Il en ressort une dysbiose du microbiote intestinal, avec une surreprésentation anormale des espèces bactériennes commensales. Les recherches les plus pertinentes concernent *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum* et *Escherichia coli*.

Le CCR étant une maladie multifactorielle sous la dépendance de facteurs environnementaux et génétiques, le but de ce travail est d'établir le lien entre le CCR et le microbiote intestinal, pour cela dans la première partie nous allons définir le microbiote intestinal. Nous parlerons de sa composition, ainsi que les différentes fonctions qu'il exerce au sein de notre organisme, de sa mise en place au cours de notre vie et des différentes techniques d'exploration du microbiote.

Dans la deuxième partie, nous décrivons les différentes caractéristiques du CCR, la prévention et le dépistage, les différents traitements. Une troisième partie qui permettra d'établir le lien entre les trois espèces bactériennes *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum* et le CCR. Enfin dans la quatrième partie, on parlera des métabolites bactériens et des procédés cancérigènes.

I. LA FLORE INTESTINALE

I.1. Définition et généralité

I.1.1. Définition

Autrefois on parlait de flore intestinale, il convient aujourd'hui de parler de microbiote intestinal, concept correspondant plus généralement à l'ensemble des micro-organismes existant dans un environnement donné « le microbiome ». Le microbiote intestinal humain se définit par l'ensemble de micro-organismes « archées, bactéries, protistes » contenus dans l'intestin. Ils vivent au contact du revêtement cutanéomuqueux d'un hôte sans entraîner de désordre. Les bactéries ne pourront se développer qu'en présence de cellules humaines ou animales, étant donné qu'elles utilisent les produits du métabolisme de l'hôte pour se développer : on parle d'association mutualiste.

I.1.2. Généralités

Le tractus gastro-intestinal humain héberge plus de 100 000 milliards de micro-organismes, le microbiote intestinal est constitué principalement des « bactéries et archées ». Cette population regroupe 400 à 1000 espèces bactériennes différentes. Les bactéries composant le microbiote sont regroupées selon six grandes familles ou phyla du domaine Bacteria : Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria, Verrucomicrobia et Actinobacteria (Figure 1). Bien que la quantité de bactéries dans l'intestin humain soit dix fois supérieure au nombre de cellules eucaryotes, les micro-organismes sont particulièrement abondants dans le côlon. C'est à ce niveau que leurs concentrations est maximales (1,2).

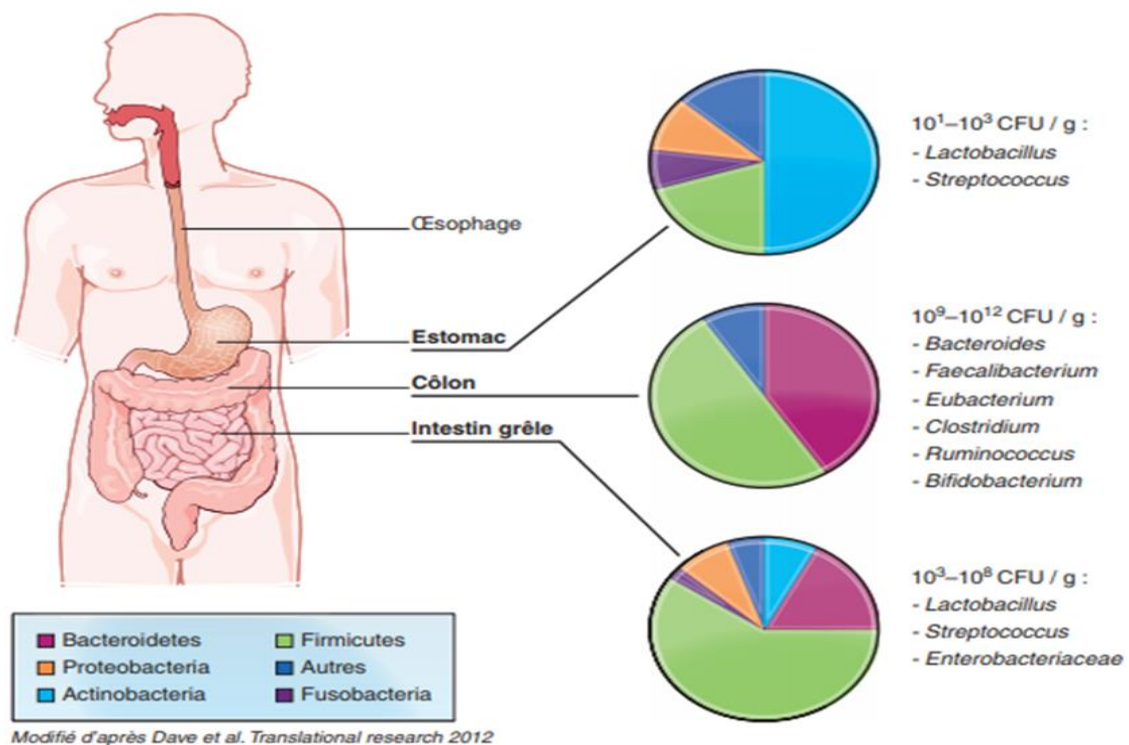


Figure 1 : Composition et densité du microbiote intestinal (3).

Chaque microbiote intestinal humain dominant est composé de quelques centaines d'espèces. Une fraction est spécifique de son hôte tandis qu'une autre fraction est commune, constituant une sorte de noyau métagénomique constitué d'espèces plus prévalentes (4). Des mécanismes finement régulés permettent à ces micro-organismes de coloniser les surfaces et de survivre en symbiose avec leur hôte (5). Le microbiote intestinal humain peut être considéré comme un organe à part entière ayant co-évolué avec son hôte pour parvenir à une relation symbiotique menant à l'homéostasie physiologique (6).

Ainsi l'«eubiose» contexte homéostatique normal du microbiote du sujet sain, ouvre la perspective de définir la «dysbiose» déséquilibre du microbiote associé à des conséquences néfastes pour l'hôte. Une dysbiose peut résulter d'un excès de micro-organismes délétères ou d'une insuffisance relative de micro-organismes bénéfiques pour l'hôte. Cette situation nouvelle ouvre aussi la perspective d'étudier le mécanisme reliant la «dysbiose» aux différentes pathologies, mais aussi et surtout de développer des stratégies visant à restaurer l'homéostasie de l'«eubiose» (4).

L'hôte fournit un environnement riche en nutriments tandis que les bactéries commensales occupent des fonctions indispensables que les humains ne peuvent exercer eux-mêmes, telles que la production de certaines vitamines, la digestion de polysaccharides complexes et la mise en place d'un système immunitaire efficace (7).

I.2. Composition et fonctions

I.2.1. Composition

Les bactéries sont considérées comme des êtres vivants appartenant à des groupes différents. Ce sont des micro-organismes cellulaires simples qu'on appelle « Procaryotes », ils ne contiennent pas de noyaux, on les trouve en grande quantité car ils ont la capacité de proliférer assez rapidement.

Le côlon qui est le dernier compartiment du tractus digestif contient 10^{10} à 10^{11} CFU/ml bactéries, on compte 400 à 500 espèces bactériennes au niveau du côlon, la composition fécale est identique à celle du côlon terminal. Parmi les espèces bactériennes qui constituent le microbiote, les anaérobies stricts sont présents en plus grande quantité que les autres. Elles représentent plus de 99% des bactéries présentes, constituant ainsi le microbiote dominant.

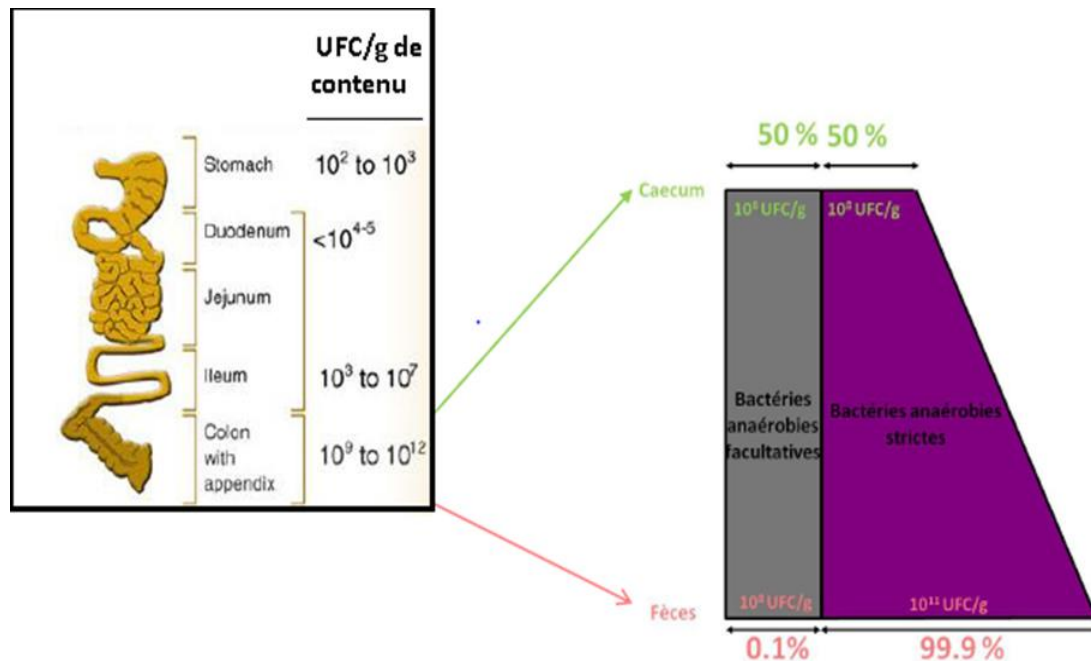


Figure 2 : Composition du microbiote intestinal, la concentration en micro-organismes augmente entre la bouche et le côlon (8).

On estime aujourd'hui que chaque individu adulte héberge en dominance dans ses selles un millier d'espèces bactériennes différentes. La densité bactérienne atteint son maximum dans le côlon distal avec 10^{11} bactéries par gramme de contenu (côlon ++). L'utilisation d'outils moléculaires a permis de démontrer que la plus grande partie (deux tiers environ) des espèces dominantes observées dans le microbiote fécal d'un individu lui étaient propre (9,10).

Ce microbiote dominant a été mis en évidence par analyse du microbiote via l'outil moléculaire, cela a permis d'obtenir des genres bactériens ou grands groupes phylogénétiques et par ce procédé on a pu mettre en évidence l'existence de composantes récurrentes, retrouvées chez tous les individus. Parmi les phyla obtenu il y'a trois grandes familles ou groupes « phylogénétiques » majoritaires : les Firmicutes, les Bacteroidetes et les Actinobacteria. Il existe également un microbiote sous-dominant, moins répandu, constitué de bactéries anaérobies facultatives. En complément des microbiotes dominant et sous-dominant, transite un microbiote de passage très polymorphe, composé entre autres de bactéries lactiques et de levures (11). Les trois phyla bactériens majoritaires, rassemblent la plus grande partie des bactéries fécales dominante (Figure 3).

Le phylum Firmicutes « bactéries à Gram positif » est toujours fortement représenté. Il comprend tout d'abord le groupe dit « *Eubacterium rectale Clostridium coccoides* » qui est souvent le plus important (14 à 31 % des bactéries totales en moyenne suivant les études). Ce groupe est composé d'espèces bactériennes appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*. Le phylum des Firmicutes comprend également le groupe « *Clostridium leptum* », avec notamment les espèces *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*, groupe qui est aussi très souvent dans la dominance (16 à 22 % en moyenne) (12,13). Le phylum Bacteroidetes est représenté par les genres apparentés à *Bacteroides* « *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas* ». Ils sont toujours présents et partagent la dominance avec les groupes précédents (9 à 42 % des bactéries totales suivant les études).

Le phylum Actinobacteria est moins systématiquement détecté en dominance, mais il représente en moyenne quelques pour cent des bactéries totales. On y trouve les bifidobactéries (0,7 à 10 %) et les bactéries du groupe *Collinsella-Atopobium* (0,3 à 3,7 % en moyenne) (14). Les entérobactéries sont plus rarement observées dans le microbiote fécal dominant (en moyenne 0,4 à 1%), de même que les lactobacilles et streptocoques (2 %) (13).

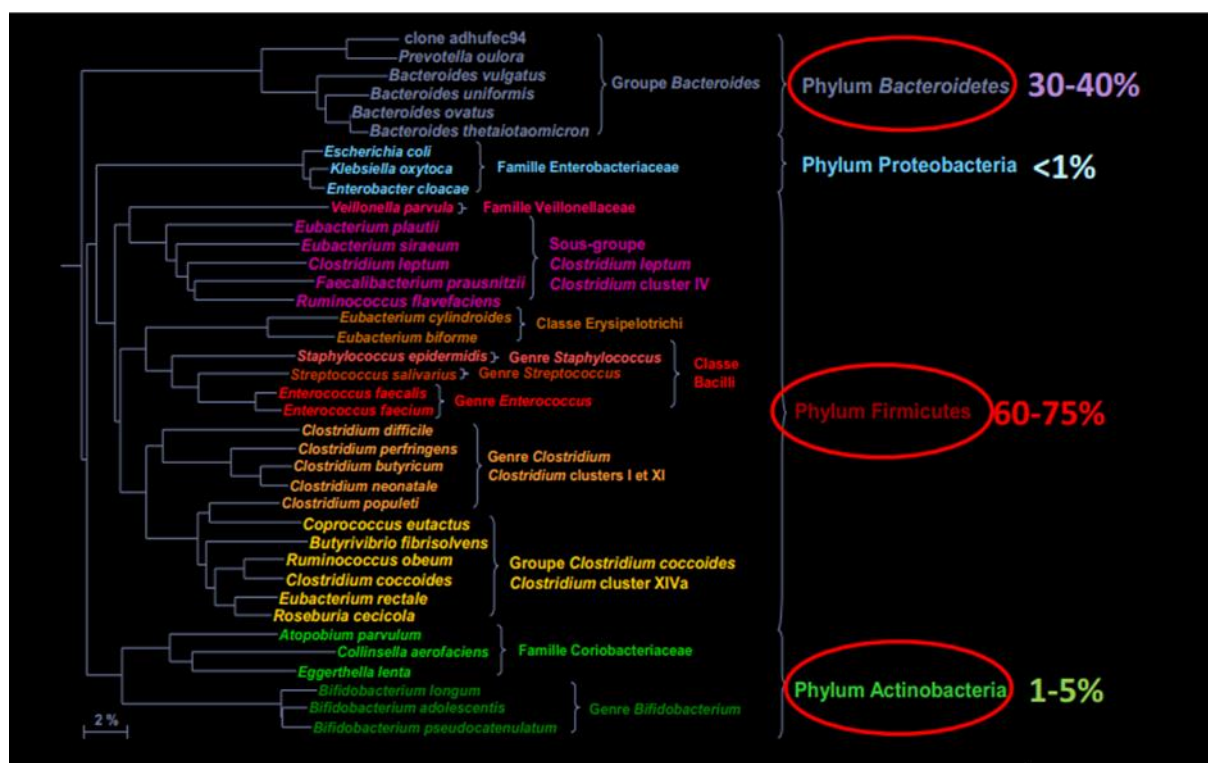


Figure 3 : Arbre phylogénétique présentant la majorité des groupes bactériens dont les espèces sont observées dans le microbiote intestinal humain.

Il est obtenu par analyse comparée de séquence des gènes codants l'ARN de la petite sous-unité ribosomale. L'échelle indique selon l'axe horizontal une divergence de séquence de 2% pour une comparaison d'environ 1000 nucléotides homologues (dérivant d'un même nucléotide ancestral). Les phyla et groupes dominants les plus prévalent sont indiqués en caractères gras (8).

I.2.2. Fonctions

Les bactéries du microbiote intestinal se nourrissent essentiellement de nos cellules mortes, notre mucus et des résidus issus de notre alimentation. Tout ceci est possible grâce à la relation symbiotique qui existe entre l'hôte et la bactérie. Cette association mutualiste est donc bénéfique pour l'homme étant donné qu'elle contrôle une multitude de fonctions physiologiques. Des études menées sur des souris de modèles axéniques et gnotoxéniques ont permis d'étudier les fonctions physiologiques et pathologiques de la flore intestinale. Ces études ont permis de mettre en évidence le rôle du microbiote intestinal dans le métabolisme et la digestion, la fonction barrière intestinale, le contrôle de la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales, la maturation du système immunitaire ainsi que la régulation de l'homéostasie intestinale.

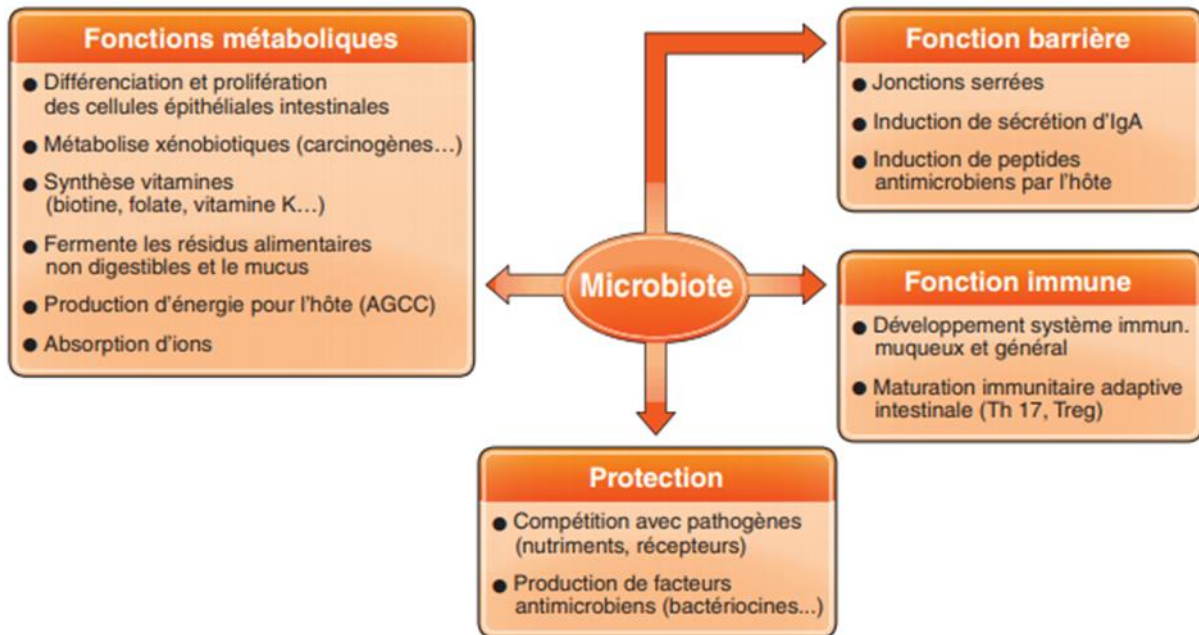


Figure 4 : Principales fonctions du microbiote vis-à-vis de l'hôte (3).

I.2.2.1. Fonction de défense « barrière »

L'effet de barrière est un effet protecteur du microbiote intestinal non seulement vis-à-vis des bactéries pathogènes exogènes, mais également vis-à-vis des bactéries présentes dans l'intestin en faible quantité et potentiellement délétère si leur concentration augmente. Les mécanismes de l'effet de barrière sont de plusieurs ordres. Il existe une compétition pour les nutriments et les sites d'adhérence épithéliaux entre les bactéries pathogènes et les bactéries commensales qui sont plus adaptées à l'écosystème intestinal (3).

Par ailleurs, la production par les cellules épithéliales d'une grande partie des peptides antimicrobiens jouant un rôle majeur dans la défense contre les agents pathogènes est induite par le microbiote (3). Les bactéries du microbiote produisent également des bactériocines aux propriétés antibiotiques. Enfin, le microbiote stimule la production des immunoglobulines A (IgA) sécrétoires et renforce les jonctions serrées entre les cellules épithéliales (3).

I.2.2.2. Fonctions métaboliques

L'influence principale du microbiote sur le métabolisme de l'hôte provient du métabolisme bactérien des composés présents dans le côlon et en particulier du métabolisme des sucres, des gaz et des protéines.

I.2.2.2.i Métabolisme des glucides

La quantité de glucides fermentescibles « présents dans les céréales, les fruits et les légumes » arrivant au côlon varie de 10 à 60 grammes par jour selon les individus et leur régime alimentaire. Différents groupes bactériens du microbiote colique humain participent à la dégradation anaérobie de ces substrats. Les groupes bactériens ont des activités complémentaires, leur permettant de former une chaîne trophique conduisant à la transformation des polysides en métabolites fermentaires (3). La première étape de cette transformation est l'hydrolyse des polymères glucidiques en fragments de petite taille « oses, oligosides ». Elle est assurée par des bactéries dites

« fibrolytiques » possédant plusieurs types d'hydrolases « notamment polysaccharidase et glycosidase » non produites par les cellules eucaryotes humaines (3).

Les bactéries glycolytiques peuvent ensuite participer à la deuxième phase consistant à transformer les glucides produits. La majorité des espèces utilisent la glycolyse pour convertir les glucides en pyruvate, qui sera lui-même transformé en produits finaux de la fermentation pour donner les acides gras à chaîne courte (AGCC) : acétate, propionate, butyrate. Néanmoins, certaines espèces bactériennes produisent des métabolites intermédiaires notamment lactate, formate, succinate qui sont transformés par d'autres espèces bactériennes en produits finaux de la fermentation (3).

L'acétate, le propionate et le butyrate sont des AGCC qui sont rapidement absorbés par l'épithélium colique et sont métabolisés localement, mais aussi à distance. Ils apportent de l'énergie et stimulent l'absorption colique du sodium. L'acétate passe dans le sang et fournit de l'énergie à l'ensemble de l'organisme « ce qui est utile chez les sujets atteints de maladies de l'intestin grêle avec malabsorption ». Le butyrate est le principal nutriment des colonocytes ; il exerce des propriétés d'immuno-modulation locale. Les AGCC participent à la stimulation des lymphocytes T régulateurs dans la muqueuse intestinale (3).

I.2.2.2.ii Formation de gaz

L'hydrogène est un des gaz majoritairement formé par la fermentation, et de grandes quantités en sont produites quotidiennement dans le côlon « environ 300 ml par gramme de substrat fermenté ». L'efficacité de la fermentation dépend de la capacité de l'écosystème à éliminer cet hydrogène. Son excrétion peut se faire soit par les émissions de gaz rectaux soit par voie pulmonaire. Néanmoins, la plus grande partie de l'hydrogène est transformée in situ par des bactéries du microbiote colique dites hydrogénotrophes (3).

Trois principaux types de transformations sont possibles. Les archaea ou archées méthanogènes, présents dans le microbiote colique de 30 à 50 % des adultes, produisent du méthane à partir de l'hydrogène. Il existe d'autres voies hydrogénotrophes, notamment chez les sujets non méthano-excréteurs (3). L'acétogénèse réductrice permet aux espèces acétogènes de synthétiser de l'acétate à partir d'hydrogène et du dioxyde de carbone. Enfin, la sulfato-réduction est utilisée par les bactéries sulfato-réductrices « dont le genre prédominant est *Desulfovibrio* » pour former des sulfures qui sont potentiellement délétères pour le colonocyte (3).

I.2.2.3. Métabolisme des lipides

Les lipides de la lumière colique proviennent de trois origines : les lipides arrivants du tractus intestinal d'amont « 5 à 8 grammes par jour en condition physiologique », les lipides provenant de la desquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens. Les acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés « notamment par hydrolyse, oxydation, réduction et hydroxylation » dans le côlon par les bactéries du microbiote (3). Le cholestérol colique, qui provient pour la majorité de la bile et pour le reste de l'alimentation et de la desquamation des cellules épithéliales intestinales, est transformé en coprostanol par le microbiote, avec une efficacité très variable d'un sujet à l'autre. Le coprostanol n'est pas absorbé et est donc éliminé dans les fèces (3).

Les acides biliaires sont des produits issus de la transformation du cholestérol par le foie. Ils sont également conjugués, ce qui a pour conséquence une amphiphile accrue. 95 % des acides biliaires sécrétés dans la bile sont réabsorbés dans l'iléon terminal par des transporteurs actifs spécifiques puis retournent au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile par le cycle entéro-hépatique des acides biliaires (3). Seuls 5 % des acides biliaires sécrétés dans la bile parviennent au côlon et y sont métabolisés notamment par déconjugaison, oxydation et épimérisation par les bactéries du microbiote en acides biliaires secondaires. La déconjugaison rend les acides biliaires plus hydrophobes, ce qui favorise leur absorption passive (3).

Les acides cholique et chénodésoxycholique (acides biliaires primaires) sont majoritaires chez l'homme et sont transformés par 7 α -déshydroxylation par les bactéries du microbiote colique en acides désoxycholique et lithocholique (acides biliaires secondaires) qui pourraient avoir des effets carcinogènes sur la muqueuse colique. Les hormones stéroïdes et des xénobiotiques suivent les mêmes voies métaboliques avec conjugaison hépatique, déconjugaison bactérienne colique et circulation entéro-hépatique (3).

I.2.2.4. Fonction immunitaire

La grande majorité des informations sur les fonctions immunitaires du microbiote proviennent des études comparatives entre les souris axéniques « stériles, sans microbiote » et leurs homologues élevées classiquement en animalerie. Ces travaux ont démontré le rôle essentiel joué par le microbiote dans le développement et la maturation du système immunitaire, et donc sur ses fonctions (3). Les animaux axéniques ont en effet de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal : hypoplasie des plaques de Peyer, nombre de lymphocytes intraépithéliaux réduits, déficit en certaines populations lymphocytaires T, sécrétion intestinale d'IgA réduite, concentration d'immunoglobulines sérique et production de cytokines limitées. Les anomalies observées ne se limitent cependant pas à l'épithélium intestinal puisque la rate et les ganglions lymphatiques des animaux axéniques sont non structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées. L'ensemble de ces anomalies peut être réparé en quelques semaines en inoculant un microbiote de souris conventionnelle à ces souris axéniques (3).

Certaines bactéries stimulent particulièrement les populations de lymphocytes helper (Th17) intestinal alors que d'autres stimulent les lymphocytes T régulateurs (T reg). La composition du microbiote joue donc un rôle majeur dans l'équilibre entre Th17 et T reg, indispensable au maintien de l'homéostasie intestinale (3).

I.2.2.5. Synthèse de facteurs vitaminiques

Les bactéries jouent un rôle dans la synthèse de facteurs vitaminiques tels que :

Vitamine K : intervient dans le processus de la coagulation sanguine et dans le métabolisme des os et d'autres tissus.

Cobalamine (B12) : vitamine hydrosoluble essentielle au fonctionnement normal du cerveau, du système nerveux et à la formation du sang.

Acide folique (B9) : vitamine hydrosoluble, précurseur métabolique d'une coenzyme le tétrahydrofolate, impliquée notamment dans la synthèse des bases nucléiques

constituant les acides nucléiques « ADN et ARN » du matériel génétique. Cette coenzyme intervient également dans la synthèse d'acides aminés tels que la méthionine, l'histidine et la sérine.

Pyridoxine (B6) : vitamine hydrosoluble qui intervient dans le métabolisme des acides aminés et du glycogène ainsi que dans la synthèse de l'ADN, de l'hémoglobine et de nombreux messagers chimiques du cerveau.

Biotine (B8) : vitamine hydrosoluble et coenzyme qui participe au métabolisme des acides gras, des glucides et des acides aminés, ainsi qu'à la biosynthèse des vitamines B9 et B12.

Riboflavine (B2) : vitamine hydrosoluble qui joue un rôle important dans la transformation des aliments simples « glucides, lipides et protéines » en énergie. Elle intervient dans le métabolisme de réparation des muscles.

I.3. Le Microbiote intestinal au cours de la vie

Le tractus digestif du nourrisson à la naissance est dépourvu de bactéries. La colonisation microbienne débute durant l'accouchement. En l'absence des mécanismes immunitaires sophistiqués de l'adulte, le tube digestif du nouveau-né est un environnement particulièrement permissif et les niveaux de population y atteignent rapidement 10^{11} bactéries par gramme de selles. La colonisation suit néanmoins un schéma relativement organisé, sous la dépendance de facteurs exogènes et endogènes. Les facteurs exogènes incluent l'exposition aux micro-organismes d'origine maternelle (fécale, vaginale et cutanée) et environnementale, mais aussi l'alimentation et parfois l'antibiothérapie, qui peut avoir des effets perturbateurs majeurs. Des études récentes indiquent également que des composants bactériens issus du microbiote maternel sont transportés au nouveau-né par l'intermédiaire du lait maternel (15).

Ainsi, même collecté aseptiquement, le lait de la femme n'est pas stérile. Les facteurs endogènes incluent l'ensemble des sécrétions du tube digestif, mais aussi les produits des premiers micro-organismes colonisateurs qui, globalement, conditionnent la physicochimie du biotope. Les bactéries anaérobies qui dominent le microbiote intestinal de l'adulte font partie des premiers microbes rencontrés lors d'une naissance par voie basse. Elles ne se développeront cependant, en dominance dans l'intestin que lorsque les bactéries anaérobies facultatives auront consommé l'oxygène présent. Des travaux récents chez l'animal indiquent que certaines espèces anaérobies dominantes modifient leur métabolisme après le sevrage (16).

Ce premier relais d'espèces s'opère durant les heures qui suivent la naissance. Des relations antagonistes gouvernent ensuite progressivement le relais d'espèces en dominance conduisant vers l'âge de deux ans à un microbiote stable sur le plan fonctionnel (17). Les bactéries anaérobies strictes dominent les bactéries anaérobies facultatives dans le côlon distal et les selles par un facteur de 1000 environ. L'hygiène qui entoure la naissance et les premiers moments de la vie conditionne fortement la dynamique de colonisation.

Il apparaît aujourd'hui clairement que la colonisation par des espèces commensales habituelles comme *Escherichia coli* est retardée dans les pays industrialisés par rapport au passé de quelques jours à 6 mois et par rapport aux pays en voie de développement, apparemment du fait des conditions d'hygiène appliquées aujourd'hui (18).

Les bactéries habituellement associées à la peau (*Staphylococcus sp*) apparaissent alors dans le microbiote dominant précoce (19). Une naissance par césarienne s'accompagne également le plus souvent de l'acquisition retardée des groupes dominants usuels et de la présence plus fréquente de bactéries d'origine environnementale que dans le cas d'une naissance par voie basse.

I.4. Exploration du microbiote

Les techniques de microbiologie classiques de mise en culture sont très difficilement applicables aux bactéries du tube digestif puisque la très grande majorité d'entre elles se développe en l'absence d'oxygène. L'utilisation récente d'approches moléculaires, basées sur l'ARN ribosomique 16s comme marqueur phylogénétique, a bouleversé la vision du microbiote intestinal. Un peu plus de 1000 espèces bactériennes entrent dans la composition du microbiote humain. Chacun d'entre nous en héberge environ 200. Chaque individu a donc un microbiote qui lui est propre en termes de combinaison d'espèces (11).

Une étape supplémentaire dans la découverte du microbiote est en train d'être franchie : la métagénomique. Elle vise à déterminer la séquence du génome des bactéries composant le microbiote intestinal. C'est un travail colossal qui mobilise des chercheurs et des moyens du monde entier. On s'aperçoit d'ores et déjà de l'existence de similitudes entre les gènes bactériens laissant présager que si le microbiote de chacun d'entre nous est unique, il accomplit globalement les mêmes fonctions. La métagénomique pourrait permettre de faire du microbiote un élément prédictif de certaines maladies. On pourrait alors envisager en modifiant sa composition d'établir des diagnostics précoces, voire de prévenir certaines pathologies (11).

II. LE CANCER COLORECTAL

Le côlon aussi appelé gros intestin correspond à la partie terminale du tube digestif. Il mesure en moyenne chez l'adulte 1,5 mètre de longueur pour 8 cm de diamètre et se répartit en quatre segments se faisant suite : le côlon droit ou côlon ascendant, le côlon transverse, le côlon gauche ou côlon descendant puis le côlon sigmoïde. Le gros intestin se termine par le rectum. Le cancer du côlon et le cancer du rectum, sont couramment appelés CCR. Le CCR représente depuis plusieurs décennies un important problème de santé publique. Il s'agit d'un des cancers les plus fréquents dans le monde et sa mortalité avoisine les 50%, son incidence a considérablement augmenté ces dernières années.

II.1. Définition et généralités

II.1.1. Définition

Le CCR naît de la transformation d'une tumeur bénigne en tumeur maligne, une transformation prenant environ 10 ans. La tumeur se développe dans le côlon sigmoïde ou le rectum à partir d'un adénome (60 à 80 % des cas), généralement sous la forme d'un polype ou plus rarement sous une forme plane, plus difficile à détecter. Le risque de transformation d'un adénome en cancer varie en fonction de la taille, de l'importance de la composante villositaire au sein de l'adénome et du degré de dysplasie (à l'examen anatomopathologique) (20).

L'hérédité ou la mutation génétique peuvent induire le CCR, notamment le syndrome de Lynch ou cancer héréditaire du côlon sans polyposis (HNPCC) et la polyposis adénomateuse familiale (PAF), maladie autosomique dominante héréditaire causée par une mutation génétique, deux gènes sont connus pour être impliqués dans la PAF : le gène APC et le gène MYH. D'autres pathologies telles que les maladies inflammatoires chroniques intestinales (notamment la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse) peuvent évoluer vers un CCR.

II.1.2. Généralités

Le CCR touche une population dite âgée supérieure à 50 ans, avant l'âge de 50 ans cela reste exceptionnel. Les CCR qui apparaissent avant l'âge de 50 ans sont le plus souvent dus à une prédisposition génétique. Lorsqu'il est détecté à un stade précoce, il se guérit dans 9 cas sur 10. Le dépistage associé à la coloscopie, est donc primordial pour pouvoir supprimer à temps les tumeurs et polypes avant qu'ils ne dégénèrent (20). Les tumeurs colorectales se développent généralement à partir de la muqueuse saine. Cette muqueuse peut, sous l'influence de mutations, se transformer progressivement en tissu cancéreux. Les premières mutations géniques peuvent entraîner une hyperplasie, c'est-à-dire que les cellules sont plus nombreuses qu'en conditions normales (21).

Puis la tumeur forme une dysplasie, à ce stade, les cellules ont perdu une partie des caractéristiques propres à la cellule saine dont elles proviennent : leur morphologie a changé, elles sont plus indifférenciées ce qui témoigne d'une perte partielle ou totale de leur fonction au profit de leur prolifération. Le dernier stade précancéreux aboutit aux polypes dits adénomateux (ce sont des tumeurs bénignes résultant de la prolifération régulière d'un épithélium glandulaire normal) qui reste limités à la paroi du côlon ou du rectum (21).

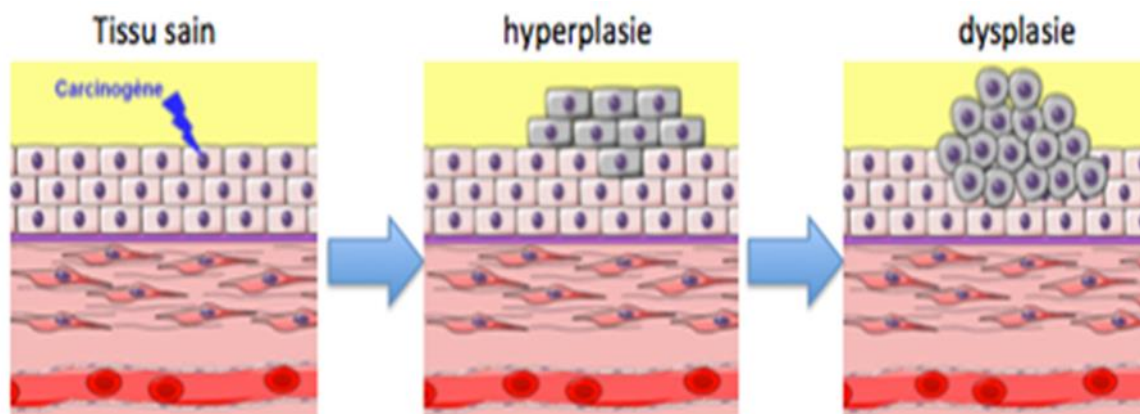


Figure 5 : Mutation d'une muqueuse saine sous l'influence d'un facteur carcinogène, évolution vers une hyperplasie et une dysplasie (21).

Si les mutations continuent, on arrive au stade de cancer in situ : la prolifération cellulaire est anarchique mais elle reste contenue par la membrane basale tissulaire. Lorsque la tumeur rompt la membrane basale, elle devient invasive : l'adénocarcinome, se développe d'abord dans la paroi de l'intestin « de l'intérieur vers l'extérieur » puis les cellules cancéreuses sont susceptibles d'atteindre les ganglions lymphatiques au voisinage de la tumeur. Si les cellules cancéreuses atteignent les vaisseaux sanguins ou quittent les ganglions, elles seront capables de migrer, par voie lymphatique ou par voie sanguine, dans des organes situés à distance pour constituer les métastases (21).

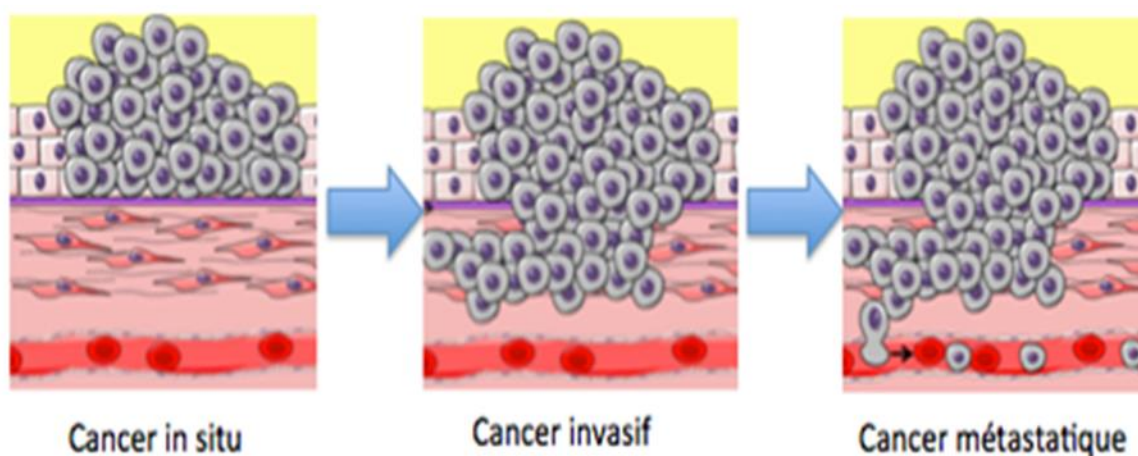


Figure 6 : Illustration de l'évolution du stade cancer in situ au stade cancer invasif et cancer métastatique (21).

II.2. Epidémiologie

Les cancers les plus fréquemment diagnostiqués dans le monde sont ceux du poumon (avec 1,8 million de cas, soit 13,0 % du total), du sein (1,7 million de cas, soit 11,9% du total) et le CCR (1,4 million de cas, soit 9,7% du total). Les causes les plus fréquentes de décès par cancer étaient les cancers du poumon (1,6 million de décès, 19,4% du total), du foie (0,8 million de décès, 9,1% du total) et de l'estomac (0,7 million de décès, 8,8% du total) (22).

La France fait partie des pays ayant une incidence élevée du CCR. Le vieillissement de la population, l'amélioration des techniques de dépistage, mais aussi des modifications du mode de vie (augmentation du niveau de sédentarité non compensée par une baisse des apports caloriques, etc...), ont probablement favorisé une augmentation de l'incidence. L'incidence du CCR est estimée, en 2010, à 40 000 nouveaux cas dont 52 % chez l'homme et 48 % chez la femme. Il s'agit du 3^{ème} cancer le plus fréquent chez l'homme et le 2^{ème} chez la femme. C'est la 2^{ème} cause de mortalité par cancer en France et la 1^{ère} après 85 ans. La maladie touche dans 95 % des cas des personnes âgées de plus de 50 ans avec un âge moyen au moment du diagnostic de 70 ans chez les hommes et de 73 ans chez les femmes (23).

Le CCR est un cancer de bon pronostic lorsqu'il est diagnostiqué à un stade précoce: la survie relative à 5 ans est de 91 % pour les stades localisés, de 70 % pour les stades avec envahissement locorégional. En revanche, la survie à 5 ans est d'environ 11 % dans les situations métastatiques qui représentent environ 25 % des patients au moment du diagnostic. Le taux de mortalité par CCR a diminué ces 20 dernières années grâce aux progrès réalisés en matière de prise en charge (précocité du diagnostic et amélioration des modalités thérapeutiques). Environ 17 000 décès annuels lui sont imputables (près de 11 % des décès par cancer) (23).

D'après les estimations de la HAS, le nombre de CCR devrait augmenter dans les prochaines années, et atteindre 45 000 nouveaux cas annuels en 2020. Les principales causes identifiées sont le vieillissement de la population, l'évolution du mode de vie et l'amélioration des techniques de dépistage. Cependant des études menées par l'InVS, et l'InCA montrent une amélioration du pronostic des cancers du côlon et du rectum au cours du temps en France. On a une hausse de neuf points « période de 1989-1993 taux de survie 54 % et de 2005-2010 taux survie 63 % » de la survie à 5 ans. Cette amélioration de la survie s'explique essentiellement par une diminution de la mortalité opératoire et des progrès dans les prises en charge (23).

II.3. Etiologie

Si environ 10 % des CCR sont héréditaires, 90 % sont sporadiques (c'est-à-dire sans origine familiale). Les causes du CCR restent encore mal établies. Dans certains cas, les gènes qui déterminent l'activité d'une cellule subissent une mutation et commencent à donner des instructions qui entraînent la croissance anarchique des tissus. Une seule cellule cancéreuse se divise des millions de fois et produit une tumeur.

Les tumeurs développent leurs propres vaisseaux sanguins afin de s'assurer un approvisionnement en oxygène. Le côlon et le rectum contiennent différents types de cellules qui peuvent, chacune, être à l'origine d'une forme de cancer spécifique. Dans la plupart des cas, les CCR se développent à partir des glandes appelées glandes de Lieberkühn qui tapissent l'intérieur de la paroi du côlon et du rectum. Cette forme de cancer est appelée adénocarcinome.

On distingue deux types de tumeurs : les tumeurs bénignes « non cancéreuses » et les tumeurs malignes qui sont des tumeurs cancéreuses. Les tumeurs bénignes du côlon et du rectum sont appelées polypes, Il s'agit d'excroissances qui se développent à la surface de la paroi interne du côlon et du rectum, au niveau de la muqueuse. Il existe différents types de polypes : des polypes qui n'évoluent pas et qui resteront toujours bénins. Il s'agit des polypes hyperplasiques, des polypes hamartomateux et des polypes inflammatoires. Des polypes qui sont susceptibles d'évoluer et de se transformer très progressivement en tumeur cancéreuse (24). Ce sont les polypes adénomateux, appelés aussi adénomes. Ils se développent à partir des glandes situées dans la muqueuse du côlon et du rectum, les glandes de Lieberkühn. Ils représentent environ 70 % des polypes et sont à l'origine de plus de 80 % des CCR (24).

Il existe quatre types d'adénomes (24) :

L'adénome vilieux (5 % des polypes adénomateux), cet adénome a plus de risques de se transformer en cancer, en particulier s'il est gros, par rapport à l'adénome tubuleux.

L'adénome tubuleux est le plus petit et le plus commun des adénomes (75 % des polypes adénomateux), son risque de devenir cancéreux s'accroît avec sa taille. On estime que les polypes de plus de 2 cm de diamètre présentent un risque de devenir cancéreux.

L'adénome tubulovilleux (20 % des polypes adénomateux) présente à la fois des caractéristiques de l'adénome vilieux et de l'adénome tubuleux. Le risque qu'il se transforme en cancer semble être à mi-chemin entre celui de l'adénome vilieux et celui de l'adénome tubuleux.

L'adénome plan est un type d'adénome un peu à part, qui a été identifié récemment (au milieu des années 80). C'est une autre façon de caractériser un adénome. Il s'agit d'une lésion très localisée (moins de 1 cm de diamètre). Contrairement aux autres adénomes, l'adénome plan ne se développe pas en relief sous forme de polype, mais plutôt à plat (moins de 1,3 mm d'épaisseur). Les adénomes plans présentent un risque plus important que les autres adénomes de se transformer en cancer.

Dans moins de 5 % des cas, d'autres tumeurs malignes se développent au niveau du côlon ou du rectum. Elles sont beaucoup plus rares : tumeurs carcinoïdes, sarcomes, lymphome. Enfin, le côlon et le rectum peuvent être envahis par des métastases provenant d'un cancer situé dans un autre organe du corps (24). On a des cas d'hérédité ou de mutations, le syndrome de Lynch ou (HNPCC = hereditary non-polyposis colorectal cancer), la PAF (maladie autosomique dominante) et également des maladies telles que la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse qui peuvent être mis en cause dans le CCR. Ces dernières années des chercheurs ont mené des études visant à démontrer l'implication du microbiote intestinal dans le développement du CCR (24).

II.4. Facteurs de risques et facteurs protecteurs

II.4.1. Facteurs de risques

La plupart des cancers semblent être le résultat d'un ensemble complexe de facteurs comme l'hérédité, les choix de vie ou l'exposition à des substances qui causent le cancer (appelées substances cancérogènes).

- ✓ L'âge : avant 40 ans, les CCR sont très rares. Le risque commence à augmenter à partir de 50 ans et s'accroît ensuite nettement jusqu'à 80 ans. 94 % des CCR se manifestent chez les personnes de plus de 50 ans. L'âge moyen des personnes au moment du diagnostic est de 70 ans.
- ✓ Habitudes de vie : une alimentation trop calorique, alimentation riche en graisses animales, consommation importante de viande rouge, consommation d'alcool, la consommation de tabac et l'inactivité physique et le surpoids augmenteraient le risque de développer le CCR. Des études ont démontré qu'un usage abusif et à long terme de la cigarette « 20 paquets-années » augmente de deux à trois fois le risque d'apparition de gros adénomes dans le côlon et le rectum. Or, les adénomes de grande taille sont une source fréquente de CCR.
- ✓ Antécédents personnels : les personnes qui ont déjà eu un cancer du côlon ou du rectum risquent davantage d'être atteintes d'un autre CCR.
- ✓ Antécédents familiaux : près de 10 à 15 % des CCR se manifestent chez des personnes ayant des antécédents familiaux de CCR, c'est-à-dire plusieurs cas de cancer du côlon ou du rectum dans la famille proche. Le risque est deux à deux fois et demie plus élevée lorsqu'un membre de la famille au premier degré (parent, frère, sœur ou enfant) a déjà eu un CCR.
- ✓ Le polype : la présence de polypes adénomateux sur la paroi du côlon et du rectum accroît sensiblement le risque de CCR.
- ✓ La PAF: si on ne traite pas la PAF par le biais de la chirurgie (en supprimant le côlon avant qu'un cancer ne se développe, on parle de chirurgie prophylactique) le risque de développer un cancer avant l'âge de 40 ans est presque de 100 % pour une personne atteinte de cette affection.
- ✓ Le syndrome de Lynch ou HNPCC : le risque de développer un CCR au cours de sa vie est de l'ordre de 10% à 50 ans et 40% à 70 ans.
- ✓ Le risque de CCR lié à la rectocolite hémorragique dépend de plusieurs facteurs : la durée d'évolution de la rectocolite 10 ans après le diagnostic, le risque augmente de 1 % chaque année. De l'étendue de la maladie plus la surface du côlon et du rectum affectée est grande, plus le risque augmente. Et le risque que la maladie de Crohn se transforme en CCR n'est pas aussi élevé que dans le cas de la rectocolite hémorragique, néanmoins elle est en cause dans les CCR d'une population plus jeune (entre 46 et 55 ans) (25). Ce risque dépend des facteurs suivants : la durée d'évolution de la maladie de Crohn, le risque commence à augmenter après 10 ans. De l'étendue et de l'effet de la maladie le cancer a tendance à se développer dans des régions où la maladie a provoqué une certaine rigidité et une perte de la fonction intestinale (25).

II.4.2. Facteurs protecteurs

Une alimentation suffisante et variée de fruits et légumes frais (fibre+++) et une alimentation riche en calcium (plus spécifiquement le lait) a un effet protecteur vis-à-vis de ce type de cancer.

D'une manière générale, il est conseillé de consommer 5 fruits et légumes par jour. La pratique d'activité sportive de façon régulière (environ 30 minutes d'activité physique par jour), diminue le risque de développer le CCR.

II.5. Population a risque

La figure ci-dessous est une parfaite illustration des différentes populations à risques et à chaque population à risques, on a un mode de dépistage et une surveillance adapté.



Figure 7 : Répartitions des différentes populations à risques, pour chaque population il existe un protocole de dépistage correspond (26).

II.5.1. Population à risque moyen

Le vieillissement et les facteurs hygiéno-diététiques entraînent un risque « moyen » évalué à 3,5% (parmi 1000 personnes, 35 risquent d'être atteintes par un CCR avant leur 75^{ème} anniversaire). Ce risque « moyen » est néanmoins responsable de 75% des CCR car il touche l'ensemble de la population à partir de 50 ans. L'âge moyen au diagnostic est de 70 ans. Les hommes sont très légèrement plus atteints que les femmes (53% des hommes contre 47% pour les femmes). Le dépistage repose sur la réalisation tous les 2 ans d'un test de recherche du sang dans les selles dans le cadre du programme de dépistage organisé (26).

II.5.2. Population à risque élevé

Les antécédents personnels de CCR ou d'adénome de plus de 1 cm, l'instabilité génétique familiale, parent du premier degré (père, mère, frère, sœur, enfant) atteint d'un CCR ou d'un adénome de plus de 1 cm avant 65 ans, ou deux parents atteints quel que soit l'âge au moment du diagnostic et les maladies inflammatoires chroniques du côlon (maladie de Crohn et Rectocolite ulcéro-hémorragique) entraînent un risque élevé estimé, selon le cas, entre 7 et 20% (soit 70 à 200 cancers parmi 1000 personnes présentant ses caractéristiques). Ce risque élevé est responsable d'environ 20% des CCR. Le suivi repose sur la réalisation régulière de coloscopies (26).

II.5.3. Population à risque très élevé

Enfin les mutations génétiques héréditaires la PAF ou le syndrome de Lynch ou (HNPCC) entraînent un risque très élevé qui atteint 80 à 100%. Ces mutations ne représentent que 5% des CCR. Le suivi repose sur les préconisations établies lors de consultations d'oncogénétique et la réalisation régulière de chromo-coloscopies (26).

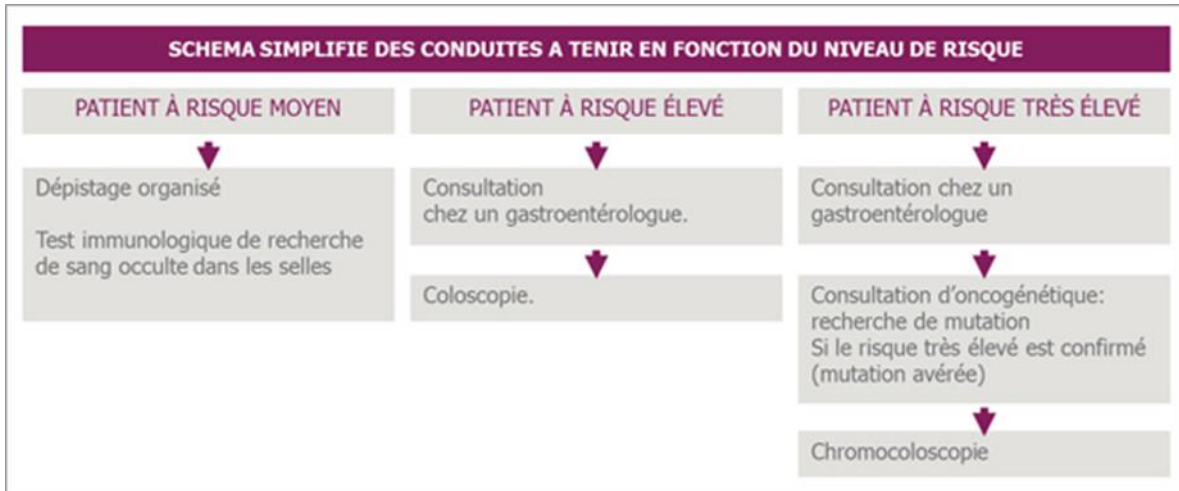


Figure 8 : Démarches à suivre lors du dépistage du CCR, en fonction du niveau de risque (31).

II.6. Les différents stades du CCR

La classification internationale TNM est la plus utilisée pour évaluer le stade de la tumeur. Source mise à disposition pour les professionnelles de la santé par la haute autorité de santé(HAS) (27).

Le « T » (pour Tumeur) fait référence à la taille et à la profondeur de la tumeur : X, 0, 1, 2, 3 et 4. Plus le chiffre augmente plus la tumeur est importante.

Le « N » (pour Node en anglais) indique la présence éventuelle de ganglions : X, 0, 1 et 2.

Le « M » (pour Métastase) indique s'il y a eu dissémination : X, 0 ou M1.

T Tumeur primitive	
Tx	Renseignements insuffisants pour classer la tumeur primitive
T0	Pas de signes de tumeur primitive
Tis	Carcinome <i>in situ</i> : intra-épithélial ou envahissant la lamina propria
T1	Tumeur envahissant la sous-muqueuse
T2	Tumeur envahissant la musculature
T3	Tumeur envahissant la sous-séreuse ou les tissus péricoliques et péri-rectaux non péritonéalisés
T4	T4a : Tumeur perforant le péritoine viscéral T4b : Tumeur envahissant directement les autres organes ou structures
N Adénopathies régionales	
Nx	Renseignements insuffisants pour classer les adénopathies régionales
N0	Pas de métastase ganglionnaire régionale
N1a	Métastase dans 1 ganglion lymphatique régional
N1b	Métastase dans 2 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
N1c	Nodule(s) tumoraux, c-à-d satellite(s) dans la sous-séreuse, ou dans les tissus non péritonéalisés péricoliques ou péri-rectaux sans métastase ganglionnaire régionale
N2a	Métastase dans 4-6 ganglions lymphatiques régionaux
N2b	Métastase dans 7 ou plus ganglions lymphatiques régionaux
M Métastases à distance	
M0	Pas de métastases à distance
M1a	Métastase localisée à un seul organe (foie, poumon, ovaire, ganglion(s) lymphatique(s), autre que régional)
M1b	Métastases dans plusieurs organes ou péritonéales

Tableau 1 : Classification clinique TNM/AJCC 2009 du CCR. L'AJCC (American Joint Committee on Cancer) a regroupé dans le tableau ci-dessous les différentes tumeurs classées par stades. On peut constater que plus le stade augmente plus la tumeur est grave (27).

Stade	T	N	M
Stade 0	Tis	N0	M0
Stade I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T4a	N0	M0
Stade IIC	T4b	N0	M0
Stade III	Tous I	N1, N2	M0
Stade IIIA	T1, T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
	T3, T4a	N1	M0
Stade IIIB	T2, T3	N2a	M0
	T1, T2	N2b	M0
	T4a	N2a	M0
Stade IIIC	T3, T4a	N2b	M0
	T4b	N1, N2	M0
Stade IVA	Tous T	Tous N	M1a
Stade IVB	Tous T	Tous N	M1b

Tableau 2 : Regroupement des tumeurs par stades (27).

II.7. Du dépistage au diagnostic

Un examen de dépistage est un examen réalisé chez un sujet ne présentant pas de symptômes, mais présentant une augmentation du risque de polypes et donc de développer le cancer rendant souhaitable un examen systématique. Il n'y a pas d'indication de dépistage chez les sujets d'âge inférieur à 50 ans sans antécédent personnel ou familial au 1^{er} degré de polypes/cancer et sans antécédent personnel de maladie inflammatoire du côlon. Dans les autres situations, l'indication d'un dépistage est recommandable en fonction du niveau de risque jugé moyen, élevé ou très élevé. Si test positif on effectuera des examens complémentaires pour établir le diagnostic.

Un examen à visée diagnostique est un examen réalisé chez un sujet présentant des symptômes pouvant évoquer l'existence d'un polype ou cancer du côlon et du rectum. Symptômes d'orientation :

- ✓ Perte de sang dans les selles (rouge ou noir, « digéré »)
- ✓ Modification persistante du transit intestinal : Constipation ou, diarrhée ou alternance de diarrhée et de constipation (+/- modification de l'aspect des selles)
- ✓ Douleurs abdominales

Symptômes « généraux » :

- ✓ Amaigrissement
- ✓ Fatigue importante (éventuellement liée à une anémie)
- ✓ Perte d'appétit; dégoût des aliments

II.7.1. Tests non invasifs de dépistage

II.7.1.1. Test au guaiac (Hemoccult)

Le test au guaiac (**Hémoccult II®**) est un test bon marché mais aussi le moyen le moins sensible pour la détection de l'hémoglobine (HB). Il a fait l'objet de plusieurs études randomisées contrôlées. Dans une cohorte ayant bénéficié d'un dépistage par ce test, les cancers ont été détectés en moyenne à un stade plus précoce avec, comme conséquence, une réduction de la mortalité sur 13 ans de 33% (28). La sensibilité de ce test pour la détection d'adénomes et de cancers est cependant très basse (11 et 13% respectivement) (29).

Le test au guaiac détecte l'hème au sein de l'HB qui résiste au passage du tractus digestif. Le test est basé sur l'activité de pseudoperoxydase de l'hème. L'adjonction d'eau oxygénée diluée permet une réaction colorimétrique avec l'acide guaiaconique provenant de la collecte de résine de l'arbre *Guaicum officinale*, originaire d'Amérique latine. La limite de détection des tests au guaiac se situe entre 0,3 et 1 mg d'HB par gramme de selles. Cette limite est influencée par le temps entre la collecte des selles et la lecture du test. Enfin, le produit de la réaction colorimétrique (couleur bleue) est instable, le test doit donc être lu rapidement (30).

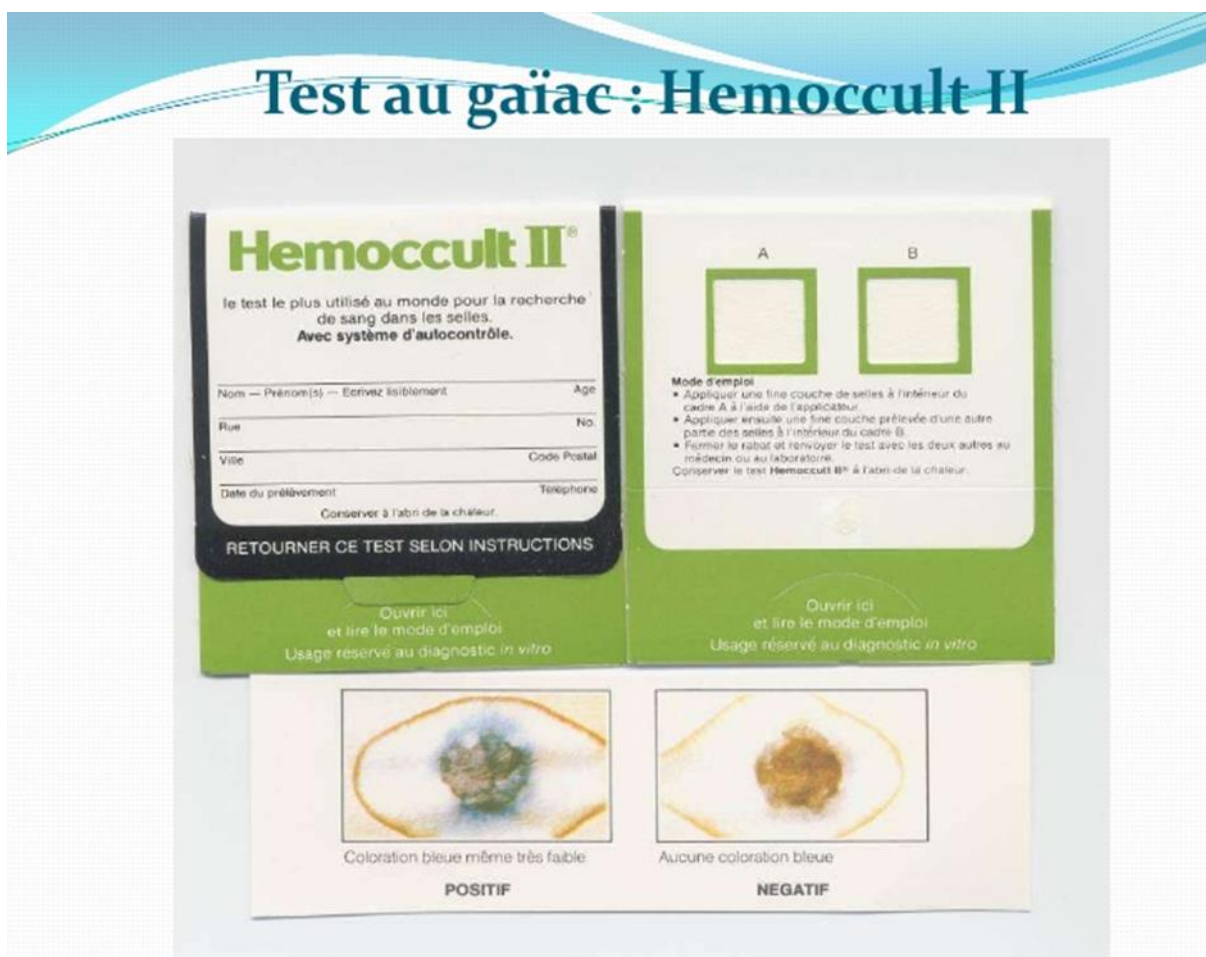


Figure 9 : Test rapide de détection du sang dans les selles pour le CCR (31).

Test systématiquement recommandé chez un groupe de populations jugé à risque moyen, âge compris entre 50-74 ans.

Ce test a été le plus utilisé dans le dépistage du CCR chez cette population, il a été remplacé depuis avril 2015 par de test immunologique.

II.7.1.2. Test immunologique

Le coût de ce test est sensiblement plus élevé que le test au guaiac. Le test immunologique est basé sur la détection de la partie protéique (globine) de l'HB dans les selles par des anticorps mono ou polyclonaux. La limite seuil de détection retenu en France est de 150 ng HB/ml de selles (0,3 ml de sang par échantillon de selles). Le test immunologique permet de détecter environ deux fois plus de cancers et deux fois et demi plus d'adénomes à haut risque de transformation maligne, dits « adénomes avancés » (de taille ≥ 1 cm ou à contingent villositaire supérieur à 25 % ou en dysplasie de haut grade). Les gains en sensibilité associés à ce test présentent un intérêt supplémentaire dans le cadre d'une démarche préventive, en permettant la détection de cancers débutants et de lésions avant leur transformation en cancer (31).

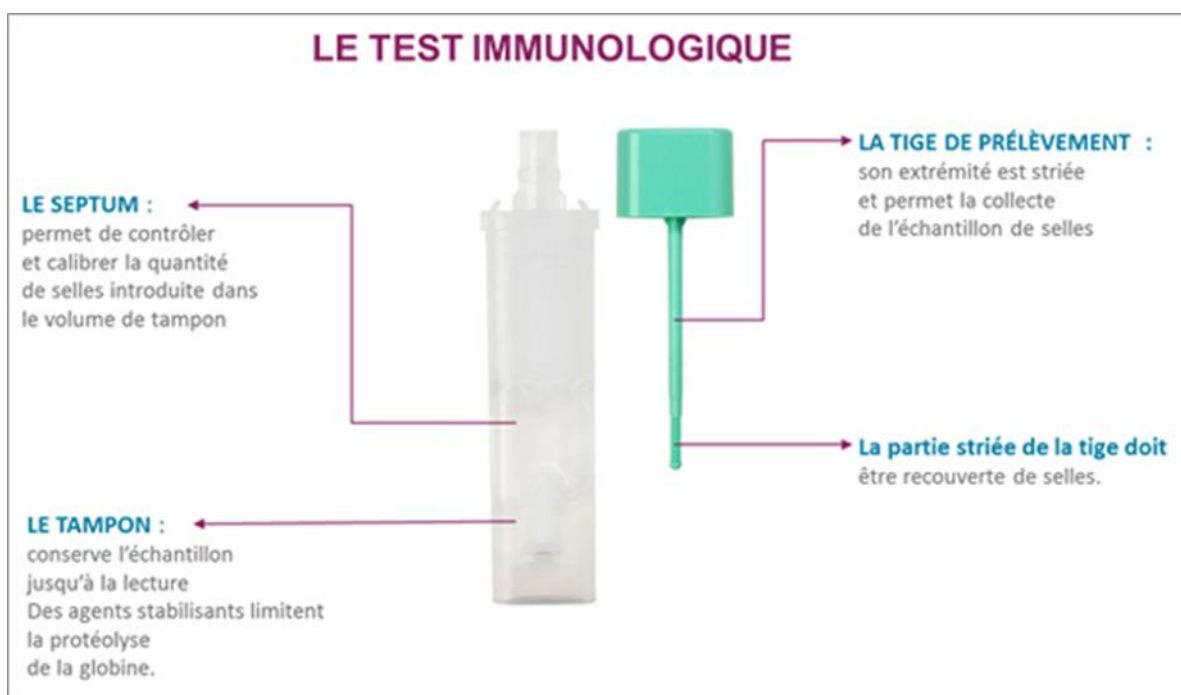


Figure 10 : Test immunologique de dépistage du CCR (31).

Un test plus performant : sa sensibilité est supérieure à l'ancien test hemoccult et permet une meilleure détection des cancers et des lésions précancéreuses. Il détecte deux fois plus de cancers et deux fois et demi plus d'adénomes avancés au seuil de positivité retenue pour le démarrage du programme (4%).

Un test plus fiable : le test ne peut pas être rendu positif par l'HB animale issue de l'alimentation par exemple. La lecture automatisée de ce test garantit également une meilleure fiabilité. Cela permet notamment de limiter le nombre de faux positifs.

Un test plus simple : le test immunologique de dépistage des CCR est plus pratique d'utilisation car il ne nécessite plus qu'un seul prélèvement de selles contre six précédemment.

La meilleure ergonomie du test devrait permettre d'améliorer son acceptabilité par la population (32). Cette simplicité d'utilisation devrait permettre d'augmenter la

participation de la population cible au dépistage organisé du CCR en France de 10 à 15 points. Elle se situait autour de 30 % en 2013-2014, alors que le seuil de participation recommandé en Europe est de 45 %.

Il existe actuellement trois tests disponibles : **FOB-Gold®**, **Magstream®** et **OC-Sensor® eiken** (sur le marché depuis avril 2015).



Figure 11 : Résumé des caractéristiques du test immunologique « Performance, simplicité, fiabilité » (31).

Limites : comme tout test de dépistage (consistant à rechercher du sang occulte dans les selles), peut générer de faux positifs. Ainsi, dans plus de 90 % des cas, une coloscopie réalisée après un test positif ne révélera pas de lésion cancéreuse. À cet égard, on estime que le test immunologique générera un nombre de coloscopies environ deux fois plus important que l'ancien test. Toutefois, elles seront réalisées à meilleur escient, par ciblage des personnes ayant un test immunologique positif et donc considérées comme plus susceptibles d'avoir une lésion (31).

II.7.1.3. Autres tests fécaux

Les tests fécaux à ADN sont basés sur le principe que des cellules mutées, provenant de lésions précancéreuses, sont excrétées dans les selles. Ces tests utilisent des CGH-arrays génétiques pour la détection de mutations telles que TP53, K-ras, APC, BAT-26 et BRAF. Une étude récente a montré une sensibilité de 54% pour les adénomes avancés et de 85% pour les cancers (33). La combinaison idéale n'est cependant pas encore établie. Le coût des tests génétiques est élevé et l'intervalle de répétition de ce test n'est pas connu.

II.7.1.4. Tests sanguins

Une étude récente a validé un test identifiant l'ADN méthylé dans le plasma. Ce test a montré une sensibilité de 68% pour la détection de CCR (spécificité de 89%) (34). Un nouveau test sanguin de dépistage multigénique (**COLOX**) est en cours d'évaluation par l'équipe de gastro-entérologie du CHUV à Lausanne, en collaboration avec une start-up. Ce test détecte des biomarqueurs de la réponse immunitaire de l'hôte contre la tumeur. Dans une étude pilote, ce test a montré une sensibilité de 67% et une spécificité de 93% dans le dépistage du CCR (35).

II.7.2. Examens invasifs de dépistage

II.7.2.1. La rectosigmoïdoscopie

Il s'agit d'un examen incomplet, n'examinant pas le côlon droit, permet l'exploration du rectum et du côlon sigmoïde, mais pas du reste du côlon. Cet examen est utilisé comme examen de dépistage dans les pays anglo-saxons, où sa réalisation peut être confiée à des infirmières spécialisées. Deux études récentes ont montré une réduction de l'incidence (31-33%) et de la mortalité (38-43%) liées au CCR chez des patients ayant bénéficié de cet examen bien qu'il s'agit là des premières études randomisées contrôlées utilisant des moyens endoscopiques (36,37). Une rectoscopie doit être faite systématiquement si le médecin a décelé une anomalie lors d'un toucher rectal.

II.7.2.2. La coloscopie

La coloscopie est l'examen de référence : une sonde (long flexible enrobé de plastique) est insérée par l'anus, puis glissée peu à peu dans l'intestin, le plus souvent sous anesthésie générale. Il permet d'observer la muqueuse de l'anus jusqu'à la jonction iléo-colique, au niveau du cæcum et de l'appendice iléo-cæcal, et de faire des prélèvements. Si un polype est découvert, il est enlevé entièrement et sera analysé au laboratoire par histologie ; son exérèse diminue beaucoup le risque de cancer. La coloscopie n'est pas exempte de complications (saignement, perforation). Celles-ci sont heureusement rares. De plus, 6-12% des adénomes avancés (≥ 10 mm) et jusqu'à 5% des cancers pourraient échapper à la détection par cette technique (38). Ceci serait dû à des problématiques de préparation ou d'examens incomplets ou alors à l'histologie des lésions néoplasiques. En effet, il apparaît que certaines tumeurs du côlon droit emprunteraient une voie de carcinogenèse alternative, telle que la voie de l'adénome dentelé. Ces lésions sont généralement planes et recouvertes de mucus, ce qui rend leur diagnostic par coloscopie plus ardu (39).

II.7.2.3. Le colo-CT

Le colo-CT est en cours d'évaluation comme examen de dépistage. Il peut être proposé à des patients qui ne souhaitent pas la coloscopie optique ou chez qui une coloscopie complète n'a pu être menée à bien pour des raisons techniques. Des études récentes montrent que 90% des polypes supérieurs à 10 mm pourraient être identifiés par cet examen. On ignore la performance de cet examen dans le diagnostic des adénomes plans. Par ailleurs, le colo-CT nécessite une préparation similaire à la coloscopie. En cas de détection de polypes, une deuxième préparation pour une coloscopie optique sera nécessaire. Enfin, on notera la problématique de l'irradiation liée à l'examen et de la mise en évidence de lésions extra digestives asymptomatiques (incidentalomes) susceptibles de générer des investigations complémentaires (40).

II.7.2.4. Examen par vidéo-capsule du côlon

Cet examen a été comparé à la coloscopie dans une étude multicentrique européenne, portant sur 117 patients (41). La sensibilité et la spécificité pour le diagnostic de polypes supérieurs à 6 mm étaient de 84 et 64%, de 88 et de 95% pour les lésions supérieures à 10 mm.

L'examen par vidéo-capsule du côlon est tributaire d'une préparation parfaite du côlon. Il ne peut actuellement être recommandé comme examen de dépistage puisqu'il n'est, en aucun cas, remboursé par les caisses.

II.7.3. Diagnostic

Lorsqu'une personne présente les symptômes d'un CCR ou qu'une anomalie est décelée lors d'un examen médical (test de dépistage, coloscopie), un certain nombre d'examens doivent être réalisés afin d'établir un diagnostic.

Le diagnostic a plusieurs objectifs :

- ✓ Confirmer la présence d'un cancer
- ✓ Identifier le type de cancer dont il s'agit
- ✓ Trouver l'emplacement où le cancer a pris naissance
- ✓ Déterminer l'étendue du cancer (son stade)
- ✓ Élaborer un plan de traitement adapté

Deux étapes sont nécessaires pour obtenir un diagnostic précis et complet : un bilan initial et un bilan d'extension (42).

II.7.3.1. Le bilan initial

Le bilan initial a pour objectif de confirmer la présence d'un cancer, de le localiser et de définir de quel type de cancer il s'agit. Ce bilan comprend généralement une consultation avec un gastro-entérologue (durant laquelle le spécialiste interroge le patient et procède à un examen clinique), un examen de l'intérieur du côlon et du rectum (coloscopie, rectoscopie, toucher rectal), si la coloscopie n'est pas possible ou est incomplète, une coloscopie virtuelle (coloscanner) permettra d'observer les parois internes du côlon grâce à des images obtenues par scanner ceci sans entrer à l'intérieur ou la technique du lavement baryté en double contraste qui consiste à faire pénétrer de l'air en plus de la baryte dans le côlon afin d'effectuer une radiographie. Une biopsie sera prélevée au niveau du côlon ou du rectum pendant la coloscopie ou la rectoscopie, grâce à de petites pinces introduites dans l'endoscope. Tout ce qui est prélevé lors de la biopsie est ensuite envoyé dans un laboratoire d'anatomopathologie pour être analysé au microscope. Cette biopsie permettra de confirmer ou pas la présence des cellules cancéreuses. Si résultat biopsie positif, des analyses de sang sont également réalisées, notamment pour évaluer l'état de santé général du patient (NFS, clairance, créatinémie, bilirubinémie, transaminase, PAL, LDH...), dosage antigène carcino-embryonnaire (ACE), principal marqueur tumoral du CCR (42).

II.7.3.2. Le bilan d'extension

Le bilan d'extension a pour objectif de compléter le diagnostic. Il consiste à évaluer l'étendue du cancer, c'est ce qui permet de définir le stade du cancer. Pour cela, les médecins vérifient en particulier si des ganglions lymphatiques sont touchés par des cellules cancéreuses (42).

C'est l'examen anatomopathologique qui permet de le déterminer ; il peut être réalisé avant la chirurgie dans le cas des cancers du rectum ou après la chirurgie dans le cas des cancers du côlon. Pour vérifier si des métastases se sont développées dans d'autres parties du corps. Plusieurs examens d'imagerie peuvent être réalisés. Le plus souvent, il s'agit d'un scanner du thorax, de l'abdomen et de la région pelvienne, avec injection d'un produit de contraste. Parfois, une échographie de l'abdomen et de la région pelvienne ou une IRM du foie sont proposées. Dans le cas du cancer du rectum, une échographie endorectale ou une IRM rectale sont aussi réalisées. Plus rarement, après discussion en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP), une TEP-Scan (tomographie par émission de positons) peut compléter le bilan (42).

L'ensemble des examens du bilan diagnostique permet de recueillir le plus d'informations possible sur le cancer et de définir un plan de traitement adapté.

II.8. Traitements

Le choix du traitement du CCR dépend du stade, de la localisation du cancer et de l'état général du patient. Quand le cancer est détecté à un stade précoce, on le guérit (90 % de guérisons pour les stades I). Si le cancer est découvert tardivement, les chances de guérison sont beaucoup plus faibles (moins de 5 % de guérison au stade IV). Le premier traitement est la chirurgie, qui permet d'enlever la tumeur et les ganglions environnants « curage ganglionnaire ». Il s'agit du traitement curatif de référence du CCR, car seule la résection chirurgicale offre une possibilité de guérison. Cependant il existe d'autres possibilités thérapeutiques : la chimiothérapie (CT), « la radiothérapie (RT) pour les cancers du rectum », et la thérapie ciblée = biothérapie, qui peuvent aussi être utilisées, seules ou en association, en fonction des situations (43).

On peut être amené à réaliser une stomie (anus artificiel) afin de dériver les selles après une chirurgie ou en cas des complications « fistules, désunion anastomotique ou péritonite, occlusion ou perforation, ou l'impossibilité de conserver le sphincter anal ». Le côlon est abouché à la peau de l'abdomen, et les selles sont récupérées dans une poche. Dans le cadre d'un cancer du côlon ou du rectum, c'est souvent le côlon qui est uni à la peau de l'abdomen. On parle de colostomie. La stomie peut aussi être faite au niveau de l'iléon, qui désigne la dernière partie de l'intestin grêle avant le côlon « on parle alors d'iléostomie ».

Les traitements contre le CCR peuvent avoir différents objectifs, selon le traitement choisi et selon le stade du cancer (43) :

- ✓ Guérir le cancer en supprimant la totalité des cellules cancéreuses
- ✓ Empêcher le cancer de se développer et de se propager
- ✓ Réduire le risque de récurrence
- ✓ Améliorer le confort et la qualité de vie de la personne malade, en traitant les troubles causés par le cancer ou les traitements et en atténuant les symptômes liés à la maladie, comme la douleur.

II.8.1. Prise en charge du cancer du côlon

Les traitements proposés dans le cadre de la prise en charge du cancer du côlon dépendent du stade et de l'emplacement de la tumeur. La chirurgie et la CT sont les traitements les plus courants du cancer du côlon. On peut aussi avoir recours à la biothérapie et à la RT dans certains cas.

II.8.1.1. Cancer colique non métastatique

II.8.1.1.i Chirurgie

La chirurgie constitue le traitement de référence du cancer côlon. À moins d'une contre-indication particulière (âge, état général du patient...), elle est proposée à tous les stades de la maladie. L'intervention consiste à enlever la zone du côlon comprenant la tumeur ainsi qu'une marge de sécurité de 5 cm minimums autour de la tumeur afin de ne pas laisser de cellules cancéreuses en place. Suivie d'un curage ganglionnaire (réseau de ganglions) ou 12 ganglions lymphatiques minimums seront examinés. Cet examen permettra de déterminer le type et le stade de la tumeur mais aussi de rechercher une instabilité des microsatellites (MSI). L'MSI se caractérise par la variation anormale du nombre de séquences répétées dans l'ADN tumoral comparé à l'ADN du même patient provenant de tissu sain. L'MSI est retrouvé dans un cancer héréditaire du côlon, le syndrome de Lynch ou syndrome HNPCC (95 % des cas). Elle est aussi présente dans environ 15 % des cancers du côlon non héréditaires (ou sporadiques). Les patients ayant une tumeur de phénotype MSI ont une meilleure survie que les patients ayant une tumeur avec des séquences microsatellites stables (MSS). Le traitement adjuvant sera adapté en fonction de ces microsatellites (44). Le côlon n'étant pas un organe vital, il est possible de vivre normalement même si on en enlève une grande partie, voire la totalité. La zone retirée est plus ou moins importante selon la localisation de la tumeur et son degré d'avancement. Une fois la colectomie ou résection réalisée, le rétablissement de la continuité est assuré par une anastomose (suture) entre les deux segments restants.

II.8.1.1.ii Chimiothérapie ou traitement adjuvant

La CT est un traitement à base de médicaments qui visent à éliminer les cellules cancéreuses soit en les détruisant directement, soit en les empêchant de se multiplier. Elle peut être mise en place après une RCP de pathologie digestive, en complément de la chirurgie déjà effectué sur le patient. Car son utilité et son efficacité dépendent du stade du cancer, c'est-à-dire de son étendue. D'une manière générale, seuls les cancers qui se sont étendus au-delà de la paroi du côlon sont traités par CT (45).

Cancer du côlon stade 0 (Tis- N0- M0) : la chirurgie est le traitement standard du cancer du côlon de stade 0, résection effectuée lors d'une coloscopie ou endoscopie.

Cancers du côlon stade I (T1-T2-N0- M0 = sous-séreuse intacte) : la chirurgie peut suffire à elle seule à guérir le cancer. Le risque de propagation des cellules cancéreuses est très faible à ce stade et les traitements médicaux ne sont généralement pas utiles.

Cancers du côlon stade II (T3-T4 N0 M0= sous-séreuse(T3) ou dépassée (T4)) : en l'absence de facteurs de risque de récurrence ou tumeur de statut MSI, seule la chirurgie est recommandée. En présence de facteurs de risque de récurrence (tumeurs peu différenciées, T4, présence d'embolies veineux, périnerveux et lymphatiques, occlusion, perforation, nombre de ganglions examinés inférieurs à 12 ou d'une tumeur de statut MSS), la chirurgie et une CT adjuvante sont recommandées après discussion en RCP et avec le patient.

Exemple de protocole couramment utilisé (46) :

Fluorouracile (5-FU) en association avec la leucovérine ou acide folinique (**Lederfoline®**). Cette association rend le 5-FU plus efficace pour détruire les cellules cancéreuses. **FUFOL** faible (5-FU + acide Folinique) : administré par voie intraveineuse (IV) tous les jours pendant 5 jours.

LV5-FU2 (Acide folinique 200 mg/m² + 5-FU 400 mg/m² puis 1200 mg/m²) : traitement est administré sur 2 jours toutes les deux semaines avec évaluation après 4 cures (2 mois). Ces médicaments sont administrés en perfusion IV d'environ 2 heures, suivie d'une perfusion à votre domicile, sur 48 heures, par l'intermédiaire d'un diffuseur portable.

FOLFOX 4 (oxaliplatine 85 mg/m² **Eloxatine®** + **LV5-FU2**) : toutes les 2 semaines avec évaluation après 4 cures. Capécitabine **Xéloda®** = 2500 mg/m²/j (1250 mg/m² matin et soir), 2 semaines sur 3 (8 cycles = 24 semaines) avec évaluation après 3 cures.

Cancer côlon stade III (tous T N1-N2 M0) : Si des ganglions sont atteints par des cellules cancéreuses, une chirurgie plus une CT adjuvante sont recommandées pendant 6 mois et à débiter, si possible, avant le 42^{ème} jour après l'intervention. Exemple de protocole :

XELOX = (oxaliplatine 130 mg/m² **Eloxatine®** + Capécitabine **Xéloda®**) 2000 mg/m²/j (1000 mg/m² matin et soir) toutes les 3 semaines avec évaluation après 3 cures (2 mois). **FOLFOX 4**, Capécitabine **Xéloda®**, **LV5-FU2**. Les patients ne supportant pas la toxicité de l'**Eloxatine®** sont traités par la **LV5-FU2** ou par le **Xéloda®**.

Le cancer du côlon a tendance à se propager vers d'autres organes, comme le foie ou les poumons, plutôt que de réapparaître au même endroit. La RT n'est donc généralement pas indiquée pour traiter le cancer du côlon.

II.8.2. Prise en charge du cancer du rectum

Les traitements proposés dans le cadre de la prise en charge du cancer du rectum dépendent du stade et de l'emplacement de la tumeur. La chirurgie, La RT, dont la chimio-radiothérapie (RCT), sont les traitements les plus courants du cancer du rectum. On peut aussi avoir recours à la CT (sans RT) et à la biothérapie ciblée dans certains cas.

II.8.2.1. Cancer du rectum non métastatique

II.8.2.1.i Chirurgie

Le rectum sur le plan anatomique est divisé en trois parties en fonction de la distance par rapport à la ligne pectinée (ou bord supérieur du sphincter) :

- ✓ Bas rectum : 0 à 5 cm de la marge anale ou à 2 cm ou moins du bord supérieur du sphincter
- ✓ Moyen rectum : supérieur de 5 à 10 cm de la marge anale, ou supérieur de 2 à 7 cm du bord supérieur du sphincter
- ✓ Haut rectum : supérieur de 10 à 15 cm de la marge anale ou à plus de 7 cm du bord supérieur du sphincter

La chirurgie du cancer du rectum consiste à réaliser une exérèse rectale appelée aussi proctectomie associée à l'exérèse du mesorectum (permet d'éviter les récurrences). Ce tissu graisseux qui entoure le rectum et contient (les vaisseaux sanguins et les ganglions lymphatiques) peut aussi être envahi par la tumeur. En retirant le mesorectum, on réduit le risque de récurrence locale (47). Il existe différents types de chirurgie du cancer du rectum. Le type de chirurgie pratiqué dépend de la localisation de la tumeur et plus précisément de sa distance par rapport à l'anus. On distingue les tumeurs du haut rectum distant de 10 à 15 cm de l'anus, les tumeurs du moyen rectum (5 à 10 cm de l'anus) et les tumeurs du bas rectum (moins de 5 cm de l'anus).

II.8.2.1.ii *Traitements adjuvants ou néo-adjuvants*

La RT consiste à exposer les cellules cancéreuses d'une tumeur à des rayonnements ou radiations, tout en épargnant les tissus sains environnants, ce qui empêche leur multiplication et entraîne leur destruction. On parle « d'irradiation » de la tumeur. Il est recommandé que le traitement adjuvant (CT) des cancers du haut rectum soit identique à celui des cancers du côlon.

Dans le cadre de la prise en charge du cancer du rectum moyen et du bas rectum la RT, la RCT (la chimiothérapie sensibilise la tumeur à l'effet létal des rayons) sont couramment utilisés en pré-opératoire ou en post-opératoire. Le but des deux thérapies étant de diminuer le risque de récurrence locale, augmenter le taux de conservation sphinctérienne et d'améliorer le contrôle local. Cependant la RT ou la RCT pré-opératoire sont préférées à la RT ou la RCT post-opératoire en raison d'une meilleure observance, d'une plus faible toxicité et d'une plus grande efficacité sur le contrôle local (47).

Exemple de protocole possible en RT pré-opératoire (47) : La RT pré-opératoire diminue de moitié la fréquence des récurrences locales.

Protocole long : délivrant 45 Gy en fractions de 1,8 Gy par séance (25 séances au total), donc 5 séances par semaine pendant 5 semaines. La chirurgie est prévue 6 à 8 semaines plus tard, afin de laisser le temps à la RT de faire son effet.

Protocole court : délivrant 25 Gy en fractions de 5 Gy par séance (5 séances au total), donc 1 séance par jour pendant 5 jours. La chirurgie est prévue une semaine après.

La RT post-opératoire : **Protocole long**, délivrant 45 Gy en fractions de 1,8 Gy par séance (25 séances au total), donc 5 séances par semaine pendant 5 semaines après la chirurgie.

Le protocole de RCT pré-opératoire **FUFOL 45** (47) : RT à une dose de 45 Gy en fractions de 1,8 Gy par séance (25 séances au total), donc 5 séances par semaine pendant 5 semaines.

Capécitabine **Xéroda®** 800 mg/m² matin et soir par voie orale 5 jours/7 (option 7 jours/7) pendant 5 semaines en mêmes temps que la RT (pas le samedi et le dimanche) ou acide folinique 20 mg/m² + 5-Fluorouracile 350 mg/m² en bolus immédiatement, en perfusion de 20 mn de J1 à J5 et Reprise de J29 à J33 une heure avant la RT. Puis chirurgie prévue 6 à 8 semaines.

Le protocole de RCT post-opératoire (47) :

La chimiothérapie comporte une perfusion continue de 5-Fluorouracile (225 mg/m²/j en perfusion) ou de la capécitabine **Xéroda®** per os pendant toute la durée de la RT (protocole long) suivie éventuellement d'une CT adjuvante. La RCT post-opératoire n'est donc le plus souvent proposée que si elle n'était pas possible en pré-opératoire. Le protocole de RT courte, ne peut pas être associé à de la CT et ne peut être proposé qu'en pré-opératoire. Pour le cancer du rectum stade 0, la chirurgie seule est recommandée, en dehors des cas où le traitement endoscopique a été jugé suffisant après avis d'une RCP.

Cancer rectum du Stade I = T1-2 N0 M0 : seule la résection chirurgicale est recommandée. Sauf si traitement local pré-opératoire incluant la résection par voie trans-anale ou la RT exclusive ne peut être envisagée que dans le cadre d'un essai thérapeutique.

Cancer moyen et bas rectum stade II et III : tumeurs T3, N0, M0 et T1 à T3N+ résécables où tumeurs T4, M0 dont la résection R0 est incertaine. La RT ou la RCT pré-opératoire est recommandée pour les cancers T3-T4 du moyen et bas rectum. Elle peut être discutée en RCP pour les tumeurs du haut rectum sous péritonéales de stade II et III. Elle a pour but de rendre la tumeur T4 résécable.

III. LE LIEN ENTRE LE MICROBIOTE INTESTINAL ET LE CANCER COLORECTAL

III.1. Microbiote intestinal cancérigène

III.1.1. *Bacteroides fragilis* (*B. fragilis*)

III.1.1.1. Description

Les *Bacteroides* font partie des germes du microbiote intestinal, on les trouve à raison de 10^9 germes par gramme de selles. Les *Bacteroides* du groupe *fragilis* sont des bacilles en forme de « bâtonnet » à Gram négatif, non sporulés appartenant au règne Bacteria, à l'embranchement Bacteroidetes, à la classe et l'ordre des Bacteroidales, à la famille des Bacteroidaceae et au genre *Bacteroides*. La famille Bacteroidaceae constitue une famille très importante de bactéries anaérobies, en particulier au niveau du tractus intestinal. Ces bactéries ont en commun la particularité de ne pas utiliser l'oxygène comme accepteur d'électron, leur croissance pouvant même être inhibée en présence d'oxygène. Donc les *Bacteroides* du groupe *fragilis* ne se développent pas au contact de l'air, possèdent une capsule et ont la particularité de fermenter le glucose, on observe une forte croissance des *B. fragilis* en présence de la bile, absence de production d'indole (48).



Figure 12 : *Bacteroides fragilis* en milieu de culture (microscopie optique (coloration de Gram) et microscopie électronique) (49).

C'est l'espèce bactérienne anaérobie la plus fréquemment isolée chez l'homme lors d'infections des tissus mous. Les *Bacteroides* se reconnaissent facilement à l'action favorisante que la bile exerce sur leur croissance. Les personnes qui consomment de grandes quantités de viande, présentent des concentrations plus élevées de *Bacteroides* au niveau intestinal (50).

B. fragilis est le pathogène opportuniste le plus fréquent parmi les espèces du groupe *B. fragilis*, les autres espèces du groupe *fragilis* étant, (*B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*, *B. uniformis*, *B. acidifaciens*) (51,52). Il existe deux types de *B. fragilis* : *B. fragilis* entérotoxigène: « ETBF » et *B. fragilis* non toxigène « NTBF ». La propagation dans la circulation sanguine « bactériémie » est plus fréquente avec *B. fragilis* qu'avec toute autre bactérie anaérobie (52).

Les infections sont habituellement endogènes, causées par la propre flore intestinale du patient (51,52). Ces infections donnent lieu à des manifestations diverses : pleuro-pulmonaires, péritonéales, gynécologiques, pariétales ou septicémiques et abcès intra-abdominaux. Des études ont démontré que (*ETBF*) est également une cause potentielle de la diarrhée aiguë chez l'enfant et l'adulte (53).

Les *Bacteroides* produisent des bêta-lactamases qui inactivent les pénicillines et céphalosporines à l'exception des céphamycines. Les produits les plus actifs sont le métronidazole et ses dérivés ou la clindamycine (52).

III.1.1.2. Fréquence d'isolement de *B. fragilis* dans le CCR

Les souches d'*ETBF* ont été isolées pour la première fois chez des personnes atteintes de maladies diarrhéiques dans une étude non contrôlée en 1987 (54).

En raison de leur délicatesse, ils sont difficiles à isoler et sont souvent négligés. Leur isolement nécessite des méthodes appropriées de collecte, le transport, et la culture de spécimens. Le traitement est compliqué par trois facteurs : une croissance lente, la résistance aux agents anti-microbiens croissantes, et de la nature synergique polymicrobienne de l'infection. Bon nombre de cultures de souches de *Bacteroides* forment des colonies à pigmentation brune ou noire sur gélose au sang en raison d'une hydrolyse de l'esculine (55).

III.1.1.2.i Association de l'*ETBF* avec MII et le CCR

Trois études récentes, ont permis de mettre en lumière les conséquences néfastes, à long terme de la colonisation chronique d'*ETBF* (Tableau 3). Deux parmi les trois études établissent une corrélation entre *ETBF* et les patients atteints de maladie intestinale irritable (MII=IBD= irritable bowel disease) (56,57).

Reference (author, yr [reference no.])	Study design	Location	n	ETBF diagnostic method	Main results	Limitations
Prindiville et al., 2000 (88)	Endoscopy-based case series, with controls	University of California, Davis, Sacramento, CA	101 patients with IBD or diarrhea, 69 controls	Stool culture, HT29 cell assay, nested PCR for <i>bft</i> gene DNA extracted from stool	11/57 (19.3%) patients with active IBD were positive for ETBF by stool PCR vs 0/26 patients with inactive IBD ($P < 0.01$); 5/18 (27.8%) patients with diarrhea and 2/69 (2.9%) controls were ETBF positive by stool PCR ($P < 0.0005$); only 4.8% with IBD and 11% with diarrhea were ETBF positive by culture and HT29 cell assay	Limited study design details, including source of controls; stools were frozen for 2 weeks prior to analysis by culture; <i>B. fragilis</i> isolation rates not reported
Bassett et al., 2004 (7)	Endoscopy-based case series, with controls	London, United Kingdom	35 patients with IBD and 37 controls; control population included 19 patients with culture-negative diarrhea and 18 patients without diarrhea, all of whom were being investigated by endoscopy for abdominal pain or changes in bowel habits	Nested PCR for <i>bft</i> gene on DNA extracted from luminal washings or biopsies	Of 60 patients with luminal washings available for analysis, 10/28 (35.7%) "controls" (6/14 with diarrhea and 4/14 without diarrhea) and 8/32 (25%) IBD patients were ETBF positive; 7/25 (28%) patients with active IBD and 1/7 (14.3%) patients with inactive IBD were ETBF positive (difference not significant); 4/32 (12.5%) IBD patients and 6/33 (18.2%) controls with colonic biopsies were ETBF positive	Small study with limited details on control population; population defined as controls included patients with and without diarrhea; colonic biopsies and luminal washings were frozen for an unspecified time prior to analysis
Ulger et al., 2006 (113)	Prospective, consecutive case series with concurrent controls	Istanbul, Turkey	73 patients with colorectal cancer; 59 healthy controls (age and gender matched)	Stool culture, PCR for <i>bft</i> gene on fecal <i>B. fragilis</i> isolates	<i>B. fragilis</i> isolated from 77% of patients and 68% of controls (difference not significant); 21/56 (38%) patients and 5/40 (12%) controls were ETBF positive ($P = 0.009$)	Small cross-sectional study without full colon cancer risk factor analysis

Tableau 3 : Etudes démontrant l'association d'*ETBF* avec MII et le CCR (58).

Etant donné que la colonisation de l'*ETBF* chez les patients atteints du CCR n'a jamais fait l'objet d'une étude, la troisième étude a permis d'étudier la prévalence de l'*ETBF* dans les échantillons de selles des patients atteints du CCR par rapport à des patients n'ayant aucun antécédent (personnel ou familial ou de diagnostic) du CCR. Le but de cette étude était de trouver s'il existe une corrélation entre la production de la toxine *bft* et le développement du CCR.

III.1.1.2.ii Rôle possible de l'*ETBF* dans l'étiologie du CCR

Les échantillons de selles ont été recueillis auprès de 73 patients cancéreux qui ont été admis aux départements de chirurgie générale de l'hôpital de l'Université de Marmara et de l'hôpital de l'école de médecine militaire de Gulhane à Istanbul, en Turquie. Toutes les données concernant l'âge, le sexe, le stade du cancer et le score ASA (qui reflète l'état de santé général) ont été récupérées prospectivement. Au cours de la même période, 59 sujets sains, sans antécédents personnels ou familiaux de la maladie colorectale, dont l'âge et le sexe correspondaient aux patients cancéreux, ont été inclus dans l'étude comme témoins.

Les échantillons de selles ont été inoculés sur des géloses de *Bacteroides* bile Esculine Agar. Après incubation à 37°C pendant 2 à 4 jours dans une jarre anaérobie, plusieurs colonies de chaque gélose ont été testées pour leurs caractères anaérobies. Des anaérobies stricts ont été identifiés par des méthodes classiques sur la base des morphologies. Les isolats identifiés comme étant *B. fragilis* étaient, catalase positifs, indole négatifs et ne fermentaient pas l'arabinose, le rhamnose, le tréhalose, la salicine et le xylane (59). Les identifications ont ensuite été confirmées à l'aide du système API-20A.

Les colonies de *B. fragilis* ont été prélevées sur les boîtes de culture et mises en suspension dans 500 µL de tampon TES (50 mM Tris, pH 8, 50 mM EDTA, 50 mM NaCl). Puis, les cellules ont été lysées en ajoutant 10 mg de lysozyme / mL et en incubant à 37°C pendant 30 min, puis en ajoutant 10 mg de protéinase K / mL et en incubant à 65°C pendant 45 minutes. Une solution de SDS 20% p / v a été ajoutée et la solution a été incubée jusqu'à ce qu'elle soit translucide. Après trois traitements avec du phénol-chloroforme, la phase aqueuse a été recueillie. L'ADN a été récupéré par précipitation à l'éthanol et remis en suspension dans l'eau, essentiellement comme décrit précédemment (60).

Le gène de l'entérotoxine a été amplifié par PCR en utilisant l'amorce directe BF3, 5'-GAGCCGAAGACGGTGTATGTGATTTGT, et l'amorce inverse BF4, 5'-TGCTCAGCGCCCAGTATATGACCTAGT (61). La taille attendue du produit d'amplification était 400 pb. La PCR a été effectuée dans des volumes de 50 µL contenant 25 µL de mélange PCR Master 2 × (Fermentas, Burlington, Canada), 22 µL d'eau exempte de nuclease, 50 pmol de chaque amorce et 100 ng de matrice d'ADN. Les conditions de PCR comprenaient 94°C pendant 1 minute, suivies de 40 cycles de 45 secondes à 94°C, de 45 secondes à 52°C et de 45 secondes à 72°C, suivis de 7 minutes à 72°C, en utilisant une modification du protocole décrit par Pantosti et al (62). Les témoins de contrôle positifs et négatifs étaient respectivement la souche entérotoxigène NCTC 11295 et la souche non toxigène ATCC 25285. Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose, visualisés par éclairage UV après coloration avec du bromure d'éthidium et identifiés par comparaison avec des marqueurs de référence.

Au total, 73 cas de cancer avec un ratio homme / femme de (33 / 40) et 59 témoins de contrôle classés par âges avec un ratio homme / femme de (26 / 33) ont été inclus dans cette étude prospective. L'âge médian de la cohorte totale était de 63 ans (de 24 à 90 ans). Tous les cas de cancer et témoins de contrôle étaient de même origine ethnique (caucasien). Les stades du cancer étaient les suivants : 29 patients (40%) au stade I; 22 (30%) au stade II; et 22 (30%) au stade III. Aucun des cas de cancer ou des témoins de contrôle n'a eu d'antécédents de diarrhée (considéré comme un critère d'exclusion).

B. fragilis a été isolé dans 56 (77%) des 73 échantillons de selles des patients atteints de cancer et dans 40 (68%) des 59 échantillons de selles des témoins de contrôle. Ainsi, le taux d'isolement n'était pas statistiquement différent entre les deux groupes ($p > 0,05$). En revanche, le gène *Bacteroides fragilis toxin* (*bft*) a été détecté parmi les isolats de *B. fragilis* dans 21 (38%) des 56 échantillons de selles des patients atteints de cancer, contre seulement 5 (12%) des 40 échantillons de selles des témoins de contrôle. Ainsi, le taux de détection des gènes *bft* dans les isolats de *B. fragilis* chez des patients atteints du CCR était significativement plus élevé que dans les isolats des témoins de contrôle (risque relatif 4,16, IC 95% 1,39-12,43; $p 0,009$ tableau 4)

Groupe (<i>B. fragilis</i> -positif)	<i>bft</i> - isolats positifs <i>n</i> (%)	<i>bft</i> -négatif isole <i>n</i> (%)	RR (IC à 95%)	<i>p</i>
Patients atteints de cancer (<i>n</i> = 56)	21 (37,5)	35 (62,5)	4,16 (1,39-12,43)	0,009
Contrôles (<i>n</i> = 40)	5 (12,5)	35 (87,5)		
RR, risque relatif.				

Tableau 4 : Présence du gène *bft* dans les isolats de *B. fragilis* chez des patients cancéreux et des témoins de contrôle (63).

Les scores d'ASA et le stade du cancer n'étaient pas des facteurs significatifs de la positivité du gène *bft* parmi les cas de cancer (Tableau 5).

Disease status	<i>bft</i> -positive isolates n (%)	<i>bft</i> -negative isolates n (%)	p
Stage of cancer			
I	7 (32)	15 (68)	0.65
II	7 (41)	10 (59)	
III	7 (41)	10 (59)	
ASA			
I	6 (32)	13 (68)	0.87
II	9 (47)	10 (53)	
III	6 (33)	12 (67)	

ASA, American Society of Anaesthesiology score.

Tableau 5 : Détection du gène *bft* dans les isolats de *B. fragilis* aux différents stades de la maladie, comparé au score ASA (63).

Des analyses des relations possibles entre le gène *bft* et le cancer du côlon à ce jour ont été réalisées en utilisant des lignées cellulaires HT29 / C1 (64,65). Dans la présente étude, le taux de colonisation d'*ETBF* chez les patients atteints du CCR a été comparé à celui des sujets sans antécédents (personnels ou familiaux ou diagnostic) de la maladie colorectale. Les souches *ETBF* ont été isolées plus fréquemment chez les patients atteints du CCR que chez les témoins appariés (respectivement 38% et 12%, p 0,009). On constate que le stade du cancer et l'état de santé général des patients atteints de cancer n'est pas en corrélation avec l'isolement de *B. fragilis bft*-positifs. L'état de santé général de l'ensemble de la cohorte n'a pas été comparé, puisque les témoins appariés ont été choisis parmi des sujets sains et il était prévisible que l'état de santé des sujets témoins était supérieur à celui des patients cancéreux. Cependant, lorsque les scores de l'ASA des patients atteints de cancer ont été évalués, aucune différence n'a été trouvée entre les cas d'*ETBF* positifs et négatifs (Tableau 4).

Cette étude de corrélation entre l'*ETBF* et le CCR présente plusieurs limites, premièrement la taille de la cohorte étant trop petite. Deuxièmement, les données environnementales et les habitudes alimentaires ainsi que d'autres facteurs de risque tel que le tabagisme n'ont pas été recueillies chez les patients inclus dans cette étude (hors le CCR à une cancérogenèse multifactorielle). Troisièmement, le développement du CCR est un processus long.

Néanmoins le rôle de *bft* dans les processus multifactoriels de la cancérogenèse a également été étudié, car il clive l'E-cadhérine liée intracellulaire aux β -caténines par le biais de la fragilysine qui est une entérotoxine produite par certaines *ETBF*.

III.1.1.3. Caractère de pathogénicité cancérogène

La pathogénicité de *B. fragilis* est liée à sa capsule glucidique, aux protéines de la membrane externe et à la production d'enzymes spécifiques, y compris une entérotoxine récemment reconnue appelée fragilysine ou *bft* (66,67).

Cette toxine de type zinc-métalloprotéase de 20 kDa, est produite que par certaines sources de *B. fragilis* et il existe trois sous-types (*bft-1*, *bft-2* et *bft-3*) (68). Les souches qui produisent cette toxine sont dites entérotoxigènes (*ETBF*, *enterotoxigenic B. fragilis*) ; celles qui ne la produisent pas sont non toxigènes (*NTBF*, *non toxigenic B. fragilis*). Une augmentation de la prévalence de l'*ETBF* a été rapportée chez les patients atteints de CCR, comparativement à des sujets contrôles (69). De plus, la présence de l'*ETBF* est associée au stade de la maladie, cette bactérie est en effet retrouvée plus fréquemment au niveau des tissus tumoraux et sains des patients à des stades tardifs qu'aux stades précoces de la maladie (69). Plusieurs mécanismes d'action de la fragilysine ont été décrits et pourraient expliquer, au moins en partie, le potentiel carcinogène des *ETBF* (Figure 13).

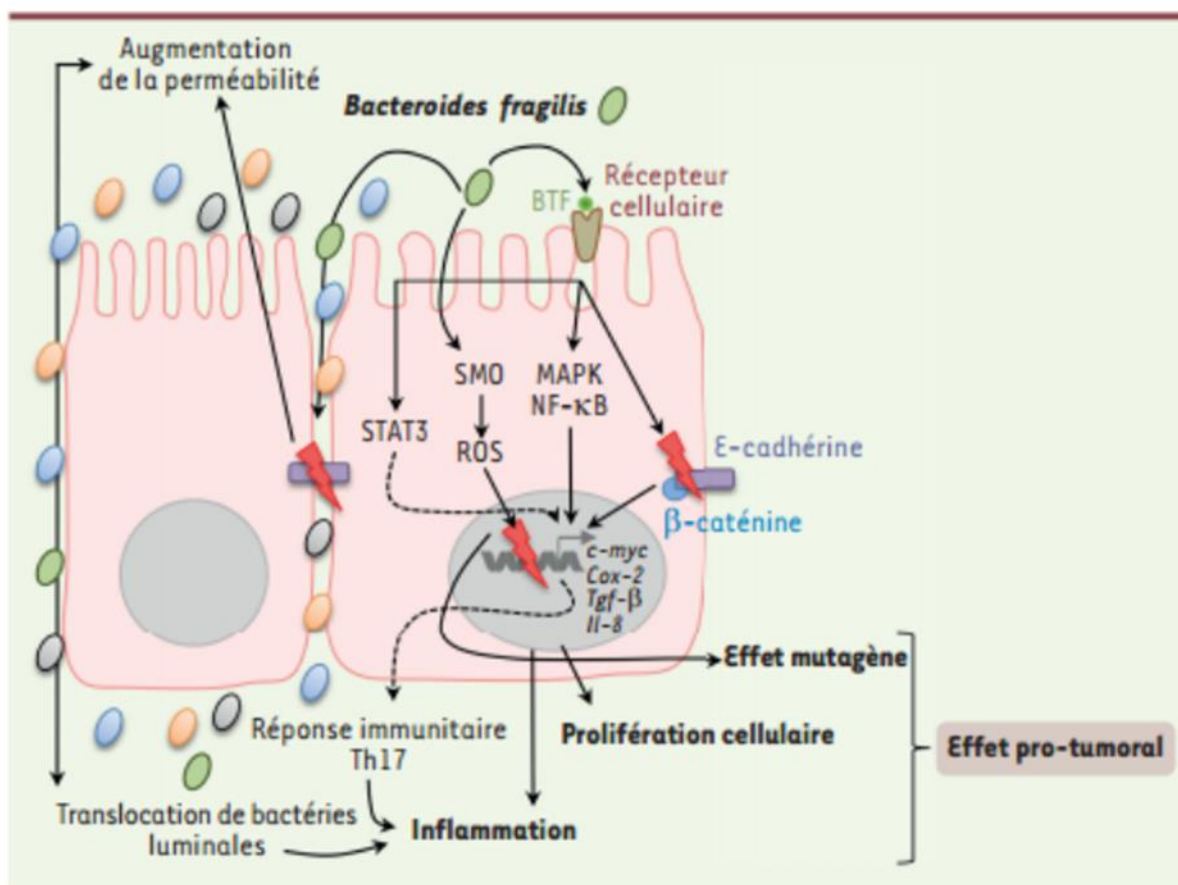


Figure 13 : Implication de *B. fragilis* dans la carcinogenèse colorectale (70).

La fixation de la fragilysine sur un récepteur, restant encore à identifier et exprimé au niveau des cellules épithéliales intestinales, induit l'activation des voies de signalisation MAPK(mitogen-activated protein kinases), NF-κB (nuclear factor-kappa B), STAT3(signal transducer and activator of transcription 3) et COX-2 (cyclo-oxygénase-2) et conduit à l'expression et la sécrétion de chimiokines/cytokines telles que le TGF-β (transforming growth factor beta) et l'IL-8 (interleukine-8), et de PGE2 (prostaglandine E2) ainsi qu'à la mise en place d'une réponse immunitaire de type Th (T helper) 17. La fragilysine conduit également au clivage de l'E-cadhérine, induisant la libération de la β-caténine dans le cytoplasme qui peut alors passer dans le noyau et activer la transcription de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire tels que l'oncogène c-myc. Le clivage de l'E-cadhérine conduit également à une diminution de la fonction barrière de la muqueuse colique, ce qui pourrait contribuer à l'exacerbation de l'inflammation.

Des propriétés mutagènes sont également attribuées aux *ETBF*, car ils sont capables d'induire l'expression de la spermine oxydase (SMO) qui est responsable de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) à l'origine de cassures double brin de l'ADN.

Les souches *ETBF*, toxigènes, productrices de fragilysine, sont capables d'induire une inflammation et la formation de tumeurs coliques dans un modèle génétique de CCR (les souris MinApc716+/- qui expriment un gène mutant codant une protéine Apc tronquée en position « acide aminé 716 ») (71). Cette induction résulte de l'activation, par la fragilysine, du facteur de transcription STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) avec pour conséquence la mise en place d'une colite qui se caractérise par une réponse immunitaire sélective de type Th17 (réponse lymphocytaire T helper 17), connue pour être associée à un mauvais pronostic dans le CCR (71).

Les *ETBF* stimulent la prolifération cellulaire et la résistance à l'apoptose. En effet, en se fixant sur un récepteur, qui est à ce jour inconnu, la fragilysine induit le clivage de l'E-cadhérine, impliquée à la fois dans les complexes de jonctions et d'adhésion cellulaire, et la séquestration cytoplasmique de la β -caténine (72). Libérée dans le cytoplasme, la β -caténine passe dans le noyau des cellules et active l'expression de gènes comme c-myc, un oncogène impliqué dans le contrôle de la prolifération cellulaire. La fragilysine pourrait également participer au développement tumoral en favorisant la survie des cellules tumorales. En effet, la stimulation in vitro de cellules par cette toxine induit une augmentation de l'expression de la protéine inhibitrice de l'apoptose cIAP2 (cellular inhibitor of apoptosis protein 2) qui dépend de la cyclooxygénase COX-2 (73). La fragilysine pourrait aussi participer activement aux anomalies génétiques des cellules tumorales. En effet, in vivo, cette toxine induit au niveau des cellules épithéliales coliques, des dommages à l'ADN, ce qui pourrait conduire à l'accumulation de mutations (74).

III.1.2. *Escherichia coli* (*E coli*)

III.1.2.1. Description

E. coli également appelée colibacille est un commensal du tube digestif de l'homme et des nombreux animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin (espèce aérobie dominante) à raison de 10^8 germes par gramme de selles (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme). *E. coli* ou *colibacille* est un organisme procaryote et appartenant au règne Bacteria, à l'embranchement Proteobacteria, à la classe Gamma Proteobacteria, à l'ordre des Enterobacteriales et à la famille des Enterobacteriaceae. *E. coli* étant le nom binominal appartient au genre *Escherichia*, cette grande famille d'entérobactéries entre dans le tractus digestif durant les premières heures ou jours suivant l'accouchement et ils constitueront les espèces bactériennes les plus dominantes de la flore aérobie intestinale tout au long de la vie d'un individu. *E. coli* est un bacille Gram négatif radio-résistant, en forme de bâtonnet, coccobacillaire ou filamenteuse (dans les vieilles souches) et non sporulée. Sa taille varie selon le milieu dans lequel elle est cultivée mais reste à une taille assez courte (2 à 3 μm) (75,76).

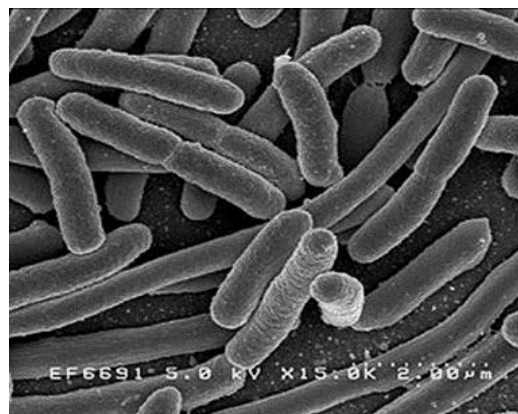


Figure 14 : *Escherichia coli* en milieu de culture (microscopie optique (coloration de Gram) et microscopie électronique) (77).

E. coli est sans doute l'organisme vivant le plus étudié à ce jour : en effet, l'ancienneté de sa découverte et sa culture aisée (division cellulaire toutes les 20 minutes à 37°C dans un milieu riche) en font un outil d'étude de choix. C'est une bactérie qui ne possède pas de désaminase, ce qui l'exclut des genres *Proteus*, *Morganella* et *Providencia* (typiquement ex-tribu des Proteae). *E. coli* a la particularité de fermenter le glucose par la voie des acides mixtes (rouge de méthyle +, VP -) ce qui l'exclut des genres *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia* et *Serratia* (typiquement groupe des KEHS, ex-tribu des Klebsiellae). On a également une fermentation du glucose en voie fermentative (création de gaz dans un tube Durham), production d'indole à partir du tryptophane (Indole +++), réduction des nitrates en nitrites : NO²⁻.

La pathogénicité d'*E. coli* résulte d'un processus multifactoriel, les techniques modernes de la biochimie, de la génétique, de la biologie moléculaire et de la microbiologie cellulaire ont permis d'identifier et d'analyser les mécanismes impliqués dans l'interaction des *E. coli* pathogènes avec leur hôte. Ainsi on a pu établir que certaines souches « spécialisées » d'*E. coli* sont associées à des pathologies très diverses (y compris extra-intestinales), tant chez l'homme que chez l'animal ; diarrhées, gastro-entérites, infections urinaires, méningites, septicémies, « maladie des hamburgers », le syndrome hémolytique et urémique etc. Malgré la diversité des affections provoquées par les souches d'*E. coli* pathogènes, toutes ces souches utilisent une stratégie classique d'infection, commune à de nombreux autres agents pathogènes. On distinguera les *colibacilles*, hôtes normaux de l'intestin, ne provoquant normalement pas de maladie. Mais possédant un potentiel pathogène qu'ils expriment dans certaines circonstances (pathogènes opportunistes). Par pénétration par la voie urétrale ascendante (contiguïté) dans l'arbre urinaire, et responsable des trois quarts des infections urinaires et par essaimage à point de départ digestif (cholécystite suppurée, péritonite, septicémie). En plus de ces pathovars extra-intestinales (ExPEC), on dénombre plusieurs pathovars au sein d'*E. coli*, dont la nomenclature est dépendante du pouvoir pathogène (75,76).

***E. coli* entérotoxigènes (ETEC) :** provoque diarrhée aqueuse aiguë avec déshydratation chez les enfants en bas âge (moins de 3 ans), est aussi responsables de la diarrhée des voyageurs ou turista. Ils sont aussi une cause fréquente de diarrhées néonatales souvent fatales chez les animaux d'élevage (veau, agneau, porcelet).

***E. coli* entéropathogènes (EPEC)** : responsables des gastro-entérites infantiles (GEI), chez les nourrissons en bas âge la maladie prend une allure grave et épidémique (surtout et presque uniquement en milieu hospitalier). Il s'agit de diarrhées avec déséquilibre de la balance ionique.

***E. coli* entéroinvasifs (EIEC)** : responsables des syndromes dysentériques caractérisés par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées, accompagnés d'une diarrhée aqueuse qui évolue rapidement en une dysenterie (selles contenant du sang et du mucus).

***E. coli* à adhésion diffuse (ADEC)** : Les ADEC sont essentiellement responsables des pathologies extra-intestinales (infections urinaires : cystites, pyélonéphrites). Cependant, les études menées ont démontré que selon la tranche d'âge, les ADEC pourraient également induire des signes cliniques intestinaux (diarrhée).

***E. coli* adhérents et invasifs (AIEC)** : impliqué dans certaines pathologies dont la maladie de Crohn (maladie inflammatoire chronique intestinale).

***E. coli* entérohémorragiques (EHEC)** : responsables des colites hémorragiques, Les EHEC produisent une verotoxine (ou Shiga-toxine) qui peut entraîner un syndrome hémolytique et urémique (SHU). Des intoxications à EHEC se sont déclarées à la suite de l'ingestion de viande contaminée et insuffisamment cuite (hamburger).

***E. coli* entéroaggrégants (EAEC)** : ils sont de plus en plus reconnus comme étant responsables de retard de croissance et de diarrhées persistantes dans les pays en voie de développement ainsi que dans les pays industrialisés (75,76).

III.1.2.2. Fréquence d'isolement d'*E. coli* dans le CCR

E. coli pathogène pourrait être un cofacteur dans la pathogenèse du CCR. Afin de démontrer l'hypothèse selon laquelle *E. coli* serait impliqué dans la pathogenèse du CCR, des chercheurs ont mené une étude. Le but de cette étude était de comparer la colonisation bactérienne de la muqueuse colique chez des patients dépistés pour un CCR à des témoins non cancéreux (diverticulose). Étant donné qu'*E. coli* représente la majorité des bactéries aérobies cultivables dans le côlon et est positivement sélectionné pour l'inflammation chronique (78), l'analyse a été limitée à *E. coli*. Deux paramètres d'*E. coli* ont été étudiés, *E. coli* associés à la muqueuse et internalisés dans la muqueuse chez les patients atteints du CCR, et chez des patients recevant une opération due à une diverticulose, une pathologie intestinale non tumorale.

III.1.2.2.i Rôle possible d'*E. coli* dans l'étiologie du CCR

Patients et spécimen de résection

Les patients atteints de cancer du côlon résectable (n = 50) et de diverticulose non compliquée (témoins non cancéreux; n = 33) ont été inclus prospectivement dans l'unité digestive chirurgicale de Clermont-Ferrand (France) entre mars 2007 et juillet 2010. Tous les patients avaient signé un consentement éclairé.

Les patients atteints de diverticulose ont été opérés pour prévenir toute récurrence inflammatoire au moins 10 semaines après un épisode de diverticulite.

Les critères d'exclusion comprenaient une CT néo-adjuvante, des antécédents de résection antérieure du côlon, une chirurgie d'urgence et l'utilisation d'antibiotiques dans les 4 semaines précédant la chirurgie. Les données cliniques ont été recueillies à partir de dossiers médicaux et sont résumées dans les (Tableaux 6 et 7).

Le ratio sexe (H / F) était de 1,22 et 0,74 pour les patients atteints de cancer du côlon et de diverticulose, respectivement. La tranche d'âge était de 35 à 95 ans pour les patients atteints de cancer (âge médian, 70 ans) et de 34 à 81 ans pour les témoins (âge médian, 58 ans). Il est à noter que, le groupe diverticulose comprenait des sujets plus jeunes que le groupe du CCR (Tableau 6).

		Patients atteints d'un cancer du côlon	Les patients atteints de diverticulose
Patients, n		50	33
Âge		70,5 ± 11,4	58,0 ± 11,9 ^b
Sexe, homme / femme		28/22	13/20
Présence de <i>E. coli</i> associée au côlon, n (%)			
Mucosa	Oui	45 (90)	29 (88)
	Non	5 (10)	4 (12)
Tumeur ^a	Oui	41 (93)	
	Non	3 (7)	
Présence de <i>E. coli</i> intériorisée par le colon, n (%)			
Mucosa	Oui	27 (54)	16 (48)
	Non	23 (46)	17 (52)
Tumeur ^a	Oui	38 (86) ^c	
	Non	6 (14)	
Présence de souches de <i>E. coli</i> phylotype B2			
	Oui	31 (65) ^d	13 (39)
	Non	17 (35)	20 (61)
Présence d'cyclomodulin positif de <i>E. coli</i> souches			
	Oui	26 (60) ^e	6 (26)
	Non	17 (40)	17 (74)

Tableau 6 : Données cliniques provenant des patients atteints de cancer du côlon et de diverticulose, recherche d'*E. coli* associés à une muqueuse ou internalisé (79).

↪ a Six sont indéterminés.

↪ b P = 0,03.

↪ c P < 0,0002; tumeur versus muqueuse des patients atteints de cancer du côlon ou de diverticulose.

↪ d P = 0,04; à la fois dans la muqueuse et les tumeurs des patients atteints de cancer du côlon par rapport à la diverticulose.

↪ e P = 0,01; à la fois dans la muqueuse et les tumeurs des patients atteints de cancer du côlon par rapport à la diverticulose.

		TNM status		
		I	II	III/IV
Number of patients ^a , n		14	15	19
Presence of <i>E. coli</i> , n (% of patients)	No	3 (21%)*	1 (7%)	1 (5%)
	Yes	11 (79%)	14 (93%)	18 (95%)
Phylogroup, n (% of patients)	A	6 (43%)	2 (13%)	6 (32%)
	B1	5 (36%)	4 (27%)	4 (21%)
	B2	6 (43%)	12 (80%) ^c	13 (68%) ^c
	D	5 (36%)	4 (27%)	5 (26%)
Cyclomodulin-positive strain ^b , n (% of patients)	+	5 (45%)	9 (64%) ^c	12 (67%) ^c
	-	6 (55%)	5 (36%)	6 (33%)
<i>pks</i> -positive strain, n (% of patients)	+	4 (36%)	8 (57%) ^d	9 (50%) ^d
	-	7 (64%)	6 (43%)	9 (50%)

Tableau 7 : Caractéristiques des souches d'*E. coli* isolées des échantillons de cancer du côlon en fonction du stade TNM (79).

↵ a Indéterminé pour 2 patients (un patient avec une tumeur de stade I et un autre avec une tumeur de stade III).

↵ b La présence de gènes codant pour les cyclomodulines CNF, CDT, CIF, et colibactine (îlot *pks*) a été analysé.

↵ c $P < 0,05$.

↵ d $P < 0,05$.

* $P < 0,05$

La chirurgie a été réalisée par laparotomie ou laparoscopie. Aucun des patients n'a reçu de préparation intestinale mécanique avant la chirurgie. Tous les patients ont reçu de la céfoxitine (2g iv) au moment de l'incision. Un échantillon de muqueuse macroscopiquement normale (absence de diverticules) a été recueilli chez les patients atteints de diverticulose et un fragment non normotroïde provenant des zones périphériques de la tumeur a été prélevé chez les patients atteints de cancer du côlon. Parallèlement, des échantillons frais de muqueuses normales adjacentes à la tumeur (à 10 cm de la tumeur) ont été prélevés chez des patients atteints de cancer du côlon.

Analyses microbiologiques

Des spécimens (tumeur, muqueuse normale) ont été immédiatement traités pour l'analyse de la colonisation d'*E. coli* associée à la muqueuse et internalisé, comme décrit précédemment (80). Les caractéristiques génotypiques (typage phylogroupe et présence de gènes codants les cyclomodulines) de ces souches d'*E. coli* ont été évaluées par PCR, et l'expression des cyclomodulines a été déterminée en évaluant un effet cytopathogène spécifique sur des cellules HeLa épithéliales cultivées (80).

En plus de l'analyse microbiologique, les chercheurs ont procédé à une analyse pathologique. Pour les patients atteints de cancer du côlon, les tumeurs ont été classées selon la septième classification AJCC / Union pour le contrôle international du cancer (UICC) des tumeurs ganglions métastases (stade TNM). Chez les patients atteints de diverticulose, l'étendue de l'inflammation des muqueuses (congestion de la muqueuse ou de la sous muqueuse, ulcérations, infiltration polynucléaire ou abcès) et la présence des polypes ou des tumeurs ont été évaluée.

Analyses statistiques

Les comptages des colonies bactériennes parmi plusieurs populations de maladies ont été comparés en utilisant l'analyse non paramétrique de Kruskal-Wallis suivie du post-test de Dunn. Le test exact de Fisher ou analyse X^2 a été utilisé pour comparer la proportion d'échantillons de patients positifs pour *E. coli* dans de multiples populations de maladies. Des tests t de Student non appariés et des tests de Mann-Whitney ont été utilisés pour des comparaisons de 2 groupes, le cas échéant (normalité vérifiée par le test de Shapiro-Wilk et homoscedasticité par le test de Fisher-Snedecor). Tous les tests ont été réalisés en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5 STATA (StataCorp) ou R (<http://cran.r-project.org/>). Les valeurs de $P < 0,05$, ont été considéré comme statistiquement significatives.

Au total 50 patients avec adénocarcinome (22 échantillons proximaux et 28 distaux) et 33 avec diverticulose ont été inclus prospectivement. Une inflammation aiguë ($n = 5$) ou chronique ($n = 6$) a été observée chez 11 patients atteints de diverticulose. Aucun des patients atteints de diverticulose n'a présenté de signes de transformation néoplasique ou de polypes adénomateux.

E. coli associée à la muqueuse a été détecté à 88% sur les échantillons provenant des patients atteints de diverticulose, contre 90% et 93% provenant respectivement des échantillons des zones adjacentes à la tumeur (10 cm de la tumeur) et des zones périphériques à la tumeur chez les patients atteints du CCR (Tableau 6). On constate une augmentation significative de la concentration d'*E. coli* associée à la muqueuse tumoral (cancer du côlon) par rapport à la muqueuse saine provenant des patients atteints de diverticulose et des patients atteints du CCR ($P = 0,01$ et $P < 0,001$, respectivement, Figure.15A). *E. coli* internalisée à la muqueuse a été détecté à 48% sur les échantillons provenant des patients atteints de diverticulose, contre 54% et 86% provenant respectivement des échantillons des zones adjacentes à la tumeur (10 cm de la tumeur) et des zones périphériques à la tumeur chez les patients atteint du CCR ($P < 0,0002$). De plus, le nombre d'*E. coli* internalisée était significativement augmenté dans les tissus issu des zones tumorale (cancer du côlon) comparé aux muqueuses saines provenant des patients atteints de diverticulose et les patients atteints du CCR ($P < 0,001$, Figure. 15B).

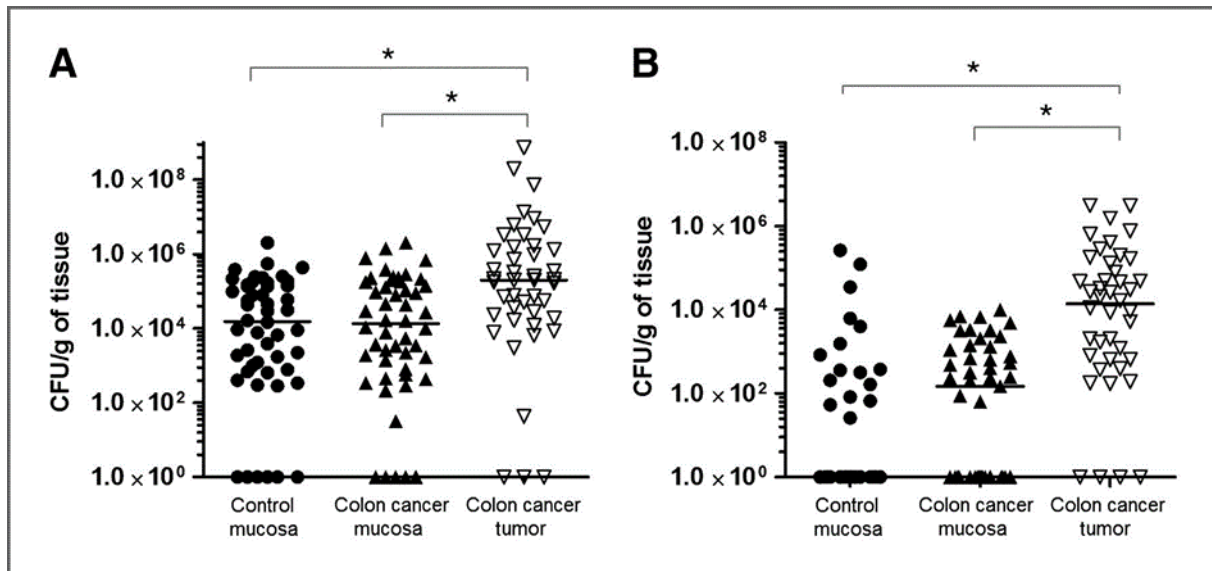


Figure 15 : *E. coli* associée à la muqueuse et internalisée est significativement augmentée dans les tumeurs cancéreuses du côlon. Quantification des *E. coli* associées au côlon (A) et internalisées (B) dans la muqueuse colique normale des patients atteints de diverticulose et de cancer du côlon, ainsi que la muqueuse tumorale des patients atteints de cancer du côlon. *, $P < 0,05$ (79).

La colonisation par *E. coli* associée et internalisée a été évaluée en fonction des données cliniques des patients. Le sexe et l'âge des patients atteints de diverticulose et de cancer du côlon n'ont pas influencé la colonisation par *E. coli* associée et internalisée.

La colonisation a été associée au stade TNM et à chaque paramètre séparément (T, N). Étant donné le faible nombre de patients présentant une métastase ($n = 3$), l'analyse statistique n'a pas été effectuée dans cette catégorie. La colonisation par *E. coli* associée était significativement augmentée dans la muqueuse normale éloignée de la tumeur à des stades avancés (stades III / IV) par rapport au stade I ($P < 0,01$, Figure 16A). Aucune variation significative des bactéries internalisées n'a été observée par rapport aux stades TNM (données non montrées). Lorsque chaque paramètre de la classification TNM a été considéré, la colonisation par des *E. coli* associées à la muqueuse a augmenté de façon significative dans la muqueuse tumorale des patients atteints de tumeur localement avancée (T3 et T4; $P = 0,004$) et la diffusion lymphatique (N + ; $P = 0,03$; Figure 16B et 16C). En ce qui concerne les *E. coli* internalisées, on constate une augmentation dans la muqueuse non tumorale des patients atteints de tumeurs avancées (T3 et T4) par rapport à la tumeur non invasive (T1 et T2, $P = 0,045$, Figure 16D).

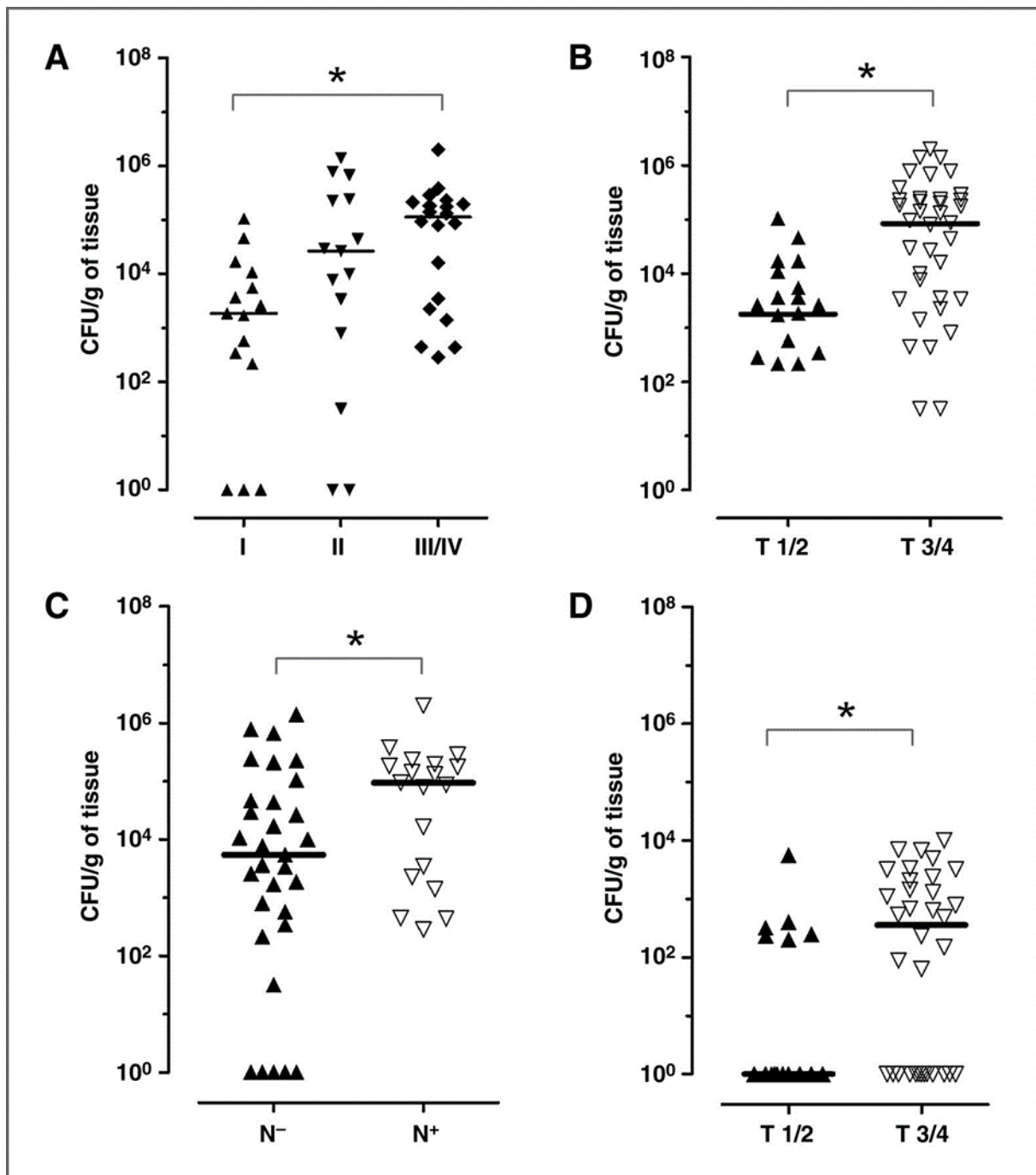


Figure 16 : Relation significative entre la colonisation de la muqueuse par *E. coli* et la classification des stades TNM ou ses paramètres T et N. (A) *E. coli* associée à la muqueuse en fonction du stade TNM (d'après la classification TNM de l'AJCC / UICC). (B) et (C), *E. coli* associée à la muqueuse en fonction du statut T (B) ou N (C). (D), *E. coli* internalisée par la muqueuse en fonction du statut T. *, $P < 0,05$ (79).

Une recherche plus étendue a été faite afin de voir s'il existe une corrélation entre les différentes caractéristiques des souches d'*E. coli* et le stade du cancer du côlon (classification TNM). Il est à noter que les sous-cultures congelées de bactéries associées aux muqueuses chez deux patients, l'un avec le TNM de stade I et l'autre avec le stade III, n'étaient pas viables. Aucun *E. coli* n'a été isolé chez 21%, 7% et 5% des patients ayant des tumeurs de stade I (3 sur 14), II (1 sur 15) et III / IV (1 sur 18), respectivement (Tableau 7). Dans la plupart des cas, des clones similaires de souches d'*E. coli* ont été trouvés dans la muqueuse normale et le tissu tumoral des patients atteints de cancer du côlon et la plupart des souches provenaient du phylogroupe B2.

Il faut savoir que l'analyse phylogénétique des souches d'*E. coli* a permis d'isoler plusieurs groupes phylogénétiques majeurs (A, B1, B2, D...). Et les souches d'*E. coli* appartenant au groupe phylogénétique B2, ont la particularité d'être plus virulent que les autres souches appartenant aux phylogroupes A, B1 et D.

Fait intéressant, la proportion d'*E. coli* appartenant au phylogroupe B2 et colonisant la muqueuse tumorale, a significativement augmentée chez les patients atteints de stade II (80%) et III / IV (68%) de la maladie par rapport au stade I (43%, $P < 0,05$; Tableau 7). Le stade TNM n'était pas associé à d'autres phylogroupes, comme indiqué précédemment pour le tissu tumoral (80). Les souches d'*E. coli* hébergeant des gènes codants pour les cyclomodulines (CDT, CIF et CNF) et l'îlot pks étaient significativement plus fréquemment observées dans la muqueuse normale des patients atteints de cancer du côlon 26 / 43 (60%, $P = 0,01$,) par rapport aux patients atteints de diverticulose 6 / 23 (26%) (Tableau 6). La proportion des souches d'*E. coli* positifs à la cyclomoduline, colonisant la muqueuse tumorale était significativement plus élevée chez les patients TNM stade II (64%) et III / IV (67%) que chez les patients stade I (45%; $P < 0,05$ voir Tableau 7). La présence de phylogroupe B2 ou d'*E. coli* positif à la cyclomoduline n'a pas influencé le niveau global de colonisation par *E. coli* au niveau de la muqueuse normale ou muqueuse tumorale.

En conclusion de cette étude, une augmentation du taux d'*E. coli* associée à la muqueuse et internalisée a été observée dans les tumeurs par rapport au tissu normal. Le fort taux d'*E. coli*, est probablement dû au fait que la tumeur induirait une modification des propriétés de la muqueuse, avec pour conséquence une perte de la barrière au niveau de la muqueuse. La polarité des cellules épithéliales ainsi que l'expression d'antigènes de surface anormaux chez les patients cancéreux, favorisent l'adhésion et l'internalisation des bactéries dans la tumeur. Les souches d'*E. coli* positifs à la cyclomoduline pathogène (appartenant au groupe phylogroupe B2) sont plus fréquentes sur les muqueuses des patients avec un stade III / IV que celles avec un cancer du côlon de stade I. Toutes ces données sur la muqueuse humaine suggèrent qu'*E. coli* pathogène pourrait favoriser le développement d'une forme agressive de carcinome aux premiers stades de la transformation entérocytaire par l'intermédiaire d'un agent génotoxique de la cyclomoduline tel que la colibactine, qui induit des réactions inflammatoires chroniques.

III.1.2.2.ii Développement du CCR induit par *E. coli*

Des chercheurs français ont réalisé une étude publiée en 2016, le but de la recherche était de définir les mécanismes moléculaires ou cellulaires, induit par *E. coli* sur une muqueuse colique, utilisant comme technique d'exploration l'imagerie optique. Pour évaluer l'activité métabolique de la tumeur, les chercheurs ont choisi d'utiliser un analogue de fluorodésoxyglucose comme sonde fluorescente, la 2-déoxyglucosone qui est corrélée avec le volume tumoral (mm^3). L'inflammation mesurant l'activité myéloperoxydase (MPO) et la production d'espèces réactives de l'oxygène a été surveillée par une sonde d'inflammation bioluminescente (BLI) et liée à l'examen histologique et au niveau de MPO par dosage immuno-enzymatique (ELISA) sur des échantillons tumoraux.

Modèles xénogreffe (HCT116)

Les cellules de CCR (HCT116) ont été maintenues en monocouche dans des flacons de culture en utilisant un milieu de culture constitué du milieu 5a de McCoy (Modifié) additionné de FCS 10% , 2 mmol / L de glutamine et 1% d'antibiotiques. Toutes les cellules ont été cultivées à 37°C dans un incubateur humidifié contenant 5% de CO_2 .

Des xénogreffes du CCR humain ont été utilisées chez des souris nues mâles (Nu / Nu suisse), pesant 26 et 33 grammes au moment de l'injection (7 semaines, Charles Rivers). Les souris nues femelles ont été exclues afin d'éviter une éventuelle influence hormonale. Un total de 10 souris mâles nues ont été divisées en deux groupes : xénogreffe témoins non infectée (n = 5) et xénogreffe infectées par *E. coli* pks-positif (n = 5). Selon la xénogreffe infectée, des cellules HCT116 ont été mélangées avec *E. coli* pks-positif comme décrit précédemment par COUGNOUX et al (81). Auparavant, les bactéries étaient cultivées à 37°C dans le milieu de Luria-Bertani. *E. coli* pks-positif est une souche d'*E. coli* résistante à l'ampicilline et à la kanamycine nommée 11G5, isolée chez un patient atteint de cancer du côlon et précédemment présentée par Bonnet et al (82). Les modèles de xénogreffes ont été établis à partir des cellules épithéliales d'adénocarcinome du côlon humain (HCT116). Les animaux ont été anesthésiés par inhalation d'isoflurane, et ensuite inoculés avec 2×10^6 cellules HCT116 intégrées dans le facteur de croissance réduite (Becton Dickinson) Matrigel par injection sous-cutanée dorsale au jour 0 de l'expérience.

La taille de la tumeur a été évaluée deux fois par semaine et le volume de la tumeur a été obtenu selon la formule suivante: $(\text{largeur}^2 \times \text{longueur}) / 2 = V \text{ (mm}^3\text{)}$. Le diamètre le plus long (L) et le diamètre maximal (W) perpendiculaires à la direction du plus grand diamètre ont été déterminés en utilisant un étrier. Les souris ont été sacrifiées à 35 jours après l'injection, et la xénogreffe a été prélevée chez tous les animaux et soumise à un examen histologique et à un test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Activité métabolique du modèle xénogreffe (HCT116)

Dans les modèles nude greffée HCT116, les chercheurs constatent une élimination systémique rapide de la sonde fluorescente 2-désoxyglucosone avec une très faible absorption du corps entier 180 min après l'injection de la sonde Figure 17A. De plus, une prise de vue de la tumeur spécifique (HCT116) a été mise en évidence pour chaque tumeur post-greffe au 17^{ème} et 24^{ème} jour. L'augmentation de l'intensité du signal au fil du temps, est le reflet de la croissance tumorale. L'absorption de la tumeur par le signal fluorescent 2-désoxyglucosone était significativement ($P = 0,0036$) en corrélation avec le volume tumoral Figure 17B.

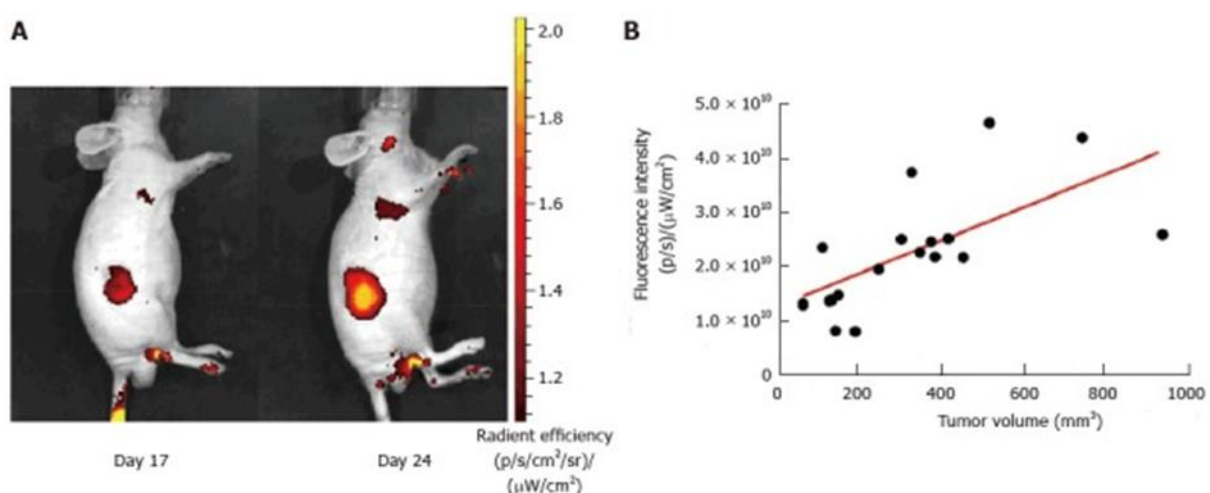


Figure 17 : Corrélation du volume tumoral (xénogreffe des cellules HCT116) et absorption du signal de fluorescence 2-DG-750. A : Image représentative d'une souris montrant l'augmentation de l'intensité du signal de fluorescence en fonction du développement tumoral (jour 17 et jour 24 post-xénogreffe); B : Corrélation entre le développement tumoral (volume tumoral) et l'augmentation de l'intensité du signal de fluorescence (facteur de corrélation de Pearson $r = 0,4197$; $P = 0,0036$) (83).

***E. coli* Pks-positive in vivo induit une inflammation dans le modèle xénogreffe (HCT116)**

En utilisant la sonde d'inflammation, toutes les souris nues ont été photographiées au 20^{ème} et 34^{ème} jour après la xénogreffe. Les chercheurs ont détecté une élimination systémique rapide chez toutes les souris et un fort signal BLI dans les tumeurs HCT116 dans le groupe infecté 10 min après l'injection de la sonde (Figure 18A et 18B). Les Figures 18A et 18B montrent clairement que l'intensité du signal de BLI (de luminance moyenne en $p / s / cm^2$) a été plus forte dans les xénogreffes infectées par les souches pathogènes d'*E. coli* pks-positif par rapport à celles non infectées à chaque point de temps étudiée (20^{ème} et 34^{ème} jour après la xénogreffe). La quantification a confirmé une augmentation significative du signal BLI dans les tumeurs infectées correspondant au 20^{ème} jour ($P = 0,0132$, figure 18C) Et au 34^{ème} jour ($P = 0,0006$, figure 18D) après la xénogreffe.

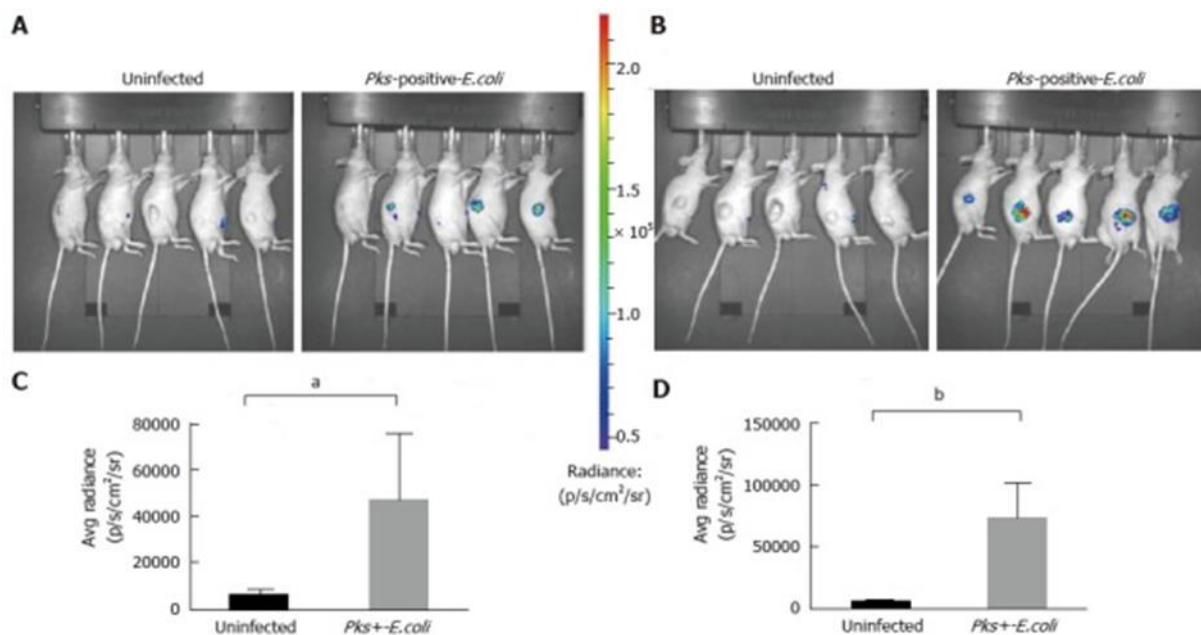


Figure 18 : Mesure de l'inflammation dans les tumeurs HCT116 infectées par des souches d'*E. coli*, par imagerie optique (sonde d'inflammation).

In vivo l'imagerie BLI a été réalisée au 20^{ème} jour (A) et au 34^{ème} jour (B) post-xénogreffe chez les souris nues HCT116 ($n = 5$ animaux avec des xénogreffes non infectées; $n = 5$ animaux xénogreffe infectées par *E. coli* pks-positif). Les images BLI comparant les xénogreffes non infectées et infectées par *E. coli* pks-positif sont indiquées au jour 20 (A) et au jour 34 (B) post-xénogreffes. L'intensité de l'émission est représentée par l'image pseudo-colorée. Une forte augmentation du signal BLI a été observée dans le groupe xénogreffe infecté par *E. coli* pks-positif à chaque point de temps. Le signal BLI détecté 10 min après l'injection de la sonde ip a été quantifié à partir du dessin manuel de la ROI. Le flux de photons était exprimé en radiance moyenne en $p / s / cm^2 / sr$. Graphes montrent une augmentation statistiquement significative du signal BLI dans les tumeurs infectées par *E. coli* pks-positif : jour 20, $P(a) = 0,0132$ (C) et jour 34, $P(b) = 0,0006$ (D). BLI: Bioluminescent. Ip : intrapéritonéale (83).

En conclusion *E. coli* augmente la prolifération des cellules cancéreuses colorectales et le développement tumoral dans le modèle xénogreffe HCT116.

III.1.2.3. Caractère de pathogénicité cancérogène

La pathogénicité d'*E. coli* dans le CCR, est liée aux génotoxines produites par cette dernière. La diversité de la population d'*E. coli* s'observe en premier lieu par une organisation de l'espèce en plusieurs groupes phylogénétiques majeurs (A, B1, B2, D, E...) (84). Les souches d'*E. coli* qui colonisent les patients atteints du CCR appartiennent majoritairement aux phylogroupes B2 et D qui regroupent majoritairement les *E. coli* pathogènes (85). Ces souches d'*E. coli* sont pour la plupart productrices des génotoxines (cyclomodulines et colibactine), ces toxines sont capables d'induire des dommages à l'ADN et ainsi perturber le cycle cellulaire des cellules eucaryotes. La communauté scientifique s'est, pour l'instant, principalement focalisée sur l'étude du rôle joué par la colibactine dans le CCR (86). Ainsi on observe une forte pré-valence de souches hébergeant l'îlot génomique « pks », qui porte des gènes codants des polykétides synthases (PKS) et des peptides synthases non-ribosomiques (NRPS) impliqués dans la synthèse de cette génotoxine, associée au CCR (87).

Les bactéries produisant la colibactine peuvent induire in vitro et in vivo des cassures double brin de l'ADN, avec pour conséquences potentielles l'accumulation d'aberrations chromosomiques et une augmentation de la fréquence des mutations génétiques (Figure 19) (88). La colibactine est un composé instable qui n'a pas été purifié à ce jour. Cependant, un intermédiaire de sa synthèse, bien qu'incapable de casser l'ADN, est capable d'alkyler l'ADN et d'induire des liens inter-brins (89).

La cyclomoduline CNF (Cytotoxic Necrotizing Factor) qui est une protéine d'environ 115 kDa organisée en trois domaines fonctionnels, a été décrite initialement par le chercheur Caprioli et ses collaborateurs en 1983. Ces protéines sont regroupées en trois variantes CNF-1, CNF-2 et CNF-3. CNF-1 et CNF-3 sont codés par des gènes chromosomiques alors que CNF-2 est codé par un gène plasmidique (90).

Les souches EPEC ont un système de sécrétion de type III requis pour les changements caractéristiques d'attachement et d'effacement qui modifient le cytosquelette et la surface apicale des cellules hôtes. La capacité d'attachement et d'effacement est codée sur un îlot de pathogénicité connu sous le nom de lieu d'effacement des entérocytes (LEE) qui est composé de 41 cadres de lecture ouverts (91). Le LEE code les différents gènes esp (EPEC-secreted protein), ainsi Les gènes espA, espB et espD codent pour des protéines sécrétées par ce système qui peuvent former un appareil de translocation pour la délivrance de molécules effectrices dans des cellules hôtes (92). La protéine EspF est également codé par le LEE via le système de sécrétion de type III.

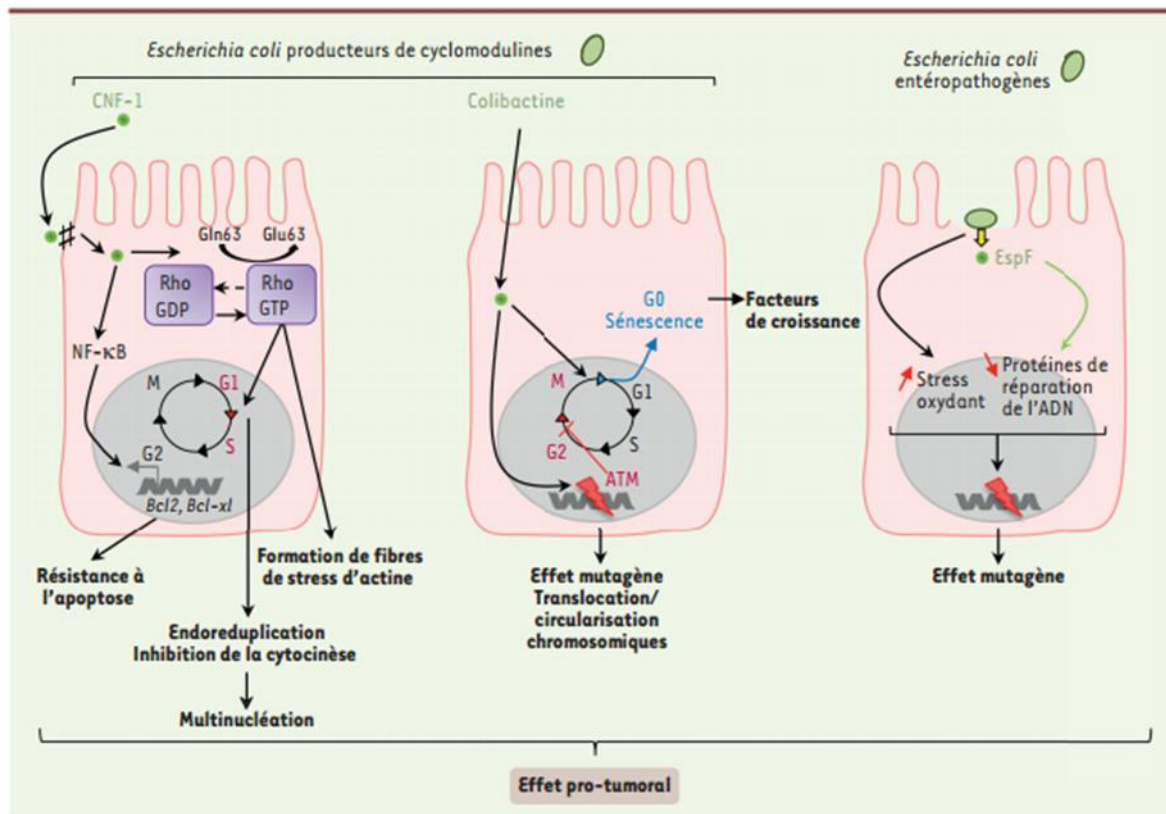


Figure 19 : Implication d'*E. coli* dans la carcinogénèse colorectale (70).

Les *E. coli* producteurs de colibactine induisent des cassures double brin de l'ADN, qui seront à l'origine d'importants remaniements chromosomiques, tels que des translocations et la formation de chromosomes circulaires, conduisant à un arrêt du cycle cellulaire en phase G2. Par ailleurs, les cellules infectées par des *E. coli* producteurs de colibactine, peuvent sortir du cycle cellulaire et entrer en sénescence. Cela s'accompagne de la sécrétion de facteurs de croissance qui soutiennent le développement tumoral. La toxine CNF-1 (cytotoxic necrotizing factor) se lie au niveau des jonctions serrées des cellules hôtes qui l'internalisent par endocytose. Dans le cytoplasme, CNF-1 induit la désamination du résidu glutamine des GTPases (enzymes qui lient et hydrolysent le GTP, guanine triphosphate) de la famille Rho, ce qui conduit à l'apparition de fibres de stress d'actine, une endo-réduplication de l'ADN ainsi qu'une inhibition de la cytokinèse induisant une multi-nucléation. L'activation de la voie NF-κB (nuclear factor-kappa B) par cette toxine induit l'activation de l'expression des gènes Bcl2 (B-cell lymphoma 2) et Bcl-xl (B-cell lymphoma-extra large) induisant la résistance à l'apoptose des cellules. Les souches EPEC sont capables d'augmenter la fréquence de mutations spontanées dans les cellules hôtes en altérant notamment l'expression de protéines de réparation de l'ADN MMR (mismatch repair) par l'induction d'un stress oxydant et par l'action post-transcriptionnelle d'un effecteur bactérien sécrété, EspF (*E. coli* secreted protein F). ATM : monobactames.

III.1.3. *Fusobacterium*

III.1.3.1. Description

Fusobacterium est un genre bactérien filamenteux, anaérobies ne formant pas de spores, étroits, aux extrémités effilées, ou pléomorphes. Il est Gram négatif, identiques aux *Bacteroides* (93).

Les souches présentent une coloration irrégulière. *Fusobacterium* appartient au règne Bacteria, à l'embranchement Fusobacteria, à la classe Fusobacteria, à l'ordre Fusobacteriales et à la famille Fusobacteriaceae. Les *Fusobacterium* ont un puissant lipopolysaccharide (LPS) qui est un composant essentiel de la paroi bactérienne des bactéries à Gram négatif, c'est une endotoxine. Les espèces du genre *Fusobacterium* font partie de la flore normale de l'oropharynx, du tube digestif et des voies génitales (94). Les infections peuvent survenir après un trauma chirurgical ou accidentel, un œdème, une anoxie, la destruction de tissus et des morsures d'animaux (94).

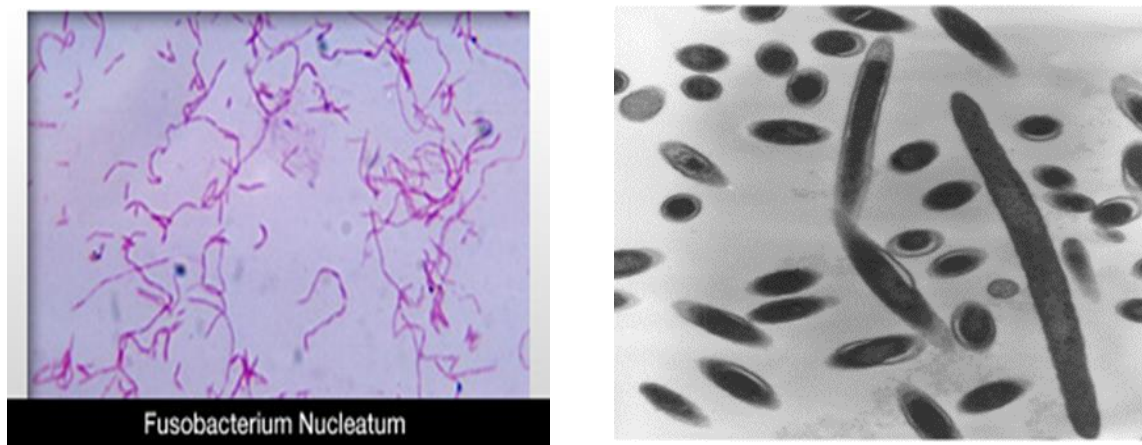


Figure 20 : *Fusobacterium nucleatum* en milieu de culture (microscopie optique (coloration de Gram) et microscopie électronique) (95).

Les *Fusobacterium* seront incriminer dans plusieurs pathologies chez l'homme, notamment les maladies parodontales, le syndrome de Lemierre, des ulcères cutanés tropicaux. Différentes espèces sont suspectées dans le développement du CCR. Les espèces pathogènes du genre *Fusobacterium* les plus courantes sont :

Fusobacterium necrophorum est l'espèce la plus virulente, et elle peut causer des infections graves chez les enfants et les jeunes adultes (pharyngo-amygdalite) (94). Elle est couramment isolée dans des abcès péri-amygdaliens. Elle est aussi associée au syndrome de Lemierre, lequel est caractérisé par une thrombophlébite septique aiguë de la veine jugulaire, souvent compliquée d'un sepsis et d'abcès métastatiques dans les poumons, le foie, les articulations et les cavités pleurales. *F. necrophorum* peut conduire à une forme compliquée, de la méningite, compliquée par une thrombose des veines cérébrales (96), et l'infection des voies urogénitales et des voies gastro-intestinales (97).

Fusobacterium polymorphum est une bactérie qui a été isolé du sulcus gingival de l'homme, et a été impliqué dans l'immunopathologie des maladies parodontales. Elle a aussi été isolée chez les cobayes dans des études de recherche (98).

Fusobacterium nucleatum est une bactérie essentiellement orale invasive, adhérente et inflammatoire, souvent impliquée dans différentes infections mixtes chez les humains et les animaux. Elles sont impliquées dans diverses formes de maladies parodontales, y compris la forme réversible légère de la gingivite et les formes irréversibles avancées de parodontites, y compris la parodontite chronique, la parodontite agressive localisée et généralisée parodontite agressive (99,100). Elle est fréquemment associée à des infections endodontiques telles que la nécrose pulpaire et la parodontite péri-apicale (101,102).

Elle est associée à des complications de la grossesse (chorioamniotite, rupture prématurée des membranes, pré-éclampsie, fausse couche, retard de croissance intra-utérin, faible poids de naissance, enfant mort-né, septicémie néonatale), à des maladies cardiovasculaires (détecté dans les plaques d'athérosclérose), à l'arthrite rhumatoïde, à la maladie d'Alzheimer, aux appendicites, aux maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) et au CCR. On la trouve également dans divers pathologies telles que le syndrome de Lemierre, l'anévrisme cérébral rompu, infections des voies respiratoires et abcès d'organes.

Une augmentation, d'au moins deux fois, de la prévalence des bactéries appartenant au genre *Fusobacterium* a été observée au niveau de prélèvements (muqueuse rectale, fèces, tumeurs) chez des patients atteints du CCR, comparativement aux patients de contrôles avec une muqueuse adjacente saine (103).

III.1.3.2. Fréquence d'isolement *F.nucleatum* dans le CCR

Une augmentation de la colonisation par *Fusobacterium* est observée chez les patients présentant un CCR qui est en relation avec les stades d'avancement de la maladie. Un certain nombre d'informations permettant de comprendre le rôle de *Fusobacterium* dans le CCR sont aujourd'hui disponible. Dans un modèle murin de CCR (souris ApcMin/+, c'est-à-dire hétérozygotes pour une mutation dans le gène suppresseur de tumeur Apc), l'administration par voie orale de *F. nucleatum* accélère le développement tumoral en induisant, notamment, l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , du facteur pro-tumoral COX-2, ainsi qu'en favorisant l'infiltration des tumeurs par des macrophages présentant un phénotype M2 pro-tumoral (104). Cependant il existe des hypothèses selon lesquels *F. nucleatum* présent dans les tissus du CCR, serait un facteur de mauvais pronostic. Etant donné que des preuves suggèrent que *F. nucleatum* peut contribuer à la progression de la maladie et est associée au CIMP et à MSI dans le CCR. On a également d'autres marqueurs KRAS, BRAF, PIK3A et miR-31. Dans cette étude les chercheurs ont étudié la présence de *F. nucleatum* dans les lésions colorectales pré-malignes (HP, SSA, TSA et Adénome non dentelé) et dans les tissus du CCR. Les lésions néoplasiques colorectales pré-cancéreuses semblent être des précurseurs importants de la pathogenèse du CCR. En particulier la voie néoplasique dentelée, qui semblent être une voie alternative de développement du CCR et les lésions dentelées présentent des caractéristiques clinicopathologiques et moléculaires uniques (105,106).

III.1.3.2.i Rôle possible de *F. nucleatum* dans l'étiologie du CCR

Analyses des types histologiques des tumeurs colorectales

Deux pathologistes aveugles à l'information clinique et moléculaire, ont réalisé une évaluation histopathologique de tous les échantillons de tumeur colorectale. Les lésions dentelées (HP, SSA et TSA) ont été classées sur la base des critères actuels de l'OMS (107). Les HPs ont été subdivisées en HP micro-vésiculaires et HP en cellules caliciformes. Afin de minimiser le biais de sélection, les échantillons de tissu tumoraux ont été fixés au formol et inclus dans la paraffine (FFPE) pour chaque type histologique. Au total, 1044 échantillons tissulaires de lésions pré-cancéreuses [HP (N = 138), SSA (N = 129), TSA (N = 102), adénomes non dentelées (N = 131) et de lésions cancéreuses (N = 544)] ont été obtenus des patients ayant subi une résection endoscopique ou un autre traitement chirurgical à l'hôpital universitaire de médecine de Sapporo, à l'hôpital Keiyukai Sapporo ou à l'hôpital JR Sapporo entre 2001 et 2013.

Toutes les HPs étaient micro-vésiculaires. Un consentement éclairé a été obtenu de tous les patients avant la collecte des échantillons.

Extraction d'ADN et PCR quantitative pour *F. nucleatum*

L'ADN génomique a été extrait à partir du tissu FFPE en utilisant le kit de tissu QIAamp DNA FFPE. Utilisation des ensembles d'amorces / sondes TaqMan spécifiques à *F. nucleatum*. Le seuil de cycle (Ct), les valeurs de *F. nucleatum* ont été normalisées au transporteur de prostaglandine (PGT) dans chaque réaction (108,109). Le logiciel SDS v1.4 a été utilisé pour l'analyse comparative des seuils de cycle (ΔCt).

Extraction de l'ADN et pyroséquençage des mutations KRAS, BRAF et PIK3CA et analyse MSI

En utilisant l'ADN génomique extrait, la PCR et le pyroséquençage ciblé ont été effectués pour KRAS (codons 12 et 13), BRAF (V600E) et PIK3CA (exon 9 ou 20) comme décrit précédemment (110,111). MSI a été réalisée comme décrit précédemment (111). Traitement au bisulfite de sodium et PCR en temps réel, pour mesurer la méthylation du promoteur de CACNA1G, CDKN2A (p16), IGF2, MLH1 et RUNX3. Modification bisulfite de l'ADN génomique a été réalisée en utilisant l'ADN BisulFlash™ kit de modification (112). Mesure de la méthylation de l'ADN dans quatre promoteurs spécifiques CIMP [CACNA1G, CDKN2A (p16), IGF2 et RUNX3] et MLH1 utilisant PCR en temps réel (112).

Extraction d'ARN et transcription inverse-PCR quantitative (RT-PCR) de microARN-31

L'ARN total a été extrait des tissus FFPE en utilisant le kit miRNeasy FFPE (110). L'expression de MicroRNA-31(miR-31)-5p a été analysée par RT-PCR quantitative en utilisant le kit de transcription inverse MicroRNA TaqMan et des dosages de micro-ARN TaqMan comme décrit précédemment (110). U6 petit ARN nucléaire (snARN, RNU6B, Applied Biosystems) a servi de contrôle endogène. Définition des groupes à forte expression de miR-31 comme le quatrième niveau (Q4) dans le quartile comme décrit précédemment (110,112).

Analyses statistiques

Le logiciel JMP (version 10) a été utilisé pour toutes les analyses statistiques. Les valeurs p étaient bilatérales. Les valeurs de p ont été calculées en utilisant ANOVA (analyse de variance) ou test t pour l'âge, la taille de la tumeur et les niveaux d'expression de *F. nucleatum* et par un test X^2 ou le test exact de Fisher pour toutes les autres variables. Les valeurs de p pour la signification ont été ajustées par la correction de Bonferroni à $p = 0,0050 (= 0,05 / 10)$.

Expression de *F. nucleatum* dans les lésions cancéreuses

Pour vérifier si *F. nucleatum* est présent dans les lésions colorectales dentelées et pour identifier le rôle de *F. nucleatum* dans le stade précoce de la tumorigenèse. Sur un total de 1044 échantillons 976 ont réagi positivement au test d'expression génique TaqMan. Donc sur 544 échantillons de tissu de CCR, 511 était positive au test. Parmi les 511 échantillons de CCR, on note la présence de *F. nucleatum* dans 286 échantillons qui seront classés selon, une faible ou une forte expression (Figure 21).

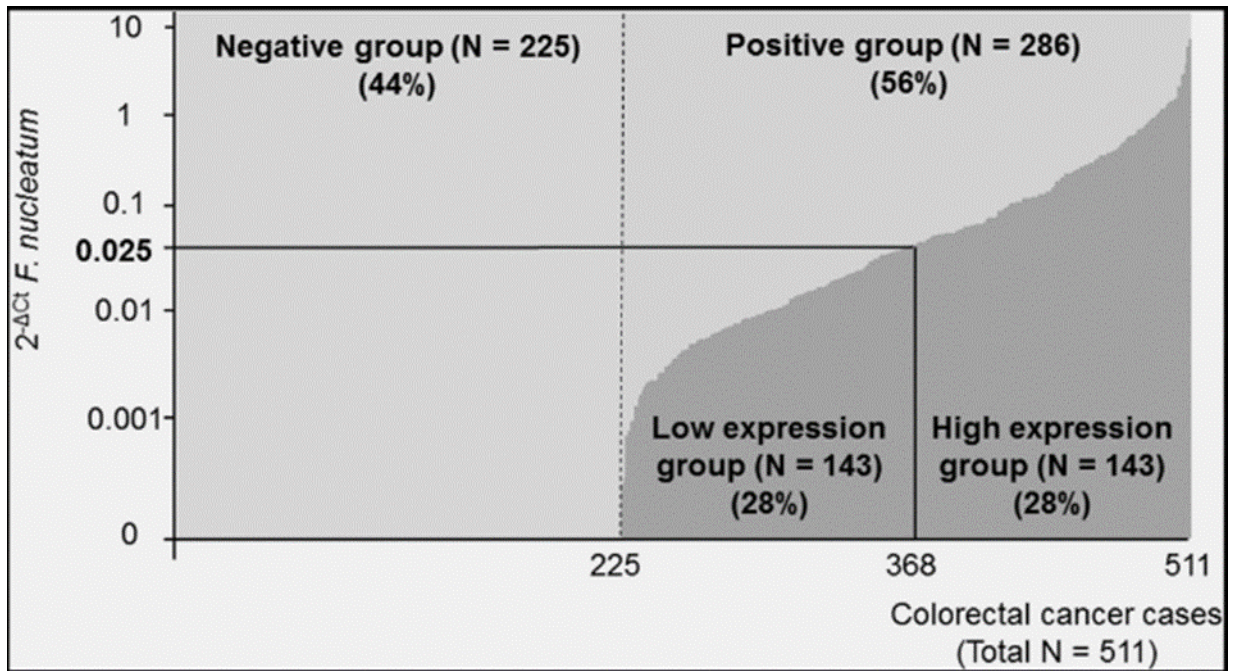


Figure 21 : Expression de *F. nucleatum* chez 511 patients atteints de CCR.

Parmi les lésions de CCR, on observe une positivité de *F. nucleatum* dans 286 échantillons de CCR. Avec un nombre médian de présence de *F. nucleatum* dans les échantillons de $25,1 \times 10^{-3}$ (intervalle interquartile, $2,5 \times 10^{-3}$ - $186,7 \times 10^{-3}$) (113).

Expression de *F. nucleatum* dans les lésions dentelées et les adénomes non dentelées

Sur les 500 échantillons (lésions dentelées et adénomes non dentelées), 465 seront positives au test d'expression génique, avec une positivité de *F. nucleatum* décrite dans la (Figure 22). On constate que la forte expression de *F. nucleatum* est rare dans les lésions colorectales pré-malignes (1,7%, 8/465). Il n'y avait pas de différence significative dans la positivité de *F. nucleatum* entre les différents groupes histopathologiques ($p = 0,25$).

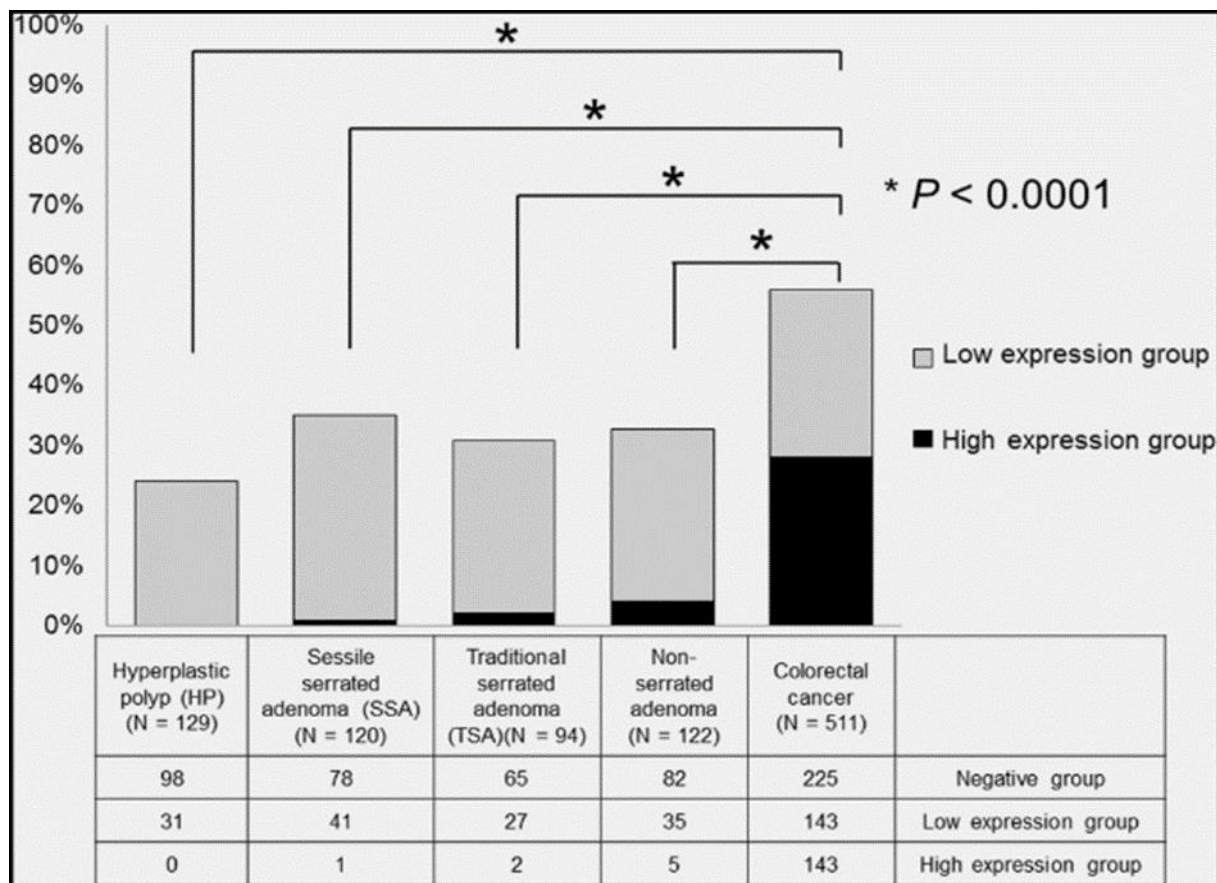


Figure 22 : Expression de *F. nucleatum* dans HP (N = 129), SSA (N = 120), TSA (N = 94), adénome non dentelée (N = 122) et dans les lésions de CCR (N = 511).

La positivité de *F. nucleatum* (forte expression et faible expression) a été détectée dans 24% des HP, 35% des SSA, 30% des TSA, 33% des adénomes non dentelées et 56% des lésions de CCR. La fréquence de positivité de *F. nucleatum* dans n'importe quel type histologique des lésions pré-malignes colorectale était significativement plus faible que celle rencontré dans les lésions de CCR (tous $p < 0,0001$). HP: polype hyperplasique; SSA: adénome dentelée sessile; TSA: adénome dentelée traditionnel (113).

Association entre la positivité de *F. nucleatum* et les caractéristiques clinicopathologiques et moléculaires des lésions dentelées et des adénomes non dentelées

La positivité de *F. nucleatum* a été détectée plus fréquemment dans les lésions pré-cancéreuses à haut CIMP (lésions dentelées et adénomes non dentelées, que dans les lésions CIMP-faibles / zéro. La fréquence de positivité de *F. nucleatum* dans n'importe quels types histologiques des lésions colorectales pré-malignes était significativement plus faible que dans les lésions de CCR (tous $p < 0,0001$; Figure 22). Après la stratification des lésions pré-cancéreuses et des lésions de CCR par localisation tumorale, mutation BRAF, méthylation MLH1 et statut CIMP, la fréquence de la positivité de *F. nucleatum* dans les lésions pré-cancéreuses était significativement plus faible que dans les lésions de CCR ($p \leq 0,0021$, Tableau 8).

Caractéristiques cliniques et moléculaires		Statut de <i>F. nucleatum</i>	Type histologique					P
			HP (N = 129)	SSA (N = 120)	TSA (N = 94)	Adénomes non dentés (N = 122)	CRC (N = 511)	
Emplacement de la tumeur	Côlon distal (rectum à flexion splénique)	Négatif	46 (74%)	14 (88%)	39 (70%)	41 (68%)	161 (47%)	<0.0001
		Positif	16 (26%)	2 (12%)	17 (30%)	19 (32%)	179 (53%)	
	Le côlon proximal (transverse du côlon au caecum)	Négatif	52 (79%)	64 (62%)	26 (68%)	36 (67%)	64 (38%)	
		Positif	14 (21%)	40 (38%)	12 (32%)	18 (33%)	106 (62%)	
Mutation <i>BRAF</i>	Type sauvage	Négatif	52 (76%)	10 (59%)	20 (69%)	81 (67%)	216 (45%)	<0.0001
		Positif	16 (24%)	7 (41%)	9 (31%)	40 (33%)	267 (55%)	
	Mutant	Négatif	46 (75%)	68 (66%)	45 (69%)	1100%	9 (32%)	
		Positif	15 (25%)	35 (34%)	20 (31%)	0 (0%)	19 (68%)	
<i>MLH1</i> méthylation	Non-méthylé	Négatif	95 (76%)	64 (63%)	63 (68%)	73 (66%)	186 (46%)	<0.0001
		Positif	30 (24%)	37 (37%)	29 (32%)	38 (34%)	217 (54%)	
	Méthylé	Négatif	3 (75%)	14 (74%)	2 (100%)	9 (82%)	22 (31%)	
		Positif	1 (25%)	5 (26%)	0 (0%)	2 (18%)	50 (69%)	
Statut CIMP	CIMP-faible / zéro	Négatif	92 (77%)	43 (69%)	62 (74%)	75 (67%)	203 (46%)	<0.0001
		Positif	27 (23%)	19 (31%)	22 (26%)	37 (33%)	240 (54%)	
	CIMP-élevé	Négatif	6 (60%)	35 (60%)	3 (30%)	7 (70%)	13 (27%)	
		Positif	4 (40%)	23 (40%)	7 (70%)	3 (30%)	36 (73%)	

Tableau 8 : Expression de *F. nucleatum* en fonction des types histologiques néoplasiques colorectales par rapport à la, mutation *BRAF*, méthylation *MLH1* et le statut CIMP (113).

Expression *F. nucleatum* dans les tissus du CCR et la muqueuse colorectale normale

Étude de la présence de *F. nucleatum* dans les tissus du CCR et les tissus normaux appariés. Pour cela dix spécimens ont été choisis au hasard parmi les CCR à positivité élevée de *F. nucleatum*. La positivité de *F. nucleatum* dans les tissus du CCR était significativement plus élevée que dans la muqueuse colorectale normale appariée ($p = 0,0002$, Figure 23).

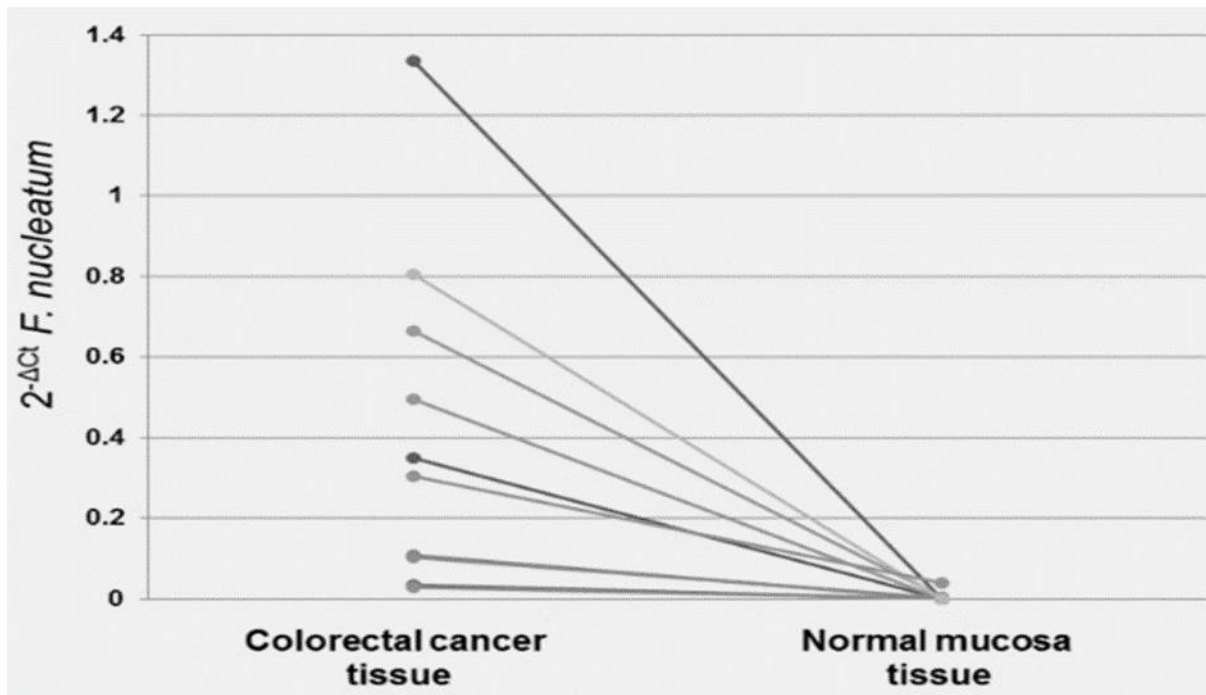


Figure 23 : Expression de *F. nucleatum* dans le tissu tumoral et tissu normal apparié chez 10 patients atteints de CCR

L'expression de *F. nucleatum* dans le tissu tumoral était significativement plus élevée que dans le tissu normal apparié dans tous les 10 cas ($p = 0,0002$) (113).

Les lésions néoplasiques colorectales pré-cancéreuses semblent être des précurseurs de la pathogenèse du CCR. Donc l'étude des échantillons des lésions colorectales pré-malignes, y compris des lésions dentelées, avait pour but de déterminer l'implication de *F. nucleatum* au stade précoce de la tumorigenèse colorectale et d'étudier l'association entre l'expression de *F. nucleatum* et les caractéristiques clinicopathologiques et moléculaires. *F. nucleatum* a été détecté dans 24 à 35% des lésions colorectales pré-cancéreuses (HP, SSA, TSA et adénomes non dentelées), bien qu'il n'y ait pas d'association significative entre l'histopathologie et l'état de *F. nucleatum*.

La positivité de *F. nucleatum* est plus souvent détectée dans le groupe CIMP-haut que dans le groupe CIMP-bas / zéro dans tout type histologique de lésion pré-maligne. Cependant, aucune différence significative n'a été trouvée entre la positivité de *F. nucleatum* et le statut CIMP. Cela pourrait s'expliquer par le petit nombre de tous les types de lésions pré-cancéreuses ($N \leq 129$). En ce qui concerne la méthylation de MLH1, aucune association significative n'a été trouvée entre le statut de *F. nucleatum* et la méthylation dans tous les types histologiques des lésions pré-malignes. Ce résultat peut être causé par le faible taux de méthylation de MLH1 (8,0%; 37/465) dans les lésions pré-cancéreuses.

Les résultats des différentes études sont en corrélations, avec les études antérieures qui suggèrent que *F. nucleatum* est plus susceptible d'être présent dans le tissu tumoral par rapport au tissu normal, des patients atteints de CCR (114, 115, 116). Ainsi les données de l'étude semblent être en accord avec cette hypothèse, on constate que la positivité de *F. nucleatum* dans les lésions de CCR est nettement plus élevée que dans les lésions dentelées. *F. nucleatum* peut augmenter en fonction du grade histologique et peut jouer un rôle dans le stade précoce de la carcinogenèse colorectale.

En conclusion, *F. nucleatum* peut être présent dans n'importe quel des types histologiques des lésions pré-malignes colorectales, mais est plus fréquemment associée à des lésions hautes CIMP. De plus, la positivité de *F. nucleatum* dans les lésions de CCR est significativement plus élevée que dans les lésions dentelées et les adénomes non dentelées. Ces résultats suggèrent que la positivité de *F. nucleatum* peut augmenter en fonction du grade histologique et peut contribuer à la progression du CCR. Les données de l'étude suggèrent également que la positivité de *F. nucleatum* dans les SSA peut soutenir le concept de «continuum colorectal».

III.1.3.2.ii. Etudes métagénomique de *F. nucleatum* dans le CCR

L'approche métagénomique est une méthode de séquençage microbienne. Il existe des variations sur la méthode, mais l'approche de base implique le séquençage de l'ADN ou de l'ARN isolé du tissu pathologique, la soustraction informatique de toutes les lectures de séquences reconnues comme humaines, et la comparaison des lectures résiduelles aux bases de données microbiennes connues.

Construction et séquençage de la bibliothèque métagénomique

Dans cette étude les chercheurs ont collecté 11 échantillons tumoraux colorectaux et 11 échantillons de tissu normaux. L'ARN total a été isolé à partir de coupes congelées des différents échantillons. Les banques d'Illumina ARN-seq ont été construites, codées et regroupées, un pool tumoral et un pool de contrôle ont été obtenu par séquençage en utilisant la plate-forme illumina GAIIx. Les séquences d'ARN obtenu ont été alignées par paires aux séquences de référence de l'ARNr et de l'ADNc humains (117) et du génome (hg18) en utilisant Burrows-Wheeler Aligner (BWA). Puis ces lectures de paires alignées ont été retirées et les paires de lectures résiduelles restantes ont ensuite été utilisées pour rechercher une base de données personnalisée contenant des accessions pour tous les génomes bactériens et viraux RefSeq, en utilisant Novoalign (<http://novocraft.com>). Les alignements ont permis d'identifier un total de 670 accessions de génomes distincts, représentant 415 espèces. Sur les 670 accessions de génomes distincts obtenus, 63% ont été trouvées dans les échantillons tumoraux et normaux. Les seuls alignements où il y avait une nette disproportion d'alignement entre la tumeur et le contrôle concernaient le génome de *F. nucleatum subsp. nucleatum* (American Type Culture Collection [ATCC] 25586). Il s'agit de l'organisme qui avait le plus grand nombre de résultats globaux (21% de tous les alignements), et 9 des 11 sujets présentaient au moins deux fois plus de lectures dans la tumeur par rapport au tissu témoin correspondant (Figure 24). L'abondance différentielle variait de 0,1 à 256 fois, avec une surabondance moyenne de 79 fois.

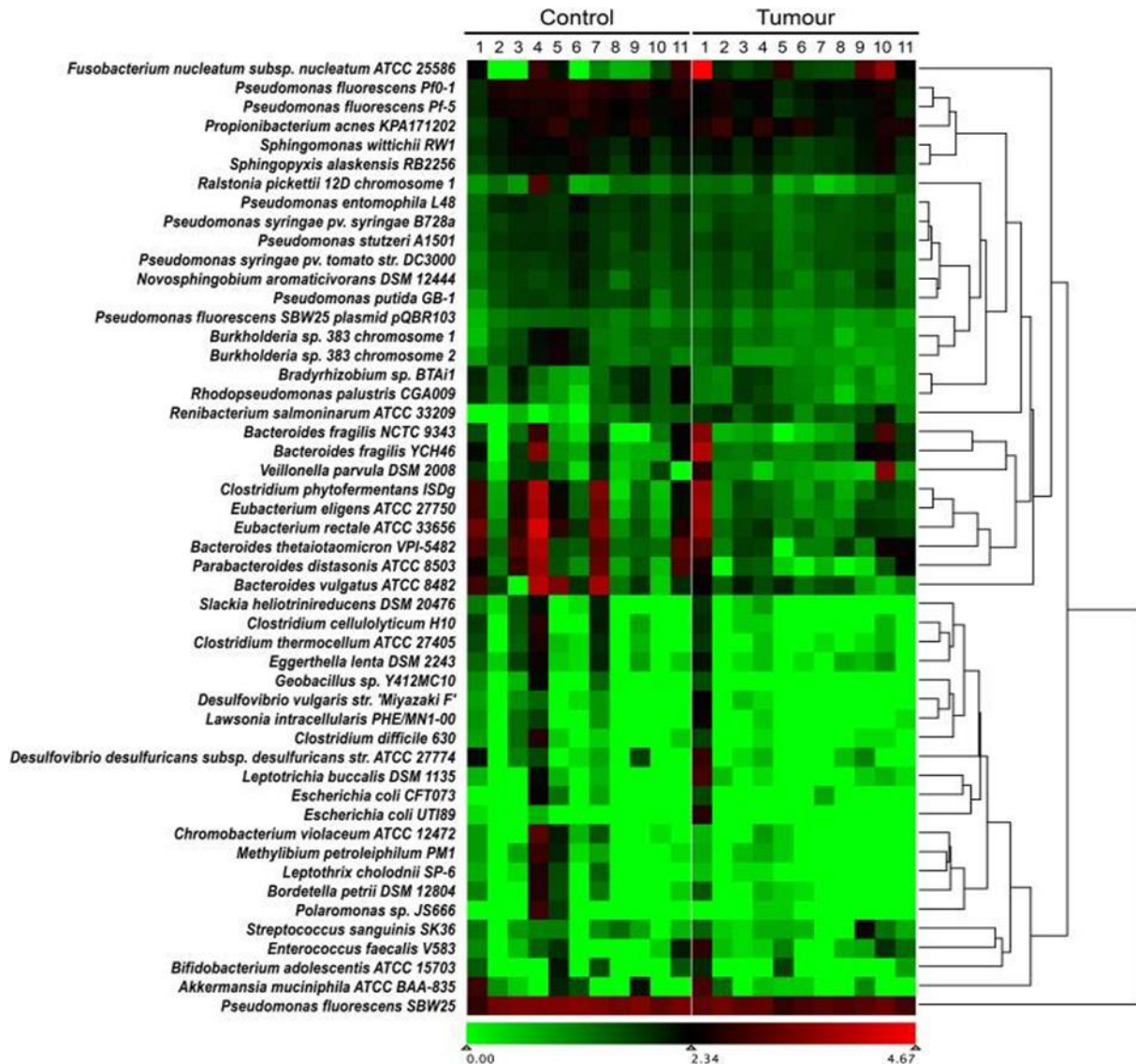


Figure 24 : Abondance relative des génomes microbiens dans les échantillons tumoraux et témoins de contrôle.

Les nombres de paires de lecture qui correspondent à des séquences microbiennes connues ont été normalisés en fonction de la profondeur de séquençage à la fois pour les échantillons tumoraux et les échantillons normaux appariés. L'abondance des paires de lectures bactériennes normalisées variait de zéro à un maximum de 66896 représentées par une transition du vert au rouge sur une échelle de \log^{10} (118).

PCR quantitative pour *F. nucleatum*

Afin de vérifier la surabondance des séquences de *F. nucleatum* dans la tumeur par rapport au tissu témoin normal, obtenu lors du séquençage de l'ARN. Les chercheurs ont conçu des amorces de PCR en utilisant l'amorce 3.0 et le génome de la souche du type *F. nucleatum* (ATCC 25586) comme référence, pour interroger les échantillons supplémentaires. Pour concevoir les amorces et la sonde qPCR, 51 677 paires de lecture de l'échantillon tumoral donc 1 correspondant à *F. nucleatum* ont été assemblé en utilisant SSAKE (119) pour obtenir 861 contigs totaux, 100 à 1433 pb. La majorité de ces contigs correspondent à des gènes codants pour *F. nucleatum* ARNs ribosomiaux et protéines, mais il y'a également 82 contigs qui ont été obtenu par des alignements BLASTN (Basic Local Alignment Search Tool) avec une identité de séquence de 80% ou plus à d'autres gènes codants pour les protéines de *F. nucleatum*.

BLASTX a permis d'isoler un contig de 161 pb de haut score (95% d'identité de séquence) au gène nusG (GenBank accession AAL94126.1) de *F. nucleatum* et aucun appariement à aucun gène d'une autre espèce, n'a été utilisé comme cible pour la conception d'un ensemble amorce / sonde qPCR (Taqman, ABI).

L'interrogation qPCR sur l'ADNg isolé à partir de 88 carcinomes colorectaux supplémentaires et des échantillons normaux a permis de confirmer une surreprésentation de *F. nucleatum* dans la tumeur par rapport aux spécimens normaux appariés ($p = 2,5 \times 10^{-6}$, t-test bilatéral) (Figure 25). L'abondance de *Fusobacterium* mesurée par qPCR est corrélée à celle mesurée à partir des données ARN-seq (Pearson $r = 0,97$). L'abondance globale moyenne de *Fusobacterium* était 415 fois plus élevée dans les échantillons tumoraux ($n = 99$) que dans les échantillons normaux appariés ($n = 99$) (Figure 25).

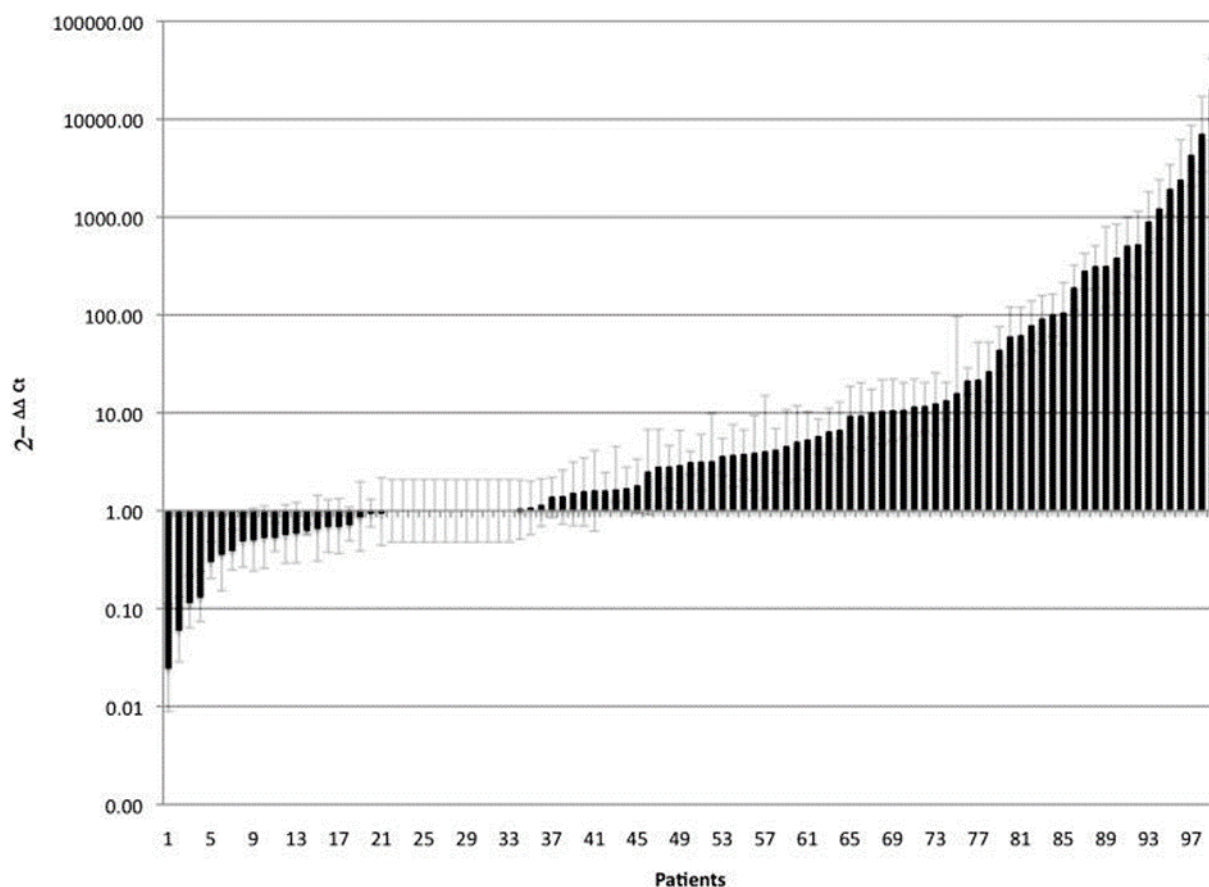


Figure 25 : Abondance relative de *Fusobacterium* dans les tumeurs par rapport aux biopsies normales du carcinome colorectal.

Des quantités relatives d'ADN de *Fusobacterium* ont été déterminées entre des tumeurs et des biopsies normales appariées chez 99 sujets, en utilisant une PCR quantitative en temps réel (qPCR). Les valeurs de seuil de cycle (Ct) pour les échantillons normaux ont une plage Ct de 25,5 à 40, et la plage Ct pour les échantillons tumoraux est comprise entre 21,4 et 40. Les données présentées sont des valeurs moyennes provenant de deux expériences indépendantes. La charge de *Fusobacterium*, telle que déterminée par qPCR, s'est révélée être significativement plus élevée dans les échantillons tumoraux par rapport aux échantillons normaux appariés (t-test bilatéral, $p = 2,52 \times 10^{-6}$) (118).

III.1.3.3. Caractère de pathogénicité cancérogène

Plusieurs facteurs de virulence de *F. nucleatum* qui présentent un potentiel oncogénique ont été identifiés (Figure 26). *F. nucleatum* produit en effet une toxine qui a une activité immunosuppressive, FIP ou FIPA (fusobacterial immunosuppressive protein). Elle est capable d'inhiber le cycle cellulaire des lymphocytes T lors de la phase G1, mais son rôle dans le CCR reste à définir (120). La protéine FIP est une cyclostatine qui dans son état purifié à une masse moléculaire apparente de 90 à 100 kDa, elle est composée de deux sous-unités de 44 et 48 kDa. La sous unité de 44 kDa possède un polypeptide FIPA, provenant du gène FipA, qui est suffisant pour la médiation des activités immunosuppressives du complexe protéique hôte (121).

F. nucleatum secrète une adhésine FadA (Fusobacterium adhesin A) au niveau de sa membrane qui en se liant à l'E-cadhérine, stimule la croissance tumorale. Cela entraîne l'activation de la voie de signalisation WNT/ β -caténine qui induit l'expression de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire comme les oncogènes c-myc et cycline D1, et dans l'inflammation comme les gènes codant les cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-8 (122). Le peptide FadA exprimé à la surface de *F. nucleatum*, existe sous deux formes: la pré-FadA intacte non sécrétée constituée de 129 résidus d'acides aminés (aa) et la FadA mature sécrétée (mFadA) constituée de 111 aa sans la séquence signal de 18 aa, avec le pré-FadA ancré dans la membrane interne et le mFadA sécrété à l'extérieur des bactéries (123).

F. nucleatum est également capable d'inhiber l'activité anti-tumorale des cellules NK (natural killer) et des lymphocytes T qui infiltrent les tumeurs en se liant par sa protéine Fap2 (fusobacterial apoptosis protein 2) au récepteur TIGIT (T cell immunoglobulin and ITIM domain) qui est exprimé à la surface de ces cellules immunitaires (124). Les protéines Fap2 sont des protéines membranaires externes, dont la taille varie entre 200 et 400 kDa, classées comme systèmes de sécrétion de type Va (T5SS) ou auto-transporteurs (125). Car elles partagent des régions homologues aux (T5SS). Le gène fap2 code pour 3 692 acides aminés, ce qui donne une masse moléculaire prédictive de 390 kDa.

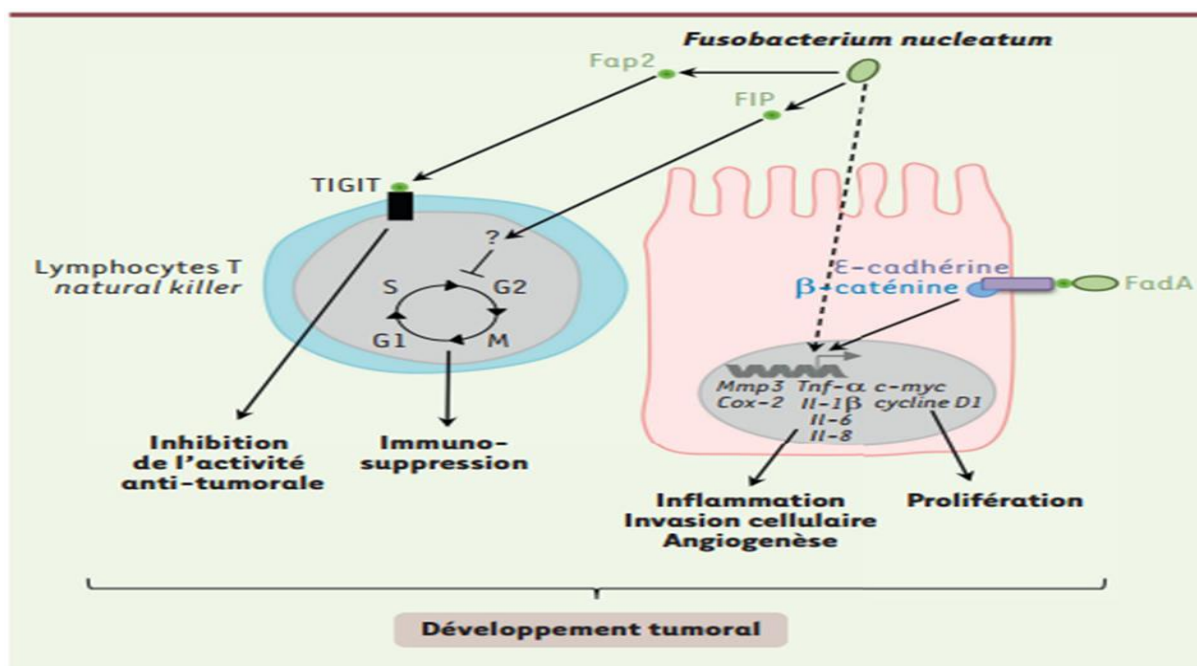


Figure 26 : Implication de *Fusobacterium nucleatum* dans la carcinogénèse colorectale (70).

IV. METABOLITES BACTÉRIENS ET PROCÈDES CANCÉRIGÈNES

Le microbiote intestinal établit une relation symbiotique avec son hôte, en métabolisant des composés que l'hôte est incapable d'utiliser et en contrôlant l'équilibre immunitaire du corps de l'hôte. Cependant, la composition du microbiote intestinal est connue pour varier, en fonction de l'alimentation, de l'environnement, et d'autres facteurs. Le microbiote intestinal contribue de droit à l'étiologie du CCR, par le biais des agents pathogènes identifiés comme étant pro-cancérigène. Il est donc clair que les mécanismes par lesquels ces agents pathogènes individuels favorisent la cancérogenèse (induction des cascades inflammatoires, génération des ROS, dommages de l'ADN et perturbation des processus de réparation de l'ADN), sont similaires aux mécanismes associées aux activités des métabolites microbiens (126,127). Beaucoup de composants alimentaires non digérés qui atteignent le côlon sont fermentés par le microbiote intestinal, pour produire un large éventail de métabolites. Les principaux métabolites issus de la fermentation chez un individu en bonne santé sont des gaz, des acides organiques et les acides gras à chaîne courte (Figure 27).

Dietary and environmental compounds	Microbial products	Known effect on host
Non-digestible carbohydrates	SCFAs	<ul style="list-style-type: none"> • Microbiota modulation • Cellular differentiation; apoptosis • Inflammation
Phytochemicals	Phenolic acids; isothiocyanates	<ul style="list-style-type: none"> • Xenobiotic detoxification • Microbiota modulation • Cellular differentiation; apoptosis • Inflammation
Protein	NOCs; ammonia	• ROS production; genotoxicity
	Polyamines	<ul style="list-style-type: none"> • Inflammation • ROS production; genotoxicity
	Hydrogen sulphide	<ul style="list-style-type: none"> • Inflammation • ROS production; genotoxicity
Fat → Bile acids	Taurine	• Microbiota modulation
	Secondary bile acids	<ul style="list-style-type: none"> • Microbiota modulation • Cellular differentiation; apoptosis • ROS production; genotoxicity
Xenobiotics	Carcinogens	• ROS production; genotoxicity
Ethanol	Acetaldehyde	• ROS production; genotoxicity

Figure 27 : Principaux métabolites microbiens formés à partir des composés alimentaires et environnementaux impliqués dans l'initiation ou la progression du CCR.

Les métabolites dont on pense qu'ils exercent principalement des propriétés anti-cancérigènes sont indiqués en bleu, et les métabolites qui ont principalement des propriétés pro-cancérigènes sont indiqués en rouge. Seuls les modes d'action clairement établis dans l'hôte sont indiqués. NOCs = composés N-nitrosés; ROS = espèces réactives de l'oxygène, SCFAs = acides gras à chaîne courte (128).

IV.1. Voies de putréfaction induite par les bactéries et son implication dans le CCR

La fermentation des protéines non digérées dans le tractus gastro-intestinal humain par le microbiote résident est un processus appelé putréfaction bactérienne. Ainsi les protéines alimentaires qui échappent à la digestion et l'absorption dans l'intestin grêle et atteignent l'intestin distal (ou gros intestin) agissent comme des substrats pour la fermentation bactérienne (129). Une fois que de telles protéines non digérées sont décomposées en acides aminés dans le gros intestin, elles sont généralement métabolisées par les bactéries protéolytiques résidentes, entraînant la production de métabolites nocifs (129, 130,131).

Dans la présente étude, une analyse complète des génomes bactériens a été réalisée afin de prédire leur capacité à utiliser les voies de putréfaction préalablement sélectionnées qui sont connues pour être associées à des métabolites nocifs. La présence des voies de putréfaction dans diverses bactéries a été prédite sur la base de paramètres tels que l'homologie des enzymes constituant, la spécificité enzymatique et la proximité génomique des gènes correspondants. Sur la base des données, 10 voies de putréfaction ont pu être identifiées (Figure 28) et ils correspondent à la production de 9 métabolites potentiellement nocifs (ammoniac, putrescine, spermidine, spermine, crésol, indole, phénol, cadavérine et H₂S). Les voies de putréfactions (A, B, C) correspondent à la libération de l'ammoniac, les enzymes participant aux voies A et B (histidine → glutamate et histidine → THF) sont codées par des groupes de gènes issus de *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 (132). La voie D correspond à la production de la putrescine, l'enzyme agmatinase (EC: 3.5.3.11), codée par un gène operonique à l'arginine décarboxylase (ADC) issue d'*E. coli*, convertit l'agmatine en putrescine et en urée (133).

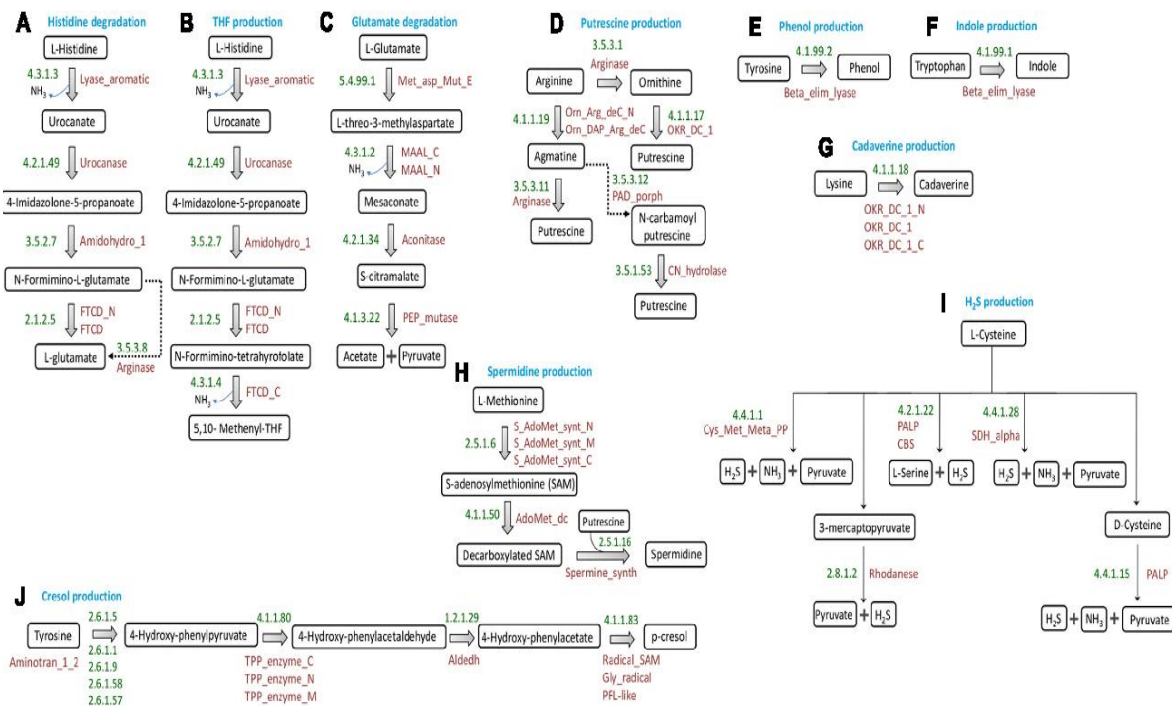


Figure 28 : Représentation schématique des voies de putréfaction (134).

Voies de conversion de (A) histidine en glutamate, (B) histidine en tétrahydrofolate, (C) glutamate en acétate et pyruvate, (D) arginine en putrescine, (E) tyrosine en phénol, (F) tryptophane en indole, (G) lysine à la cadavérine, (H) méthionine à spermidine / spermine, (I) cystéine à H₂S, et (J) la tyrosine en crésol. Les numéros EC et le (s) domaine (s) Pfam correspondant (s) aux enzymes impliquées dans chaque réaction ont été mentionnés (134).

IV.1.1. Identification des voies de putréfaction bactériennes associées à la libération de composés nocifs

La prédiction de 6 des 10 voies de putréfaction sélectionnée (production d'ammoniaque / putrescine / crésol / spermidine / spermine) avec des enzymes codées par des groupes de gènes comprend deux étapes principales, à savoir (i) l'identification des homologues des gènes des voies de putréfaction (ii) démarcation des groupes de gènes basée sur les distances génomiques.

À cet effet, les séquences protéiques correspondant aux enzymes des voies de putréfaction détectées expérimentalement (2738 génomes bactériens séquencés) ont été interrogées par rapport à la base de données Pfam (135) et les domaines Pfam correspondants. Ceci en utilisant le module «hmmscan» fourni dans le paquet HMMER (version 3.1) (Eddy, 1998) avec un seuil de valeur e de 1e⁻⁶.

Une évaluation de la capacité de putréfaction des bactéries a été faite sur la base de la proportion constituante les souches putréfiées et d'une valeur de confiance du groupe correspondant, un score a été évalué au niveau des phylums et des genres. Le score final de putréfaction «Pfacs», pour une voie de putréfaction particulière «i» correspondant à un groupe bactérien «j», a été calculé à l'aide de l'équation suivante:

$$\text{Pfacs (ij)} = S \cdot \alpha$$

Où S représente la proportion d'organismes putréfiants du groupe bactérien particulier et α indique la valeur de confiance du groupe bactérien correspondant.

Ainsi, les valeurs des scores «Pfacs» calculés se situaient entre zéro et cinq. Pour une voie de putréfaction particulière, un taxon bactérien ayant un «Pfacs» plus élevé indiquerait une plus grande probabilité de présence de cette voie dans les souches correspondantes, par opposition à un taxon ayant un «Pfacs» inférieur.

Par la suite une comparaison des voies de putréfaction (associée à la libération de composés nocifs) au sein du microbiome intestinal des patients atteint du CCR et des individus en bonne santé a été faite à partir des données du microbiome intestinal (16S séquences ARNr) fourni par 5 études publiées sur le CCR(136,137,138,139,140).

Les résultats indiquent la présence des voies de putréfaction chez 1368 bactéries (50%) sur les 2738 génomes complètement séquencés analysés. On peut observer une ou plusieurs des voies de putréfaction sélectionnées au sein des bactéries appartenant au 14 phyla (Figure 29). On observe la présence des 10 voies de putréfaction chez les Firmicutes, contre 9 voies chez les Proteobacteria. Les Fusobacteria et les Bacteroidetes ont quant à eux développé 8 voies de putréfaction. On peut noter des scores «Pfacs» relativement faibles ($\leq 1,4$) au sein des différentes voies de putréfaction des Firmicutes.

Ceci suggère que la capacité de putréfaction du phylum Firmicutes est limitée aux membres sélectionnés. Les phyla Acidobactéries, Actinobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria et Proteobacteria ont eu des scores «Pfac» relativement plus élevés d'au moins la moitié de la valeur maximale (2,5) dans une ou plusieurs des voies. Les voies de putréfaction donnant putrescine et l'H₂S ont été retrouvées dans 13 des 14 phyla étudiés.

Bacterial Phyla	Histidine production	THF production	Glutamate degradation	Putrescine production	Spermidine production	Cadaverine production	Cresol production	Indole production	Phenol production	H ₂ S production
Acidobacteria	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Actinobacteria	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	High
Bacteroidetes	High	High	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	High
Chlamydiae	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Chloroflexi	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Cyanobacteria	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Deinococcus-Thermus	High	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Firmicutes	High	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Fusobacteria	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	High
Planctomycetes	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Proteobacteria	High	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	High
Spirochaetes	Low	Low	Low	High	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Tenericutes	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
Thermotogae	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	High

Low  High

Figure 29 : Voies de putréfaction au sein des phylums bactériens (134).

Distribution de 10 voies de putréfaction à travers les phylums comprenant des génomes bactériens complètement séquencés. La voie «Production de spermidine» représente également la voie de production de la spermine. Les «Pfac» (score de putréfaction) correspondant aux voies de putréfaction dans ces phylums sont mis en évidence dans chaque cellule.

«Pfac» indique les capacités relatives de putréfaction de n'importe quel phylum, évaluées en fonction du nombre constituant les souches putréfiées et de la taille de la base de données du phylum correspondant (134).

Les résultats de l'analyse des voies de putréfaction associées à la libération des composés nocifs effectuées sur les genres bactériens connus de l'intestin, sont décrits dans la (Figure 30).

Le premier constat qu'on peut observer est que les souches appartenant à certains genres, ont des voies de putréfaction similaires à la tendance observée lors de l'analyse au niveau des phylums.

Ceci suggère que ces voies n'ont peut-être pas été conservées par l'évolution, mais qu'elles ont été acquises par les organismes respectifs pour s'adapter à l'environnement dans lequel elles survivent. La voie de production de putrescine (arginine → putrescine) est fortement retrouvée dans la plupart des genres étudiés, suivie des voies correspondant à la dégradation de l'histidine 50% (histidine → glutamate) et la production de l'H₂S 56% (cystéine → H₂S).

Les genres observés avec des «Pfac» plus élevés ($\geq 2,5$) pour au moins une voie comprennent *Bacillus*, *Bacteroides*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Prevotella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* et *Yersinia*. On observe une capacité de fermentation des protéines sur 6 des 10 voies de putréfaction possibles, pour les genres *Fusobacterium*, et *Bacteroides*. Le genre *Escherichia* quant à lui utilise 7 voies de putréfaction sur les 10 voies possibles.

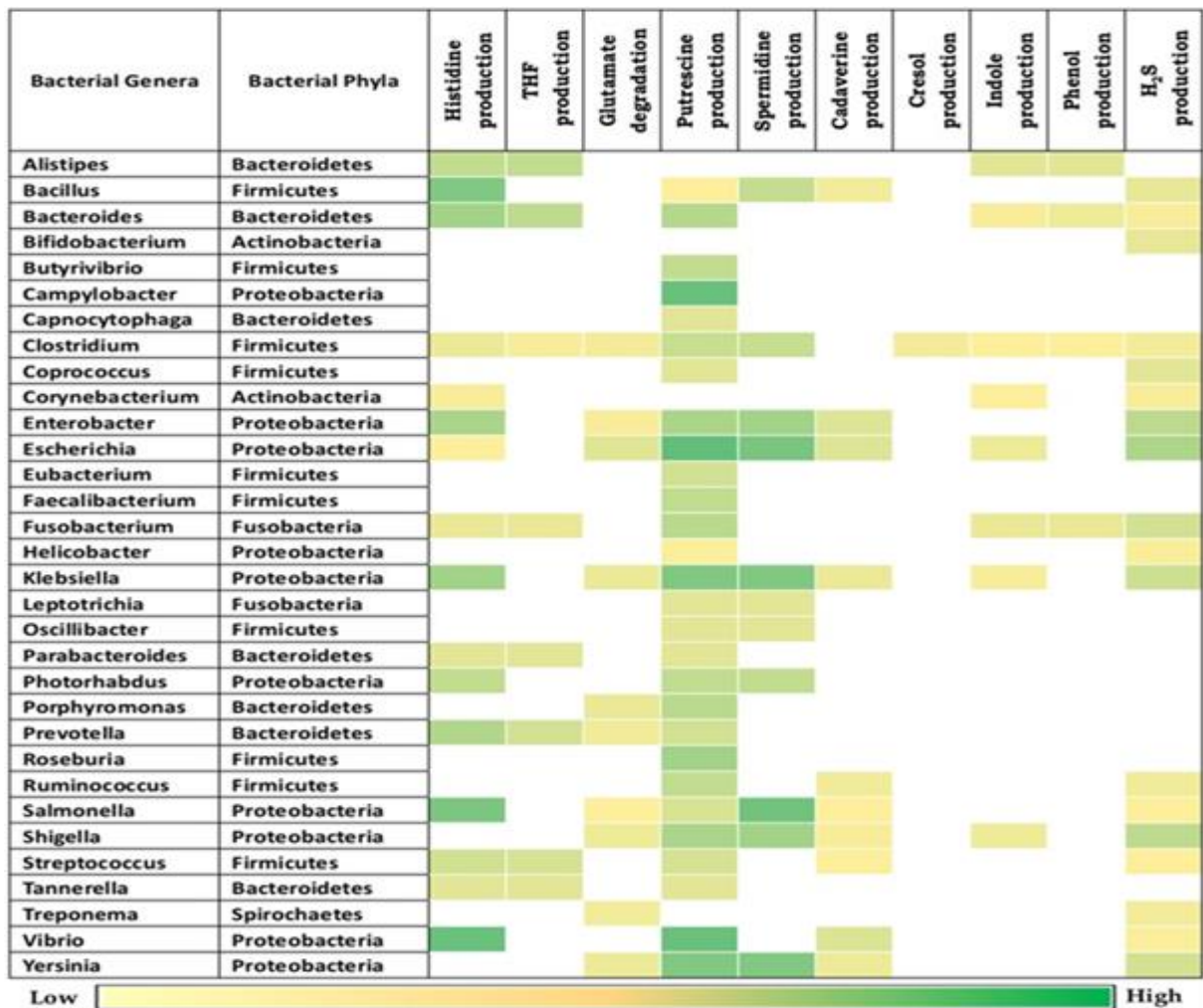


Figure 30 : Voies de putréfaction observer chez les genres bactériens connus de l'intestin.

Distribution de 10 voies de putréfaction à travers les genres comprenant des génomes bactériens complètement séquencés trouvés dans l'intestin humain. La voie «Production de spermidine» représente également la voie de production de la spermine. Les «Pfacs» (score de putréfaction) correspondant aux voies de putréfaction dans ces genres sont mis en évidence dans chaque cellule.

«Pfacs» indique les capacités relatives de putréfaction de n'importe quel genre, évaluées en fonction du nombre constituant les souches putréfiées et de la taille de la base de données du genre respectif (134).

L'enrichissement des voies de putréfaction (associé à la libération de composés nocifs) à partir des données issues des différentes études sur le microbiote intestinal des patients atteints du CCR et des témoins sains correspondants est décrit dans la (Figure 31). Sur les 10 voies de putréfaction analysées, les genres différenciellement abondants dans les carcinomes et les cohortes saines représentaient respectivement 9 et 7 voies. Cependant, le pourcentage représentatif de ces voies dans la cohorte de carcinome était relativement plus élevé comparé à celui de la cohorte des témoins sains. On peut le constater avec la voie de production de la putrescine qui est présente dans 58% des carcinomes contre 26% chez les témoins sains. La deuxième voie la plus fréquente dans la cohorte des carcinomes est la dégradation de l'histidine (31,5%), dont la fréquence n'est que de 13,3% dans la cohorte des témoins en bonne santé.

On constate la présence du genre *Fusobacterium*, dans quatre des cinq ensembles des données issues des études, avec une capacité de fermentation des protéines sur 6 des 10 voies de putréfaction possibles. En dehors de *Fusobacterium*, d'autres genres (tels que *Streptococcus*, *Candidatus*, *Escherichia*, *Sheila*, *Prevotella*, *Selenomonas*, et *Clostridium XIX*), utilisent au moins trois voies de putréfaction, et ils sont significativement plus élevés dans les carcinomes.

Il est probable que les voies de putréfaction produisant les métabolites putrescine et l'H₂S par les quatre genres suivants : *Faecalibacterium*, *Oscillibacter*, *Ruminococcus* et *Parabacteroides* dans la cohorte des témoins en bonne santé, soient utilisées par les bactéries pour leur propre bénéfice, plutôt que d'exercer des effets nocifs. Les trois genres surreprésentés dans la cohorte témoins en bonne santé (*Ruminococcus*, *Faecalibacterium* et *Oscillibacter*) produisent le butyrate, qui est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires bénéfiques pour la santé intestinale dans le CCR.

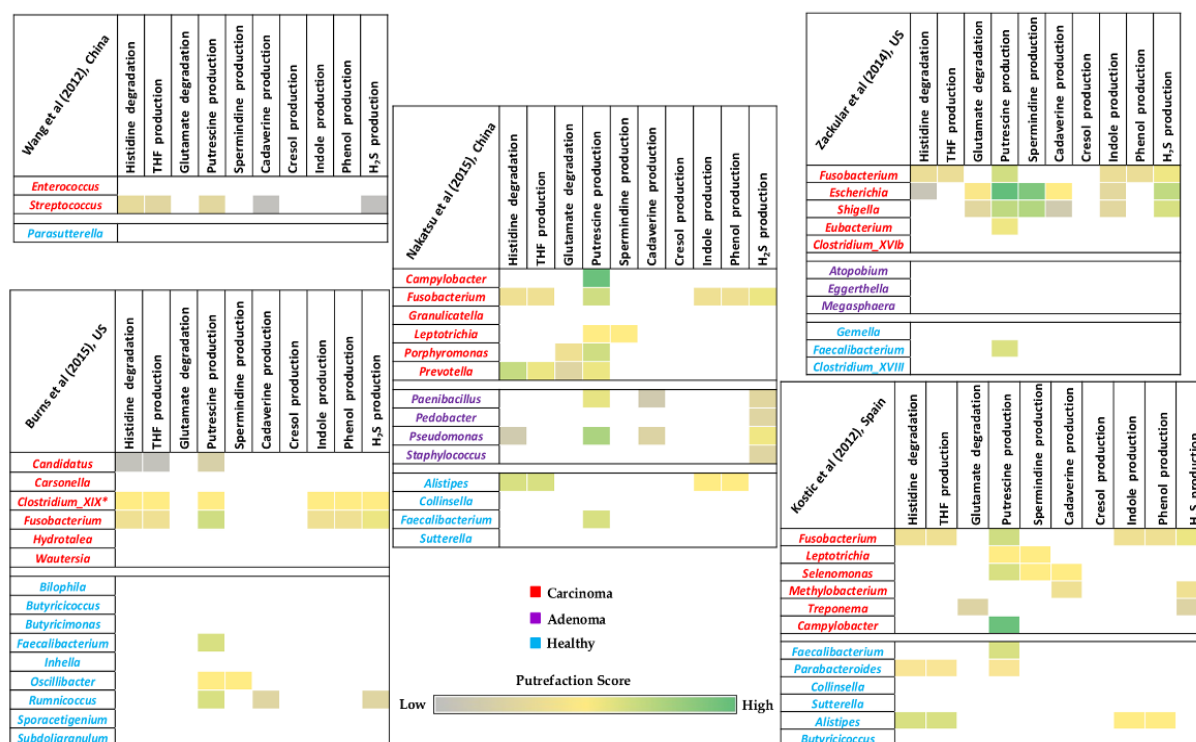


Figure 31 : Capacités de putréfaction des genres différemment abondants dans le microbiome intestinal des patients atteints du CCR et les témoins sains

Cartes thermiques représentant la distribution des voies de putréfaction sélectionnées (associées à la production des composés nocifs) au sein des genres différemment abondants dans l'une des cohortes (carcinome / adénome / sain).

Chaque cellule représente le «Pfac» (score de putréfaction) de la voie correspondante dans ce genre particulier. «Pfac» indique les capacités relatives de putréfaction de n'importe quel genre, évaluées en fonction du nombre constituant les souches putréfiées et de la taille de la base des données du genre respectif (134).

En conclusion, certains produits ou sous-produits obtenus lors de la putréfaction bactérienne peuvent être inoffensifs ou nocifs pour l'organisme en fonction du taux sécrété. On a par exemple l'ammoniac qui est produit pendant la putréfaction et qui peut entrer dans le cycle de l'urée ou le cycle de l'ornithine pour se convertir en urée.

L'un des résultats clés de cette étude concerne le genre *Fusobacterium*, qui non seulement est significativement abondant dans la majorité des données sur les carcinomes, mais aussi a le plus grand nombre de voies de putréfaction conduisant à la libération de métabolites nocifs. Or *Fusobacterium* a été identifié comme un facteur de risque impliqué dans la progression du carcinome colorectal. Une mesure de prévention du CCR serait donc une diminution des protéines au niveau colique pour limiter la putréfaction ?

IV.2. Réactions inflammatoires

Le microbiote a une influence majeure sur les réponses immunitaires, et sur l'inflammation chronique qui est un facteur de risque bien établi du CCR. Comme la muqueuse du côlon est constamment exposée au microbiote intestinal et aux métabolites, la stimulation des réponses immunitaires a le potentiel de causer une inflammation continue de bas grade.

IV.2.1. Effets anti-inflammatoires induit par les métabolites

Les acides gras à chaîne courte (SCFAs) butyrate, propionate et acétate, seront reconnus par des récepteurs (couplés à la protéine G (GPCR) GPR41, GPR43 et GPR109A) à la surface des colonocytes et les cellules immunitaires. Le butyrate et le propionate inhibent l'activité des histones désacétylases (HDACs) dans les cellules épithéliales intestinales et les cellules du système immunitaire, ce qui favorise l'hyperacétylation des histones et la transactivation de l'expression du gène (141,142) et la différenciation cellulaire (143), ce qui entraîne la régulation négative des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-6 et l'IL-12, dans les macrophages intestinaux (144). Le butyrate et le propionate induisent la différenciation des cellules T régulatrices qui expriment le facteur de transcription FOXP3, qui a un rôle crucial dans le contrôle de l'inflammation intestinale (145,146). Il est probable que le butyrate soit en cause dans l'augmentation de l'acétylation de l'histone H3 dans les régions du promoteur et de l'amplificateur du locus FOXP3, qui se traduit par une expression accrue de FOXP3 (147). Le butyrate par reconnaissance du récepteur GPR109A, va induire la voie de signalisation qui favorise l'effet anti-inflammatoire et anti-cancérogène par induction de la différenciation de cellules T régulatrices et donc production des IL-10 et du facteur de croissance transformant- β (TGF β) par les cellules T (148). Tous ces effets anti-inflammatoires induits par des SCFAs au niveau intestinal, jouent un rôle important dans l'activité anti-tumorale, et la diminution des bactéries productrices des SCFAs pourrait faciliter le CCR.

Plusieurs métabolites phénoliques qui sont formés par la transformation microbienne se sont avérés être capable d'inhiber les médiateurs pro-inflammatoires (y compris le facteur de nécrose tumorale (TNF), NF- κ B et prostanoïdes) (Figure 32).

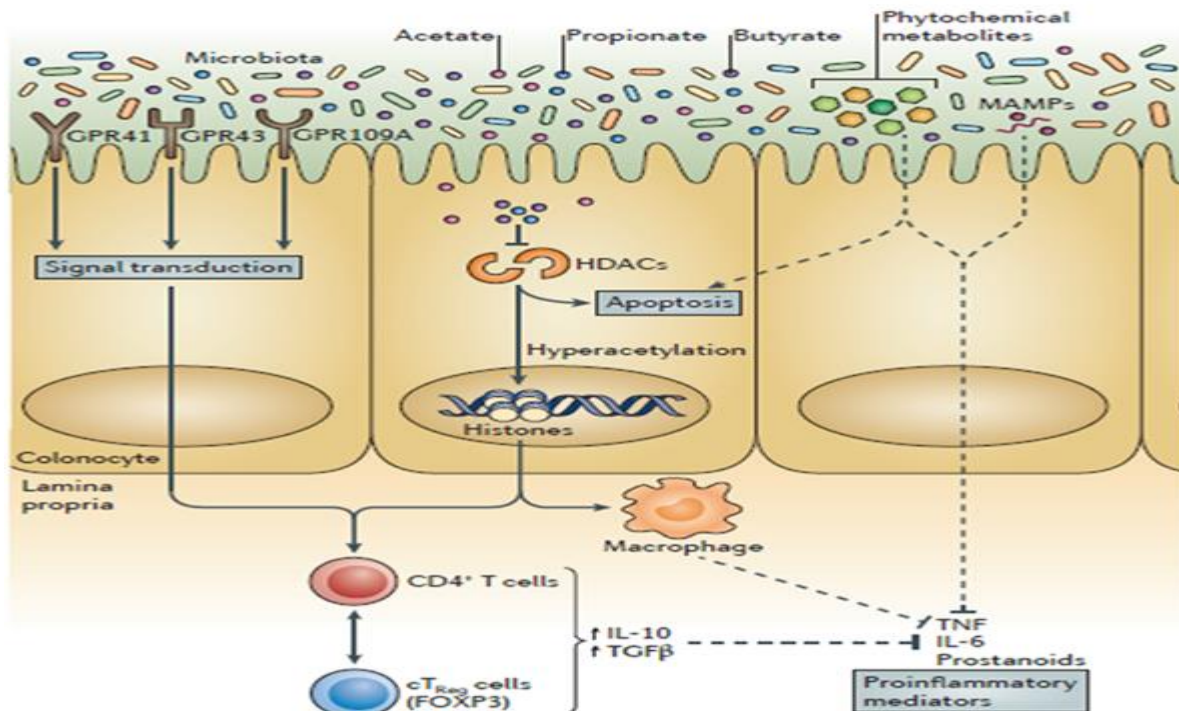


Figure 32 : Effets anti-inflammatoires et anti-apoptotiques des bactéries du côlon et leurs métabolites dans la cancérogenèse colorectale (128).

IV.2.2. Effets pro-inflammatoires induit par les métabolites

Plusieurs métabolites bactériens, notamment le sulfure d'hydrogène, les acides biliaires secondaires, les polyamines et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) peuvent causer des dommages directs à l'ADN, ce qui provoque une cascade de réactions inflammatoires (production IL-6 et TNF), qui jouent un rôle bien établie dans la cancérogenèse. Les composés N-nitrosés (NOCs) peuvent favoriser le cancer en générant des mutations dues à l'alkylation de l'ADN. Les bactéries particulièrement pathogènes exercent également des effets pro-inflammatoires, via la reconnaissance des modèles moléculaires associés aux micro-organismes (MAMPs) par les récepteurs Toll-like (TLR), ce qui conduit à la détection par les cellules dendritiques et l'activation des cellules lymphocytaires T auxiliaires (T helper 17 (Th17)). Les cellules Th17 favorisent l'expression du médiateur pro-inflammatoire IL-23 et bloquent l'expression du médiateur anti-inflammatoire IL-10.

La perte de fonction de barrière associée à la tumeur, qui est médiée par les MAMPs, peut également entraîner une translocation bactérienne accrue, et cela active davantage les voies pro-inflammatoires, augmentant ainsi la tumorigenèse (Figure 33).

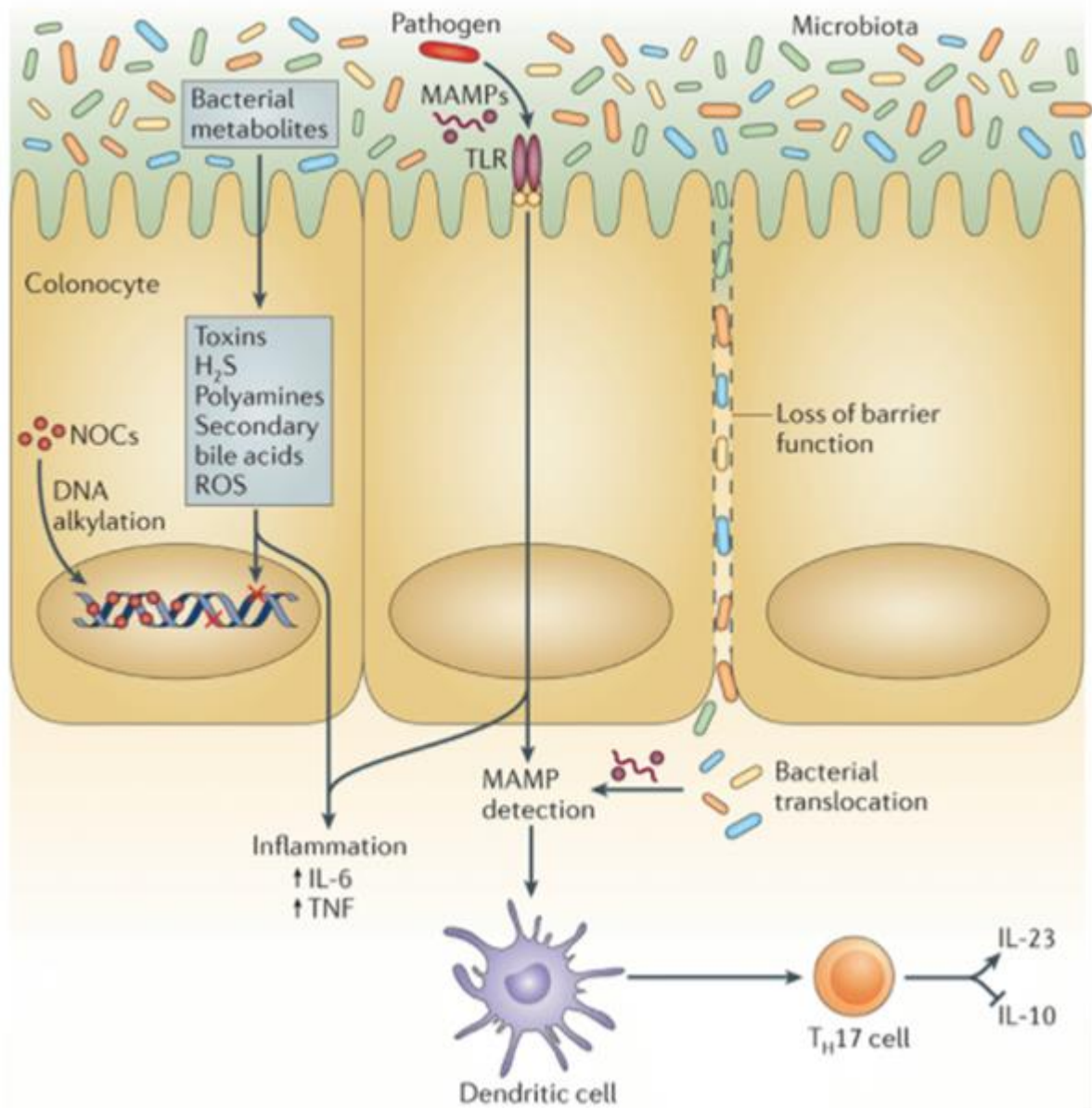


Figure 33 : Effets pro-inflammatoires et destructeurs de l'ADN par les bactéries du côlon et de leurs métabolites conduisant à la cancérogenèse colorectale (128).

IV.3. Lésion de l'ADN inducibles par des métabolites bactériens

L'ADN est globalement une molécule très stable, mais c'est aussi une molécule plastique. Comme toute biomolécule, l'ADN peut-être lésé par des processus très différents. Si les mécanismes de réparation de l'ADN ne rétablissent pas l'intégrité de la molécule, des mutations apparaissent.

Elles peuvent être à l'origine de très nombreuses maladies génétiques. Chaque jour, chaque cellule doit faire face à des lésions de son ADN et des erreurs de réplication de l'ADN, due à l'exposition des cellules aux agents chimiques mutagènes, aux rayons ultraviolets (UV) du soleil et aux radiations ionisantes naturelles du sol ou cosmiques.

Les acides biliaires secondaires ont le potentiel de créer des lésions de l'ADN par l'intermédiaire de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (149), il est donc possible que des mutations oncogènes restent non réparées dans l'épithélium colorectal. D'autres métabolites autre que l'acide biliaire (NOCs, polyamines, acetaldehyde, et le sulfure d'hydrogène) vont induire des lésions de l'ADN, via la production des dérivés réactifs de l'oxygène (Reactive oxygen species ou ROS ou radicaux libres). Les composés N-nitrosés (NOCs) créent en plus des lésions au niveau de l'ADN par alkylation ce va induit des mutations génétiques

IV.4. Senescence cellulaire et la sénescence associée au phénotype sécrétoire

La sénescence cellulaire représente une limitation dans la capacité proliférative des cellules humaines. Cette limitation est accompagnée des changements dans l'expression génique et de la morphologie cellulaire. La sénescence a un double rôle dans le développement tumoral. Elle est dans un premier temps un programme de protection de l'organisme contre la prolifération cellulaire mais en même temps elle pourrait participer à la réponse aux traitements par des drogues chimiothérapeutiques, on parle alors de sénescence induit par les drogues chimiothérapeutiques. Il a été récemment suggéré que la sénescence cellulaire serait impliquée dans le mécanisme inflammatoire chronique et la progression du cancer.

Des preuves récentes ont révélé des lésions de l'ADN causées par les acides biliaires secondaires tels que l'acide desoxycholique (DCA), qui est capable d'induire la sénescence cellulaire et la sénescence associée au phénotype sécrétoire (SASP). La sénescence cellulaire a été reconnue comme un mécanisme de sécurité contre l'oncogenèse (150,151). Il est donc clair que la sénescence cellulaire est un mécanisme de suppression tumorale et important contre la progression de la maladie.

Cependant, des études récentes suggèrent que, contrairement aux cellules apoptotiques, les cellules sénescents survivent pendant une période de temps assez longue où elles restent métaboliquement actives. Donc, les cellules sénescents seront donc capables d'avoir des fonctions biologiques comme toute cellule normale. Les cellules sénescents présentent une expression accrue des gènes codants pour une série de protéines sécrétoires, telles que les cytokines inflammatoires, les chimiokines et les facteurs matriciels de remodelage, qui pourront altérer l'environnement tissulaire local et contribuer à l'inflammation chronique et à la tumorigenèse (152,153).

Le phénotype sénescents nouvellement identifié, appelé le phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) ou le secretome messager sénescents (SMS) (sécrétome associé à la sénescence), est obtenu lors des lésions de l'ADN et peut être bénéfique ou délétère, selon le contexte biologique (152,154).

Par exemple, IL-6, IL-8, et plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) sécrétés à partir de fibroblastes sénescents, peuvent renforcer l'arrêt du cycle cellulaire associé à la sénescence induit par une activation oncogène ou stress oxydatif (155,156). D'autre part, l'IL-6 et IL-8 sont également connus pour favoriser la transformation maligne, en coopération avec certains oncogènes.

Par conséquent, dans un tissu avec une accumulation de cellules sénescentes, il est possible que les effets secondaires délétères du sécrétome associés à la sénescence puissent contribuer à la promotion du cancer (Figure 34).

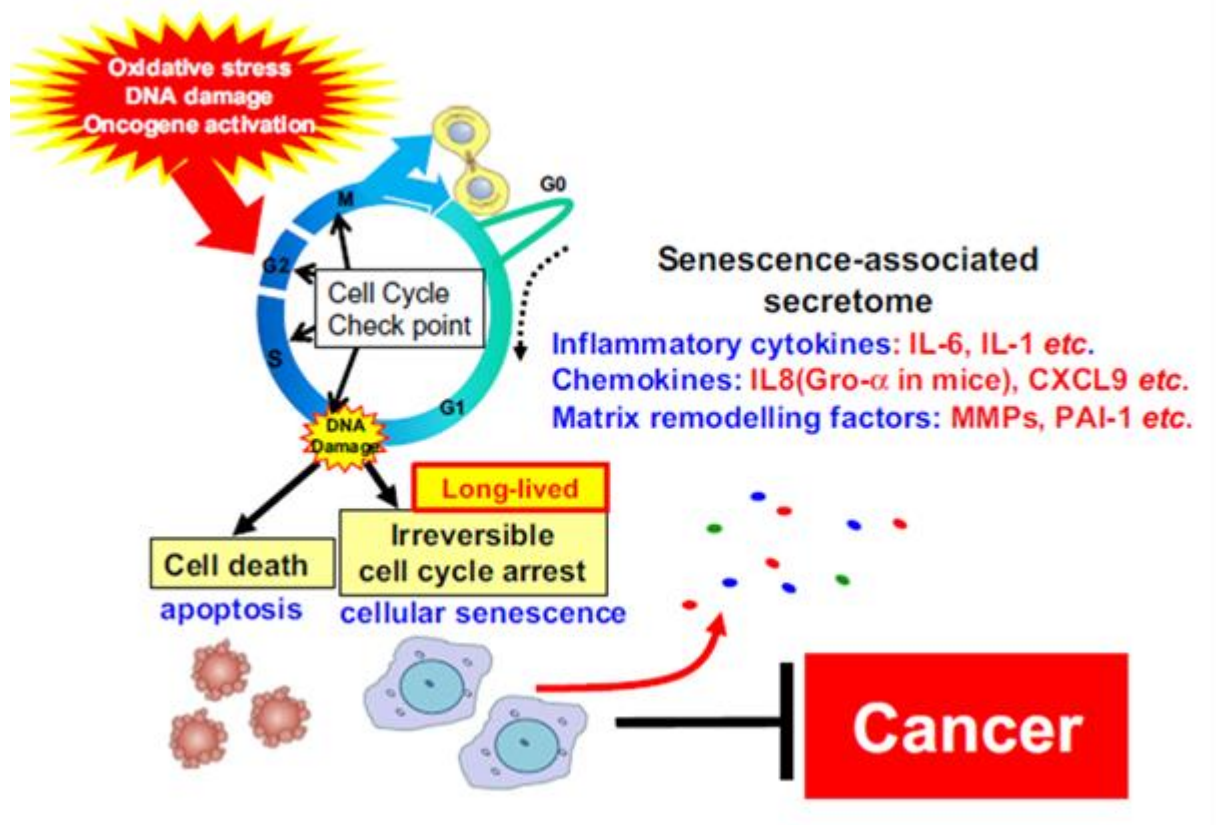


Figure 34 : Le mécanisme de l'induction de la sénescence cellulaire et sécrétome associée à la sénescence.

La sénescence cellulaire est un arrêt irréversible de la prolifération cellulaire induit par les lésions de l'ADN, il s'agit d'un mécanisme de sécurité de suppression tumorale. Cependant, à la différence des cellules apoptotiques, des cellules sénescents survivent longtemps et sécrètent une variété de cytokines inflammatoires, chimiokines et des facteurs matriciels de remodelage, contribuant ainsi à former un micro-environnement favorisant le cancer (157).

CONCLUSION

Le CCR est une maladie multifactorielle sous la dépendance de facteurs environnementaux et génétiques. La recherche des différents promoteurs (protagonistes) se doit d'être large. De ce fait un lien entre l'inflammation chronique et le développement du CCR a déjà été établi. Notamment par la production de radicaux libres (Reactive Oxygen species [ROS] et Nitrogen Oxygen Species [NOS]). Le concept selon lequel il existerait un lien entre le microbiote intestinal et le CCR est récent.

Le microbiote intestinal est potentiellement impliqué dans le développement du carcinome colorectal par différents mécanismes. Le microbiote ainsi que la réponse immune, à la fois innée et acquise, interviennent dans le mécanisme d'oncogenèse, notamment par leur rôle dans l'initiation, la régulation et le maintien de l'inflammation chronique. Cette inflammation via ses médiateurs, modifie considérablement la composition microbienne, conduisant à une dysbiose (par opposition à une eubiose). En réponse à ces modifications de leur environnement, les micro-organismes induiront des changements complexes de leurs réponses transcriptionnelles et métaboliques et produiront des métabolites, enzymes, et des toxines (entérotoxines, cyclomodulines, FIP ou FIPA) qui pourront influencer le développement du CCR.

Le microbiome doit de ce fait être considéré comme l'un des protagonistes important de la chaîne des événements dont l'aboutissement est la transformation cellulaire maligne des cellules épithéliales coliques. Les études réalisées jusqu'à présent, mettent en lumière une forte colonisation de la muqueuse par les trois bactéries suivantes : *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* et *Fusobacterium nucleatum* et aussi leurs propriétés pro inflammatoires et pro cancérigènes.

Comme il s'agit d'une maladie multifactorielle, et que le développement s'étend sur une longue période (plus de 10 ans), la recherche simple d'une corrélation entre ces trois espèces bactériennes et le CCR est trop limitative. Il faudrait se placer dans le cadre d'une microflore complexe, en incluant les éléments pouvant modifier la composition du microbiote intestinal associé au CCR tels que (l'alimentation.....). Il faudra également chercher à comprendre les mécanismes d'interactions entre les bactéries composant le microbiote dysbiotique associé au CCR et les acteurs cellulaires de la carcinogenèse.

Il sera donc possible dans ce cadre de recherches que de nouveaux biomarqueurs, issus de l'analyse du microbiome, fassent leur apparition ainsi que des approches thérapeutiques ou préventives visant à moduler ce microbiote, dont l'objectif final sera d'améliorer la prise en charge des patients cancéreux.

L'un des domaines de recherche le plus porteur est celui du développement d'« onco-microbiotiques », ou probiotiques adjuvants de la réponse anti-tumorale. Les probiotiques constituent-ils une nouvelle stratégie préventive ou thérapeutique pour les patients à risque de CCR ?

La sensibilisation reste une arme redoublée pour la prévention du CCR, car une alimentation particulière et une modification du style de vie pourraient prévenir le risque de développer un CCR et par la même occasion réduire les récurrences chez les personnes atteintes du CCR.

BIBLIOGRAPHIE

1. Berg RD. The indigenous gastrointestinal microflora. Trends Microbiol 1996 ; 430-5.
2. Savage DC. Microorganisms associated with epithelial surfaces and stability of the indigenous gastrointestinal microflora. Nahrung 1987 ; 31 : 383-95.
3. Chapitre 13 Microbiote et immunité intestinale LES FONDAMENTAUX DE LA PATHOLOGIE DIGESTIVE© CDU-HGE/Editions Elsevier-Masson – Octobre 2014.
4. <https://www.revmed.ch/RMS/2011/RMS-301/Qu-est-ce-donc-qu-un-microbiote-intestinal-normal> visité le 16/ 10 /15
5. Edwards DP. The roles of tolerance in the evolution, maintenance and breakdown of mutualism. Naturwissenschaften 2009 ; 96 : 1137-45.
6. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science 2005; 307: 1915-20.
7. Cummings JH. Microbial digestion of complex carbohydrates in man. The Proceedings of the Nutrition Society 1984; 43: 35-44.
8. Thomas Hindré <https://docplayer.fr/18293140-Le-microbiote-intestinal-humain.html>
9. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 308: 1635-8.
10. Suau A, Bonnet R, Sutren M, et al. (1999) direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. Appl Environ Microbiol 65: 4799-807 219.
11. <http://www.microbiote-intestinal.fr/description-du-microbiote> visité le 16/10/15
12. Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, et al. (2003) Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. Gut 52: 237-42.
13. Lay C, Sutren M, Rochet V, et al. (2005) Design and validation of 16S rRNA probes to enumerate members of the Clostridium leptum subgroup in human faecal microbiota. Environ Microbiol 7: 933-46.
14. Rigottier-Gois L, Le Bourhis A-G, Gramet G, et al. (2003) Fluorescent hybridisation combined with flow cytometry and hybridisation of total RNA to analyse the composition of microbial communities in human faeces using 16S rRNA probes. FEMS Microbiology Ecology 43: 237-45.
15. Perez PF, Dore J, Leclerc M, et al. (2007) Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 119: 724-32.
16. Bjursell MK, Martens EC, Gordon JL (2006) Functional genomic and metabolic studies of the adaptations of a prominent adult human gut symbiont, Bacteroides thetaiotaomicron, to the suckling period. J Biol Chem 281: 36269-79.
17. Midtvedt AC, Midtvedt T (1992) Production of short chain fatty acids by the intestinal microflora during the first 2 years of human life. J Pediatr Gastroenterol Nutr 15: 395-403.
18. Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, et al. (2003) *Escherichia coli* in infants' intestinal microflora: colonization rate, strain turnover, and virulence gene carriage. Pediatr Res 54: 8-14.

19. Lindberg E, Adlerberth I, Hesselmar B, et al. (2004) High rate of transfer of *Staphylococcus aureus* from parental skin to infant gut flora. *J Clin Microbiol* 42: 530-4
20. <https://www.gustaveroussy.fr/fr/cancer-colorectal> visité le 27/01/2016
21. <http://www.admy78.org/4.aspx> visité le 27/01/2016
22. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D Bray, F (2013). GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Available from: https://www.iarc.fr/fr/media-centre/pr/2013/pdfs/pr223_F.pdf visité le 27/01/2016
23. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-03/ald_30_guide_ccr_web.pdf (source InSA et InCA) Survie des patients atteints de cancer en France : état des lieux – InCa - Avril 2010. Survie des patients atteints de cancer en France : état des lieux – InCa- Avril 2010. Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France en 2010 ; Fiche « Côlon-Rectum » - InVS - Avril 2010. Dynamique d'évolution des taux de mortalité des principaux cancers - InCa – Novembre 2010.
24. <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Les-tumeurs-du-colon> visité le 02/02/2016
25. <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Facteurs-de-risque> visité le 02/02/2016
26. <http://www.admy78.org/4.aspx?sr=2> visité le 02/02/2016
27. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-03/ald_30_guide_ccr_web.pdf Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C (eds.). TNM Classification des tumeurs malignes (7^e éd.). 2010
28. Rev Med Suisse 2013;754-757 Mandel JS, Bond JH, Church TR, et al. Reducing mortality from colorectal cancer by screening for fecal occult blood. Minnesota colon cancer control study. *N Engl J Med* 1993;328:1365-71.
29. Rev Med Suisse 2013;754-757 Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Fecal DNA versus fecal occult blood for colorectal-cancer screening in an average-risk population. *N Engl J Med* 2004;351:2704-14.
30. Rev Med Suisse 2013;754-757 Halloran SP, Launoy G, Zappa M. European guidelines for quality assurance in colon cancer screening and diagnosis. First Edition. Faecal occult blood testing. *Endoscopy* 2012; 44:SE65-87.
31. <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Depistage-et-detection-precoce/Depistage-du-cancer-colorectal/L-essentiel-sur-le-test-immunologique> visité le 10/02/2016
32. <http://curie.fr/actualites/nouveau-test-depistage-cancer-colorectal-plus-performant-plus-simple-006153> visité le 10/02/2016
33. Rev Med Suisse 2013;754-757 Ahlquist DA, Zou H, Domanico M, et al. Next-generation stool DNA test accurately detects colorectal cancer and large adenomas. *Gastroenterology* 2012;142: 248-56.
34. Rev Med Suisse 2013;754-757 de Vos T, Tetzner R, Model F, et al. Circulating methylated SEPT9 DNA in plasma is a biomarker for colorectal cancer. *Clin Chem* 2009;55:1337-46.
35. Rev Med Suisse 2013;754-757 Dehlavi A, Nichita C, Kessler Brondolo V, et al. Prévention du cancer colorectal. *Rev Med Suisse* 2011;7: 1704-9.

36. Rev Med Suisse 2013; 754-757 Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, et al. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: A multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010;375:1624-33.
37. Rev Med Suisse 2013;754-757 Segnan N, Armaroli P, Bonelli L, et al. Once-only sigmoidoscopy in colorectal cancer screening: Follow-up findings of the italian randomized controlled trial – SCORE. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:1310-22.
38. Rev Med Suisse 2013;754-757 Rex DK, Cutler CS, Lemmel GT, et al. Colonoscopic miss rates of adenomas determined by back-to-back colonoscopies. *Gastroenterology* 1997;112:24-8.
39. Rev Med Suisse 2013; 754-757 Leggett B, Whitehall V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2010;138:2088-100.
40. Rev Med Suisse 2013;754-757 Johnson CD, Chen MH, Toledano AY, et al. Accuracy of CT colonography for detection of large adenomas and cancers. *N Engl J Med* 2008;359:1207.
41. Rev Med Suisse 2013;754-757 Spada C, Munoz-Navas M, Neuhaus H, et al. Second-generation colon capsule endoscopy compared with colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2011; 74:581-9.
42. <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Diagnostic> visité le 12/02/2016
43. <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Traitements> visité le 14/02/2016
44. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923253206000536> visité le 14/02/2016
45. http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-03/ald_30_guide_ccr_web.pdf visité le 15/02/2016
46. <http://www.snfge.org/content/3-cancer-du-colon> Pr Thierry LECOMTE Thésaurus national de cancérologie digestive: cancer du côlon. visité le 15/02/2016
47. <http://www.snfge.org/content/5-cancer-du-rectum> .P. Gérard Thésaurus national de cancérologie digestive: cancer du rectum. visité le 15/02/2016
48. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/resistlacta.pdf> chapitre 3 visité le 17/02/2016
49. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Bacteroides> visité le 01/09/2017
50. Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Parker, J. (2000). Host-Parasite Relationships. In M. T. Madigan, J. M. Martinko & J. Parker (Eds.), *Brock Biology of Microorganisms* (9th ed., pp. 773-800). Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
51. Citron, D. M., Poxton, I. R., & Baron, E. J. (2007). Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium, and Other Anaerobic Gram-Negative Rods. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. L. Landry, J. H. Jorgensen & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 911-932). Washington, D.C.: ASM Press.
52. Ryan, K. J. (2004). Clostridium, Peptostreptococcus, Bacteroides, and Other Anaerobes. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris Medical Microbiology - An Introduction to Infectious Disease* (4th ed., pp. 309-326). New York: McGraw-Hill.
53. Merino VR, Nakano V, Liu C, Song Y, Finegold SM, Avila-Campos MJ. Détection quantitative de Bacteroides fragilis entérotoxigéniques sous-types isolés des enfants avec et sans diarrhée. *J Clin Microbiol.* 2011 janvier 49 (1): 416-8.
54. Myers, LL, DS Shoop, LL Stackhouse, FS Newman, RJ Flaherty, GW Letson et RB Sack. 1987. Isolement de Bacteroides fragilis entérotoxigène chez les humains atteints de diarrhée. *J. Clin. Microbiol.*25: 2330-2333.

55. Dworkin, M., Falkow, S., Schleifer, K. H., Rosenberg, E., & Stackebrandt, E. (Eds.). (2006). *The Prokaryotes: Handbook on the Biology of Bacteria: Proteobacteria*. New York, USA: Springer Science & Business Media, LLC.
56. Basset, C., J. Holton, A. Bazeos, D. Vaira et S. Bloom. 2004. Les espèces *Helicobacter* et *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis* sont-elles impliquées dans les maladies inflammatoires de l'intestin? *Creuser. Dis. Sci.* 49: 1425-1432.
57. Prindiville, TP, RA Sheikh, SH Cohen, YJ Tang, MC Cantrell et J. Silva, Jr. 2000. Séquences de gènes d'entérotoxine de *Bacteroides fragilis* chez des patients atteints d'une maladie intestinale inflammatoire. *Emerg. Infecter. Dis.* 6: 171-174.
58. Cynthia L. Sears. *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: a Rogue among Symbiotes*. doi: 10.1128/CMR.00053-08.
59. Murray PR, Citrol DM. General processing of specimens for anaerobic bacteria. In: Balows A, Hausler WJ, Herman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds, *Manual of clinical microbiology*, 5th edn. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991; 488–504.
60. Lawson PA, Gharbia SE, Shah HN, Clark DR. Recognition of *Fusobacterium nucleatum* subgroups Fn-1, Fn-2 and Fn-3 by ribosomal RNA gene restriction patterns. *FEMS Microbiol Lett* 1989; 531: 41–45.
61. Moncrief JS, Obiso R, Barroso LA et al. The enterotoxin of *Bacteroides fragilis* is a metalloprotease. *Infect Immun* 1995; 63: 175–181.
62. Pantosti A, Malpelli M, Wilks M, Menozzi MG, D'Ambrosio F. Detection of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* by PCR. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2482–2486.
63. N. Ulger Toprak , A. Yagci ,B. M. Gulluoglu ,M. L. Akin ,P. Demirkalem, T Celenk, G. Soyler. A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01494.x.
64. Wu S, Lim KC, Huang J, Saidi RF, Sears CL. *Bacteroides fragilis* enterotoxin cleaves the zonula adherens protein, E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14979–14984.
65. Wu S, Morin PJ, Mauyo DJIK, Sears C. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces c-myc expression and cellular proliferation. *Gastroenterology* 2003; 124: 392–400.
66. Jousimies-Somer HR, Finegold SM. Anaerobic gram-negative bacilli and cocci. In: Balows A, Hausler WJ, Herman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds, *Manual of clinical microbiology*, 5th edn. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991; 538–553.
67. Sears CL, Myers LL, Lozenby A, Van Tassel RL. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*. *Clin Infect Dis* 1995; 20(suppl): 142–148.
68. Wu, S., LA Dreyfus, AO Tzianabos, C. Hayashi et CL Sears. 2002. Diversité de la toxine métalloprotéase produite par *Bacteroides fragilis* entérotoxigène. *Infecter. Immun.* 70 : 2463-2471
69. Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, et al. The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. *Clin Infect Dis* 2015 ; 60 : 208-15.
70. J Raisch, G Dalmasso Bonnet. Certaines bactéries de la flore commensale exacerberaient-elle la carcinogenèse colorectale ? *médecine/sciences* 2016 ; 32 : 175-82.
71. Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016-22.

72. Wu S, Morin PJ, Maouyo D, Sears CL. Bacteroides fragilis enterotoxin induces c-Myc expression and cellular proliferation. Gastroenterology 2003; 124: 392-400.
73. Kim JM, Lee JY, Kim YJ. Inhibition of apoptosis in Bacteroides fragilis enterotoxin-stimulated intestinal epithelial cells through the induction of c-IAP-2. Eur J Immunol 2008; 38: 2190-9.
74. Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S, et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic Bacteroides fragilis-induced colon tumorigenesis. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108: 15354-9.
75. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.1.5.html> visité le 05/12/2016
76. <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/resistlacta/POLY.Chp.7.html> visité le 05/12/2016
77. https://fr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli visité le 01/09/2017
78. Winter SE, Lopez CA, Baumler AJ. La dynamique des communautés microbiennes associées à l'intestin au cours de l'inflammation. EMBO Rep 2013 ; 14 : 319 - 27.
79. M Bonnet , E Buc , P Sauvanet , C Darcha , D Dubois , B Pereira , P Déchelotte , R Bonnet , D Pezet , Arlette Darfeuille-Michaud. Colonisation de l'intestin humain par *E. coli* et risque de cancer colorectal. DOI: 10.1158 / 1078-0432.CCR-13-1343.
80. Buc E, Dubois D, Sauvanet P, Raisch J, Delmas J, Darfeuille-Michaud A, et al. Prévalence élevée d'*E. coli* associé aux muqueuses produisant de la cyclomoduline et de la génotoxine dans le cancer du côlon. PLoS One 2013 ; 8 : e56964.
81. Cougnoux A, Dalmaso G, Martinez R, Buc E, Delmas J, Gibold L, Sauvanet P, Darcha C, Déchelotte P, Bonnet M, et al. Bacterial genotoxin colibactin promotes.
82. Bonnet M, Buc E, Sauvanet P, Darcha C, Dubois D, Pereira B, Déchelotte P, Bonnet R, Pezet D, Darfeuille-Michaud A. Colonization of the human gut by *E. coli* and colorectal cancer risk. Clin Cancer Res. 2014; 20:859–867.
83. J Veziant, J Gagnière, E Jouberton, V Bonnin, P Sauvanet, D Pezet, N Barnich, E Miot-Noirault, M Bonnet. Association of colorectal cancer with pathogenic *Escherichia coli*: Focus on mechanisms using optical imaging. doi: 10.5306/wjco.v7.i3.293.
84. Tenaillon O, Skurnik D, Picard B, et al. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol 2010; 8:207-17.
85. Raisch J, Buc E, Bonnet M, et al. Colon cancer-associated B2 *Escherichia coli* colonize gut mucosa and promote cell proliferation. World J Gastroenterol 2014; 20: 6560-72.
86. Lemercier C. Les infections bactériennes vues du génome eucaryote : cassures double-brin, inflammation et cancer. Med Sci (Paris) 2014; 30:758-64.
87. Arthur JC, Perez-Chanona E, Muhlbauer M, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. Science 2012; 338: 120-3.
88. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, et al. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107: 11537-42.
89. Vizcaino MI, Crawford JM. The colibactin warhead crosslinks DNA. Nat Chem 2015; 7: 411-7.
90. Knust, Z., and Schmidt, G. (2010). Cytotoxic Necrotizing Factors (CNFs) a growing toxin family. Toxins 2, 116–127. doi: 10.3390/toxins2010116.

91. Elliott SJ, et al. La séquence complète du locus de l'effacement des entérocytes (LEE) de *E. coli* entéropathogène E2348 / 69. *Mol Microbiol.* 1998; 28: 1-4.
92. Knutton S, et al. Une nouvelle organelle de surface associée à EspA d' *Escherichia coli* entéropathogène impliqué dans la translocation de protéines dans les cellules épithéliales. *EMBO J.* 1998; 17: 2166-2176.
93. Madigan M; Martinko J (editors). (2005). *Brock Biology of Microorganisms*, 11th ed., Prentice Hall. ISBN 0-13-144329-1.
94. Citron, D. M., Poxton, I. R., & Baron, E. J. (2007). *Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium, and Other Anaerobic Gram-Negative Rods*. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. L. Landry, J. H. Jorgensen & M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 911-932).
95. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Fusobacterium> visité le 01/09/2017
96. Larsen PD, Chartrand SA, Adickes M., «*Fusobacterium necrophorum* meningitis associated with cerebral vessel thrombosis. », dans *Pediatr Infect Dis J*, vol. 16, no 3, 1997, p. 330–331.
97. Hagelskjær Kristensen L, Prag J., «*Human necrobacillosis, with emphasis on Lemierre's syndrome.* », dans *Clin Infect Dis*, vol. 31, no 2, 2000, p. 524–532.
98. Hawley CE, Falker Jr. WA., «*Anticomplementary activity of 'Fusobacterium polymorphum' in normal and C4-deficient sources of guinea pig complement.* », dans *Infect Immun*, vol. 18, no 1, 1977, p. 124–129.
99. Moore WE, Moore LV. La bactérie des maladies parodontales. *Periodontol* 2000. 1994; 5: 66-77.
100. Kistler JO, Stand V, Bradshaw DJ, Wade WG. Développement de la communauté bactérienne dans la gingivite expérimentale. *PLoS One.* 2013; 8: e71227.
101. Didilescu AC, Rusu D, Anghel A, Nica L, Iliescu A, M Greabu, Bancescu G, Stratul SI. Investigation de six espèces bactériennes sélectionnées dans les lésions endo-parodontales. *Int Endod J.* 2012; 45: 282-293.
102. Siqueira JF, Jr, Rocas IN. Le microbiote des abcès apicaux aigus. *J Dent Res.* 2009; 88: 61-65.
103. Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, et al. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 292-8.
104. Kostic AD, Chun E, Robertson L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumorimmune microenvironment. *Cell Host Microbe* 2013; 14:20715.
105. Conesa-Zamora P, Garcia-Solano J, Garcia-GarciaF, et al. Expression profiling shows differential molecular pathways and provides potential new diagnostic biomarkers for colorectal serrated adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2013; 132:297–307.
106. Gaiser T, Meinhardt S, Hirsch D, et al. Molecular patterns in the evolution of serrated lesion of the colorectum. *Int J Cancer* 2013; 132:1800–10.
107. Bosman FT, World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of the digestive system, 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010.
108. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22:299–306.
109. Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM, et al. Periodontal pathogens: a quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 45:191–9.

110. Nosho K, Igarashi H, Nojima M, et al. Association of microRNA-31 with BRAF mutation, colorectal cancer survival and serrated pathway. *Carcinogenesis* 2014; 35:776–83.
111. Nosho K, Kure S, Irahara N, et al. A prospective cohort study shows unique epigenetic, genetic, and prognostic features of synchronous colorectal cancers. *Gastroenterology* 2009; 137:1609–20 e1-3.
112. Ito M, Mitsuhashi K, Igarashi H, et al. MicroRNA-31 expression in relation to BRAF mutation, CpG island methylation and colorectal continuum in serrated lesions. *Int J Cancer* 2014; 135:2507–15.
113. Miki Ito, Shinichi Kanno, Katsuhiko Nosho. Association of *Fusobacterium nucleatum* with clinical and molecular features in colorectal serrated pathway. doi.org/10.1002/ijc.29488.
114. AD Kostic, Chun E, Robertson L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentialise la tumorigénèse intestinale et module le microenvironnement immuno-tumoral. *Cell Host Microbe* 2013; 14: 207 - 15.
115. Flanagan L, Schmid J, Ebert M, et al. *Fusobacterium nucleatum* s'associe aux stades du développement du néoplasie colorectal, du cancer colorectal et de l'évolution de la maladie. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 1381 - 90.
116. McCoy AN, F Araujo-Pérez, Azcarate-Peril A, et al. *Fusobacterium* est associé à des adénomes colorectaux. *PLoS One* 2013; 8: e53653.
117. Flicek P, Amode MR, Barrell D, Beal K, Brent S, Chen Y, Clapham P, Coates G, Fairley S, Fitzgerald S, et al. 2011. Ensembl 2011. *Nucleic Acids Res* 39: D800-D806.
118. M Castellarin, René L. Warren, J. Douglas Freeman, L Dreolini, M Krzywinski, J Strauss, R Barnes, P Watson, E Allen-Vercoe, Richard A. Moore, Robert A. Holt. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. doi: 10.1101/gr.126516.111.
119. Warren RL, G Sutton, Jones SJ, Holt RA 2007. Assemblage de millions de courtes séquences d'ADN en utilisant SSAKE. *Bioinformatique* 23: 500-501.
120. Shenker BJ, Datar S. *Fusobacterium nucleatum* inhibits human Tcell activation by arresting cells in the midG1 phase of the cell cycle. *Infect Immun* 1995; 63: 48306.
121. Demuth DR, Savary R, Golub E, Shenker BJ. Identification and analysis of fipA, a *Fusobacterium nucleatum* immunosuppressive factor gene. *Infect Immun* 1996; 64: 1335-41.
122. Rubinstein MR, Wang X, Liu W, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating Ecadherin/betacatenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 2013; 14: 195206.
123. Han, Y.W., et al., Identification and characterization of a novel adhesin unique to oral fusobacteria. *Journal of Bacteriology*, 2005. 187(15): p. 5330-40.
124. Gur C, Ibrahim Y, Isaacson B, et al. Binding of the Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity* 2015; 42:34455.
125. Desvaux, M., A. Khan, S. A. Beatson, A. Scott-Tucker, and I. R. Henderson. 2005. Protein secretion systems in *Fusobacterium nucleatum*: genomic identification of type 4 piliation and complete type V pathways brings new insight into mechanisms of pathogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1713:92-112.
126. Sears, C. L. & Garrett, W. S. Microbes, microbiota and colon cancer. *Cell Host Microbe* 15, 317–328 (2014).

127. Yoshimoto, S. et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 499, 97–101 (2013).
128. P.Louis, Georgina L. Hold, Harry J. Flint. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. Doi: 10.1038/nrmicro3344.
129. Yao CK, Muir JG, Gibson PR (2016). Article de revue: aperçu de la fermentation protéique colique, de sa modulation et de ses implications potentielles sur la santé. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 43 181-196. 10.1111 / apt.13456.
130. Hughes R., Magee EA, Bingham S. (2000). Dégradation des protéines dans le gros intestin: pertinence pour le cancer colorectal. *Curr. Problèmes Intest. Microbiol.* 1 51-58.
131. Windey K., De Preter V., Verbeke K. (2012). Pertinence de la fermentation des protéines dans la santé intestinale. *Mol. Nutr. Rés. Alimentaire* 56 184-196. 10.1002 / mnfr.201100542.
132. Kastenmüller G., Schenk ME, Gasteiger J., Mewes H.-W. (2009). Découvrir des voies métaboliques pertinentes aux traits phénotypiques des génomes microbiens. *Génome Biol.* 10: R28. 10.1186 / gb-2009-10-3-r28.
133. Sathishchandran C., Boyle SM (1986). Purification et propriétés de l'agmatine uréohydrolyase, enzyme biosynthétique de la putrescine chez *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 165 843-848. 10.1128 / jb.165.3.843-848.1986.
134. H Kaur, C Das, Sharmila S. Mande. In Silico Analysis of Putrefaction Pathways in Bacteria and Its Implication in Colorectal Cancer. doi: 10.3389/fmicb.2017.02166.
135. Finn RD, Bateman A., Clements J., Coghill P., Eberhardt RY, Eddy SR, et al. (2014). Pfam: la base de données des familles de protéines. *Acides nucléiques Res.* 42 D222-D230. 10.1093 / nar / gkt1223.
136. Kostic A. D., Gevers D., Pedamallu C. S., Michaud M., Duke F., Earl A. M., et al. (2012). Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res.* 22 292–298. 10.1101/gr.126573.111.
137. Wang T., Cai G., Qiu Y., Fei N., Zhang M., Pang X., et al. (2012). Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J.* 6 320–329. 10.1038/ismej.2011.109.
138. Zackular J. P., Rogers M. A. M., Ruffin M. T., Schloss P. D. (2014). The human gut microbiome as a screening tool for colorectal cancer. *Cancer Prev. Res.* 7 1112–1121. 10.1158/1940-6207.CAPR-14-0129.
139. Burns M. B., Lynch J., Starr T. K., Knights D., Blehman R. (2015). Virulence genes are a signature of the microbiome in the colorectal tumor microenvironment. *Genome Med.* 7:55. 10.1186/s13073-015-0177-8.
140. Nakatsu G., Li X., Zhou H., Sheng J., Wong S. H., Wu W. K. K., et al. (2015). Gut mucosal microbiome across stages of colorectal carcinogenesis. *Nat. Commun.* 6:8727. 10.1038/ncomms9727.
141. Natarajan N, Pluznick JL (2014) From microbe to man: the role of microbial short chain fatty acid metabolites in host cell biology. *Am JPhysiol Cell Physiol.* doi:10.1152/ajpcell.00228.2014.
142. Fung KYV, Cosgrove L, Lockett T et al (2012) A review of the potential mechanism for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. *Br J Nutr* 108:820–831.
143. Hamer HM, Jonkers D, Venema K et al (2008) Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther* 27:104–119.

144. Chang PV, Hao L, Offermanns S et al (2014) The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:2247–2252.
145. Smith PM, Howitt MR, Panikov N et al (2013) The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic T reg cell homeostasis. *Science* 341:569–573.
146. Arpaia N, Campbell C, Fan X et al (2013) Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* 504:451–455.
147. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S et al (2013) Commensal microbe-derived butyrate induced the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 504:446–450.
148. Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S et al (2014) Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity* 40:128–139.
149. Payne CM, Weber C, Crowley-Skillicorn C et al (2007) Deoxycholate induces mitochondrial oxidative stress and activates NF- κ B through multiple mechanisms in HCT-116 colon epithelial cells. *Carcinogenesis* 28:215–2.
150. d’Adda di Fagagna F (2008) Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer* 8:512–522.
151. Ohtani N, Hara E (2013) Roles and mechanisms of cellular senescence in regulation of tissue homeostasis. *Cancer Sci* 104:525–530.
152. Coppé JP, Patil CK, Rodier F et al (2008) Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol* 6:2853–2868.
153. Rodier F, Campisi J (2011) Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol* 192:547–556.
154. Kuilman T, Peepers DS (2009) Senescence-messaging secretome: SMS-ing cellular stress. *Nat Rev Cancer* 9:81–94.
155. Acosta JC, O’Loghlen A, Banito A et al (2008) Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell* 133:1006–1018.
156. Kortlever RM, Higgins PJ, Bernards R (2006) Plasminogen activator inhibitor-1 is a critical downstream target of p53 in the induction of replicative senescence. *Nat Cell Biol* 8:877–884.
157. Naoko Ohtani. Microbiome and cancer. DOI 10.1007/s00281-014-0457-1.

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2017 / 2018

Nom et Prénom : M. KAZE Edmond

Titre de la thèse :

Le lien entre le microbiote intestinal et le cancer colorectal.

Mots-clés:

Microbiote intestinal, Cancer colorectal, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli-Fusobacterium nucleatum*, Toxines, Métabolites bactériens

Résumé :

Le cancer colorectal (CCR) constitue un réel problème majeur de santé publique. Il occupe surtout la seconde place en termes de mortalité, derrière le cancer du poumon. Le CCR se développe à partir des cellules (muqueuses saines) qui tapissent la paroi interne du côlon et du rectum, par accumulation de mutations et modifications épigénétiques. Dans plus de 80 % des cas, il provient d'une tumeur bénigne, appelée polype adénomateux, qui évolue lentement et finit par devenir cancéreuse. Ce processus nommée séquence adénome-cancer est assez long et peut s'étendre sur plus de 10 ans.

Le CCR est une maladie multifactorielle sous la dépendance de facteurs environnementaux et génétiques. On a des preuves croissantes issues des recherches qui relient le microbiote intestinal au CCR. Chez les patients atteints de CCR, on constate une modification de la composition du microbiote intestinal. Ce phénomène appelé dybiose conduit à une surreprésentation anormale des espèces bactérienne commensales. Les études les pertinentes concernent, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* et *Fusobacterium nucleatum*.

Ils sembleraient que ces trois bactéries de par leurs différentes toxines et métabolites produites, participent au développement du CCR au travers de leurs propriétés inflammatoires et oncogéniques. Le but de ce travail consiste donc à vérifier l'hypothèse selon laquelle ils existeraient une corrélation entre les trois espèces bactériennes et le CCR.

Membres du jury :

Président (Directeur de thèse) : Dr Christel NEUT
Maitre de conférences, Laboratoire de
bactériologie, Faculté de Pharmacie Lille

Assesseur : Dr Nicolas KAMBIA
Maitre de conférences, Laboratoire de
Pharmacologie, Faculté de Pharmacie Lille

Membre extérieur : Dr Ibrahim AIDARA Pharmacien titulaire,
Pharmacie du Parvis Saint Michel