



**HAL**  
open science

## Le microbiote intestinal à l'ère de la métagénomique : Perspectives d'application dans la filière avicole

Fanny Calenge, Lilian Leloutre, Pascale Quéré, Philippe Velge, Irène Gabriel,  
Joël Dore

### ► To cite this version:

Fanny Calenge, Lilian Leloutre, Pascale Quéré, Philippe Velge, Irène Gabriel, et al.. Le microbiote intestinal à l'ère de la métagénomique : Perspectives d'application dans la filière avicole. 12. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Apr 2017, Tours, France. 1222 p. hal-01608192

**HAL Id: hal-01608192**

**<https://hal.science/hal-01608192>**

Submitted on 2 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# LE MICROBIOTE INTESTINAL A L'ÈRE DE LA MÉTAGÉNOMIQUE : PERSPECTIVES D'APPLICATION DANS LA FILIERE AVICOLE

Calenge Fanny<sup>1</sup>, Leloutre Lilian<sup>2</sup>, Quéré Pascale<sup>3</sup>, Velge Philippe<sup>3</sup>, Gabriel Irène<sup>4</sup>, Doré Joël<sup>5</sup>

<sup>1</sup> GABI, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay - 78350 JOUY-EN-JOSAS

<sup>2</sup> TECHNA - Route de Saint Etienne de Montluc, les Landes de Bauches - 44220 COUERON

<sup>3</sup> UMR ISP, INRA/ Université François Rabelais - 37380 NOUZILLY

<sup>4</sup> URA, INRA - 37380 NOUZILLY

<sup>5</sup> Institut MICALIS, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay - 78350 JOUY-EN-JOSAS

<sup>6</sup> MGP MétaGénoPolis, INRA, Université Paris-Saclay - 78350 JOUY-EN-JOSAS

[fanny.calenge@inra.fr](mailto:fanny.calenge@inra.fr)

## RÉSUMÉ

L'étude du microbiote intestinal, chez l'Homme puis chez les animaux modèles et maintenant d'élevage, a été révolutionnée par l'utilisation de technologies de séquençage d'ADN à haut débit qui a permis le développement des approches de métagénomique, c'est-à-dire l'étude de l'ensemble des génomes constituant le microbiote intestinal. Ces approches ont largement contribué à montrer à quel point le microbiote intestinal est important pour son hôte, dont il est en fait le symbiote, de par ses rôles non seulement dans la digestion d'aliments non digestibles par l'hôte mais plus généralement dans la régulation du métabolisme, la mise en place et la régulation de l'immunité, la résistance à la colonisation par des pathogènes ou le comportement via un effet sur le cerveau. Ces connaissances théoriques ont conduit à des applications diagnostiques et thérapeutiques chez l'Homme. On peut espérer de la même façon améliorer nombre de caractères d'intérêt chez la volaille, notamment santé, robustesse et efficacité digestive via l'analyse du microbiote et sa modulation par des leviers, dont certains (alimentation, probiotiques, prébiotiques) existent déjà et pourraient être améliorés. Cette revue explique ce qu'est la métagénomique, ce qu'elle apporte à la connaissance du microbiote intestinal et à quel type d'applications en élevage elle pourrait conduire, en prenant en compte ce symbiote longtemps ignoré et pourtant essentiel.

## ABSTRACT

Research on gut microbiota, in humans as well as in models and livestock species, has been revolutionized by the use of high throughput DNA sequencing technologies, which allowed the development of metagenomic approaches, defined as the study of all the microbial genomes constituting the intestinal microbiota. These approaches largely contributed to show to which extent the intestinal microbiota is essential to its host, with which it forms a symbiosis. It contributes to the digestion of food non digestible by host enzymes but also modulates the host metabolism, the maturation and regulation of immunity, resistance to colonization by enteric pathogens and even behavior through interactions with the brain. This theoretical knowledge is currently leading to therapeutic applications in human medicine. Similarly, we can hope to improve several traits of interest in poultry, based on the analysis or the modulation of the intestinal microbiota using a combination of tools, which for some of them are already developed (feed, probiotics, prebiotics) and could be improved. This review explains what is metagenomics, what it brings to the study of intestinal microbiota and presents on-farm applications that could emerge by taking into account this long-ignored but essential symbiont.

## INTRODUCTION

Un microbiote est défini comme une population de micro-organismes formant un écosystème complexe. L'Homme et les animaux d'élevage sont porteurs de nombreux microbiotes qui se distinguent en fonction de leur localisation sur le corps (Cho et Blaser, 2012). Le microbiote intestinal est celui qui comporte la population la plus abondante de micro-organismes, surtout des bactéries, mais aussi des archées, champignons, protistes et virus. Il interagit en permanence avec son hôte, avec lequel il forme une symbiose. Ses rôles dans la fonction digestive sont connus de longue date, mais les avancées technologiques récentes dans le domaine du séquençage à haut débit de l'ADN ont permis un bond en avant des connaissances sur sa composition détaillée, ses rôles en fait multiples, et son fonctionnement chez l'Homme (Blottière et al., 2013). Le microbiote intestinal a un rôle important non seulement localement dans la digestion, le développement et le fonctionnement du système immunitaire et du tractus digestif, dans la protection contre les pathogènes entériques, mais aussi dans le métabolisme général de l'hôte et dans le fonctionnement du cerveau. La caractérisation d'un métagénome intestinal de référence (ensemble des gènes bactériens du microbiote intestinal) pour l'Homme a rendu possibles des approches de métagénomique quantitative et fonctionnelle. Ces approches ont récemment contribué à la mise en évidence de l'importance considérable, et jusqu'à présent sous-estimée, du microbiote intestinal pour la santé de son hôte (Clemente, 2012). L'existence de profils de microbiotes spécifiques de conditions pathologiques diverses conduit déjà actuellement à la mise au point de nouvelles approches thérapeutiques. Ces avancées offrent des perspectives prometteuses pour les animaux d'élevage (Calenge et al., 2014).

Chez la volaille, le rôle du microbiote intestinal dans la digestion et la robustesse des animaux est connu de longue date. La poule (*Gallus gallus*) est sans doute l'espèce d'élevage pour laquelle les prébiotiques, probiotiques et additifs sont le plus utilisés pour améliorer santé et croissance via la modulation du microbiote digestif, avec un regain d'intérêt apparu à l'occasion de la suppression de l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance. La disponibilité d'outils d'analyse performants, comme le séquençage d'ADN à haut débit, et la multiplicité des enjeux portés par l'étude du microbiote chez cette espèce renouvellent à présent les travaux de recherche à ce sujet. Chez les animaux d'élevage, le microbiote intestinal a un rôle direct sur la réduction de la colonisation par des pathogènes intestinaux. Ce rôle est bien connu chez la poule pour la réduction du portage de salmonelles. Il aurait aussi un rôle dans la résistance à certains pathogènes non intestinaux, via la régulation du système immunitaire

de l'hôte. Ainsi, des liens entre composition du microbiote intestinal et maladie de Marek chez le poulet ont été montrés (Perumbakkam et al, 2014). De même que chez l'Homme, le microbiote intestinal pourrait avoir un rôle dans les pathologies non infectieuses, notamment intestinales mais pas uniquement, via la régulation de l'immunité et du métabolisme de l'hôte. Il intervient dans l'hydrolyse des composants alimentaires, en particulier ceux qui ne sont pas hydrolysables par l'hôte, à partir desquels il produit des molécules dont beaucoup sont bénéfiques voire essentielles, mais aussi parfois défavorables. Toutes ces fonctions du microbiote digestif font de sa modulation un enjeu pour la santé animale et donc aussi humaine (pour le contrôle des zoonoses notamment), mais aussi pour la productivité, la robustesse des animaux et la durabilité de l'élevage.

L'objectif de cette synthèse est d'expliquer : (i) quelles connaissances ont apporté et continuent d'apporter les approches de métagénomique basées sur le séquençage à haut débit chez l'Homme ; (ii) quelles connaissances ces approches permettraient d'obtenir chez les volailles en complément de celles déjà acquises ; (iii) quelles sont les perspectives d'application envisageables en élevage à plus ou moins long terme.

### 1. La métagénomique : définition et applications chez l'Homme

La métagénomique au sens strict concerne l'étude de l'ensemble des génomes des organismes d'un microbiote. Au sens large, certains incluent dans la définition l'approche dite « ribosomique » ou « 16S », qui repose elle aussi sur le séquençage à haut débit mais ne s'intéresse qu'à un seul gène en tant que marqueur phylogénétique. Nous la décrivons aussi, dans la mesure où elle a permis un bond en avant des connaissances sur la composition du microbiote et demeurera très instructive à l'avenir même si les approches de métagénomique deviennent plus abordables.

#### 1.1 Méthodes d'étude du microbiote reposant sur le séquençage à haut débit

##### a. Séquençage du gène de l'ARN ribosomique 16S

Le gène codant pour l'ARN ribosomique (ARNr) 16S, spécifique des bactéries et des archées, est celui qui est le plus souvent ciblé dans les études d'écosystèmes microbiens (Yarza et al., 2014). Présent en au moins un exemplaire dans chaque génome bactérien, il comporte à la fois des régions très conservées qui permettent une amplification par PCR (polymerase chain reaction) et des régions hypervariables spécifiques de groupes bactériens. Le séquençage de régions hypervariables du gène de l'ARNr 16S amplifiées par PCR à l'aide d'amorces

ciblant les régions conservées conduit à l'obtention de courts fragments d'ADN. Ces derniers sont regroupés en OTU (Operational Taxonomic Unit) sur la base de la similarité de séquences, une OTU étant définie comme un ensemble de séquences ayant plus de 98% de similarité. Les OTU sont ensuite comparées à des séquences d'affiliation taxonomique connue recensées dans des bases de données dédiées, ce qui permet d'affecter chaque OTU à un groupe bactérien correspondant à une espèce, un genre ou tout autre niveau taxonomique jusqu'au phylum selon la précision des informations disponibles et le niveau de spécificité de l'OTU. Cette approche est à la fois qualitative et quantitative. Elle permet de déterminer la composition en OTU d'un écosystème bactérien, ainsi que sa richesse (quantité d'OTU différentes) et sa diversité (indice prenant en compte à la fois la quantité d'OTU différentes et les abondances relatives des OTU).

Cette approche est bien plus exhaustive que les approches précédemment employées (électrophorèse dénaturante TTGE ou DGGE, hybridation in situ couplée à la microscopie en épifluorescence ou la cytométrie, par exemple). Elle est applicable à n'importe quel microbiote, relativement facile à mettre en œuvre et abordable en termes de coût, car la quantité de séquence nécessaire pour caractériser le gène de l'ARNr 16S est faible. Elle est actuellement largement employée chez la poule (Oakley et al., 2014) et quelques études mentionnent son utilisation chez le Canard (Vasaï et al., 2014) ou la Caille (Wilkinson et al., 2016).

#### *b. Séquençage complet du métagénome et approches –omiques*

L'approche 16S est extrêmement utile mais imparfaite, du fait de l'existence de biais de quantification dus à la présence de plusieurs copies de ce gène chez certaines espèces bactériennes et à une variabilité de séquence intra-espèce, mais aussi du fait d'une connaissance imparfaite de l'assignation taxonomique de nombreuses bactéries. Et surtout cette approche ne donne aucune information directe sur les autres gènes bactériens et donc sur les fonctions potentiellement exercées par le microbiote intestinal. Or la compréhension des mécanismes d'interaction entre microbiote intestinal et hôte repose sur la connaissance de ces fonctions.

Le séquençage complet de l'ensemble des génomes composant le microbiote étudié, ou métagénome, offre au contraire la possibilité de déterminer de façon beaucoup plus exhaustive les fonctions potentiellement réalisées par le microbiote, sans biais de quantification majeur. Cette approche est possible grâce au couplage de technologies de séquençage massif et à haut débit avec des analyses bioinformatiques, tout comme pour l'approche 16S, mais avec une plus grande quantité et complexité des séquences à analyser. L'expérience récente a montré que la constitution préalable d'un métagénome de

référence de l'espèce animale étudiée facilite grandement cette approche. Il s'agit d'une liste, ou catalogue, de gènes des organismes composant le microbiote, reconstitués *de novo* à partir de fragments d'ADN (figure 1). Les travaux les plus récents incluent dans cette liste des génomes entiers appelés espèces métagénomiques (MGS), reconstitués sur la base de l'observation de co-variations d'abondances des gènes entre échantillons (Nielsen et al., 2014) : il est en effet attendu que les abondances de l'ensemble des gènes d'un génome varient de la même façon d'un échantillon à l'autre puisqu'ils sont physiquement liés sur le même support génétique. Le premier catalogue de référence du microbiote digestif a été celui du métagénome intestinal humain, publié en 2010 (Qin et al., 2010) et complété depuis (Li et al. 2014). Il a été suivi plus récemment de ceux de la Souris (Xiao et al., 2015) et du Porc (Xiao et al., 2016), et il est très probable que ceux du lapin, de la vache et de la poule (*Gallus gallus*) soient publiés prochainement. L'existence d'un catalogue de référence autorise les approches de détermination rapide et complète du profil métagénomique de nombreux individus, mais aussi du métatranscriptome, afin d'étudier l'expression des gènes par le microbiote. En raison d'une quantité de séquence à produire nettement plus importante, les analyses de métagénomique sont beaucoup plus coûteuses que les l'analyse de la diversité du gène de l'ARNr 16S. Les approches de métaprotéomique et de métamétabolomique, en plein développement, sont également très instructives puisqu'elles s'intéressent aux produits de l'activité du microbiote susceptibles d'interagir avec l'hôte.

#### **1.2 Quelles avancées scientifiques chez l'homme, pour quelles applications ?**

L'existence du catalogue de référence du métagénome humain a permis d'accéder pour la première fois de façon exhaustive aux fonctions codées par les gènes du microbiome intestinal humain, et de caractériser avec précision la variabilité du métagénome humain au sein des cohortes étudiées. Le catalogue recense actuellement presque 10 millions de gènes bactériens non redondants (Li et al., 2014), soit 400 fois plus que de gènes humains. L'utilisation de ce catalogue pour caractériser les échantillons de fèces employés pour le constituer a mis en évidence la grande variabilité individuelle du microbiote intestinal humain, avec seulement 57 espèces bactériennes communes à au moins 90% des individus de la cohorte étudiée (Qin et al., 2010). Ce microbiote « noyau » réalise des fonctions probablement essentielles à la survie des bactéries dans le tube digestif (Qin et al., 2010). Par ailleurs, les microbiotes des individus de la première cohorte étudiée sont structurés en trois grands types d'équilibres entre bactéries appelés entérotypes et nommés en fonction du genre bactérien dominant : *Bacteroides*, *Prevotella* et *Ruminococcus* (Arumugam

et al., 2011). Ces entérotypes seraient façonnés par le type d'alimentation de l'hôte : la consommation de protéines et graisses animales serait associée à l'entérotype *Bacteroides*, tandis que les régimes riches en glucides complexes seraient associés à l'entérotype *Prevotella*. De plus il est probable que chacun des entérotypes possède des spécificités fonctionnelles, ce qui pourrait conditionner les interactions avec l'hôte, en particulier les réponses individuelles aux régimes alimentaires et aux thérapies médicamenteuses (Aziz, 2013).

### 1.3 Identification de signatures de pathologies par métagénomique quantitative

Une des applications les plus immédiates du métagénome de référence humain a été la caractérisation du profil de gènes et l'estimation de la richesse et diversité du microbiome d'individus atteints par une pathologie, par rapport au profil d'individus sains. Cette approche, dite de métagénomique quantitative, a conduit à la recherche de descripteurs du microbiote spécifiques de toute une série de pathologies, notamment des pathologies non infectieuses telles que par exemple des pathologies inflammatoires de l'intestin (maladie de Crohn) ou la cirrhose du foie (Qin et al., 2014). Les descripteurs en question peuvent être des abondances de gènes ou d'espèces métagénomiques (MGS), ou bien le niveau de diversité ou de richesse du microbiote. La richesse en gènes semble être un marqueur de santé particulièrement important à l'âge adulte. Ainsi, les individus possédant un microbiote avec une faible richesse en gènes ont des caractéristiques inflammatoires et métaboliques moins favorables prédisposant au diabète de type 2 et à l'obésité (Le Chatelier et al., 2013), mais aussi potentiellement aux maladies cardio-vasculaires et à certains cancers. Par ailleurs l'entérotype *Bacteroides* présenterait une richesse en gènes inférieure à celle des deux autres entérotypes (Le Chatelier et al., 2013). Cette faible richesse du microbiote intestinal proviendrait de certaines caractéristiques du mode de vie occidental contemporain qui auraient conduit à un déséquilibre du microbiote intestinal: fort taux de naissance par césarienne empêchant la colonisation du microbiote de l'enfant par le microbiote vaginal, sédentarité, alimentation des nourrissons par du lait maternisé et non du lait maternel, hygiène excessive limitant la mobilisation précoce du système immunitaire de l'hôte pour lutter contre des pathogènes divers et régime alimentaire appauvri en fibres complexes d'origine végétale.

### 1.4 Métagénomique fonctionnelle : étude des fonctions du microbiote intestinal

L'existence d'un métagénome de référence permet des approches globales de métagénomique fonctionnelle, qui visent à caractériser les fonctions

portées par le microbiote. L'étude du métatranscriptome du microbiote intestinal est pour l'instant limitée, du fait notamment de la fragilité des molécules d'ARN messager (ARNm) et de la difficulté à extraire des ARNm de bonne qualité (Bashiardes et al., 2016). Il a cependant été montré que certains gènes abondants étaient relativement peu exprimés tandis que certains gènes peu abondants étaient très exprimés, ce qui souligne que le métatranscriptome reflète plus fidèlement l'activité fonctionnelle réelle du microbiote (Franzosa et al., 2014). Une autre approche très prometteuse consiste à identifier, par criblage à haut débit, les fonctions et/ou les protéines ou métabolites produits par des fragments (gènes) du métagénome, clonés dans des vecteurs d'expression puis criblés par contact avec des cellules en culture (de Wouters et al., 2014). Un des avantages considérables de cette approche est qu'elle est sans *a priori* et permet d'identifier des gènes candidats pour des fonctions d'intérêt sans même connaître les génomes bactériens dont ils sont issus.

Ces deux types d'approches visent à identifier les produits de l'expression des gènes du métagénome : ARNm, protéines et métabolites, pour comprendre comment ces derniers interagissent avec l'hôte. Ces approches, bien que plus lourdes à mettre en œuvre qu'une simple étude de la composition du microbiote, sont indispensables sur le long terme pour comprendre les mécanismes d'interaction hôte-microbiote, mais aussi les relations entre espèces bactériennes du microbiote, et leurs effets sur le métabolisme et la physiologie de l'hôte.

### 1.5 Quelles applications médicales ?

Les approches de métagénomique, en apportant des connaissances fondamentales sur le fonctionnement du microbiote intestinal humain, et en permettant l'identification de signatures du microbiote associées avec des pathologies diverses, ont permis la mise au point de nouvelles approches préventives, diagnostiques ou thérapeutiques en médecine. Les profils microbiens spécifiques identifiés par des approches de métagénomique quantitative peuvent être utilisés directement pour le diagnostic des pathologies associées, ce qui pour certaines pathologies telles que la cirrhose du foie pourrait être une aide précieuse au diagnostic (Qin et al., 2014). On sait aussi que l'efficacité de certaines thérapies anticancéreuses dépend du microbiote du patient (Dzutsev, 2015), ce qui devrait conduire à un diagnostic d'efficacité potentielle avant traitement et une modulation du microbiote pour rendre le traitement plus efficace.

L'effet démontré de l'alimentation sur la composition et surtout sur la richesse du microbiote intestinal conduit actuellement à des recommandations diététiques générales à visée préventive, dont le message est simple : il faut consommer plus de fibres d'origine végétale et en

diversifier les sources, et limiter l'apport de matières grasses saturées d'origine animale et de sucres raffinés pour favoriser l'établissement d'un microbiote intestinal riche. Par ailleurs le développement de pré- et pro-biotiques de seconde génération à visée préventive ou curative est une piste de recherche très sérieuse. On peut imaginer à terme des recommandations individuelles, pour l'alimentation comme pour la prise de pré/probiotiques, quand les relations entre microbiote individuel et hôte seront comprises plus en détail (Derrien et al., 2016).

Pour ce qui est de la guérison de pathologies, les transferts de microbiote sont actuellement pratiqués dans les cas d'infection chronique par *Clostridium difficile*, une bactérie multi-résistante aux antibiotiques, qui peut coloniser les intestins de patients lourdement traités avec des antibiotiques. Il s'agit de transférer à un patient affecté et débarrassé au préalable de son microbiote intestinal un microbiote (fécal) de sujet sain (Mondot et Lepage, 2013). Ces transferts de flore sont également envisagés pour le traitement de l'obésité. Dans le cas de *Clostridium difficile*, cette approche comporte un taux de succès élevé. Cependant, elle ne saurait être généralisée à toute pathologie, notamment des pathologies moins graves. Il est impératif d'évaluer le risque de transférer un écosystème entier qui peut ne pas être adapté à son hôte et comporter, par exemple, des pathogènes silencieux chez le donneur qui pourraient s'exprimer chez le receveur. La constitution de populations synthétiques constituées de bactéries connues pourrait être une solution, mais réclame une meilleure compréhension du fonctionnement de l'écosystème et de son dialogue avec l'hôte, que les approches de métagénomique pourront apporter.

Enfin, les approches de métagénomique fonctionnelle associées à l'étude de l'immunité de l'hôte, devraient permettre d'identifier les acteurs du dialogue moléculaire hôte-microbiote : espèces microbiennes, gènes, transcrits, protéines et métabolites de l'hôte et du microbiote impliqués dans les pathologies de l'hôte. Ces acteurs pourraient constituer un jour de nouvelles cibles pour la formulation de médicaments ou de vaccins. La modulation du microbiote intestinal individuel pour une action efficace des médicaments, notamment anticancéreux, devrait aussi être mise au point à l'avenir (Pitt et al., 2016).

## 2. LE MICROBIOTE DIGESTIF DES VOLAILLES

### 2.1 Connaissances actuelles.

Les premiers travaux sur le microbiote digestif des volailles ont été effectués dans les années 1970-1980 et ont concerné principalement la poule. Ces premiers travaux ont fait appel aux cultures de

bactéries sur milieu sélectif, puis aux techniques de biologie moléculaire dans les années 2000. L'approche 16S s'est développée au cours des dernières années, et les premières approches « -omiques » ont été réalisées récemment, bien que ces premiers travaux concernent trop peu d'animaux pour être généralisables : études de métagénomique (par exemple Danzeisen et al., 2011; Sergeant et al., 2014), métaprotéomique (par exemple Polansky et al., 2016) et métabolomique (Gabriel et al., 2015).

#### a. Le développement du microbiote avec l'âge

Avant éclosion, selon les auteurs, le tube digestif de l'embryon serait soit stérile, soit colonisé par une très faible quantité de bactéries. Après éclosion, le tube digestif est colonisé par les différentes bactéries de l'environnement immédiat du poussin : éclosoir, manipulations pour le sexage et les vaccinations, transport vers l'élevage (notamment boîtes de transport), autres poussins, puis la litière, l'eau et le premier aliment. Ainsi, dès le premier jour après l'éclosion, l'iléon et les caeca hébergent  $10^8$  et  $10^{10}$  bactéries par gramme de contenu digestif (Apajalahti et al., 2004) pour atteindre  $10^9$  à  $10^{11}$  bactéries par gramme dès trois jours puis rester relativement stable jusqu'à l'âge de 30 jours. D'un point de vue qualitatif, des changements de composition taxonomique et une augmentation de la diversité sont observés dans les différents segments digestifs (par exemple, Danzeisen et al., 2011).

Dans la perspective d'applications en élevage, il est clair que la période autour de l'éclosion est un moment privilégié pour tenter d'orienter le développement d'un microbiote considéré comme favorable.

#### b. Les caractéristiques du microbiote le long du tractus digestif

Chez la poule, les sites principaux d'abondance bactérienne sont le jabot, les caeca et, dans une moindre mesure, l'intestin grêle. Ainsi, Guardia et al. (2011) ont déterminé une charge bactérienne de  $5.5 \times 10^{11}$ ,  $5.3 \times 10^{10}$  et  $7.4 \times 10^{12}$  copies d'ADNr 16S / gramme de contenu dans le jabot, l'iléon terminal et les caeca, respectivement. Jabot, gésier et iléon contiennent surtout des *Lactobacillus* (par exemple Witzig et al., 2015). Dans la partie inférieure de l'appareil digestif, les caeca constituent le biotope le plus favorable au microbiote car riche en substrats et beaucoup plus stable, du fait d'une évacuation des contenus seulement une à deux fois par jour, et avec une présence faible d'oxygène. Les caeca sont donc le site majeur de développement bactérien avec la composition la plus diversifiée de tous les segments digestifs. Ainsi, Neumann et Suen (2015) rapportent entre 4000 et 5000 OTU dans les caeca au lieu de 400 à 900 dans l'intestin grêle. Cependant, il existe une forte variabilité individuelle : toutes ces OTU ne sont pas présentes chez tous les individus. Ainsi, sur les

700 OTU rapportés par Sergeant et al. (2014) au niveau des caeca pour 10 animaux, chaque individu en contient 200 à 350. Les phyla majeurs sont les *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Firmicutes*, avec pour ces derniers l'ordre des *Clostridiales* fortement représenté. La forte concentration en bactéries différentes, le long temps de rétention de son contenu qui favorise les fermentations et la production d'acides gras à chaînes courtes et le dialogue entre bactéries et hôte, notamment avec l'immunité du fait de la présence de tissus immunitaires tels que les tonsilles caecales, ainsi que la présence de pathogènes, font des caeca le compartiment d'étude privilégié des recherches sur le microbiote intestinal des volailles.

Le microbiote des fèces a été peu étudié jusqu'à présent, sans doute par crainte de leur manque de représentativité des segments digestifs, avec une perte notamment de bactéries anaérobies, mais surtout parce les fientes ont des origines différentes (intestin grêle ou caeca) et donc une composition variable, et enfin parce que la collecte des fientes caecales, les plus intéressantes, est difficile à réaliser. Quelques études montrent que les fientes caecales ou les échantillons prélevés directement dans le cloaque pourraient être utilisés car leur composition, sans être forcément identique, se rapproche de celle des caeca (Stanley et al., 2015 ; Pauwels et al., 2015). Dans la perspective d'applications en élevage, notamment pour la mise au point de tests diagnostiques basés sur la caractérisation du microbiote, le prélèvement et l'analyse des fèces paraît incontournable. L'étude du contenu caecal demeure pertinente, mais il est essentiel de comparer microbiote caecal et microbiote fécal, comme l'ont fait quelques études (Pauwels et al., 2015), pour étudier les possibilités d'application.

## 2.2 Quels moyens d'action actuels sur le microbiote ?

De nombreux additifs supposés agir sur le microbiote intestinal sont actuellement utilisés en élevage pour améliorer la santé et les performances des animaux. Ils ont connu un regain d'utilisation à l'occasion de la suppression des antibiotiques utilisés à dose sub-thérapeutique comme facteurs de croissance, dont les effets bénéfiques sur la croissance et la robustesse des animaux seraient dus en partie à la régulation du microbiote intestinal, via le contrôle des pathogènes entériques et la production de métabolites à effets bénéfiques pour l'hôte (Neumann et Suen, 2015). L'efficacité de ces produits pourrait être largement améliorée grâce aux approches de métagénomique, via une meilleure caractérisation de leurs effets sur les fonctions du microbiote.

### a. Composition et structure de l'aliment

La composition de l'aliment, en particulier celle des fractions peu digestibles par l'animal, joue un rôle important sur le microbiote dans la partie distale du

tube digestif avec des effets visibles sur les produits de fermentation (Walugembe et al., 2015). De nombreux travaux montrent l'effet des aliments sur la composition du microbiote intestinal : glucides (Walugembe et al., 2015 ; Ludvigsen et al., 2016), protéines (Stanley et al., 2014), lipides (Jozefiak et al. 2014 ; Ptak et al., 2015). L'alimentation peut aussi avoir un effet par l'intermédiaire de sa structure et des traitements technologiques qui lui sont appliqués, comme la présence de graines entières (Gabriel et al., 2008) ou des traitements thermiques (Borojeni et al., 2014).

### b. Prébiotiques

Les prébiotiques sont des molécules non-hydrolysables par les enzymes de l'animal, reconnues comme favorables au microbiote, incorporées en quantité définie directement dans l'aliment. Ils atteignent la partie distale du tube digestif où ils sont métabolisés par le microbiote. Les composés les plus étudiés et les plus utilisés sont les fructo-oligosaccharides (FOS), et les mannan-oligosaccharides (MOS) qui ont montré des effets positifs en stimulant le microbiote dans un sens jugé favorable (augmentation des *Lactobacillus*, réduction des *Clostridium*) ou en réduisant la colonisation par les pathogènes (Pourabedin et al., 2015). L'étude d'autres prébiotiques comme les xylo-oligosaccharides est plus récente. Ces composés peuvent être apportés dans l'alimentation par des matières premières naturellement riches en ces molécules : inuline de chicorée, milieu de culture de levure, ou par des actifs issus de procédés d'enrichissement (parois de levures, traitement enzymatique de la betterave sucrière, etc).

### c. Enzymes

Les enzymes exogènes : xylanases, bêta-glucanases, cellulase, phytases sont utilisées avec succès depuis de nombreuses années dans les aliments destinés aux volailles. Leurs effets positifs sur la digestibilité de l'énergie des aliments et sur le phosphore sont bien documentés. Le mode d'action initialement décrit comme une réaction enzyme – substrat fournissant des composés digestibles pour l'animal est aujourd'hui largement enrichi par les observations des effets d'autres métabolites produits par ces réactions d'hydrolyse (Kiarie et al., 2013). On démontre aujourd'hui que les enzymes exogènes ont un impact sur la composition du microbiote par la production *in situ* de composés prébiotiques.

### d. Les probiotiques

La possibilité d'agir sur les performances et la santé de l'animal par l'administration de micro-organismes vivants sélectionnés a été mise en œuvre depuis très longtemps. Elle donne des résultats positifs sur la santé des volailles (Bajagai et al, 2016),

mais les observations en matière de performances semblent moins consensuelles. Le caractère probiotique est totalement dépendant de la souche. Aujourd'hui des souches appartenant à plus d'une quinzaine de genres bactériens sont commercialisés en tant que probiotiques, principalement : *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*. Les probiotiques pourraient augmenter la population considérée comme favorable du microbiote, en particulier les lactobacilles et les bifidobactéries, qui inhibent la croissance de bactéries pathogènes par exclusion compétitive via la production de bactériocines et/ou d'acides organiques (Bajagai et al, 2016). De grands progrès ont été faits sur la stabilité des probiotiques à la granulation, permettant ainsi une meilleure mise en œuvre en l'alimentation animale.

*e. Les huiles essentielles.*

Les huiles essentielles sont produites par les plantes aromatiques et considérées comme un procédé de défenses contre les agressions extérieures : bactéries, champignons, virus, etc. Elles ont pour effet d'inhiber le développement des micro-organismes, de façon plus ou moins marquée selon leur type et selon l'espèce bactérienne. Des effets sur *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* ont été démontrés (Bento et al., 2013). Ces propriétés antibactériennes pourraient avoir pour conséquences de limiter les effets du microbiote sur l'hydrolyse des sels biliaires. Ce mécanisme pourrait expliquer une partie des effets « facteurs de croissance » de ces actifs.

### **3. DISCUSSION : QUELLES RECHERCHES POUR FAVORISER LES APPLICATIONS CHEZ LA VOLAILLE ?**

#### **3.1 Vers une connaissance approfondie du microbiote intestinal**

*a. Développement d'outils et méthodes de métagénomique*

Comme expliqué précédemment, le séquençage complet du métagénome est incontournable pour obtenir une image complète du potentiel fonctionnel d'un microbiote. Le projet MetaChick actuellement coordonné par l'INRA en collaboration avec de nombreuses entreprises de la filière avicole, l'ITAVI et le SYSAAF, a pour objectif d'établir un catalogue de référence du microbiote caecal de poulets de chair, poules pondeuses, et lignées expérimentales élevés en France (espèce *Gallus gallus*), ce qui devrait à court terme lever ce verrou méthodologique et favoriser des approches de métagénomique quantitative et fonctionnelle. Les autres approches « -omiques » s'intéressant aux transcriptomes, protéomes, métabolomes associés au microbiote

intestinal, ainsi que la modélisation des voies métaboliques réalisées par le microbiote sont certainement également des pistes à suivre pour des applications à plus long terme et doivent être développées.

*b. Mieux connaître la diversité du microbiote intestinal aviaire*

Jusqu'à présent, aucune étude du microbiote n'a été assez vaste pour connaître l'étendue de la variabilité naturelle du microbiote intestinal de la poule et comment elle est façonnée par la combinaison de différents facteurs de variation (âge, alimentation, additifs alimentaires, conditions d'élevage, traitements, génétique de l'hôte, saison, région d'élevage, etc). Or ces connaissances sont essentielles aux applications visant à moduler le microbiote. En outre dans la mesure du possible une étude de diversité devrait reposer sur les fonctions du microbiote en plus des espèces, dans la mesure où la composition taxonomique n'est pas représentative des fonctions réalisées, deux compositions taxonomiques différentes peuvent théoriquement réaliser les mêmes fonctions. Il serait aussi intéressant de rechercher l'existence d'un éventuel microbiote noyau, de quelles espèces et/ou fonctions il est constitué, et s'il existe des entérotypes de la même façon que chez l'Homme (Arumugam et al., 2011) ou le porc (Ramayo-Caldas et al., 2016). Enfin il sera essentiel également à des fins d'application de connaître l'étendue des variations du microbiote : entre individus, entre lots d'animaux élevés au sein d'un même bâtiment, entre élevages, entre filières, etc.

Ces questions sont actuellement étudiées par le projet MetaChick. Les réponses apportées déboucheront sur une série de conséquences pratiques en termes de définition et validation d'outils innovants de modulation du microbiote et de l'échelle à laquelle ils pourront être utilisés.

*c. Définir un microbiote favorable*

Toutes les approches de diagnostic basées sur la description du microbiote ou de modulation du microbiote supposent l'existence d'un microbiote considéré comme favorable, c'est-à-dire appartenant à un animal en bonne santé avec de bonnes performances de croissance. Il s'agit de favoriser l'établissement de ce microbiote idéal après éclosion, de diagnostiquer une dysbiose comme un écart significatif par rapport à la composition idéale, ou de restaurer un microbiote favorable en cas de pathologie associée à une dysbiose.

Etant donné le niveau de variation individuelle de composition du microbiote et la multiplicité des facteurs de variation, il est difficile de définir un microbiote favorable pour toute l'espèce *Gallus gallus*. Ainsi selon le type d'hôte considéré : poule pondeuse ou poulet de chair, voire souche génétique, il est anticipé que le microbiote optimal diffère. Par



ailleurs, l'alimentation est un facteur majeur de variation. Enfin il est même envisageable qu'un microbiote favorable pour un caractère (par exemple l'efficacité digestive) soit néfaste pour un autre (par exemple, la robustesse).

Si des entérotypes sont mis en évidence chez la poule, il conviendra d'en définir les propriétés et leurs associations avec des caractères de production. Des approches pourraient alors être développées pour favoriser un entérotype jugé plus favorable, s'il existe, plutôt qu'un ou plusieurs autres.

Pour avancer dans ce domaine, il est essentiel de mettre en regard le profil métagénomique du microbiote et un maximum de caractères de l'hôte sur de grandes populations. Par ailleurs, des études à grande échelle de la diversité rencontrée en élevage sont requises, comme celle qui est actuellement menée dans le cadre du projet MetaChick. Un microbiote favorable pourrait être plus facilement défini pour des contraintes fixes : filière, âge, lignée génétique, alimentation, conditions d'élevage fixes. Et une dysbiose pourrait être définie dans le cadre de ces contraintes, en relation avec une pathologie de l'hôte.

#### *d. Meilleure connaissance des fonctions réalisées par le microbiote intestinal*

Nous l'avons vu, si la composition taxonomique d'un microbiote apporte des informations intéressantes, la véritable clé du fonctionnement du microbiote réside plus probablement dans les fonctions véritablement réalisées, auxquelles le séquençage complet et les autres approches «-omiques» permettent d'accéder. Caractériser l'effet de différents facteurs de variation sur les fonctions réalisées et les classer/ hiérarchiser en fonction de ces effets permettrait de mieux comprendre les conséquences sur l'hôte. La définition de leviers de modulation du microbiote serait mieux ciblée et leur usage optimisé.

Les quelques études de métagénomique déjà publiées chez la poule ont déjà donné de précieuses indications sur les fonctions majoritaires du microbiote caecal (Choi et al., 2015), avec sans surprise une majorité de fonctions impliquées dans le métabolisme des glucides, dont des enzymes de dégradation des glucides complexes. Certaines de ces enzymes, notamment des glycoside hydrolases, sont absentes chez la poule. La dégradation de ces glucides conduit à la production d'acides gras à chaînes courtes essentiellement favorables à l'hôte, jouant un rôle dans la santé ou bien la régulation du métabolisme et de l'immunité. Des gènes impliqués dans le métabolisme des protéines, acides aminés et de l'azote ont également été identifiés. Un métabolisme de l'azote efficace conduirait à des animaux plus sains et plus productifs (Stanley et al., 2014). Enfin on retrouve également quelques gènes impliqués dans le métabolisme des lipides.

L'un des enjeux des futures recherches sera d'identifier des souches de micro-organismes capables de réaliser des fonctions favorables pour l'hôte, pour en faire des probiotiques ou favoriser leur multiplication au sein du tractus digestif. Un autre objectif sera de relier gènes, protéines et métabolites produits dans une approche holistique intégrant les différentes approches «-omiques» pour mieux comprendre les voies métaboliques réalisées par un microbiote donné (Mondot et Lepage, 2016). L'accès aux enzymes et aux métabolites permettrait de reconstituer les voies métaboliques pour modéliser le fonctionnement du microbiote, en particulier pour les flux de carbone. Cette approche de modélisation devrait à terme autoriser une meilleure compréhension du fonctionnement du microbiote et de ses effets sur l'hôte en lien notamment avec l'alimentation (Widder et al., 2016).

### **3.2 Pour quelles applications ?**

#### *a. Quels objectifs ?*

Certains objectifs de la modulation du microbiote en élevage peuvent varier selon les filières de production et l'espèce considérée. Cependant, dans l'ensemble, les objectifs généraux demeurent les mêmes. Concrètement, on peut espérer améliorer par la modulation du microbiote : (i) l'efficacité de l'utilisation des aliments au profit de l'hôte en améliorant l'efficacité digestive et en optimisant le métabolisme de l'hôte, avec un effet direct sur la productivité ; (ii) La maturation puis le bon fonctionnement du système immunitaire, digestif et général, avec un effet sur les pathologies infectieuses et non infectieuses ; (iii) l'effet barrière envers les pathogènes intestinaux.

L'amélioration de ces fonctions a potentiellement un impact direct sur la productivité mais aussi la santé animale, la santé humaine via la qualité sanitaire des produits (contrôle des zoonoses, réduction des résidus) et l'environnement (réduction des rejets issus de l'élevage).

#### *b. Quels types d'application ?*

Partant des applications actuelles ou envisagées en médecine, on peut distinguer trois grands types d'applications reposant sur la description ou la modulation du microbiote intestinal.

#### *- Diagnostic de pathologies*

De nombreux travaux montrent déjà des changements de composition du microbiote intestinal associés avec des pathologies chez la poule. L'accès aux fonctions du métagénome par les approches «-omiques» devrait faciliter et optimiser l'identification de signatures de pathologies, de même que la définition de microbiotes favorables. Ces signatures seront potentiellement sources de biomarqueurs de pathologies reliées au microbiote intestinal.

- *Amélioration des caractères d'intérêt par des approches préventives*

Les outils actuellement utilisés (prébiotiques, probiotiques, additifs et alimentation) constituent surtout une stratégie préventive, dont le but est d'améliorer la robustesse des animaux, leur santé digestive et/ou leur productivité. C'est sans aucun doute le type d'application à privilégier dans l'immédiat, soit en améliorant les outils déjà existants grâce à une meilleure caractérisation de leurs effets, soit en créant des outils de prévention plus performants.

- *Traitement de pathologies*

Enfin, le traitement de pathologies par le biais de la modulation du microbiote est déjà indirectement pratiqué par des changements d'alimentation prescrits en cas d'inflammation intestinale, par exemple, mais sans connaissance des mécanismes d'action exacts et donc avec une efficacité qui pourrait être améliorée. Des traitements ciblant certaines pathologies en favorisant la restauration d'un microbiote considéré comme favorable pourraient certainement être développés. Enfin, à moyen et long terme, on peut imaginer le développement de médicaments ciblant des fonctions ou des produits du microbiote intestinal impliqués dans des pathologies de l'hôte.

### 3.3 Avec quels leviers d'intervention ?

L'une des applications les plus immédiates de la métagénomique sera certainement une meilleure caractérisation des effets et mécanismes d'action des outils déjà existants sur les fonctions potentielles ou réalisées par le microbiote intestinal.

#### a. *Probiotiques*

Dans un second temps, les approches « omiques » seront d'une grande aide pour la définition de probiotiques de deuxième génération plus efficaces, choisis selon les fonctions qu'ils réalisent en interaction avec le microbiote commensal et l'hôte, mais aussi pour l'étude de la durabilité de leur efficacité dans le temps.

L'évolution des stratégies de recherche de bactéries à effet probiotique est bien illustrée par le développement de probiotiques augmentant la résistance à la colonisation par les salmonelles. Les stratégies classiques reposent soit sur l'utilisation de microbiotes complexes à effet barrière issus de fientes d'animaux sains, soit sur l'identification de genres bactériens probiotiques retrouvés dans des animaux sains après infection. Plus récemment, les études se focalisent plutôt sur l'identification de bactéries réalisant une fonction connue pour son effet bénéfique, ou de consortiums bactériens constitués de bactéries réalisant des fonctions complémentaires à effets bénéfiques (Brugiroux, 2016). Les approches de métagénomique et métatranscriptomique sont bien sûr

indispensables pour remplir ces objectifs. Une dernière approche, très prometteuse, repose sur la modulation écosystémique du microbiote : elle consiste à identifier les fonctions métaboliques qui permettent au pathogène de supplanter le microbiote afin de trouver des bactéries commensales capables de rentrer en compétition avec le pathogène. Par exemple, l'infection de la barrière intestinale par *S. Typhimurium* induit une réponse inflammatoire. Les radicaux libres produits par les neutrophiles pour tuer les bactéries oxydent un composant utilisable par *Salmonella* pour sa croissance et sa respiration, ce que la plupart des bactéries commensales ne peuvent faire et qui donc permet à *Salmonella* de les supplanter (Winter et Baumber, 2011). Les approches de métagénomique devraient permettre de trouver des bactéries dans le microbiote possédant les mêmes fonctions biologiques que *Salmonella* afin de bloquer sa croissance.

#### b. *Alimentation et prébiotiques*

Nous l'avons vu, la composition de l'aliment, en particulier celle de la fraction non digestible par l'hôte constituée de glucides complexes qui est le substrat principal du microbiote intestinal, peut influencer sur la composition de ce dernier. Il est donc théoriquement possible d'ajuster la composition et la structure de l'aliment, pour parvenir à un microbiote jugée favorable. Avant d'y parvenir, il est cependant indispensable de qualifier par la métagénomique les fonctions du microbiote impactées, car la simple description de changements taxonomiques ne suffit pas, deux microbiotes de compositions différentes pouvant réaliser des fonctions similaires. Par ailleurs, il est nécessaire de constamment revoir à la lumière des résultats scientifiques récents la définition d'un microbiote favorable, la dichotomie « *Lactobacillus* favorables – *Clostridium* défavorables » étant trop simpliste.

Dans un premier temps les abondances relatives des gènes du métagénome codant pour des enzymes impliquées dans l'hydrolyse de composés alimentaires pourront être utilisées pour évaluer les capacités d'hydrolyse d'un microbiote donné. En particulier le suivi des enzymes (glycoside hydrolases GH) impliquées dans la digestion des polysaccharides est intéressant, car ces derniers sont un des principaux composants de l'alimentation des volailles. Ces enzymes ont un intérêt particulier, car les produits de leur hydrolyse bactérienne pourraient contribuer à l'apport énergétique de l'hôte ainsi qu'à des effets sur sa physiologie.

Enfin, l'identification de prébiotiques favorisant spécifiquement la croissance de bactéries réalisant des fonctions souhaitables, dont des fonctions d'hydrolyse, permettrait de fournir de nouveaux composés dit synbiotiques, constitué d'une bactérie probiotique favorable et d'un prébiotique favorisant sa croissance.

### *c. Pratiques d'élevage*

Certaines pratiques d'élevage sont associées à des changements de composition du microbiote intestinal. Ainsi, la densité d'élevage (Guardia et al., 2011), la température (Sohail et al., 2015), le type de litière (Torok et al., 2011), le type de cage chez les poules pondeuses (Nordentoft et al., 2011), et l'accès à l'extérieur (Gong et al., 2008) entraînent des modifications. Cependant, ces connaissances ne suffisent pas pour faire de ces paramètres des leviers de modulation de microbiote. Il est nécessaire de préciser leurs effets sur les fonctions du microbiote, et de les relier avec les phénotypes d'intérêt de l'animal, mais aussi d'évaluer la durabilité des changements de composition identifiés au cours de la vie de l'animal. Selon les effets identifiés et la facilité de mise en œuvre, les pratiques d'élevage peuvent être considérées soit comme des facteurs fixes dont on peut prédire les effets sur le microbiote, soit comme des leviers d'intervention au cours de la vie de l'animal.

### *d. Sélection génétique*

La génétique de l'hôte a un impact non négligeable sur le microbiote intestinal et son rôle est de plus en plus étudié, chez l'Homme comme chez les animaux d'élevage. Chez la poule, plusieurs études mentionnent des compositions différentes entre lignées génétiques (Lumpkins et al., 2010 ; Schokker et al., 2015). L'effet d'expériences de sélection divergente pour le poids corporel sur la composition du microbiote intestinal a montré les liens physiologiques, et peut-être génétiques, étroits entre ce caractère et la composition du microbiote (Zhao et al., 2013 ; Meng et al., 2014). Une étude est allée plus loin et a démontré, dans une population issue de lignées divergentes pour leur digestibilité, l'existence de régions génomiques contrôlant l'abondance de certains groupes bactériens (Mignon-Grasteau et al., 2015). Cette étude met ainsi en évidence l'existence d'un contrôle génétique de l'hôte sur la composition du microbiote. Les gènes en cause restent cependant à identifier.

La sélection génétique directe de gènes influençant la composition du microbiote est envisageable, à condition toutefois d'effectuer des études de génétique en conditions d'élevage commercial, et d'associer les effets causés sur les

variations du microbiote avec des effets sur les caractères d'intérêt de l'hôte. Enfin, même si la sélection génétique directe pour des gènes influençant la composition du microbiote s'avère difficile et peu efficace, il sera important à l'avenir de prendre en compte les interactions entre microbiote et hôte en identifiant le microbiote optimisant la génétique de l'hôte.

### *e. Développement de tests diagnostics*

Le développement de tests diagnostiques nécessitera qu'un lien ait préalablement été établi de façon fiable entre un élément descripteur du microbiote intestinal (composition, diversité, richesse, fonction, espèce ou genre bactérien, etc) et une pathologie de l'hôte et/ou bien une dysbiose du microbiote intestinal. Il sera nécessaire de définir des marqueurs pertinents de la santé de l'hôte, d'identifier des modalités simples de prélèvement de microbiote en élevage et de mettre au point des tests fiables et peu coûteux.

### *f. Développement de médicaments ?*

A plus long terme, il est possible que des médicaments ciblant les acteurs moléculaires des interactions entre microbiote, hôte et pathogène, par exemple des inhibiteurs d'hydrolases bactériennes de sels biliaires, soient développés.

## **CONCLUSION**

Les approches de métagénomique nous fournissent un moyen sans précédent de mieux comprendre comment les relations entre le microbiote digestif, son hôte et l'environnement influencent l'expression des caractères d'intérêt de l'hôte. La complexité de ces interactions nécessite le concours de plusieurs disciplines scientifiques. Chez la volaille, l'optimisation de l'utilisation des leviers de modulation du microbiote déjà existants (additifs et alimentation) et la définition de probiotiques de seconde génération est envisageable dans un avenir proche. Enfin, le développement de ces leviers permettant l'amélioration des caractères d'intérêt en élevage implique une interaction multidisciplinaire étroite entre industriels de la filière avicole et chercheurs.

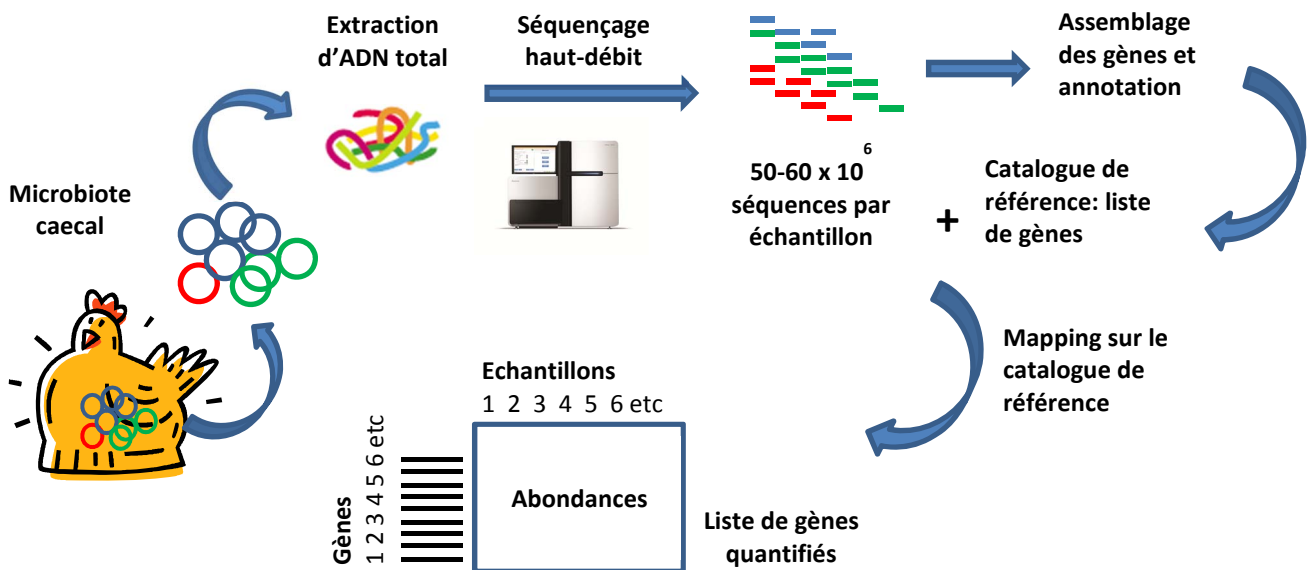
## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Apajalahti J., Kettunen A., Graham H., 2004. *Worlds Poultry Sci. J.*, (60), 223-232  
Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., et al., 2011. *Nature*, (473), 174-180  
Aziz Q., Doré J., Emmanuel A., Guarner F., Quigley E.M., 2013. *Neurogastroenterol. Motil.*, (25), 4-15  
Bajagai Y.S., Klieve A.V., Dart P.J., Bryden W.L., 2016. *Editor Makkar. H.P.S. FAO Animal Production and Health Paper*, No 179. 108 p.  
Bashiardes S., Zilberman-Schapira G., Elinav E., 2016. *Bioinform. Biol. Insights*, (10), 19-25  
Bento M.H.L., Ouwehand A.C., Tiihonen K., Lahtinen S., Nurminen P., et al., 2013. *Vet. Med.*, (58), 449-458

- Blotière H., de Vos W.M., Ehrlich S.D., Doré J., (2013). *Curr. Opin. Microbiol.*, (16), 232-239
- Boroogeni F.G., Vahjen W., Mader A., Knorr F., Ruhnke I., et al., 2014, *Poult. Sci.* (93), 1440-1452
- Brugiroux S., Beutler M., Pfann C., Garzetti D., Ruscheweyh H.J., et al., 2016, *Nat. Microbiol.*, (2), 16215
- Calenge F., Martin C., Le Floch N., Phocas F., Morgavi D., et al., 2014, *INRA Prod. Anim.*, (27), 209-222
- Cho I., Blaser M.J., 2012, *Nat. Rev. Genet.*, (13), 260-270
- Choi K.Y., Lee T.K., Sul W.J., 2015, *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, (28), 1217-1225
- Clemente J.C., Ursell L.K., Parfrey L.W., Knight R., 2012. *Cell* (148), 1258-1270.
- Czerwinski J., Hojberg O., Smulikowska S., Engberg R.M., Mieczkowska A., 2010. *Br Poult Sci*, (51), 258-269.
- Danzeisen, J. L., Kim, H. B., Isaacson, R. E., Tu, Z. J., Johnson, T. J., 2011. *Plos One* 6(11): e27949.
- de Wouters T., Ledue F., Nepelska M., Doré J., Blotière H.M., Lapaque N., 2014. *PLoS ONE*, (9), e105598.
- Derrien M., Veiga P., 2017. *Trends Microbiol.* (25), 100-112
- Dzutsev A., Goldszmid R.S., Viaud S., Zitvogel L., Trinchieri G., 2015. *Eur. J. Immunol.*, (45), 17-31
- Franzosa E.A., Morgan X.C., Segata N., 2014. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, (111), E2329-E2338
- Gabriel I., Mallet S., Leconte M., Travel A., Lalles J.P., 2008. *Animal Feed Science and Technology*, (142), 144-162.
- Gabriel, I., Lalande, J., Tea, I., Gondret, F., Lagarrigue, S., Baéza, E., et al., 2015. 11ème Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à foie gras, Tours. 565-569
- Gong J., Yu H., Liu T., Gill J.J., Chambers J.R., Wheatcroft R., et al., 2008. *J. Appl. Microbiol.*, (104), 1372-1382.
- Guardia S., Konsak B., Juin H., Lessire M., Rideaud P., Moreau-Vauzelle C., et al., 2011. *Poult. Sci.*, (90), 1878-1889
- Jozefiak D., Kieronczyk B., Rawski M., Hejdysz M., Rutkowski A., Engberg R.M., Hojberg O., 2014. *Animal*, (8), 912-922
- Kiarie E., Romero L.F., Nyachoti C.M., 2013. *Nutr. Res. Rev.*, (26), 71-88.
- Le Chatelier E., Nielsen T., Qin J., Prifti E., Hildebrand F., Falony G., et al., 2013. *Nature.*, (500):541-6.
- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., et al., 2014. *Nat Biotechnol*, (32), 834-841.
- Lu, J., Hofacre, C. L., Lee, M. D., 2006. *J. Appl. Poult. Res.*, (15), 145-153
- Ludvigsen J., Svihus B., Rudi K., 2016. *Front. Vet. Sci.*, (3), 16
- Lumpkins B. S., Batal A. B., Lee M. D., 2010. *Poult. Sci.*, (89), 1614-1621
- Meng H., Zhang Y., Zhao L., Zhao W., He C., Honaker C.F., et al., 2014. *PLoS One*, (9), e89862.
- Mignon-Grasteau S., Narcy A., Rideau N., Chantry-Darmon C., Boscher M.Y., Sellier N., et al., 2015. *PLoS ONE*, (10), e0135488.
- Mondot S, Lepage P., 2016. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, (1372), 9-19
- Mondot S., de Wouters T., Doré J., Lepage P., 2013. *Dig. Dis.*, (31), 278-85
- Neumann A.P., Suen G., 2015. *J. Appl. Microbiol.*, (119), 1515-26
- Nielsen H.B., Almeida M., Juncker A.S., Rasmussen S., Li J., Sunagawa S., Plichta D.R., et al., 2014. *Nat. Biotechnol.*, (32), 822-8
- Nordentoft S., Molbak L., Bjerrum L., De Vylder J., Van Immerseel F., Pedersen K., 2011. *BMC Microbiol*, (11), 187
- Oakley B.B., Lillehoj H.S., Kogut M.H., Kim W.K., Maurer J.J., Pedrosa A. et al., 2014. *FEMS Microbiol. Lett.*, (360), 100-112
- Pauwels J., Taminiau B., Janssens G.P., De Beenhouwer M., Delhalle L., Daube G., Coopman F., 2015. *J. Microbiol. Methods*, (117), 164-70
- Perumbakkam S., Hunt H.D., Cheng H.H., 2014. *FEMS Microbiol. Ecol.*, (90), 300-12.
- Pitt J.M., Vétizou M., Waldschmitt N., Kroemer G., Chamillard M., Boneca I.G., Zitvogel L., 2016. *Cancer Res.*, (76), 4602-7
- Polansky, O., Sekelova, Z., Faldynova, M., Sebkova, A., Sisak, F., Rychlik, I., 2016. *Appl. Environ. Microbiol.*, (82): 1569-1576
- Pourabedin M., Zhao X., 2015. *FEMS Microbiol. Lett.*, (362), fnv122
- Ptak A., Bedford M.R., Swiatkiewicz S., Zyla K., Jozefiak D., 2015. *Plos One*, (10), 3
- Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C., et al., MetaHIT Consortium, Bork P., Ehrlich S.D., Wang J., 2010. *Nature*, (464), 59-65
- Qin N., Yang F., Li A., Prifti E., Chen Y., Shao L., et al., 2014. *Nature*, (513), 59-64
- Qu, A., Brulc, J.M., Wilson, M.K., Law, B.F., Theoret, J.R., Joens, L.A., et al., 2008. *PLoS One* (8), e2945.
- Ramayo-Caldas Y., Mach N., Lepage P., Levenez F., Denis C., Lemonnier G., et al., 2016. *ISME J.*, (10), 2973-2977
- Schokker D., Veninga G., Vastenhouw S. A., Bossers A., de Bree F.M., Kaal-Lansbergen L. M., et al., 2015. *BMC Genomics*, (16), 418
- Sergeant, M. J., Constantinidou, C., Cogan, T. A., Bedford, M. R., Penn, C. W., Pallen, M. J., 2014. *PLoS One*, (9), e91941.
- Singh Y., Ravindran V., Wester T.J., Molan A. L., Ravindran G., 2014. *Poult. Sci.*, (93), 607-616

- Sohail M.U., Hume M.E., Byrd J.A., Nisbet D.J., Shabbir M.Z., Ijaz A., et al., 2015. Avian Pathol., (44), 67-74
- Stanley, D., Wu, S. B., Rodgers, N., Swick, R. A., Moore, R. J., 2014. PLoS One (9), e104739
- Stanley, D., et al., 2014. Appl. Microbiol. Biotech., (98), 4301-4310
- Stanley D., Geier M.S., Chen H., Hughes R.J., Moore R.J., 2015. BMC Microbiol., (15), 51
- Stanley, D., Hughes, R. J., Geier, M. S., Moore, R. J., 2016. Front. Microbiol., (7), 187
- Torok V.A., Hughes R.J., Mikkelsen L.L., Perez-Maldonado R., Balding K., MacAlpine R., et al., 2011. App. Env. Microbiol., (77), 5868-5878
- Vasari F., Brugirard Ricaud K., Bernadet M.D., Cauquil L., Bouchez O., Combes S., Davail S., 2014. FEMS Microbiol Lett, (87), 204-216
- Walugembe M., Hsieh J. C., Koszewski N. J., Lamont S. J., Persia M. E., Rothschild M. F., 2015. Poult. Sci., (94), 2351-2359
- Widder S., Allen R.J., Pfeiffer T., Curtis T.P., Wiuf C., Sloan W.T., et al., 2016. ISME J., (10), 2557-2568
- Wilkinson N., Hughes R.J., Aspden W.J., Chapman J., Moore R.J., Stanley D. 2016. Appl. Microbiol. Biotechnol., (100), 4201-9
- Winter S.E., Bäumlner A.J., 2011. Gut Microbes, (2), 58-60
- Witzig M., Carminha-Silva A., Green-Engert R., Hoelzle K., Zeller E., Seifert J. et al., 2015. PLoS ONE, (10), e0143442
- Xiao L., Estellé J., Kiilerich P., Ramayo-Caldas Y., Xia Z., Feng Q., et al., 2016. Nat. Microbiol., (16161). doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.161
- Xiao L., Feng Q., Liang S., Sonne S.B., Xia Z., Qiu X., et al, 2015. Nat. Biotechnol., (33), 1103-8
- Yarza P., Yilmaz P., Pruesse E., Glöckner F.O., Ludwig W., Schleifer K.H., et al., 2014. Nat. Rev. Microbiol., (12), 635-645
- Zhao L., Wang G., Siegel P., He C., Wang H., Zhao W., et al, 2013. Scientific Reports, (3), 1163

**Figure 1.** Les grandes étapes de l'approche métagénomique ; la constitution d'un catalogue de référence permet la quantification des gènes bactériens dans un échantillon de microbiote.



**Figure 2.** Potentiel offert par la modulation du microbiote intestinal et quelques-unes des questions à adresser par les approches de métagénomique

