HAL
open science

Compréhension du rôle du microbiote dans la maladie de Behçet : revue de la littérature et présentation du protocole de l'étude Behçetbiot

Morgane Joubert

▶ **To cite this version:**

Morgane Joubert. Compréhension du rôle du microbiote dans la maladie de Behçet : revue de la littérature et présentation du protocole de l'étude Behçetbiot. Human health and pathology. 2022. dumas-03635392

HAL Id: dumas-03635392

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03635392v1

Submitted on 8 Apr 2022

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.

N°

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

THESE D'EXERCICE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

par

JOUBERT, Morgane

Présentée et soutenue publiquement le 22/04/2022

Compréhension du rôle du microbiote dans la maladie de Behçet : revue de la littérature et présentation du protocole de l'étude Behçetbiot

Directeur de thèse : Monsieur ANDRE Marc, Professeur de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Président du jury : Monsieur SAADOUN David, Professeur de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Service de Médecine Interne 1, La Pitié Salpêtrière, Paris, UFR de médecine : Paris VI - Pierre et Marie Curie

Membres du jury :

Monsieur MERLIN Etienne, Professeur de Pédiatrie, Service de Pédiatrie Générale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Madame TOURNADRE Anne, Professeur de Rhumatologie, Service de Rhumatologie, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Monsieur GROBOST Vincent, Docteur en Médecine Interne et Immunologie Clinique, Service de médecine interne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

UFR DE MEDECINE ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

THESE D'EXERCICE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

par

JOUBERT, Morgane

Présentée et soutenue publiquement le 22/04/2022

Compréhension du rôle du microbiote dans la maladie de Behçet : revue de la littérature et présentation du protocole de l'étude Behçetbiot

Directeur de thèse : Monsieur ANDRE Marc, Professeur de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Président du jury : Monsieur SAADOUN David, Professeur de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Service de Médecine Interne 1, La Pitié Salpêtrière, Paris, UFR de médecine : Paris VI - Pierre et Marie Curie

Membres du jury :

Monsieur MERLIN Etienne, Professeur de Pédiatrie, Service de Pédiatrie Générale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Madame TOURNADRE Anne, Professeur de Rhumatologie, Service de Rhumatologie, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

Monsieur GROBOST Vincent, Docteur en Médecine Interne et Immunologie Clinique, Service de médecine interne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand UFR de Médecine et des professions paramédicales de Clermont-Ferrand

UFR DE MÉDECINE
ET DES PROFESSIONS PARAMÉDICALES
Université Clermont Auvergne

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

PRESIDENTS HONORAIRES UNIVERSITE D'AUVERGNE	: **JOYON** Louis : **DOLY** Michel : **TURPIN** Dominique : **VEYRE** Annie : **DULBECCO** Philippe : **ESCHALIER** Alain
PRESIDENTS HONORAIRES UNIVERSITE BLAISE PASCAL	: **CABANES** Pierre : **FONTAINE** Jacques : **BOUTIN** Christian : **MONTEIL** Jean-Marc : **ODOUARD** Albert : **LAVIGNOTTE** Nadine
PRESIDENT DE L'UNIVERSITE et PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE PLENIER	: **BERNARD** Mathias
PRESIDENT DU CONSEIL ACADEMIQUE RESTREINT	: **DEQUIEDT** VianneyVICE-
PRESIDENTE DU CONSEIL D'ADMINISTRATION	: **FOGLI** Anne
VICE-PRESIDENT DE LA COMMISSION DE LA RECHERCHE	: **HENRARD** PierreVICE
PRESIDENTE DE LA COMMISSION DE LA FORMATION ET DE LA VIE UNIVERSITAIRE	: **PEYRARD** Françoise
DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES	: **PAQUIS** François

✧✧✧✧✧

UFR DE MEDECINE
ET DES PROFESSIONS PARAMEDICALES

DOYENS HONORAIRES	: **DETEIX** Patrice : **CHAZAL** Jean
DOYEN	: **CLAVELOU** Pierre
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE	: **ROBERT** Gaëlle

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. BACIN Franck - BEGUE René-Jean - BEYTOUT Jean - BOMMELAER Gilles - BOUCHER Daniel - BUSSIERE Jean-Louis - CANO Noël - CASSAGNES Jean - CATILINA Pierre - CHABANNES Jacques - CHAZAL Jean - CHIPPONI Jacques - CHOLLET Philippe - CITRON Bernard - COUDERT Jean - DASTUGUE Bernard - DAUPLAT Jacques - DECHELOTTE Pierre - DEMEOCQ François - DE RIBEROLLES Charles - DETEIX Patrice - ESCANDE Georges - Mme FONCK Yvette - MM. GENTOU Claude - Mme GLANDDIER Phyllis - MM. IRTHUM Bernard - JACQUETIN Bernard - Mme LAVARENNE Jeanine - MM. LAVERAN Henri - LESOURD Bruno - LEVAI Jean-Paul - MAGE Gérard - MARCHEIX Jean- Claude - MICHEL Jean-Luc - MONDIE Jean-Michel - PHILIPPE Pierre - PLAGNE Robert - PLANCHE Roger - PONSONNAILLE Jean - REY Michel - Mme RIGAL Danièle - MM. ROZAN Raymond - SCHOEFFLER Pierre - SIROT Jacques - RIBAL Jean-Pierre - SOUTEYRAND Pierre - TANGUY Alain - TERVER Sylvain - THIEBLOT Philippe - TOURNILHAC Michel - VANNEUVILLE Guy - VIALLET Jean-François - Mlle VEYRE Annie

PROFESSEURS EMERITES :

MM. AUMAITRE Olivier - BOITEUX Jean-Paul - CHAMOUX Alain - DUBRAY Claude - ESCHALIER Alain - KEMENY Jean-Louis – LABBE André - Mme LAFEUILLE Hélène - MM. LEMERY Didier - LUSSON Jean-René

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. VAGO Philippe	Histologie-Embryologie Cytogénétique
M. AVAN Paul	Biophysique et Traitement de l'Image
M. DURIF Franck	Neurologie
M. BOIRE Jean-Yves	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. BOYER Louis	Radiologie et Imagerie Médicale option Clinique
M. POULY Jean-Luc	Gynécologie et Obstétrique
M. CANIS Michel	Gynécologie-Obstétrique
Mme PENAULT-LLORCA Frédérique	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. BAZIN Jean-Etienne	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
M. BIGNON Yves Jean	Cancérologie option Biologique
M. BOIRIE Yves	Nutrition Humaine
M. CLAVELOU Pierre	Neurologie
M GILAIN Laurent	O.R.L.
M. LEMAIRE Jean-Jacques	Neurochirurgie
M CAMILLERI Lionel	Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M.DAPOIGNY Michel	Gastro-Entérologie
M. LLORCA Pierre-Michel	Psychiatrie d'Adultes

M. PEZET Denis	Chirurgie Digestive
M. SOUWEINE Bertrand	Réanimation Médicale
M. BOISGARD Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
Mme DUCLOS Martine	Physiologie
M. SCHMIDT Jeannot	Médecine d'Urgence
M. BERGER Marc	Hématologie
M. GARCIER Jean-Marc	Anatomie-Radiologie et Imagerie Médicale
M. ROSSET Eugénio	Chirurgie Vasculaire
M. SOUBRIER Martin	Rhumatologie
M. ABERGEL Armando	Hépatologie
Mle BARTHELEMY Isabelle	Chirurgie Maxillo-Faciale
M. RUIVARD Marc	Médecine Interne

1ère CLASSE

M. CAILLAUD Denis	Pneumo-phtisiologie
M. VERRELLE Pierre	Radiothérapie option Clinique
M. D'INCAN Michel	Dermatologie -Vénéréologie
Mme JALENQUES Isabelle	Psychiatrie d'Adultes
M. GERBAUD Laurent	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
M. TAUVERON Igor	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
M. MOM Thierry	Oto-Rhino-Laryngologie
M. RICHARD Ruddy	Physiologie
M. SAPIN-DEFOUR Vincent	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. BAY Jacques-Olivier	Cancérologie
M. COUDEYRE Emmanuel	Médecine Physique et de Réadaptation
Mme GODFRAIND Catherine	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M. LAURICHESSE Henri	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. TOURNILHAC Olivier	Hématologie
M. CHIAMBARETTA Frédéric	Ophtalmologie
M. FILAIRE Marc	Anatomie – Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire
M. GALLOT Denis	Gynécologie-Obstétrique
M. GUY Laurent	Urologie
M. TRAORE Ousmane	Hygiène Hospitalière
M. ANDRE Marc	Médecine Interne
M.BONNET Richard	Bactériologie, Virologie
M. CACHIN Florent	Biophysique et Médecine Nucléaire
M. COSTES Frédéric	Physiologie
M. FUTIER Emmanuel	Anesthésiologie-Réanimation
Mme HENG Anne-Elisabeth	Néphrologie
M. MOTREFF Pascal	Cardiologie
Mme PICKERING Gisèle	Pharmacologie Clinique
M. RABISCHONG Benoît	Gynécologie Obstétrique
M. CHABROT Pascal	Radiologie et Imagerie Médicale
M. DESCAMPS Stéphane	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
Mme HENQUELL Cécile	Bactériologie Virologie
M. POMEL Christophe	Cancérologie – Chirurgie Générale

2ème CLASSE

Mme CREVEAUX Isabelle	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. FAICT Thierry	Médecine Légale et Droit de la Santé
Mme KANOLD LASTAWIECKA Justyna	Pédiatrie
M. TCHIRKOV Andréï	Cytologie et Histologie
M. CORNELIS François	Génétique
M. LESENS Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
M. AUTHIER Nicolas	Pharmacologie Médicale
M. BROUSSE Georges	Psychiatrie Adultes/Addictologie
M. BUC Emmanuel	Chirurgie Digestive
M. LAUTRETTE Alexandre	Néphrologie Réanimation Médicale
Mme BRUGNON Florence	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction
M. ESCHALIER Romain	Cardiologie
M. MERLIN Etienne	Pédiatrie
Mme TOURNADRE Anne	Rhumatologie
M. DURANDO Xavier	Cancérologie
M. DUTHEIL Frédéric	Médecine et Santé au Travail
Mme FANTINI Maria Livia	Neurologie
M. SAKKA Laurent	Anatomie – Neurochirurgie
M. BOURDEL Nicolas	Gynécologie-Obstétrique
M. GUIEZE Romain	Hématologie
M.POINCLOUX Laurent	Gastroentérologie
M.SOUTEYRAND Géraud	Cardiologie
M.EVRARD Bertrand	Immunologie
M.POIRIER Philippe	Parasitologie et Mycologie
Mme PHAM DANG Nathalie	Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie
Mme SARRET Catherine	Pédiatrie

PROFESSEURS DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

1ère CLASSE

M. CLEMENT Gilles	Médecine Générale
M. VORILHON Philippe	Médecine Générale

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mme MALPUECH-BRUGERE Corinne	Nutrition Humaine

2ème CLASSE

PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES

Mme BOTTET-MAULOUBIER Anne	Médecine Générale
M. CAMBON Benoît	Médecine Générale
M. TANGUY Gilles	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

HORS CLASSE

Mme CHAMBON Martine	Bactériologie Virologie
Mme BOUTELOUP Corinne	Nutrition
Mme FOGLI Anne	Biochimie Biologie Moléculaire
Mle GOUAS Laetitia	Cytologie et Histologie, Cytogénétique

1ère CLASSE

M. MORVAN Daniel	Biophysique et Traitement de l'Image
Mle GOUMY Carole	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. MARCEAU Geoffroy	Biochimie Biologie Moléculaire
Mme MINET-QUINARD Régine	Biochimie Biologie Moléculaire
M. ROBIN Frédéric	Bactériologie
Mle VERONESE Lauren	Cytologie et Histologie, Cytogénétique
M. DELMAS Julien	Bactériologie
Mle MIRAND Audrey	Bactériologie Virologie
M. OUCHCHANE Lemlih	Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication
M. LIBERT Frédéric	Pharmacologie Médicale
Mle COSTE Karen	Pédiatrie
Mle AUMERAN Claire	Hygiène Hospitalière
Mme CASSAGNES Lucie	Radiologie et Imagerie Médicale
M. LEBRETON Aurélien	Hématologie
M. BUISSON Anthony	Gastroentérologie
M. BOUVIER Damien	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. MAQDASY Salwan	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques
Mme NOURRISSON Céline	Parasitologie - Mycologie
Mme PONS Hanaë	Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

2ème CLASSE

M. JABAUDON-GANDET Matthieu	Anesthésiologie – Réanimation Chirurgicale
M. COLL Guillaume	Neurochirurgie
M. GODET Thomas	Anesthésiologie-Réanimation et Médecine Péri-Opératoire
M. LACHAL Jonathan	Pédopsychiatrie
M. MOUSTAFA Farès	Médecine d'Urgence

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITESDE MEDECINE GENERALE

1ère CLASSE

Mme VAILLANT-ROUSSEL Hélène	Médecine Générale

2ème CLASSE

Mme LAPORTE Catherine	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

HORS CLASSE

M. BLANCHON Loïc	Biochimie Biologie Moléculaire
M. MARCHAND Fabien	Pharmacologie Médicale
Mme VAURS-BARRIERE Catherine	Biochimie Biologie Moléculaire

CLASSE NORMALE

M BAILLY Jean-Luc	Bactériologie Virologie
Mle AUBEL Corinne	Oncologie Moléculaire
Mle GUILLET Christelle	Nutrition Humaine
M. BIDET Yannick	Oncogénétique
M. DALMASSO Guillaume	Bactériologie
M. PIZON Frank	Santé Publique
M. SOLER Cédric	Biochimie Biologie Moléculaire
M. GIRAUDET Fabrice	Biophysique et Traitement de l'Image
M. LOLIGNIER Stéphane	Neurosciences – Neuropharmacologie

Mme MARTEIL Gaëlle	Biologie de la Reproduction
M. PINEL Alexandre	Nutrition Humaine

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES

M. BERNARD Pierre	Médecine Générale
Mme ESCHALIER Bénédicte	Médecine Générale
Mme RICHARD Amélie	Médecine Générale
M. TESSIERES Frédéric	Médecine Générale
Mme ROUGE Laure	Médecine Générale

REMERCIEMENTS

Pr Saadoun, je vous remercie de me faire l'immense honneur d'être le président de mon jury de thèse. Je vous remercie d'accepter que je vienne en inter-CHU dans votre service. Je vais tâcher d'être à la hauteur en apprenant à vos côtés. Merci pour votre disponibilité et votre bienveillance. Merci pour vos enseignements dans le DIU maladies auto-inflammatoires.

Pr André, je vous remercie de m'avoir fait confiance depuis le début de mon internat. Merci de m'avoir confié ce sujet, merci de m'avoir poussé à réaliser un Master II, cela m'a fait grandir et avancer. Merci pour votre disponibilité. Je suis heureuse de pouvoir travailler dans votre service à l'avenir.

Pr Merlin, je vous remercie d'avoir accepté d'être membre de mon jury de thèse et d'avoir accepté que je participe aux consultations de pédiatrie. J'aimerais beaucoup pouvoir continuer à développer la transition pédiatrie-âge adulte, dans les maladies auto-inflammatoires, à vos côtés.

Pr Tournadre, je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans mon jury de thèse. Je vous remercie pour tout ce que vous avez pu m'enseigner en rhumatologie. Merci également de m'avoir permis de faire les consultations transition. Merci pour l'organisation du service, au cours du semestre, qui m'a permis de réaliser au mieux mon travail de thèse.

Dr Grobost, Vincent, je te remercie d'avoir accepté de siéger dans mon jury et d'avoir décalé tes consultations pour cela. Nous n'avons travaillé ensemble que pour des enseignements mais j'ai déjà hâte de travailler à tes côtés dans le service en novembre 2022.

A mes disparus, qui m'ont transmis le sens du travail et le dévouement aux autres. A Loïc, je te remercie d'être présent au quotidien, de partager mes joies et peines. Merci d'être ce que tu es. Merci à mes parents, à qui je dois tout et plus encore. Merci, pour votre soutien inconditionnel, votre patience, et vos nombreux sacrifices durant toutes ces années. Merci à ma petite sœur, Mélanie, qui a toujours cru en moi et m'a toujours soutenue. Je suis très fière de toi. Merci à mes grands-mères, pour leur douceur et leur bienveillance. Merci à ma marraine. Merci à toute ma famille et ma belle-famille. Merci à mes amis, qui ont toujours été présents, pour moi. J'aurai besoin de plus d'une page pour parler de vous tous.

Merci au Pr Aumaître de m'avoir donné le goût de la médecine interne dès le début de mes études. Merci au Pr Ruivard pour ses enseignements et ses engagements. Merci au Pr Soubrier pour sa transmission du sens de la sémiologie. Merci à Rody, Thibault, Alexandre, Sébastien, Magali, Natacha, Paule, Olivier, Louis, Perrine, Nathanaël, Sakahle, Xavier, Cyril, Alba, Camille, Florent, Marie-Eva, Sandrine, Sylvain, Marion… pour tout le savoir que vous m'avez transmis. Je vais tâcher de vous arriver à la cheville. Merci à tous mes co-internes, en particulier Annaïck, Alizée, Adrien, Romain, Cécilia, Guillaume, Valentin, Thomas, Pierre-Antoine, Théophile, Louisa, Marine, Xavier, Pierre-Baptiste et Quentin de m'avoir soutenu et écouté tout au long de mon internat. Merci à Tiphany, ma co-externe de toujours et surtout amie. Merci à toutes les infirmières pour leur soutien, leur patience et leur dévouement. Merci à Elisabeth et Nicolas pour votre aide immense pour mon Master II et encore pour la rédaction de mon article de thèse. Merci Caroline pour ton aide précieuse pour Behçetbiot et à tous les membres du laboratoire M2iSH pour votre accueil et votre aide. Merci à tous les patients atteints de la maladie de Behçet d'accepter de participer à mon protocole de recherche, à Alia et Sophia, nos ARC, pour leur aide précieuse. Merci à la société française de médecine interne pour son aide financière pour la réalisation de Behçetbiot.

A tous, merci.

Morgane Joubert, Dédicaces validées par Le Directeur de thèse, Pr Marc André,

TABLE DES MATIERES

PARTIE 1 : REVUE 18

MICROBIOME AND BEHÇET'S DISEASE: A SYSTEMATIC REVIEW..... 18

1. ABSTRACT 20
2. KEY MESSAGES 21
3. INTRODUCTION..... 22
4. METHODS..... 24
5.. RESULTS..... 26
   5.1 Gut microbiota imbalance in BD patients..... 26
   5.2 Oral microbiota imbalance in BD patients 31
   5.3 Changing microbiota to change disease course 33
   5.4 Fecal transplantation of BD patients' microbiota to animal models..... 36
6. DISCUSSION 38
7. CONCLUSION 39
8. DISCLOSURE STATEMENT..... 40
9. FUNDING STATEMENT 40

PARTIE 2 : PROTOCOLE..... 42

COMPREHENSION DU ROLE DU MICROBIOTE SALIVAIRE ET DE LA PLAQUE DENTAIRE DANS LA MALADIE DE BEHÇET..... 42

1. INFORMATIONS GENERALES..... 52
   1.1 Titre de la recherche 52
   1.2 Code Promoteur 52
   1.3 Promoteur..... 52
   1.4 Coordination et suivi de l'étude 52
   1.5 Investigateurs 52
   1.6 Collaborateurs scientifiques 54
   1.7 Lieux de réalisation d'étude 55
   1.8 Traitement des données..... 55
   1.9 Comité de Protection des Personnes..... 55
   1.10 Calendrier prévisionnel de l'étude..... 55
2. RATIONNEL DE L'ETUDE / JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE 56
   2.1 Dernier état des connaissances scientifiques..... 56
   2.2 Dernier état des connaissances sur l'expérimentation pré clinique 57
   2.3 Exposé des hypothèses et des objectifs..... 57
   2.4 Résumé des bénéfices et des risques prévisibles et connus pour les personnes se prêtant à la recherche 59
   2.5 Retombées attendues 59
   2.6 Références à la littérature scientifique et aux données pertinentes servant de référence pour la recherche 60
3. OBJECTIFS DE L'ETUDE..... 60
   3.1 Objectif principal 60
   3.2 Objectifs secondaires 61
4. DESCRIPTION DE L'ETUDE 62
   4.1 Type d'essai..... 62
   4.2 Catégorie de recherche 62
   4.3 Justification de la qualification..... 62
5. POPULATION ETUDIEE 62

5.1 Critères d'inclusion *62*
5.2 Critères de non inclusion *63*
5.3 Procédure d'arrêt prématuré de traitement *63*
5.4 Période d'exclusion et participation à une autre recherche *63*
5.5 Indemnisation des volontaires *63*
***5.**6 Modalités de recrutement* *64*
6. METHODOLOGIE DE L'ETUDE 64
6.1 Critères d'évaluation *64*
6.2 Description de la méthodologie de la recherche *65*
6.3 Description des mesures prises pour réduire et éviter les biais *65*
7. REALISATION PRATIQUE DU PROTOCOLE 65
7.1 Description détaillée des actes pratiqués sur les personnes (description de chacune des visites) *65*
7.2 Description de l'organisation logistique générale de l'essai *66*
7.3 Prélèvements et analyses biologiques de l'étude *69*
7.4 Durée prévue de participation des personnes et description de la chronologie de l'essai 71
8. PRODUIT (DISPOSITIF MEDICAL / AUTRE) A L'ETUDE (SI APPLICABLE) 71
9. DONNEES RECUEILLIES 71
10. CONSIDERATIONS STATISTIQUES 72
10.1 Nombre de sujets à inclure *72*
10.2 Analyse de données *72*
10.3 Méthode de prise en compte des données manquantes, inutilisées ou invalides . *74*
10.4 Responsables de l'analyse *74*
11. EVALUATION DE LA SECURITE – GESTION DES EVENEMENTS INDESIRABLES 75
12. DROIT D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE 75
12.1 Accès aux données *75*
12.2 Données source *75*
12.3 Confidentialité des données *76*
13. CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE 77
13.1 Engagement des investigateurs et du promoteur *77*
13.2 Contrôle de Qualité *77*
13.3 Cahier d'observation *77*
14. CONSIDERATIONS ETHIQUES 78
14.1 Comité de Protection des Personnes *78*
14.2 Information du patient et formulaire de consentement éclairé écrit *78*
14.3 Amendements au protocole *78*
14.4 Prise en charge relative à la recherche *79*
15. TRAITEMENT DES DONNEES ET CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DONNEES RELATIVES A LA RECHERCHE 79
15.1 Saisie et traitement des données *79*
15.2 CNIL *79*
15.3 Archivage *80*
16. FINANCEMENT ET ASSURANCE 81
16.1 Budget de l'étude *81*
16.2 Assurance *81*
17. COMMUNICATION - REGLES DE PUBLICATION 81
18. FAISABILITE DE L'ETUDE 82

CONCLUSION 83

REFERENCES **85**

ANNEXE I :NOTE D'INFORMATION **93**

ANNEXE II : FORMULAIRE DE CONSENTEMENT DE PARTICIPATION A UNE RECHERCHE IMPLIQUANT LA PERSONNE HUMAINE **97**

ANNEXE III : CAHIER D'OBSERVATION PATIENT **99**

ANNEXE IV : QUESTIONNAIRE ALIMENTAIRE **105**

ANNEXE V : SCHEMA D'ETUDE **108**

LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES

Partie 1 : Microbiome and Behçet's disease: a systematic review

TABLEAUX

Table I. Characterization of gut microbiota dysbiosis in Behçet's disease patients compared to healthy or disease controls.

Table II. Characterization of oral microbiota dysbiosis in Behçet's disease patients compared to healthy or disease controls.

Table III. Characterization of oral microbiota dysbiosis in Behçet's disease patients compared to healthy or disease controls.

Table IV. Transplantation of BD patients' microbiota into animal models

FIGURES

Figure 1. Information flow through the successive phases of a systematic review

Figure 2. Possible mechanisms of microbiota involvement in the pathogenesis of Behçet's disease

Partie 2 : Etude clinique : Behçetbiot

TABLEAUX

Table I. Traduction des critères de classification internationaux de la BD issus l' « International criteria for the classification of Behçet's disease révisés en 2013 » (1)

FIGURES

Figure 1. Score BSAS

LISTE DES ABREVIATIONS

Partie 1 : Microbiome and Behçet's disease: a systematic review

Ab : antibody
AECAs : Anti-Endothelial Cell Antibodies
AhR: Aryl hydrocarbon Receptor
AIDs: Auto-Inflammatory Diseases
AMPK : AMP-Activated Protein Kinase
BD: Behçet's Disease
BP : Bindng protein
BHI: Brain Heart Infusion
BSAS : Behçet's Syndrome Activity Score
BV: Bacterial Vaginosis
CCRX : C-C Motif Chemokine Receptor X
CDN+: Cluster de Différentiation N
CFA : Complete Freund's Adjuvant
CRB : Centre de Ressource Biologique
DNA: Desoxiribonucleic Acid
EAE: Experimental Auto-immune Encephalomyelitis
EAU: Experimental Auto-immune Uveitis
EDTA : éthylène diamine tétra-acétique
ERAP1: Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase 1
EULAR: European League Against Rheumatism
FMT: Fecal Microbiota Transferer
FUT2: Fucosyl-Tranférase 2
GC-MS: Chromatography Mass Spectrometry
HDAc: Hitsone Deacetylase
H_2O_2: hydrogen peroxide
HIV: Human Immunodeficiency Virus
HLA : Human Leukocyte Antigens
HOMID: Human Oral Microbiome Database
HSP-X: Heat Shock Protein - X
HSV-1: Herpes Virus Simplex-1
IAA: Indole Acrylic Acid
IL-X: interleukin X
IFN-X: interferon X
Kda: kilo Dalton(s)
KIR : Killer cell Immunoglobulin like Receptor
KLRC4: Killer Cell Lectin Like Receptor C4
M2iSH : Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte
MAMP: Microbe-Associated Molecular Pattern
MHC-I-o-pathy: Major Histocompatibility Complex –I-o-pathy
MICA : MHC class I polypeptide-related sequence A
mRNAs: micro- Ribonucleic Acid
mTOR
MVK : mevalonate kinase
NETs : Neutrophil Extracellular Trap
NF-M: middle neurofilament
NK : Natural killer
NLRP3: Nod Like Receptor 3
PAMP : Pathogen-Associated Molecular Pattern
PCR: Polymerase Chain Reaction
pMHC I: MHC class I-peptide complexes
PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses
RAU : Recurrent Aphthous Ulceration
RNA: Ribonucleic Acid
ROS : Reactive Oxygen Species
rRNA: ribosomal Ribonucleic Acid
SCFA: Short Chain Fatty Acid
STAT4: Signal Transducer And Activator Of Transcription 4
TLR-4: Toll Like Receptor-4
TCR: T Cell Receptor
TNFAIP3 : TNF α Induced Protein 3
TNF-X: Tumor Necrosis Factor
Treg: regulator T lymphocytes
Trp : tryptophan
V_n : variable region $_n$

Partie 2 : Etude clinique : Behçetbiot

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

APHP : Assistance Publique des Hôpitaux de Paris

ARN : Acide Ribonucléique

BD : maladie de Behçet

BHI : Brain Heart Infusion

BSAS : Behçet Syndrome Activity Score

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CNIL : Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés

CPP : Comité de Protection des Personnes

CRB : Centre de Ressources Biologiques d'Auvergne

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

FFQ : Food Frequency Questionnary

HLA : Antigènes des Leucocytes Humains

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

HSP : protéines de choc thermiques

IFN-γ : interféton -γ

IL-*n* : interleukine-*n*

M2iSH : Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte

mL : millilitres

qPCR : quantitative Polymerase Chain Reaction

RIPHII : Recherche Impliquant la Personne Humaine de type II

SNFMI : Société Nationale Française de Médecine Interne

Th_n : T helper-$_n$

TNF-α : facteur de nécrose tumorale –α

Partie 1 : revue systématique de la littérature

Microbiome and Behçet's disease:a systematic review

Title

Microbiome and Behçet's disease:a systematic review

Authors

Morgane Joubert[1]
Marc André[1]
Nicolas Barnich[2]
Elisabeth Billard[2]

Affiliations

[1] Department of Internal Medicine, Gabriel Montpied Hospital, Clermont Auvergne University, Inserm U1071, INRA USC2018, M2iSH, F-63000 Clermont-Ferrand, France.
[2] Clermont Auvergne University, Inserm U1071, INRA USC2018, M2iSH, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

Correspondence to

Morgane Joubert
Service de Médecine Interne
CHU Gabriel Montpied
58 rue Montalembert 63000 Clermont-Ferrand France
Email: m_joubert@chu-clermontferrand.fr
https://orcid.org/0000-0002-0281-0459

1. ABSTRACT

Objectives: The aim of this systematic review was to describe the changes in the microbiota of patients with Behçet's disease (BD) and the mechanisms involved in the relationship between the microbiome and immunity in BD.

Methods: A systematic search for relevant articles was made on PubMed and the Cochrane Library database using the following terms: “microbiota AND Behçet’s disease” or “microbiome AND Behçet’s disease”. Fifteen articles were included in a qualitative synthesis.

Results: This systematic review on the microbiome and Behçet’s disease underlines the presence of gut dysbiosis in BD patients. This dysbiosis is marked by (i) a decrease in butyrate-producing bacteria, which could affect T cell differentiation and epigenetic regulation of immune-related genes, (ii) a modification of tryptophan-metabolizing bacteria, which could be linked to dysregulated IL-22 secretion, and (iii) a decrease in bacteria known to have anti-inflammatory properties. Regarding oral microbiota, this review underlines the possible role of *Streptococcus sanguinis* through molecular mimicry and NETosis. Clinical studies of BD have shown that (i) need for dentistry is associated with a more severe course in BD, and (ii) antibiotic-supplemented mouthwash reduces pain and ulcers. Fecal transplantation of BD patients’ microbiota into mouse models led to decreased SCFA production, neutrophil activation, and Th1/Th17 responses. Recipient mice showed exacerbated experimental autoimmune uveitis (EAU) and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). In HSV-1-infected mice mimicking BD, administration of butyrate-producing bacteria improved symptoms and immune variables.

Conclusion: The microbiome may be involved in BD through immunity regulation and epigenetic modifications.

Keywords: Behçet’s disease, Microbiota, Microbiome, *Streptococcus*, SCFA, Butyrate, Tryptophan, NETosis, Epigenetics, Molecular mimicry

2. KEY MESSAGES

- BD-associated ulcers point to a possible dysfunction of the interface between host mucosa and microbiome.
- Gut dysbiosis and decreased abundance of SCFA-producing bacteria could impact mucosal immune homeostasis.
- Molecular mimicry and NETosis could be implicated in an auto-immune etiology of BD pathogenesis.

3. INTRODUCTION

Behçet's disease (BD) is systemic vasculitis involving arteries and veins with heterogeneity among patients in demographics, organ involvement, frequency and severity of relapses, disease course, and response to treatment. Clinical manifestations are oral and genital ulcers, cutaneous manifestations, ocular, articular, vascular, neurologic and gastrointestinal involvement [1].

Epidemiology shows large geographic variations in BD frequency, with prevalence rates per 100,000 inhabitants of 20–420 for Turkey, 1.5–15.9 for southern Europe, and 0.3–4.9 for northern Europe [2]. Interestingly, ethnic disparities persist among higher-prevalence migrants or their descendants living in lower-prevalence areas [3]. Mortality is increased in BD owing to pulmonary artery and large vessel, neurological, and gastrointestinal involvements. BD-associated uveitis can cause blindness. Better knowledge of the etiopathogenesis of BD is therefore important to improve therapies.

BD shares common features with autoimmune and autoinflammatory diseases and with spondyloarthropathies [4]. Regarding innate immunity, vascular infiltration of activated neutrophils has been widely reported in BD [5]. High concentrations of pro-inflammatory cytokines, including IL-8, IFN-γ and TNF-α, could activate neutrophils [6–8]. Reactive oxygen species (ROS), produced at the site of inflammation, cause endothelial dysfunction and tissue damage [9,10] and induce NETosis, a programmed form of neutrophil cell death. Neutrophil extracellular traps (NETs) enable the capture of infectious agents but have deleterious effects by exposing potential autoantigens extracellularly. For example, 74% of NET-associated proteins are thought to be autoantigens in autoimmune diseases such as lupus, rheumatoid arthritis and vasculitis [11]. An excess NETosis was described in BD patients [9,12] and could promote autoimmunity. Natural killer (NK) cells are increased in peripheral blood and BD lesions during the active phases of the disease [13] and contribute to the initiation of the Th1

response [5]. Activated (γδ)T cells are increased in BD patients' peripheral blood and accumulate at inflammatory sites [14,15]. Autoantibodies in BD target blood vessels, especially endothelial cells, causing vasculitis. Anti-endothelial cell antibodies (AECAs) have been described in BD [16,17] and could trigger inflammation through complement or antibody-dependent cell toxicity. Genetic evidence links BD to human leukocyte antigens (HLAs), or the major histocompatibility complex (MHC). MHC class I-peptide complexes (pMHC I) are presented on all nucleated cells. For NK cells, MHC I is a cytotoxicity-inhibiting ligand [18]. pMHC I is also a ligand for the TCR of $CD8^+$ T cells, determining their cytotoxic action toward target cells. The antigen processing for presentation on MHC class I involves the aminopeptidase ERAP1, which determines the peptide repertoire presented to $CD8^+$ T cells [18]. Interestingly, there is an epistatic genetic interaction in BD between the main susceptibility nucleotide polymorphism HLA-B*51 and ERAP1 haplotype 10. In affected patients, ERAP1 activity is decreased and the peptide repertoire is altered [19]. BD has thus been described as an MHC-I disease, along with ankylosing spondylitis and psoriasis [20]. Following activation by an antigen-presenting cell, $CD4^+$ T lymphocytes adopt an effector (Th1, Th2, Th17, etc.) or regulatory (Treg) profile. Th1 cytokines are increased in peripheral blood, and mucosal and skin lesions of active BD patients [21]. Circulating Th17 and regulatory T cells are increased and decreased respectively [22]. In children with acute and relapsing BD, Tregs incompletely counterbalance Th17 response [23].

Carrying the HLA-B*51 allele confers a relative risk of developing BD of 5.8. Besides *ERAP1*, genome-wide association studies have identified various other polymorphisms in immune-related genes (*IL23R-IL12RB2, IL10, STAT4, CCR1-CCR3, KLRC4, TNFAIP3, FUT2, MICA*) [24,25]. Many rare variants of autoimmune or autoinflammatory-related genes are found in BD patients [26]. Some of these variants, especially those in *NOD2, PSTPIP1* and *MVK* [26], may play a role in BD pathogenesis.

Microbiota and especially intestinal microbiota is major player in autoimmune and autoinflammatory diseases, raising the question of their possible role in BD. Dysbiosis in salivary or gut microbiota might trigger inflammation by influencing immune responses. Accordingly, this systematic review set out to describe the alteration in BD patients' microbiota and discuss its effects on BD physiopathology through immune dysregulation.

4. METHODS

The Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines were used to conduct this review, with pre-screening of all methods prior to the literature search [27]. A systematic search for relevant articles was made on PubMed and the Cochrane Library database using the terms: "microbiota AND Behçet's disease" or "microbiome AND Behçet's disease". Inclusion criteria were as follows: human and animal studies examining the gut or oral microbiota or microbiome in BD, interventional studies targeting microbiota. There was no restriction on sample size, participants, age, sex, or health status. Exclusion criteria were as follows: studies of other diseases, studies of other environmental factors, reviews. The following data were extracted from each study: title, authors, year of publication, country of origin of included patients, sex, mean age, study design, aims of study. For studies characterizing microbiota, α diversity (defined by Chao-1 and Shannon indices), and modified bacterial abundances were also extracted, together with animal model in pre-clinical studies. In all, fifteen articles meeting search criteria were used for data collection (**Figure 1**).

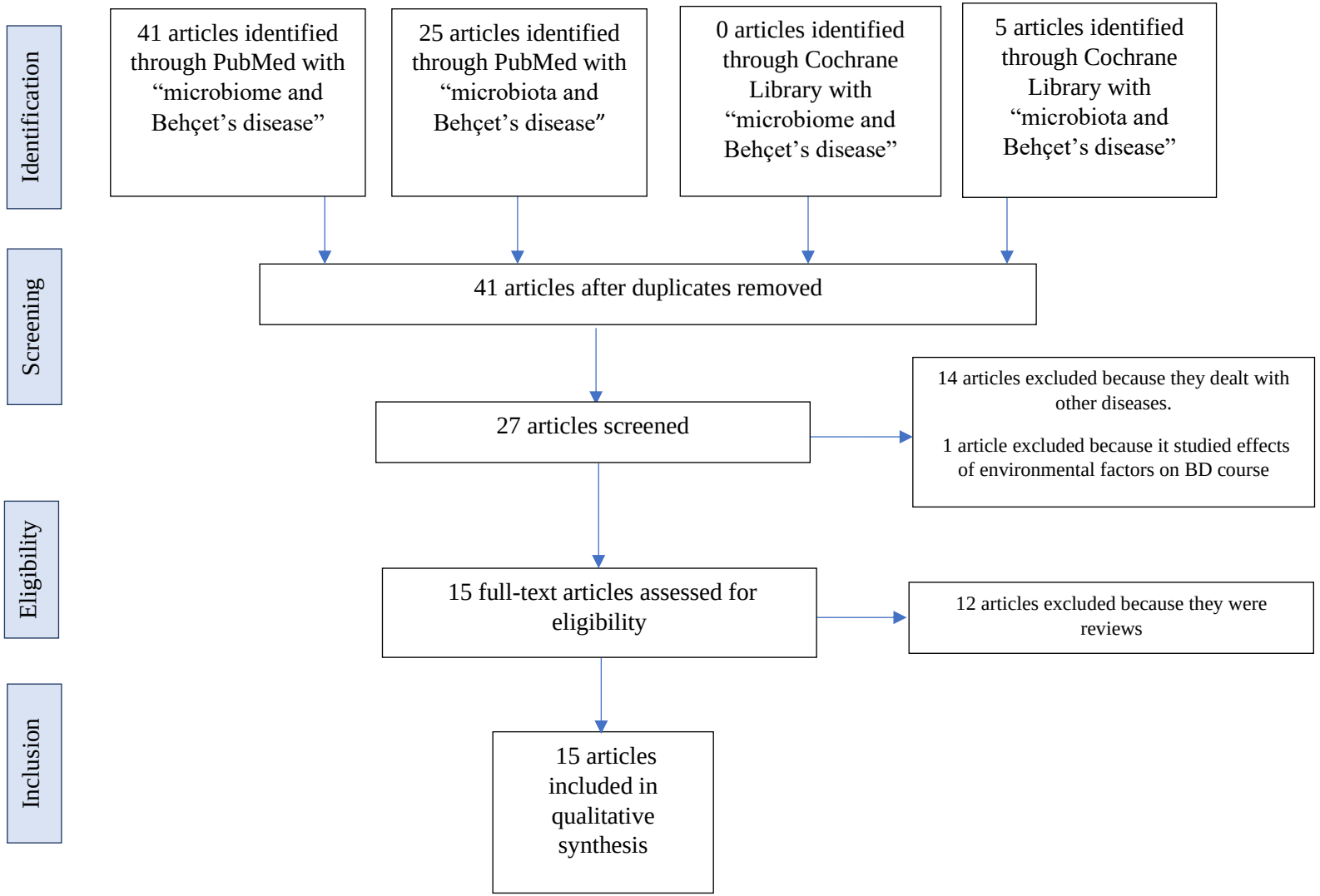

Figure 1. Information flow through the successive phases of a systematic review

5. RESULTS

5.1 Gut microbiota imbalance in BD patients

The human gut microbiota comprises approximately 100 trillion resident microorganisms, including archaea, bacteria, viruses, and fungi. The composition of the microbiota is moderately stable along the gut, but the absolute numbers of microorganisms vary from the mouth to the rectum [28]. The gut microbiota consistently differs among individuals. It is acquired in early life via the commensal microbiota from the mother's skin, vagina, and feces, and it matures during the first two years. Some bacterial species are found in nearly all individuals, and the human gut microbiota is dominated by three phyla: Firmicutes (30–50%), Bacteroidetes (20–40%) and Actinobacteria (1–10%). The gut microbiota forms a defensive barrier to infection. It has numerous protective, structural and metabolic roles [28] and is involved in immune development and function [29,30]. The gut microbiota influences metabolic processes in immune cells by producing active metabolites such as short-chain fatty acids (SCFAs), bile acids, and tryptophan metabolites [31].

Studies of gut microbiota and BD are listed in **Table I**. Microbiota analysis requires DNA extraction, polymerase chain reaction (PCR) amplification using primers targeting the 16S ribosomal RNA gene, and finally sequencing of some of the nine hypervariable regions (V_1–V_9) of the gene. Several studies found decreased abundance of SCFA-producing bacteria such as *Roseburia* and *Subdoligranulum* (genus *Clostridium*), *Lachnospira*, *Bacteroides*, and *Akkermansia* in the gut microbiota of BD patients [32]. SCFAs (acetate, propionate, and butyrate) are produced through fermentation of dietary fiber by the microbiota. Butyrate levels were significantly reduced in fecal samples of BD patients, as already described in inflammatory bowel disease [29] and diabetes mellitus [32]. Butyrate promotes differentiation into regulatory T cells (Tregs) and inhibits pro-inflammatory gene expression through histone deacetylase (HDAC) regulation and subsequent epigenetic modifications [33]. SCFAs also

influence the metabolic status of T cells and modulate their function through epigenetic modifications [29,34]. Dysbiotic gut microbiota in BD patients may thus disrupt Treg versus Th1/Th17 homeostasis and promote pathological responses [35–37].

At the same time, opportunistic pathogens such as sulfate-reducing bacteria, *Stenotrophomonas spp.*, *Actinomyces spp.*, and *Paraprevotella spp*. are overrepresented in BD patients and could contribute to intestinal epithelial barrier damage and innate immune receptor stimulation [38]. Of note, some pattern recognition receptors such as TLR2 and TLR4 are overexpressed in intestinal lesions of BD patients [39].

The studies listed in **Table 1** also highlight a decrease in *Bacteroides* and *Clostridia* abundance in BD patients. Interestingly, these bacteria produce biologically active metabolites from tryptophan, an essential amino acid that humans must acquire through diet [31]. Dietary tryptophan is mainly metabolized by the host into kynurenine and serotonin. Gut microbiota converts it into indole derivatives exerting anti-inflammatory effects in mammals [40]. Among these, indoleacetic acid, indole-3-acetaldehyde, indole-3-aldehyde, and indole acrylic acid act as agonists for aryl hydrocarbon receptor (AhR) transcription factor, which influences T cell immunity and exerts anti-inflammatory effects through the regulation of IL-10 family member IL-22 [31]. Intriguingly, circulating IL-22 is increased in active BD patients and correlates with small vessel inflammation [41]. At the intestinal level, IL-22 exerts beneficial effects by reinforcing the epithelial barrier, protecting against bacterial infections and favoring mucosal healing. IL-22 signaling often results in reduced Th1 responses and contributes to inflammation resolution by promoting Treg differentiation or IL-10 secretion [42]. Early treatment with IL-22 thus reduces the severity of experimental autoimmune uveitis (EAU) in mice [43]. Increased IL-22 in the BD inflammatory context is thus unexpected. However, the same observations have been reported in Crohn’s disease, and IL-22 is now considered to play a pathogenic role in some inflammatory contexts, in particular the skin in psoriasis. In BD, IL-22 could be

produced to counteract inflammation-related damage to the mucosal barrier and endothelial cells. Of note, the concentration of biologically active IL-22 also depends on the secretion of a soluble receptor homolog, IL-22 binding protein (IL-22BP) [44]. To our knowledge, IL-22BP has not been explored in BD: such a study would help to better understand the role of IL-22 in physiopathology and the link with dysbiosis.

The decrease in tryptophan-metabolizing bacteria abundance could also contribute indirectly to the massive IL-1β production in BD patients. IL-1β secretion results from NLRP3 inflammasome activation, and the tryptophan analogue Tranilast (*N*-[3′,4′-dimethoxycinnamoyl]-anthranilic acid) has recently been shown to inhibit NLRP3 inflammasome assembly and subsequent caspase-1 activation and IL-1β production [45,46]. If some tryptophan derivatives produced by microbiota also exert this effect, then the decrease in tryptophan-metabolizing bacteria in BD patients could release NLRP3 inhibition and promote IL1-β secretion.

Finally, the studies listed in **Table I** show a decrease in *Akkermansia* and *Barnesiellaceae* in the gut microbiota of BD patients [47]. These bacteria may exert protective anti-inflammatory effects by down-modulating pro-inflammatory cytokines [48,49].

Taken together, the studies listed in **Table I** do not convey a consistent picture of dysbiosis in BD patients, possibly because of confounding ethnic or environmental factors. Various microbiota-driven mechanisms could play a role in BD etiopathogenesis, as already reported in other diseases, such as Crohn's disease or ankylosing spondylarthritis, in which SCFAs and tryptophan metabolites have been found to be involved [31,50]. Fecal transfer experiments in animal models are now needed to establish the causal role of gut microbiota in BD.

Authors	Population	V regions sequenced	α diversity	Increased bacterial abundance in BD patients	Reduced bacterial abundance in BD patients
Consolandi et al. (2015) [35]	**Italian** BD = 22 (12 male, 10 female) mean age 41.1 HC =16 (6 male, 10 female) mean age 43.4	V3-V4	Ns		***Roseburia* (genus *Clostridium*)** ***Subdoligranulum* (genus *Clostridium*)**
Shimizu et al. (2016) [80]	**Japanese** BD = 12 (5 male, 7 female) mean age 48.8 HC = 12 (6 male, 6 female) mean age 48.6	NA	NA	*Actinobacteria* *Lactobacillus*	***Clostridia***
Ye et al. (2018) [40]	**Chinese** BD = 32 HC = 74 (matched on age, BMI, sex)	V3-V4	NA	*Bilophila spp.* *Parabacteroides spp* *Paraprevotella spp* *Stenotrophomonas spp.* *Actinomyces spp.* *Corynebacterium spp.*	***Clostridium spp*** *Methanoculleus spp.* *Methanomethylophilus spp.*
Shimizu et al. (2019) [81]	**Japanese** BD = 13 (5 male, 8 female) mean age 49.2 HC = 27 (12 male, 15 female) mean age 52.8	V1-V2	Ns	*Eggerthella lenta* *Acidaminococcus bifidum* *Lactobacillus iners* *Streptococcus species* *Lactobacillus salivarius*	*Megamonas hypermegale* *Butyrivibrio* *Streptococcus infantis* *Filifactor*
Oezguen et al. (2019) [82]	**Turkish** Neurobehçet = 13 (8 male, 5 female) mean age 42.1 HC = 14 (10 male, 4 female) mean age 37.8	V3-V5	↓	*Parabacteroides* *Clostridiales* *Geminger* *Butyricimonas* *Actinobacteria* *Erysipelotrichaceae incertae sedis*	*Vampirovibrio* Unclassified *Lachnospiraceae* *Prevotella*
Tecer et al. (2020) [83]	**Turkish - Ankara** BD = 7 with uveitis (5 male, 2 female) mean age 35.6 FMF = 12 (6 male, 6 female) mean age 32.2 Crohn's disease = 9 (3 male, 6 female) mean age 35 HC = 16 (6 male, 10 female)	NA	NA	*Veillonellaceae* *Succinivibrionaceae* *Prevotellaceae* *Lachnospiraceae*	*Bacteroidaceae*

	mean age 39.4				
Bilge et al. (2020) [84]	**Turkish** BD = 27 (17 male, 10 female) mean age 40.8 HC = 10 (6 male, 4 female) mean age 38.9	V3-V4	ns		*Bacteroides* *Cricetibacter* *Alistipes* ***Lachnospira*** ***Akkermansia*** *Sutterella* *Anaerofilum*
Van der Houwen et al. (2020) [47]	**Netherlands** BD = 19 (9 male, 10 female) mean age 50 HC = 17 (9 male, 8 female) mean age 47 **Italian** BD = 13 (6 male, 7 female) mean age 54 HC = 15 (7 male, 8 female) mean age 44	V3-V4	NA	*Actinomyces* *Libanicoccus* *Collinsella* *Eggerthella* *Enethrohabdus* *Canetibacterium* *Enterobacter*	*Barnesiellaceae* *Lachnospira*
Kim et al. (2021) [64]	**South Korea** BD = 9 (1 male, 8 female) mean age: 33 RAU = 7 (2 male, 5 female) mean age: 47 BD-matched HC = 9 (4 male, 5 female) mean age: 53 RAU-matched HC = 7 (3 male, 4 female) mean age: 44	V3-V4	ns	*B. uniformis* (active *vs* inactive BD, and BD *vs* HC) *Faecalibacterium prausnitzii* group *Bifidobacterium adolescentis* group salivary *Streptococcus pneumoniae* group *Streptococcus peroris* group *Neisseria sicca* group (BD with uveitis *vs* BD without uveitis)	*Clostridium_g24* (BD with uveitis *vs* BD without uveitis)

Table I. Characterization of gut microbiota dysbiosis in Behçet's disease patients compared to healthy or disease controls.

Abbreviations: HC: healthy controls, FMF: familial Mediterranean fever, RAU: recurrent aphthous ulceration, ns: non-significant, NA: not available.
V*n*: hypervariable regions of the 16S ribosomal RNA gene sequenced in each study.
In bold, bacteria involved in SCFA production.
↓, decreased with $p < 0.05$

5.2 Oral microbiota imbalance in BD patients

The human oral cavity contains various microbial habitats, including the teeth, gingival sulcus, tongue, cheeks, hard and soft palates, and tonsils [51]. The oral microbiota has been extensively characterized by both cultivation and culture-independent molecular methods. Unfortunately, the vast majority of unnamed oral taxa are referenced by clone numbers or 16S rRNA GenBank accession numbers, often without taxonomic anchors [51]. In March 2020, the Human Oral Microbiome Database (www.homd.org) listed 784 bacterial taxa and 1,567 genomes in the human oral microbiome taxonomic hierarchy, mostly belonging to the Firmicutes phylum and to the *Streptococcaceae* family. The tongue, teeth, mucous membranes, palate and gums harbor distinct microbiota organized in biofilms [52]. Their composition is affected by environmental factors such as exposure to oxygen, dental plaque, breastfeeding, and dental hygiene habits. Altered oral microbiota has been observed in various diseases such as diabetes mellitus, bacteremia, endocarditis, cancer, autoimmune diseases, and preterm births [53].

Table II summarizes all the studies characterizing oral microbiota in BD patients. Ribosomal 16S rRNA comprises nine variable loops (V_1–V_9). At present, oral microbiome sequencing targets either the $V_{1–2}$ or the $V_{3–4}$ regions as described in the preceding section [53]. However, V_1 region sequencing should be used to differentiate *Streptococci*. Region V_2 best identifies Gram-negative *Porphyromonas* and *Fusobacterium* [54], $V_{1–3}$ *Streptococcus, Fusobacterium, Prevotella, Porphyromonas* and *Bacteroides*, and $V_{4–6}$ *Prevotella, Porphyromonas, Treponema, Enterococci* and *Campylobacter*-like oral inhabitants [53].

The oldest study reports abnormal abundance of *Streptotococcus sanguinis* on patients' ulcers. The role of *Streptococcus* in BD has been suspected since the 90s, supported by BD clinical manifestations during tests of hypersensitivity to streptococcal antigens [55]. *Streptococcus sanguinis,* formerly *S. sanguis,* is historically the agent most often incriminated

in BD. This Gram-positive, non-sporulating, facultative anaerobic, chain-forming bacterium is a pioneer germ of dental plaque biofilm [56]. *S. sanguinis* could lead to an immune cross reaction through molecular mimicry between bacterial and human heat shock proteins (HSPs) [57]. HSPs are conserved in microorganisms and mammals and are powerful antigens for T cell activation. The HSP-60 family includes HSP-65 (65 kDa), which is shared by mycobacteria and several strains of S*treptococci* and its human equivalent HSP-60 (60 kDa), mainly expressed within mitochondria. There is about 60% identity between these proteins [57]. Anti-HSP-60/65 antibodies have been described in BD patients with neurologic involvement [58], suggesting that bacterial HSPs may be initiator antigens of BD, secondarily causing, by cross-reactivity, proliferation of T cells self-reactive to human HSP-60. However, although various auto-antibodies have been identified in small groups of BD patients, none of them seem highly prevalent, nor do they target the bacterial epitope [59]. One study in BD patients [59] identified antibodies directed against the middle neurofilament (NF-M) constituting filamentous neuronal compounds in the brain, retina, and skin. There is significant identity between human NF-M and bacterial HSP-65. NF-M immunoreactive sera cross-reacted with bacterial HSP-65 [59]. To our knowledge, although much evidence seems to support involvement of bacterial HSP-65, nothing firmly demonstrates that primary immunization of patients occurs against *S. sanguinis* HSP-65. Other bacteria could also contribute to this cross-reaction phenomenon. In particular, the impact of BD-associated HLA-B*51 and ERAP-1 polymorphisms on this molecular mimicry process remains to be explored.

Streptococcus sanguinis also induces NETosis [60], thus favoring exposure of self-antigens in the extracellular space and promoting inflammation, tissue damage, and autoimmune manifestations. No literature has reported on the impact of either microbiota or *Streptococcus sanguinis* on the excess NETosis reported in BD.

Akkermansia and *Muribaculaceae,* previously known as the S24-7 family, are underrepresented in BD patients' oral microbiota [61], as they are in inflammatory bowel diseases [62]. Pili-like proteins from *Akkermansia muciniphila* increase epithelial barrier function through the induction of IL-10 [63]. For unknown reasons, salivary *Rothia mucilaginosa* was more abundant in the active BD group than in the active recurrent aphthous ulceration (RAU) group [64]. *Rothia denticariosa* colonization was increased at non-ulcer sites in BD compared to the ulcerated mucosa of orally active BD [65]. The oral mucosa of healthy controls (HC) was enriched in *Neisseria* and *Veillonella* compared to BD and RAU patients [65]. Finally, *S. sanguinis* was increased in the saliva of orally active compared to orally inactive BD patients.

Overall, the literature points to an alteration of oral microbiota in BD, but with no consistency among studies. We note that all studies were based on sequencing of the V_3 and V_4 regions of 16S rRNA only, whereas the V_1 region is the best choice for differentiating oral *Streptococci* [53]. It would be useful to amplify and sequence the whole 16S rRNA gene in future studies on BD patients' oral microbiota.

5.3 Changing microbiota to change disease course

Four studies summarized in **Table III** directly or indirectly analyzed the role of the gut or oral microbiome in BD, by acting on hygiene practices or modulating microbiota-secreted metabolites. Since butyrate-producing bacteria are decreased in the gut microbiota of BD patients, two studies evaluated the effect on disease course of butyrate supplementation or fiber-rich diets increasing butyrate production [66,67]. This led to a significant reduction in corticoid use and BD disease activity [68], though without significant changes in blood inflammatory variables. Dental caries and need for tooth extraction were associated with a more severe BD course, suggesting a possible positive impact of more stringent hygiene practices [69].

Authors	Population	Samples	V regions sequenced	α diversity	Increased bacterial abundance in BD patients	Reduced bacterial abundance in BD patients
Seoudi et al. (2015) [65]	**UK** BD = 54 (35 male, 19 female) mean age: 41.7 HC = 25 (15 male, 10 female) mean age: 38 RAS = 8 (5 male, 3 female) mean age: 43.5	Saliva Oral mucosa swab Brush biopsies from ulcer and non-ulcer sites	V4	NA	RAS + BD *vs* HC, non-ulcer sites: *Rothia denticariosa* (phylum *Actinobacteria*) BD *vs* RAS, ulcer sites: *Streptococcus salivarius* BD *vs* HC, ulcer sites: *Streptococcus sanguinis*	RAS + BD *vs* HC, oral mucosa: *Neisseria* and *Veilloneilla*
Coit et al. (2016) [79]	**Turkish** BD = 31 (15 male, 16 female) mean age: 36.5 HC = 15 (7 male, 8 female) mean age: 37.8	Saliva	V4	⬇	*Haemophilius parainfluenzae* (species)	*Leptotrichia* *Alloprevotella* (genus)
Balt et al. (2020) [61]	**Mongolian** BD = 47 (16 male and 31 female) mean age: 44.2 HC = 48 (17 male and 31 female) mean age: 38.4	Saliva	V3-V4	ns		*Akkermansia* S24-7 family (*Muribaculaceae*)
Kim et al. (2021) |64]	**South Korea** BD = 9 (1 male, 8 female) mean age: 33 RAU = 7 (2 male, 5 female) mean age: 47 BD-matched HC = 9 (4 male, 5 female) mean age: 53 RAU-matched HC = 7 (3 male, 4 female) mean age: 44	Saliva	V3-V4	ns	*Lachnoanaerobaculum* (BD *vs* HC) *Rothia mucilaginosa* (BD *vs* RAU)	*Veillonella* (BD with uveitis *vs* without uveitis)

Table II. Characterization of oral microbiota dysbiosis in Behçet's disease patients compared to healthy or disease controls.

Abbreviations: BD: Behçet's disease, HC: healthy controls, NA: not available, ns: non-significant, RAS, recurrent aphthous stomatitis, RA: recurrent aphthous ulceration.
V*n*: hypervariable regions of the 16S ribosomal RNA gene sequenced in each study.
⬇: decrease with $p < 0.05$

Authors	Population	Main goals	Main results	Comments
Emmi et al. (2020) [68] *	**Italian** BD = 17 (9 male, 8 female) mean age: 45.6 2 groups: – Habitual diet supplemented with oral butyrate (2.4 g/day): 8 – Lacto-ovo-vegetarian diet containing insulin and resistant starch-rich foods: 9	To evaluate before and after dietary interventions (at month 0 and at month 3) the effect of 2 butyrate-enriched diets on blood redox status and fibrin degradation in clinical variables of BD and gut microbiota.	In both groups, month 0 *vs* month 3: – Reduction in leukocyte ROS production – Improvement in fibrin susceptibility to plasmin-induced lysis – Enrichment in *Clostridium XIVa*, *Romboutsia*, and *Eggerthella* genera – Improvement of BD symptoms, reduction of corticosteroids use – No change in blood inflammatory parameters.	These results suggest benefits of butyrate dietary enrichment in BD pathophysiology, especially for cardiovascular prevention. Of note, SCFA fecal concentrations were unchanged.
Pagliai et al. (2020) [69] *	**Italian** BD = 90 3 groups: – Lacto-ovo-vegetarian diet: 30 – Mediterranean diet: 30 – Mediterranean diet supplemented with butyrate: 30	To investigate whether 3 months of dietary intervention could ameliorate the clinical manifestations and modulate the gut microbiota of BD patients.	Study in progress: results not available.	
Yay et al. (2019) [69]	**Turkish** BD = 194 (81 male, 113 female) mean age: 37.8	To examine whether oral health (i.e., presence of an infection site) influences disease course in BD patients.	During follow-up, patients having had tooth extraction at their last dental visit and patients with dental caries had a higher disease severity score than others.	Male sex is also associated with a more severe disease course in BD. Limits: Retrospective study.
Senusi et al. (2020) [72] *	**UK** BD = 261 (120 male, 141 female) mean age: 40.5 3 groups: – Antibiotics + betamethasone mouthwash: 95 – Betamethasone mouthwash: 81 – No mouthwash: 85	To evaluate the effectiveness of antibiotic supplementation in betamethasone mouthwash on oral ulcerations, oral health, quality of life and Behçet's current activity form after 3 and 6 months.	Oral ulcer severity score is decreased in antibiotic-recipient patients in comparison with control groups. The antibiotic-enriched mouthwash recipient patients were significantly more satisfied than the betamethasone mouthwash recipient patients.	Improvement of oral ulcers severity under antibiotics treatment underlines the role of oral microorganisms in BD pathophysiology.

Table III. Clinical studies evaluating the impact of microbiota modulation on BD

Abbreviations: BD: Behçet's disease, ROS: reactive oxygen species, SCFA: short-chain fatty acid.

*: interventional study

Mouthwash containing betamethasone thus showed greater efficacy against pain and ulcers when antibiotics (e.g., doxycyclin and nystatin) were added, underlining the role of microorganisms in BD pathogenesis.

5.4 Fecal transplantation of BD patients' microbiota to animal models

Different models, all with their limitations, were used to evaluate the causal role of microbiota in BD [70]. **Table IV** summarizes the animal studies that investigated the role of microbiota in BD. Transplantation of feces from BD patients in antibiotic-treated mice led to decreased SCFA production and altered intestinal permeability, and favored neutrophil activation and Th1/Th17 responses compared to mice receiving feces from healthy controls [71]. Subsequent induction of experimental autoimmune uveitis (EAU, [38,71]) or experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE, [71]) by immunization with interphotoreceptor retinoid binding protein or with myelin oligodendrocyte glycoprotein, respectively, showed that both diseases were exacerbated in BD-recipient mice.

Another study used HSV-1 infected mice, which developed BD symptoms after 5–16 weeks. Differences in gut microbiota were observed between normal and BD mice [72]. Administration of *Eubacterium rectale*, one of the most prevalent bacterial species in the human colon and a major contributor to butyrate production [73], improved BD symptoms and immune variables in this model.

Although the mechanisms have not been elucidated, decrease in butyrate production is clearly associated with immune dysregulation in BD.

Authors	Animal model	Main goals	Main results
Ye et al. (2018) [40]	Fecal transplantation of BD or HC gut microbiota EAU model	To investigate the impact of BD patients' microbiota on development and severity of uveitis	Severe uveitis observed in BD recipient mice versus healthy controls (HC) recipient mice In BD- *vs* HC-recipient mice: clinical manifestations are more severe and IL-17 and IFN-γ mRNA are up-regulated in spleen.
Wang et al. (2021) [74]	Fecal transplantation of BD or HC gut microbiota EAU model EAE model	To investigate whether BD gut microbiota contribute to inflammation and immune dysregulation in EAU and EAE	Following BD *vs* HC fecal transfer: Increased intestinal permeability, neutrophil activation with NETosis, increased Th1 and Th17 responses EAU model, in BD- *vs* HC-recipient mice: – uveitis is exacerbated (clinical and histological evaluations) – up-regulation of IFN-γ and IL-17 expression associated with higher counts of Th1 and Th17 in MLN, spleen, retina – neutrophil activation with increased MPO and NE levels EAE model, in BD- *vs* HC-recipient mice: – encephalomyelitis is exacerbated (clinical evaluation) – up-regulation of IFN-γ, IL-17 and MCP-1 mRNA in lymphocytes, down-regulation of IL-10
Islam et al. (2021) [75]	ICR mice infected with HSV-1: 90% of normal healthy mice, 10% of BD-like mice Normal healthy mice, 3 groups: – PBS-treated mice – vehicle-treated mice – *E. rectale*-treated mice BD-like mice, 5 groups: – PBS-treated BD mice – Butyrate-treated BD mice – *E. rectale*-treated BD mice – Colchicine-treated BD mice – Colchicine- and *E. rectale* -treated mice	To investigate whether administration of butyrate or of butyrate-producing *Eubacterium rectale* improve immune variables and BD symptoms	In normal *vs* BD-like mice: modification of microbial diversity (increased OTU number and Shannon index), altered gut microbiota composition In BD-like mice: – butyrate treatment improved BD symptoms compared to PBS-treated mice – compared to culture media (vehicle), administration of *E. rectale* improved disease severity score and immune v (DC maturation, Treg activation, NK cell frequency, serum IL-17 level)

Table IV. Transplantation of BD patients' microbiota into animal models

Abbreviations: BD: Behçet's disease, DC: dendritic cells, EAU: experimental autoimmune uveitis, EAE: experimental autoimmune encephalomyelitis, HC: healthy controls, HSV-1: herpes virus simplex 1, ICR: Institute of Cancer Research, IL-17: interleukin-17, IL-10: interleukin 10, IFN-γ: interferon γ, MPO: myeloperoxidase, NE: neutrophil elastase, NETs: neutrophil extracellular traps, OUT; operational taxonomic unit, PBS: phosphate-buffered saline.

6 DISCUSSION

This systematic review on the microbiome and BD underlines the presence of gut dysbiosis in patients. This altered microbiota is pro-inflammatory in EAU and EAE mouse models, although their causal role in BD has not been fully demonstrated. Butyrate-producing bacteria are depleted in BD patients, in line with the regulatory role of this SCFA in immune and especially T cell homeostasis. The importance of butyrate in pathogenesis is further emphasized by the improvement of clinical scores following administration of butyrate-producing bacteria in the HSV-1 mouse model of BD. Tryptophan-metabolizing bacteria also seem underrepresented in BD patients. Considering the elevated IL-22 levels in these patients, the role of tryptophan metabolites and downstream pathways in BD deserves attention. The crucial role of oral microbiota in BD is supported by the association of dentistry needs with a more severe disease course, and by the beneficial effect of antibiotic-containing mouthwash. It is of interest that *Streptococcus sanguinis* is preferentially associated with oral aphthous ulceration in BD patients, in line with its suspected involvement in pathogenesis through molecular mimicry. However, this finding does not exclude a contribution of other microbiota members, nor does it prove the effectiveness of this mechanism. All these microbiota studies have obvious limitations because results were not adjusted for treatment and environmental factors such as tobacco consumption, diet, or delivery birth mode. Only the V_3 and V_4 regions of 16S rRNA were sequenced, whereas the V_1 region is preferable for differentiating oral *Streptococci.* Further work will thus be needed to elucidate the role of *Streptococcus* in BD and validate past studies with current technologies. Interestingly, a recent case report showed an improvement of uveitis symptoms and inflammation after symbiotic treatment with fructo-oligosaccharides associated with living *Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium longum,* and *Lactobacillus bulgaricus* [74]. Microbiota-targeting approaches could thus be useful for BD treatment.

As genital ulcers are typical manifestations of BD, genital microbiota profiling of patients could be of interest. To our knowledge, this has never been attempted. Bacterial vaginosis (BV), or vaginal dysbiosis, is a common vaginal condition associated with aberrant changes in the vaginal microbiome. Bacterial vaginosis is characterized by a reduction of the resident lactic acid-producing *Lactobacillus* spp. and an overgrowth of anaerobic bacteria. No study has described a link between BD and BV, but an American nationwide survey showed an association of BV with periodontitis. In women with BV, periodontitis was associated with higher inflammation than in women without BV. Models fully adjusted for age, smoking, body mass index, diabetes mellitus, and number of systemic conditions strengthened this association [75]. In men, the microbiota of the penis has been studied mostly in connection with circumcision, HIV risk and female partner BV [76]. It would be of interest to study vaginal and penile microbiota composition in relation to BD inflammation and the impact of circumcision on the frequency of penile aphthous ulceration. In the same line, human hair follicles carry complex microbial communities that differ from the skin microbiota. This likely reflects the moist, less acidic, and relatively ultraviolet light-protected environment of the hair follicle epithelium, part of which is immune-privileged, thus facilitating microbial survival [77]. In hidradenitis suppurativa, a disease in which non-infectious genital ulcers are frequent like in BD [78], bacterial over-colonization and specific bacterial changes have been described [77]. It would therefore be useful to study the hair follicle microbiome in BD.

7 CONCLUSION

In summary, microbiome alteration may provide a receptive setting for the onset of BD through a variety of immunomodulatory mechanisms **(Figure 2)**. Future biobanking will enable the study of gut, oral, genital, and hair follicle microbiota in BD patients versus healthy controls in larger studies. Sequencing of the whole 16S rRNA gene will be required for *Streptococci* characterization. Fungi, viruses, and archaea will also need to be studied. It will then be

necessary to continue transplantation of patients' microbiota in animal models and/or inoculation of potential pathogens (e.g., *Streptococcus sanguinis* but also other bacteria) to better characterize the impact of BD-associated dysbiosis and confirm the involvement of specific microorganisms. In particular, the relationship between abnormalities of microbiota, epigenetic regulations, and BD pathogenesis may help gain a fuller understanding of susceptibility to this disease. Finally, deeper insight into how host microbiota influence BD occurrence and disease course will pave the way for microbiota-targeting therapies in BD that could usefully add to existing treatments.

8 DISCLOSURE STATEMENT

The authors declare they have no conflicts of interest

9 FUNDING STATEMENT

This study was supported by the "ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation" (MESRI); Inserm (UMR 1071); INRAE (USC-2018), University Hospital (CHU Clermont-Ferrand, France), the French government's IDEX-I-SITE initiative 16-IDEX-0001 (CAP 20-25) of the University of Clermont Auvergne, and the "Société française de Médecine interne (SNFMI).The funders had no role in the study design, decision to publish or preparation of the manuscrip

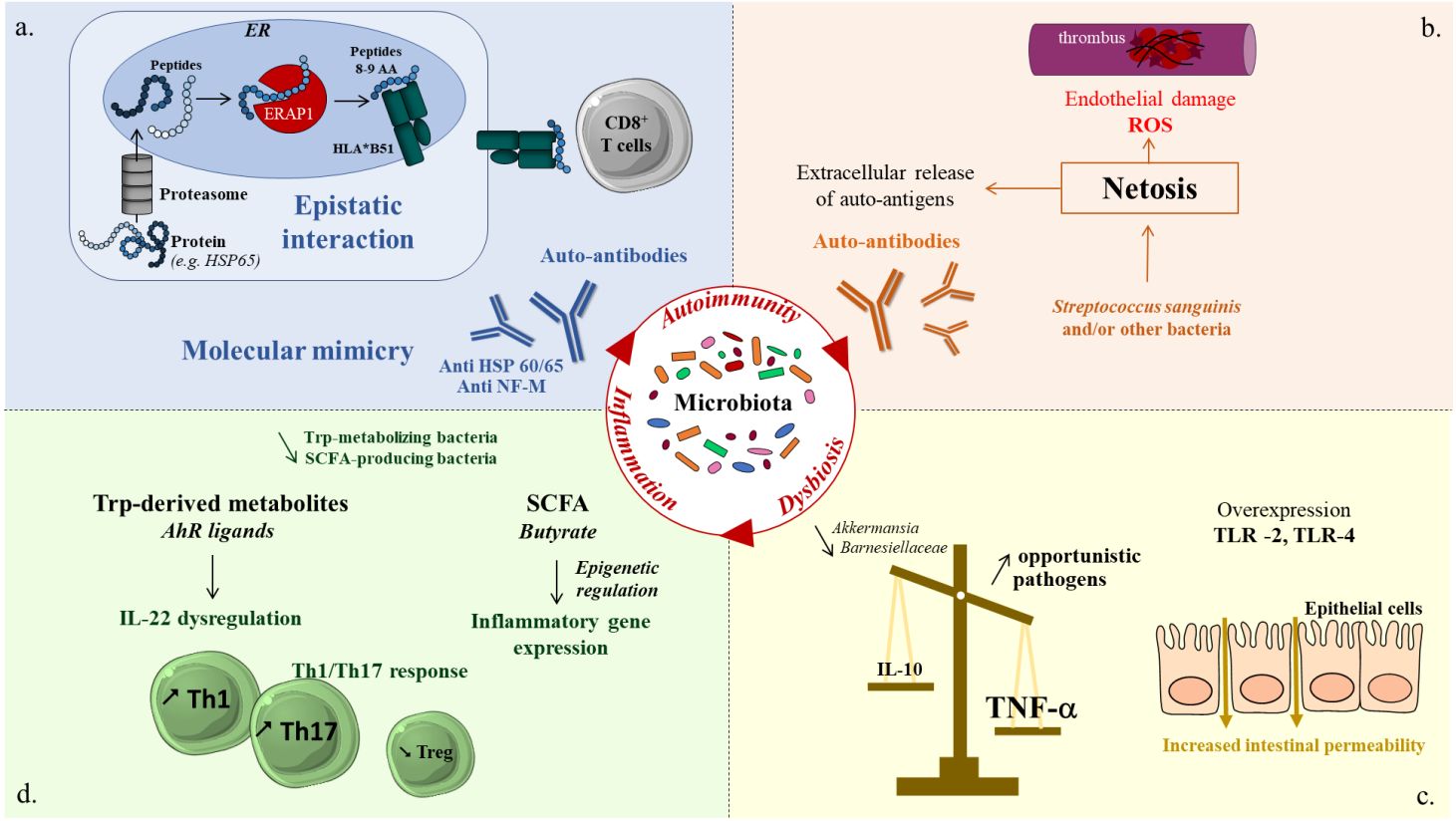

Figure 2: Possible mechanisms of microbiota involvement in the pathogenesis of Behçet's disease

a.Molecular mimicry between bacterial and human HSP and epistatic interaction between *HLA*-B*51 and *ERAP*1 could alter antigenic presentation to T cells. **b.** *Streptococcus sanguinis* and other microbiota members activate NETosis, generating reactive oxygen species (ROS). NETosis exposes auto-antigens and favors auto-antibody responses against intracellular components. **c.** Decreased A*kkermansia* and *Barnesiellaceae* abundances lead to decreased IL-10and TNF–α respectively. Enrichment in opportunistic pathogens leads to overexpression of TLR-4/TLR-2 due to intestinal epithelial barrier damage that facilitates entry of MAMPs into intestinal epithelial cells. **d.** Decreased *Bacteroides* and *Clostridia* abundances in BD patients lead to decrease in indole metabolites, some of which acting as agonists for aryl hydrocarbon receptor (AhR) transcription factor. AhR exerts anti-inflammatory effects in intestinal mucosa through the regulation of IL-22. IL-22 influences T-cell responses and cytokine secretion. Decrease in SCFA-producing bacteria (particularly butyrate) in gut microbiota contributes to imbalance between Treg and Th1/Th17 and favors pro-inflammatory genes expression through epigenic modifications.

Abbreviations: Ab: antibody, Ag: antigen, AhR: aryl hydrocarbon receptor, DNA: deoxyribonucleic acid, HLA: human leukocyte antigen, HSP: heat shock protein, IL-1: interleukin 1, IL-10 : interleukin 10, IL-22: interleukin 22, MAMPs : microbe-associated molecular patterns, NF-M: median neurofilament, ROS: reactive oxygen species, SCFA: short-chain fatty acid, TLR-2: toll-like receptor 2, TLR-4: toll-like receptor 4, TNF-α: tumor necrosis factor α.

Partie 2 : protocole

Compréhension du rôle du microbiote salivaire et de la plaque dentaire dans la maladie de Behçet

Compréhension du rôle du microbiote salivaire et de la plaque dentaire dans la maladie de Behçet.

Titre abrégé : Behçetbiot

Version : 3 **en date du : 10/02/2022**

Code Promoteur	N° d'enregistrement ANSM
RBHP 2021 ANDRE	2021-A01648-33

Promoteur

C.H.U. de Clermont-Ferrand
58 Rue de Montalembert
63003 Clermont-Ferrand Cedex 1

Investigateur principal :

Pr. Marc ANDRÉ
PU-PH ; Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
Membre titulaire de l'unité de recherche M2iSH Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, UMR Inserm / Université Clermont Auvergne U1071, USC INRA 2018
Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003, Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35
Courriel : mandre@chu-clermontferrand.fr

Méthodologiste :

Pr Nicolas BARNICH
Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte
UMR Inserm/ Université d'Auvergne U1071, USC INRA 2018
28 place Henri Dunant
63000 Clermont-Ferrand
Tél: 04 73 17 83 76
Courriel : *nicolas.barnich@uca.fr*

Lieu de réalisation de l'étude :
CHU de Clermont-Ferrand
Médecine interne I, APHP, Hôpital de la Pitié Salpêtrière

RESUME

L'étiopathogénie de la maladie de Behçet (BD) demeure partiellement expliquée, des données suggèrent que la réaction inflammatoire au cours de la BD résulte d'une perturbation de l'homéostasie des réponses immunitaires innée et adaptative chez des individus génétiquement prédisposés. Il en découle une activation des lymphocytes T au niveau du sang périphérique et des sites inflammatoires. L'allèle HLA-B51 du CMH en demeure le principal facteur de susceptibilité génétique, mais de nombreux nouveaux autres gènes ont été identifiés [1]. Un agent bactérien pourrait être le déclencheur de la maladie par une réponse anormale des cellules T vis-à-vis des protéines de choc thermique ou « Heat Shock Proteins » (HSP) provoquant secondairement, par réactivité croisée, la prolifération de cellules T auto-réactives vis-à-vis des HSP humaines [2]. Différents agents infectieux ont été étudiés, dont *Streptococcus sanguinis* qui apparait l'agent pathogène le plus souvent incriminé. Récemment, il a été démontré un déséquilibre des lymphocytes T consistant en l'expansion des populations lymphocytaires, Th1 et Th17, et une diminution des lymphocytes T régulateurs. La baisse des T régulateurs pourrait découler d'un déséquilibre du microbiote digestif, entraînant une diminution de la synthèse bactérienne d'acides gras à chaîne courte [3].

Objectif principal : établir des profils microbiens : de la plaque dentaire, de la muqueuse, pathologique ou non pathologique, salivaire et les comparer à des patients témoins.

Type d'étude : étude multicentrique exploratoire de physiopathologie, de type cas/témoins.

Critère de jugement principal : composition bactérienne, qualitative et quantitative, du microbiote fécal, salivaire, de la plaque dentaire et au niveau de l'aphte.

Nombre de sujets : 60 sujets au total dont 30 patients malades et 30 témoins sains.

Déroulement de l'étude : les patients du service de médecine interne et d'ophtalmologie, du CHU de Clermont-Ferrand, et les patients suivis en médecine interne I dans le service du

professeur Cacoub à la Pitié Salpêtrière, répondant aux critères, se verront proposer la participation à ce protocole. L'étude se déroulera sur un an. Après information et signature du consentement, différentes données seront recueillies (traitements, activité de la maladie, régime alimentaire…) [4]. Les prélèvements d'échantillons seront ensuite effectués par un(e) infirmièr(e) diplômé(e) d'état. Tous les échantillons seront conservés au Centre de Ressources Biologiques d'Auvergne (CRB) et seront analysés au laboratoire M2iSH et ses sous-traitants ainsi qu'au laboratoire de biochimie et d'immunologie du CHU de Clermont-Ferrand.

OBJECTIFS :

Objectif principal :

Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via l'analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la plaque dentaire, de la muqueuse buccale pathologique (sur l'aphte) et non pathologique et salivaire, puis les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet, appariés selon le niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme, afin d' éviter des biais de confusion.

Objectifs secondaires :

- Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) du microbiote intestinal par étude des selles et les comparer à des patients témoins non atteints de BD, du même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.
- Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la muqueuse génitale et les comparer à des patients témoins non atteints de BD, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

- Doser chez les patients atteints de BD les acides gras à chaîne courte (technique HPLC) dans les selles et dans le sang puis les comparer à des patients témoins non atteints de BD, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.
- Doser chez les patients atteints de BD les dérivés métaboliques du tryptophane (Kynurénine, Hydroxykynurénine , Tryptophane et Hydroxytryptophane) dans le sang puis les comparer à des patients témoins non atteints de BD, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.
- Doser chez les patients atteints de maladie de Behçet les taux sanguin et salivaire d'IL-1β, IL-6, IL-17, IL-21, IL-23, Il-10, IFN-γ et TNF-α (technique ELISA ou dosage multiplex) et les comparer à des patients témoins non atteints de BD, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

NOMBRE DE CENTRES : trois centres

CHU de Clermont Ferrand, Auvergne, France

-Service médecine interne et immunologie clinique, Gabriel Montpied (Pr ANDRE) (Centre 1)

-Service d'ophtalmologie (Pr CHIAMBARETTA) (Centre 2)

APHP, Hôpital de la Pitié Salpêtrière, Paris, France

-Service de médecine interne et immunologie clinique I (Pr CACOUB) (Centre 3)

DESCRIPTION DE L'ETUDE:

Chez les patients atteints de BD, suivis au CHU de Clermont-Ferrand, en médecine interne et en ophtalmologie et en médecine interne I à la Pitié Salpêtrière, nous collecterons un échantillon de selles, de sang, de salive, un écouvillon de plaque dentaire, un écouvillon de

muqueuse orale inflammée (aphte), un écouvillon de muqueuse orale saine et un écouvillon de muqueuse génitale (vaginale ou sillon balano-préputial).

Critère de jugement principal : composition bactérienne, qualitative et quantitative, du microbiote, salivaire, de la plaque dentaire et de la muqueuse orale inflammée (aphte).

Critères de jugement secondaires : composition bactérienne, qualitative et quantitative du microbiote fécal et associé à la muqueuse génitale, concentration fécale des acides gras à chaine courte (butyrate, acétate et propionate), concentration sanguine en dérivés métaboliques du tryptophane (Kynurénine, Hydroxykynurénine, Tryptophane Hydroxytryptophane), concentration sanguine en marqueurs pro-inflammatoires : IL-17, IL-23, IL-21, IL-10 Interféron γ, CRP, haptoglobine et orosomucoïde et concentration salivaire en IL-17, IL-23, IL-21, IL-10 Interféron γ.

Nombre de sujets : 30 sujets par groupe [3]**,** la file active de patients atteints de maladie de Behçet des services de médecine interne et d'ophtalmologie du CHU de Clermont-Ferrand et de médecine interne I de l'hôpital de la Pitié Salpêtrière, à Paris, est suffisante pour envisager ces effectifs.

Critères d'inclusion : Patients : adultes répondant aux critères diagnostiques de la maladie de Behçet **(Table I),** ayant déclaré la maladie dans les 5 ans ou ayant une maladie active, non contrôlée ou non traitée au moment de l'inclusion. Témoins : personne appariée au patient, vivant dans le même environnement et ayant le même statut face au tabagisme. Patients et témoins devront être en capacité de fournir un consentement éclairé et une affiliation au régime de la sécurité sociale. Une enquête alimentaire sera réalisée afin d'éliminer un biais de composition du microbiote secondaire à l'alimentation.

Critères de non-inclusion : femme enceinte, allaitante, ou susceptible de l'être. Patients incapables majeurs ou privés de libertés. Antibiothérapie administrée dans les 6 semaines

précédant l'inclusion. Un patient ne disposant pas d'un témoin ayant le même mode de vie ou le même statut face au tabagisme ne sera pas inclus.

Déroulement de l'étude :

Après lecture de la note d'information (**ANNEXE I**) et signature du consentement éclairé (**ANNEXE II**), le médecin et l'assistant(e) de recherche clinique rempliront le cahier d'observation. Ce dernier regroupe les items suivants : (i) démographie (ethnie, niveau socio-culturel, statut face au tabagisme…) (ii) antécédents, (iii) caractéristiques de la maladie, (iiii) traitements reçus par le patient, en lien ou non avec la BD, (iiiii) évaluation du score BSAS (Behçet Syndrome Activity Score) (**Figure 1)**, et (iiiii) questionnaire sur le régime alimentaire des patients **(ANNEXE IV)** par les 30 patients et les 30 témoins**.**

Le recrutement de sujets supplémentaires pourrait être requis à l'issue des premières analyses, si la puissance se révélait insuffisante.

Ensuite, les différents prélèvements seront réalisés :

- Ecouvillonnage de la plaque dentaire, écouvillonnage au niveau de la muqueuse inflammée (aphte) et de la muqueuse saine, prélèvement salivaire et recueil par ponction veineuse de sang périphérique sur tubes EDTA (x2) et tubes héparinés (x2) par un(e) infirmier(e) diplômé(e) d'état.
- Ecouvillonnage de la muqueuse génitale par auto-prélèvement et recueil des selles à domicile par le patient.

Les tubes seront stockés au Centre de Ressource Biologie d'auvergne (CRB) jusqu'à analyse.

Enfin, les différents dosages seront réalisés dans les laboratoires de bactériologie, de biochimie, et d'immunologie du CHU de Clermont-Ferrand et au laboratoire M2iSH (Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte). La comparaison des échantillons pour chaque sous-groupe sera réalisée via un test non paramétrique de Wilcoxon.

Symptômes	Points
Aphtes buccaux	2
Aphtes génitaux	2
Atteinte oculaire	2
Atteinte cutanée	1
Atteinte vasculaire	1
Atteinte neurologique	1
Pathergy test positif	1

La maladie est retenue si ≥ 4points

Table I. Traduction des critères de classification internationaux de la BD issus l'«International criteria for the classification of Behçet's disease », révisés en 2013 (1)

TABLE DES MATIERES

1. **INFORMATIONS GENERALES** 52
   1.1. Titre de la recherche 52
   1.2. Code Promoteur 52
   1.3. Promoteur 52
   1.4. Coordination et suivi de l'étude 52
   1.5. Investigateurs 52
   1.5.1. Investigateur coordonnateur 52
   1.5.2. Investigateurs principaux 53
   1.5.3. Investigateurs associés 53
   1.6. Collaborateurs scientifiques 54
   1.7. Lieux de réalisation d'étude 55
   1.8. Traitement des données 55
   1.9. Comité de Protection des Personnes 55
   1.10. Calendrier prévisionnel de l'étude 55
2. **RATIONNEL DE L'ÉTUDE / JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE** 56
   2.1. Dernier état des connaissances scientifiques 56
   2.2. Dernier état des connaissances sur l'expérimentation pré clinique 57
   2.3. Exposé des hypothèses et des objectifs 57
   2.4. Résumé des bénéfices et des risques prévisibles et connus pour les personnes se prêtant à la recherche 59
   2.5. Retombées attendues 59
   2.6. Références à la littérature scientifique et aux données pertinentes servant de référence pour la recherche 60
3. **OBJECTIFS DE L'ETUDE** 60
   3.1. Objectif principal 60
   3.2. Objectifs secondaires 61
4. **DESCRIPTION DE L'ETUDE** 62
   4.1. Type d'essai 62
   4.2. Catégorie de recherche 62
   4.3. Justification de la qualification 62
5. **POPULATION ÉTUDIÉE** 62
   5.1. Critères d'inclusion 62
   5.2. Critères de non-inclusion 63
   5.3. Procédure d'arrêt prématuré de traitement 63
   5.4. Période d'exclusion et participation à une autre recherche 63
   5.5. Indemnisation des volontaires 63
   5.6. Modalités de recrutement 64
6. **METHODOLOGIE DE L'ÉTUDE** 64
   6.1. Critères d'évaluation 64
   6.1.1. *Critère d'évaluation principal* 64
   6.1.2. Critères d'évaluation secondaires 64
   6.2. Description de la méthodologie de la recherche 65
   6.3. Description des mesures prises pour réduire et éviter les biais 65
7. **REALISATION PRATIQUE DU PROTOCOLE** 65

7.1. Description détaillée des actes pratiqués sur les personnes (description de chacune des visites) 65
7.2. Description de l'organisation logistique générale de l'essai 66
7.3. Prélèvements et analyses biologiques de l'étude 69
7.4 Durée prévue de participation des personnes et description de la chronologie de l'essai 71
8. PRODUIT (DISPOSITIF MÉDICAL / AUTRE) À L'ÉTUDE 71
9. DONNEES RECUEILLIES 71
10. CONSIDÉRATIONS STATISTIQUES 72
10.1. Nombre de sujets à inclure 72
10.2. Analyse de données 72
10.3. Méthode de prise en compte des données manquantes, inutilisées ou Invalides 74
10.4. Responsables de l'analyse 74
11. EVALUATION DE LA SECURITE – GESTION DES EVENEMENTS INDESIRABLES 75
12. DROIT D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE 75
12.1. Accès aux données 75
12.2. Données source 75
12.3. Confidentialité des données 76
13. CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE 77
13.1. Engagement des investigateurs et du promoteur 77
13.2. Contrôle de Qualité 77
13.3. Cahier d'observation 77
14. CONSIDERATIONS ETHIQUES 78
14.1. Comité de Protection des Personnes 78
14.2. Information du patient et formulaire de consentement éclairé écrit 78
14.3. Amendements au protocole 78
14.4. Prise en charge relative à la recherche 79
15. TRAITEMENT DES DONNEES ET CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DONNEES RELATIVES A LA RECHERCHE 79
15.1. Saisie et traitement des données 79
15.2. CNIL 79
15.3. Archivage 80
16. FINANCEMENT ET ASSURANCE 81
16.1. Budget de l'étude 81
16.2. Assurance 81
17. Communication - Règles de publication 81
18. Faisabilité de l'étude 82

1. INFORMATIONS GENERALES

1.1 Titre de la recherche

Compréhension du rôle du microbiote salivaire et de la plaque dentaire dans la maladie de Behçet

1.2 Code Promoteur

RBHP 2021 ANDRE

1.3 Promoteur

CHU de Clermont-Ferrand
58 rue Montalembert
63003 Clermont-Ferrand cedex 1
Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation
Tél : 04 73 751195/Fax : 04 73 754 730

1.4 Coordination et suivi de l'étude

Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte (M2iSH)
UMR Inserm/ Université d'Auvergne U1071, USC INRA 2018
28 place Henri Dunant
63000 Clermont-Ferrand
Tél : +33 4 73 17 83 76

1.5 Investigateurs

1.5.1 Investigateur coordonnateur

Pr. Marc ANDRE

PU-PH ; Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
Membre titulaire de l'unité de recherche M2iSH Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, UMR Inserm / Université Clermont Auvergne U1071, USC INRA 2018
Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 0473751435
Courriel : mandre@chu-clermontferrand.fr

1.5.2 Investigateurs principaux

Pr David SAADOUN (Investigateur principal (IP) du centre de la Pitié-Salpêtrière)
PU-PH, Département de médecine interne et immunologie clinique Hôpital Pitié-Salpêtrière
47-83 boulevard de l'Hôpital
75013 Paris
Tel : 01 42 17 76 22

Pr. Marc ANDRE (IP du service de médecine interne du CHU G. Montpied)
PU-PH ; Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
Membre titulaire de l'unité de recherche M2iSH Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, UMR Inserm / Université Clermont Auvergne U1071, USC INRA 2018
Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003, Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35
Courriel : mandre@chu-clermontferrand.fr

Pr. Fréderic CHIAMBARETTA (IP du service d'ophtalmologie du CHU G. Montpied)
PU-PH ; Service d'ophtalmologie, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 21

1.5.3 Investigateurs associés

Morgane JOUBERT
Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
Membre titulaire de l'unité de recherche M2iSH Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, UMR Inserm / Université Clermont Auvergne U1071, USC INRA 2018
Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35
Courriel : m_joubert@chu-clermontferrand.fr

Pr Olivier AUMAITRE
PU-PH ; Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35

Dr Louis OLAGNE
Praticien hospitalier, Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35

Dr Perrine SMET
Praticien hospitalier, Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35

Dr Julien STIEVENART
Assistant, Chef de Clinique, Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35

Dr Ludovic TREFOND
Chef de Clinique, Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 35

1.6 Collaborateurs scientifiques

Dr Benjamin BONNET
Praticien hospitalier ; Service d'Immunologie, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 14 21

Pr. Bertrand EVRARD
PU-PH ; Service d'Immunologie, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04 73 75 06 62

Bruno PEREIRA
Délégation Recherche Clinique & Innovation
C.H.U. de Clermont-Ferrand
Courriel : bpereira@chu-clermontferrand.fr

Marie DE ANTONIO
Délégation Recherche Clinique & Innovation
C.H.U. de Clermont-Ferrand
Courriel : *mdeantonio@chu-clermontferrannd.fr*

Pr Nicolas BARNICH
Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte
UMR Inserm/ Université d'Auvergne U1071, USC INRA 2018
28 place Henri Dunant
63000 Clermont-Ferrand
Tél : 04 73 17 83 76
Courriel : *nicolas.barnich@uca.fr*

1.7 Lieux de réalisation d'étude

Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1

Service d'ophtalmologie Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1

Service de médecine interne et immunologie clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière
47-83 boulevard de l'Hôpital
75013 Paris

1.8 Traitement des données

Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte
UMR Inserm/ Université d'Auvergne U1071, USC INRA 2018
28 place Henri Dunant
63000 Clermont-Ferrand
Tél : +33 4 73 17 83 76

1.9 Comité de Protection des Personnes

N° CPP **2021-095**
N° DOSSIER **21.01198.000017**
N° NATIONAL **2021-A01648-33**

1.10 Calendrier prévisionnel de l'étude

Soumission CPP : juillet 2021
Début d'étude : novembre 2021
Période de recrutement : 1 an
Période de suivi : 1 jour
Durée totale de l'étude : 1 an

Fin d'étude prévisionnelle (dernière visite du dernier patient) : novembre 2022
Rapport de fin d'étude : septembre 2023

2. RATIONNEL DE L'ETUDE / JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE

2.1 Dernier état des connaissances scientifiques

La maladie de Behçet (BD, Behçet's Disease) est une vascularite des vaisseaux de tous calibres. Elle atteint préférentiellement les sujets jeunes, avec un sexe ratio à 1. Les principales manifestations sont cutanéomuqueuses, articulaires, oculaires, vasculaires, neurologiques et digestives [5]. Bien que **l'étiopathogénie de la BD demeure inexpliquée**, des données suggèrent que la réaction inflammatoire, au cours de la BD, résulte d'une perturbation de l'homéostasie des réponses immunitaires innée et adaptative chez des individus génétiquement prédisposés. Il en découle une activation des lymphocytes T, au niveau du sang périphérique et des sites inflammatoires [1]. L'allèle HLA-B*51 du CMH en demeure le principal facteur de susceptibilité génétique. Les études génomiques récentes ont confirmé cette donnée et ont permis de mettre en évidence de nouveaux gènes de susceptibilité (*IL-10, IL-23R, IL-12RB2*…). [1] D'autres mutations sont retrouvées notamment dans les gènes *NOD2* et *MEVF* avec des mutations différentes de celles connues dans la fièvre méditerranéenne familiale [6].

La survenue d'aphtes buccaux ou digestifs suggère une interaction pathologique entre le microbiote et la muqueuse digestive. Un **agent infectieux bactérien pourrait être le déclencheur** de la maladie par une réponse anormale des cellules T vis-à-vis des protéines de choc thermique ou «Heat Shock Proteins» (HSP) provoquant secondairement, par réactivité croisée, la prolifération de cellules T auto-réactives vis-à-vis des HSP humaines [2]. Différents agents infectieux ont été étudiés. Il existerait un lien entre bactéries et développement de la BD, et notamment entre plaque dentaire riche en S*treptococcus sanguinis* et aphtose (4). ***Streptococcus sanguinis* est l'agent pathogène le plus souvent incriminé**. Récemment, il a été démontré un déséquilibre des lymphocytes T consistant en l'expansion des populations

lymphocytaires Th1 et Th17 et une diminution des lymphocytes T régulateurs. La baisse des T régulateurs pourrait découler d'un déséquilibre du microbiote digestif entraînant une diminution de la production d'acides gras à chaîne courte (butyrate, propionate, acétate) par des bactéries du microbiote [3]. D'ailleurs, plusieurs travaux ont montré qu' une **dysbiose de microbiote salivaire** peut exister chez les malades atteints de maladie de Behçet [5] [1]. En 2018, une étude chinoise [7], sur 32 cas atteints de maladies de Behçet et 74 cas contrôles, a montré que le microbiote des patients est enrichi en *Bilophila spp.*, bactéries sulfato-réductrices, en *Parabacteroides spp*. et *Paraprevotella spp.*, et que l'abondance des bactéries productrices de butyrate est diminuée. Les cytokines de type IL-17, IL-23, IL-21 et IL-10 joueraient aussi un rôle dominant (6). Il existe un lien entre bactéries et développement de la maladie de Behçet et notamment plaque dentaire riche en S*treptococcus sanguinis* et aphtose. (4)

De nombreuses études ont tenté de montrer une différence de microbiotes salivaires chez les malades atteints de maladie de Behçet (1) (2) .

L'étude sus-citée montre qu'une transplantation de microbiote fécal à des souris exacerbe de manière significative les uvéites sur modèle d'uvéite auto-immune expérimental et augmente la production de cytokines inflammatoires chez les murins (IL-17 et IFN-γ).

2.2 Dernier état des connaissances sur l'expérimentation pré clinique

« Non applicable »

2.3 Exposé des hypothèses et des objectifs

Hypothèse : le microbiote salivaire, et plus précisément celui de la plaque dentaire, joue un rôle déclencheur dans la maladie de Behçet.

La plaque dentaire des patients atteints de maladie de Behçet est quantitativement et qualitativement différente de celle des patients non Behçet.

Objectifs

Objectif principal :

-Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la plaque dentaire, de la muqueuse buccale pathologique (sur l'aphte) et non pathologique et salivaire puis les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet appariés selon le niveau socio-culturel.

Objectifs secondaires :

-Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) du microbiote intestinal par étude des selles et les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet, du même âge, du même niveau socio-culturel, pour éviter des biais de confusion.

-Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la muqueuse génitale et les comparer à des patients témoins non atteints de maladie de Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme, pour éviter des biais de confusion.

-Doser, chez les patients atteints de maladie de Behçet, les acides gras à chaîne courte (technique HPLC) dans les selles et dans le sang et les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

-Doser, chez les patients atteints de la maladie de Behçet, les dérivés métaboliques du tryptophane (Kynurénine, Hydroxykynurénine , Tryptophane et Hydroxytryptophane) dans les selles et les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

-Doser, chez les patients atteints de la maladie de Behçet, les taux sanguin et salivaire d'IL-1β, IL-6, IL-17, IL-21, IL-23, Il-10, IFN-γ et TNF-α (technique ELISA ou dosage multiplexe) et les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

2.4 Résumé des bénéfices et des risques prévisibles et connus pour les personnes se prêtant à la recherche

Il n'y a pas de risque pour les personnes se prêtant à la recherche. Les bénéfices peuvent être multiples : une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie, envisager une prise en charge, non médicamenteuse, basée sur l'hygiène dentaire, l'alimentation, l'ingestion de probiotiques ou de symbiotiques et expliquer le rôle de nouveaux médicaments avec peu d'effets secondaires (Tranilast).

2.5 Retombées attendues

-En cas de différence significative entre microbiote de la plaque dentaire chez patients atteints de la maladie de Behçet et témoins appariés, une étude interventionnelle en double aveugle sera envisagée pour étudier l'impact d'une éducation à l'hygiène dentaire et de soins bucco-dentaires (détartrage, retrait de carries) sur l'activité de la maladie.

-En cas de différence significative entre les patients et les témoins sur le microbiote intestinal et sur les concentrations d'acides gras à chaine courte et/ou de dérivés métaboliques du tryptophane : il sera envisagé de moduler la production d'AGCC par des mesures diététiques ou par des stratégies probiotiques, afin d'en évaluer l'impact sur l'activité de la maladie.

-En cas de différence significative sur le microbiote intestinal : étude des modifications épigénétiques sur les gènes découverts comme ayant un rôle dans la maladie de Behçet.

2.6 Références à la littérature scientifique et aux données pertinentes servant de référence pour la recherche

1. Davatchi F. Behçet's disease. Int J Rheum Dis. déc 2018;21(12):2057-8.
2. Leccese P, Alpsoy E. Behçet's Disease: An Overview of Etiopathogenesis. Front Immunol 10 mai 2019
3. Burillo-Sanz S, Montes-Cano M-A, García-Lozano J-R, Ortiz-Fernández L, Ortego-Centeno N, García-Hernández F-J, et al. Mutational profile of rare variants in inflammasome-related genes in Behçet disease: A Next Generation Sequencing approach. Sci Rep. 16 2017;7(1):8453
4. Direskeneli H. Innate and Adaptive Responses to Heat Shock Proteins in Behcet's Disease. Genet Res Int 2013;2013:249157.
5. Consolandi C, Turroni S, Emmi G, Severgnini M, Fiori J, Peano C, et al. Behçet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. Autoimmunity Reviews. avr 2015;14(4):269-76
6. Tong B, Liu X, Xiao J, Su G. Immunopathogenesis of Behcet's Disease. Front Immunol
7. Hatemi G, Christensen R, Bang D, Bodaghi B, Celik AF, Fortune F, et al. 2018 update of the EULAR recommendations for the management of Behçet's syndrome. Ann Rheum Dis. 6 avr 2018;annrheumdis-2018-213225
8. Ye Z, Zhang N, Wu C, Zhang X, Wang Q, Huang X, et al. A metagenomic study of the gut microbiome in Behcet's disease. Microbiome. 04 2018;6(1):135
9. Mumcu G, Direskeneli H. Triggering agents and microbiome as environmental factors on Behçet's syndrome. Intern Emerg Med. août 2019;14(5):653-60

3. OBJECTIFS DE L'ETUDE

3.1 Objectif principal

Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la plaque dentaire, de la muqueuse buccale pathologique (sur l'aphte) et non pathologique et salivaire et les comparer à des patients témoins non atteints de maladie Behçet appariés selon le niveau socio-culturel : vivant sous le même toit, partageant le même régime alimentaire et ayant le même statut face au tabagisme.

3.2 Objectifs secondaires

-Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) du microbiote intestinal par étude des selles puis de les comparer à des patients témoins non atteints de la maladie de Behçet, du même âge, du même niveau socio-culturel, pour éviter des biais de confusion.

-Etablir des profils microbiens (quantitatifs et qualitatifs via analyse des séquences d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la muqueuse génitale et les comparer à des patients témoins non atteints de maladie de Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

-Doser chez les patients atteints de maladie de Behçet les acides gras à chaîne courte (technique HPLC) dans les selles et dans le sang et les comparer à des patients témoins non atteints de maladie Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

-Doser chez les patients atteints de maladie de Behçet les dérivés métaboliques du tryptophane (Kynurénine, Hydroxykynurénine , Tryptophane et Hydroxytryptophane) dans les selles et les comparer à des patients témoins non atteints de maladie Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

-Doser chez les patients atteints de maladie de Behçet les taux sanguin et salivaire d'IL-1β, IL-6, IL-17, IL-21, IL-23, Il'10, IFN-γ et TNF-α (technique ELISA ou dosage multiplexe) et les comparer à des patients témoins non atteints de maladie Behçet, de même niveau socio-culturel, vivant sous le même toit et ayant le même statut face au tabagisme pour éviter des biais de confusion.

4. DESCRIPTION DE L'ETUDE

4.1 Type d'essai

Etude multicentrique exploratoire de physiopathologie, de type cas/témoins.

4.2 Catégorie de recherche

Recherche impliquant la personne humaine : catégorie 2 (RIPHII)

4.3 Justification de la qualification

La réalisation ne comporte que des risques et des contraintes minimes :

- Prélèvement et collecte de sang de 4 tubes de 5mL. Ils seront réalisés par ponction veineuse périphérique pour les besoins de la recherche ou dans le cadre du soin.
- Prélèvement et collecte d'échantillons biologiques, autre que le sang, spécifiquement pour les besoins de la recherche : selles, salive, plaque dentaire, muqueuse saine, aphte.

5. POPULATION ETUDIEE

5.1 Critères d'inclusion

Pour les cas : homme ou femme ≥ 18 ans, patients adultes répondant aux critères de classification internationaux de la maladie de Behçet («International criteria for the classification of Behçet's disease» révisés en 2013) **(Tableau I)**, ou ayant développé la maladie dans les 5 ans précédant l'étude, ou dont le diagnostic est plus ancien uniquement si la maladie est active et non contrôlée et/ou non traitée.

Pour les contrôles : homme ou femme ≥ 18 ans, vivant sous le même toit que le cas. Le cas et le témoin doivent avoir le même niveau socio-culturel, le même genre de régime alimentaire suite à une enquête alimentaire réalisée par une diététicienne, selon le questionnaire FFQ (Food Frequency Questionnary) et un statut fumeur ou non-fumeur identique au cas.

Pour tous les sujets : capacité de fournir un consentement éclairé et une affiliation au régime de la Sécurité Sociale.

5.2 Critères de non inclusion

Femme enceinte, allaitante, ou susceptible de l'être.

Patients incapables majeurs ou privés de libertés.

Antibiothérapie, probiotiques ou symbiotiques administrée dans les 6 semaines précédant l'inclusion.

Un patient ne disposant pas d'un témoin ayant le même mode de vie ou le même statut face au tabagisme ne sera pas inclus.

5.3 Procédure d'arrêt prématuré de traitement

La procédure d'arrêt prématuré de traitement n'est pas applicable.

5.4 Période d'exclusion et participation à une autre recherche

Le patient ne doit pas avoir participé à une autre étude où aurait été ingéré des prébiotiques, probiotiques symbiotiques ou des antibiotiques durant les 6 semaines précédant l'inclusion.

Il n'y a pas de restriction quant à la participation à une autre recherche à l'issue de cette étude, c'est-à-dire suite à la collecte des prélèvements réalisés.

5.5 Indemnisation des volontaires

Aucune indemnisation des cas, cette étude a pour but une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie de Behçet, avec l'espoir d'améliorer la prise en charge des patients.

Les prélèvements seront réalisés dans le cadre de consultation de suivi des patients.

Il est prévu une indemnisation des témoins à hauteur de 50 euros par personne.

5.6 Modalités de recrutement

Patients suivis en médecine interne ou en ophtalmologie au CHU de Clermont-Ferrand ou suivis en médecine interne I à l'hôpital de la Pitié Salpêtrière du Pr Cacoub, présentant les critères diagnostics de la maladie de Behçet **(Tableau I)** et remplissant les critères d'inclusion et de non inclusion. L'information et le recueil du consentement seront effectués par les médecins auprès du patient lui-même et de son témoin.

6. METHODOLOGIE DE L'ETUDE

6.1 Critères d'évaluation

6.1.1 Critère d'évaluation principal

-Composition bactérienne, qualitative et quantitative, du microbiote salivaire et de la plaque dentaire par séquençage de toutes les régions hypervariables de l'ADN codant pour l'ARN ribosomal 16S.

6.1.2 Critères d'évaluation secondaires

-Composition bactérienne, qualitative et quantitative, du microbiote fécal.

-Comparaison des concentrations fécales et sanguines des acides gras à chaine courte (butyrate, acétate et propionate).

-Comparaison des concentrations sanguines de kynurénine, hydroxykinurénine, tryptopahne et hydroxytryptophane.

-Comparaison des taux sanguin, chez les patients Behçet d' IL-1β,d'IL-6, IL-10, d' IL-17, IL-22, IL-23, d'IFN γ et de TNFα.

-Comparaison des taux de cytokines salivaires d' IL-1β,d'IL-6, IL-10, d' IL-17, IL-22, IL-23, d'IFN γ et de TNFα.

6.2 Description de la méthodologie de la recherche

Etude multicentrique transversale avec appariement malade et témoin.

6.3 Description des mesures prises pour réduire et éviter les biais

-La présence d'un groupe témoin, apparié sur le mode de vie et le statut face au tabagisme, afin d' éviter les biais de confusion sur l'analyse de composition du microbiote.

-L'évaluation d'un indice de plaque dentaire simplifiée pour éviter un biais de confusion lié à l'hygiène bucco-dentaire.

-Le transport et le stockage avant l'analyse des prélèvements seront faits selon le même protocole.

-L'ensemble des analyses sera fait dans le même centre.

-Les analyses de microbiote seront faites *in fine* le même jour avec la même méthode dans un laboratoire sous-traitant de M2iSH pour éviter un biais de mesure.

-Prise en compte dans les analyses statistiques du délai de survenue de la maladie.

7. REALISATION PRATIQUE DU PROTOCOLE

7.1 Description détaillée des actes pratiqués sur les personnes (description de chacune des visites)

Le jour d'une consultation annuelle de suivi ou d'une hospitalisation en hôpital de jour ou de semaine, prélèvement, chez tous les patients et leur témoin apparié, d'un échantillon de salive, de plaque dentaire, de muqueuse buccale saine et au niveau d'un aphte si présent et de 4 tubes de 5mL de sang (deux tubes EDTA et deux tubes héparinés) par un(e) infirmièr(e) diplômé(e) d'état.

Le même jour, réalisation d'un auto-prélèvement de muqueuse génitale (vagin ou sillon balano-préputial) par le patient et le témoin.

Concernant les selles, le matériel de prélèvement sera fourni aux patients et aux témoins et ils pourront réaliser le prélèvement chez eux et envoyer le prélèvement dans un délai de 3 jours, par voie postale, au CHU de Clermont-Ferrand dans un triple emballage.

Le patient et son témoin pourront être inclus à des dates différentes.

7.2 Description de l'organisation logistique générale de l'essai

Au cours d'une consultation de suivi, ou en hôpital de jour, chaque patient inclus et son témoin auront un numéro d'anonymisation, sous la forme d'un code alphanumérique correspondant à (i) son numéro de lieu de recherche (1: si le centre est le service de médecine interne du CHU de Clermont-Ferrand, 2: si le centre est le service d'ophtalmologie du CHU de Clermont-Ferrand et 3: si le service est l'hôpital de la Pitié Salpêtrière),(ii) de son numéro d'inclusion (01 à 30) ,de la lettre C s'il s'agit du cas ou T s'il s'agit du témoins et (iiii) de ses initiales dans l'ordre nom+ prénom, cela pour pouvoir entrer le patient, dans le logiciel Redcap, en effet, il ne s'agit pas d'une étude menée en aveugle.

Le médecin fournira une information claire **(ANNEXE I)** et permettant au patient de signer le consentement de manière éclairée **(ANNEXE II),** lors de l'entretien médical. Ensuite, le médecin remplira le cahier d'observation **(ANNEXE III),** qui comprend (i) une partie liée à la démographie,(ii) une section sur les antécédents, (iii) une sur les caractéristiques de la maladie, (iiii) une partie sur le score d'activité BSAS **(Figure 1)**. Les patients répondront à un auto-questionnaire alimentaire type FFQ (**ANNEXE IV**).

Pour continuer, un(e) infirmier(e) diplômée d'état réalisera les prélèvements, c'est-à-dire la ponction sanguine de deux tubes de sang (EDTA et héparinés), un recueil de salive dans un tube Falcon de 50mL, un écouvillonnage de muqueuse saine, inflammée (aphte) et de plaque dentaire. Ensuite, après explication de la fiche détaillant les étapes fournies, le patient réalisera un auto-prélèvement de muqueuse génitale (vaginale ou au niveau du sillon balano-préputial).

Pour finir, à domicile, le patient réalisera un prélèvement de selles dans un pot à coproculture fourni, qu'il postera (sachet plastique avec la mention «produit biologique», enveloppe bulle, préaffranchie et préadressée, fournis le jour de la consultation).

Suite aux prélèvements oraux, l'infirmièr(e) qui aura réalisé la ponction veineuse, réalisera un score d'hygiène bucco-dentaire selon un index d'hygiène orale simplifiée [8].

Un révélateur de plaque sera utilisé (dentoplaque_INAVA®). Il détermine grâce à un code couleur la plaque récente en rose, la plaque mature en violet et la production acide du biofilm en bleu fluo. Il assure une visualisation des surfaces dentaires où les bactéries sont les plus actives en montrant les zones à pH acide. Le révélateur est appliqué sur la langue puis le patient passe sa langue sur les surfaces dentaires, ensuite le scoring est réalisé et noté dans le cahier d'observation. Après l'examen, un brossage rapide des dents suffit à éliminer le révélateur de plaque. La composition du produit dento-plaque INAVA® est la suivante : aqua, alcool, glycerin, Cl 45430, Aroma, cellulose gum, Mentha piperita, menthol, sodium methylparaben, sodium propylparaben, sodium saccharin **(ANNEXE V).**

Behçet's Syndrome Activity Scale (BSAS)

Your name:_____ **Date of Birth:** _____ **Today's Date:**_____

Your: **SEX:** ☐ Female ☐ Male **ETHNIC** ☐ Asian ☐ Hispanic ☐ Other _____
GROUP: ☐ Black ☐ White

1. How much have **ulcers in your mouth** bothered you over the last 4 weeks? Please indicate below

NO ULCERS ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○ **ULCERS WERE A MAJOR PROBLEM**
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8 8.5 9 9.5 10

2. How many **ulcers (new or old)** did you have in your **mouth** over the last 4 weeks?
0 ☐
1-3 ☐
More than 3 ☐

3. How much has **ulcers in genital area** bothered you over the last 4 weeks? Please indicate below

NO ULCERS ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○ **ULCERS WERE A MAJOR PROBLEM**
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8 8.5 9 9.5 10

4. How many **ulcers (new or old)** did you have in your **genital area** over the last 4 weeks?
0 ☐
1-3 ☐
More than 3 ☐

5. How much has **acne or acne like skin lesions (new or old)** bothered you over the last 4 weeks? Please indicate below

NO SKIN LESIONS ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○ **SKIN LESIONS WERE A MAJOR PROBLEM**
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8 8.5 9 9.5 10

6. How many **acne or acne like skin lesions (new or old)** did you have over the last 4 weeks?
0 ☐
1-5 ☐
More than 5 ☐

7. Have you had **abdominal pain and diarrhea** lasting most of the day for most days of the week over the last 4 weeks?

☐**No** ☐ **Yes**

8. Did you have **painful or red eyes and/or blurred or reduced vision** over the last 4 weeks?

☐**No** ☐ **Yes**

9. Did you have any **swelling/discoloration of your lower extremities, or a blood clot** over the last 4 weeks?

☐**No** ☐ **Yes**

10. In terms of your **Behcet's activity, (oral ulcers, genital ulcers, skin problems, joint pains, eye, neurologic problems),** how active would you say your condition has been over the last 4 weeks?

NOT ACTIVE AT ALL ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○ **EXTREMELY ACTIVE**
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 7.5 8 8.5 9 9.5 10

Scoring:

Questions 1, 3, 5, and 10 are scored 0-10

Questions 2, 4, 6, are scored 0, 5 or 10 depending on which of the 3 are checked

Questions 7, 8, 9 are scored 0 or 10

For a total score of 100

Figure 1. Behçet syndrome activity score

7.3 Prélèvements et analyses biologiques de l'étude

Salive : le sujet ne devra pas avoir ni bu ni mangé dans la demi-heure précédant le recueil, le patient réalisera le recueil de 2mL dans un tube Falcon de 50Ml.

La plaque dentaire, la muqueuse inflammée et la muqueuse saine : un prélèvement, à l'aide d'un écouvillon avec milieu de transport Amies, sera réalisé par mouvement rotatoire sur la zone d'intérêt en prenant soin de ne pas contaminer l'écouvillon avec les zones muqueuse ou cutanée adjacentes.

La muqueuse génitale : un auto-prélèvement par écouvillonnage sera réalisé, selon un schéma explicatif fourni, au niveau du vagin pour les femmes et du sillon balano-préputial pour les hommes.

Selles : les selles seront prélevées par les patients, à leur domicile, à l'aide de kits spécialisés puis envoyées dans le service de médecine interne, qui centralisera les prélèvements. Ces derniers seront, par la suite, envoyés au laboratoire M2iSH.

Sang : un prélèvement de deux tubes EDTA de 5mL et de deux tubes héparinés de sang périphérique sera réalisé par un(e) infirmier(e) diplômé(e) d'état.

Une fois les prélèvements effectués :

Pour les patients inclus au CHU de Clermont-Ferrand :

- Analyse au fur et à mesure, au laboratoire de biochimie et d'immunologie, de la CRP, de l'haptoglobine, de l'orosomucoïde, sur tube hépariné et des cytokines sanguines sur tube EDTA.
- Congélation immédiate du deuxième tube hépariné pour dosage des acides gras à chaîne courte et des dérivés métaboliques du tryptophane par le laboratoire de biochimie, *in fine*, suite à un acheminement dans la glace.

- Au laboratoire de bactériologie, étalement sur gélose, dans le but d'obtenir une bio-banque de souches, issues de patients atteints de la maladie de Behçet pour les écouvillons de muqueuses saines et au niveau de l'aphte.
- Au laboratoire M2iSH : (i) Conservation des bactéries cultivées sur gélose, en milieu BHI (Brain Heart Infusion) + glycérol, issues des écouvillons de muqueuse orale saine et inflammée, (ii) conservation de l'écouvillon et du liquide Amies en cryotubes pour analyse ultérieure de la composition du microbiote, (iii) à la réception, recueil des selles en cryotubes et conservation à -80°C.
- Envoi pour conservation au CRB à -80°C : des selles, une fois qu'une cryoboîte est pleine, de la salive, d'un tube EDTA supplémentaire, de la muqueuse génitale et de la plaque dentaire.

Pour les patients inclus à Paris :

- Seront acheminés dès le jour du prélèvement (J1) via le transporteur Biologistic : les écouvillons de muqueuse orale saine et de l'aphte pour étalement sur gélose.
- Le reste des prélèvements sera conservé en cryotubes à -80°C et acheminé une fois qu'une cryoboîte sera pleine.
- Toutes les analyses seront réalisées au même endroit que pour les patients inclus au CHU de Clermont-Ferrand afin d'éviter un biais de mesure.

Les analyses des microbiotes oraux et digestifs et le dosage des acides gras à chaine courte fécaux se feront au laboratoire M2iSH ou chez ses partenaires sous-traitants pour le séquençage de l'ADN, une fois, l'extraction de l'ADN réalisée.

Au laboratoire M2iSH, l'extraction de l'ADN issue (i) de la salive, se fera selon le protocole tiré de l'article de Lim et al. (Collection method or DNA extraction protocols. Sci Rep. 17 août 2017;7(1):8523). Pour les écouvillons, l'extraction se fera grâce à un protocole adapté et modifié de Maxwell RSC Bucacl Swab DNA kit Promega® et pour les selles, l'extraction se

fera selon le protocole Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit (Cat. #AS1600).

Le dosage des dérivés métaboliques du tryptophane se fera au laboratoire de biochimie du CHU de Clermont-Ferrand.

Enfin les dosages immunologiques des cytokines sanguines et salivaires seront réalisés au laboratoire d'immunologie du CHU de Clermont-Ferrand.

7.4 Durée prévue de participation des personnes et description de la chronologie de l'essai

Durée de l'étude estimée à : 1 an

Durée totale de participation à l'étude pour le patient : 1 jour

La date de fin d'étude sera transmise à l'autorité compétente et au CPP dans un délai de 90 jours.

En cas d'arrêt prématuré de l'étude, l'information sera transmise dans un délai de 15 jours à l'autorité compétente et au CPP.

8. PRODUIT (DISPOSITIF MEDICAL / AUTRE) A L'ETUDE (SI APPLICABLE)

Non applicable

9. DONNEES RECUEILLIES

Les informations collectées dans le cahier d'observation Redcap seront : l'examen clinique et en particulier le nombre d'aphtes et leur localisation, le score BSAS (Behçet's Syndrome Activity Score), les traitements suivis par le patient dans le cadre de la maladie de Behçet (depuis le diagnostic et au moment du prélèvement), les divers traitements reçus sans lien avec la maladie de Behçet , le régime alimentaire, le statut fumeur ou non-fumeur, la date de début des symptômes et la date du diagnostic de la maladie.

10. CONSIDERATIONS STATISTIQUES

10.1 Nombre de sujets à inclure

L'objectif principal de cette étude sera de comparer le microbiote oral des patients présentant une maladie de Behçet avec celui de témoins, vivant dans le même environnement que le patient. S'agissant d'une maladie rare, le nombre de sujets a été fixé selon (5) les effectifs d'une étude traitant du microbiote intestinal ou salivaire dans la maladie de Behçet (n =22) (5). L'estimation de la taille d'effets en termes de critères de jugement principal (indicateur de diversité Alpha) au regard des recommandations proposées par Cohen (Statistical power analysis for the behavioral sciences (2nd ed.). New Jersey: Lawrence Erlbaum, 1988) qui a défini les bornes de taille d'effets suivantes : faible (ES: 0.2), modérée (ES: 0.5) et grande (ES: 0.8, « grossièrement perceptibles »). Au vu de ces éléments, n=22 sujets par groupe permettront de mettre en évidence une taille d'effet de l'ordre de 1 pour un risque d'erreur de 1^{ière} espèce bilatéral de 5% et une puissance statistique de 90%. *In fine*, il est convenu d'inclure 30 patients par groupe.

Il est difficile de faire des estimations sur des critères jusqu'ici peu étudiés. Le recrutement de sujets supplémentaires pourrait être requis à l'issue des premières analyses, si la puissance se révélait insuffisante.

10.2 Analyse de données

Analyse principale

Les analyses statistiques seront effectuées avec les logiciels Stata (version 13, StataCorp, College Station, USA) et R (https://cran.r-project.org/). Tous les tests statistiques seront effectués au risque d'erreur de première espèce α de 5%. Les variables continues seront présentées sous forme de moyenne et écart-type, sous réserve de la normalité de leur répartition (test de Shapiro-Wilk). En cas de non normalité, elles seront présentées sous forme de médiane,

quartiles et valeurs extrêmes. Les variables qualitatives seront exprimées en effectifs et pourcentages associés. Des représentations graphiques seront, autant que possible, associées à ces analyses.

Les patients et les sujets témoins seront décrits et comparés selon les variables suivantes : caractéristiques épidémiologiques, caractéristiques cliniques et traitements. Une description des déviations du protocole, des sujets répartis selon ces déviations et des causes d'abandon sera également réalisée.

Analyses secondaires

L'analyse principale sera complétée par une analyse multivariée de type régression linéaire (si nécessaire, en considérant une transformation logarithmique de la variable dépendante à l'étude) pour laquelle des covariables seront fixées en fonction de la pertinence épidémiologique. En raison de la taille de l'échantillon, la robustesse de cette analyse sera discutée. Conjointement avec les comparaisons croisées de PCoA, des analyses LEfSE seront effectuées pour identifier les groupes bactériens potentiels importants, vérifiés par des expériences qPCR. Les analyses fonctionnelles seront également abordées en utilisant les activités fonctionnelles putatives de chaque groupe microbien et leur représentation en utilisant PICRUSt (fonctions déduites à partir du contenu génétique putatif déduit de la taxonomie bactérienne). Ceci sera vérifié et comparé avec les données métagénomiques: les échantillons d'ADN fécal seront séquencés en utilisant la technologie MiSeq sans a priori avec une profondeur plus élevée (100.000 lectures minimum), permettant la détermination d'une fraction représentative de la totalité du contenu du microbiote. Les séquences seront analysées et affiliées à des fonctions cellulaires en utilisant MG-RAST associé à une base de données dédiée. Le nombre de gènes représentatifs des principaux métabolismes sera comparé entre groupes et individus à différents niveaux métaboliques, en utilisant des analyses factorielles

multidimensionnelles comme PCoA et des données factorielles mixtes (FMDA) pour analyser les actifs comme éléments de variables qualitatives et quantitatives.

En effet, la méthodologie usuelle consiste à transformer les variables quantitatives en paramètres de nature catégorielle en les catégorisant en classes afin de soumettre, *in fine*, ces nouvelles variables ainsi que les variables qualitatives à une analyse exploratoire des correspondances multiples (ACM). Cette méthodologie est relativement facile à mettre en œuvre et peut être utilisée lorsque les individus sont assez nombreux (>100). Sinon, l'ACM donne des résultats peu stables. Aussi, il est intéressant de conserver, par le biais de méthodes telles que l'AFDM, telles que les variables quantitatives dans deux situations : (1) lorsque le nombre de variables de nature qualitative est très petit comparativement à celui des variables quantitatives et (2) lorsque le nombre d'individus est faible.

10.3 Méthode de prise en compte des données manquantes, inutilisées ou invalides

Une analyse de sensibilité sera effectuée afin d'étudier le biais d'attrition à savoir la quantité (niveau d'attrition) et la nature des données manquantes afin de proposer la méthode d'imputation des données la plus appropriée.

10.4 Responsables de l'analyse

Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte
UMR Inserm/ Université d'Auvergne U1071, USC INRA 2018
28 place Henri Dunant
63000 Clermont-Ferrand
Tél: 04 73 17 83 76
Courriel : *Nicolas.BARNICH@uca.fr*

Bruno PEREIRA
Délégation Recherche Clinique & Innovation
C.H.U. de Clermont-Ferrand
Courriel : *bpereira@chu-clermontferrand.fr*

Marie DE ANTONIO
Délégation Recherche Clinique & Innovation
C.H.U. de Clermont-Ferrand
Courriel : *mdeantonio@chu-clermontferrannd.fr*

11. EVALUATION DE LA SECURITE – GESTION DES EVENEMENTS INDESIRABLES

Non applicable.

Ce sont les dispositions du soin et des vigilances sanitaires qui s'appliquent pour ce type d'étude.

12. DROIT D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE

12.1 Accès aux données

Le promoteur est chargé d'obtenir l'accord de l'ensemble des parties impliquées dans la recherche, afin de garantir l'accès direct à tous les lieux de déroulement de la recherche, aux données source, aux documents source et aux rapports dans un but de contrôle de qualité et d'audit par le promoteur.

Les investigateurs mettront à disposition les documents et données individuelles strictement nécessaires au suivi, au contrôle de qualité et à l'audit de la recherche impliquant la personne humaine, à la disposition des personnes ayant un accès à ces documents conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur (articles L.1121-3 et R.5121-13 du code de la santé publique).

12.2 Données source

Les documents source étant définis comme tout document ou objet original permettant de prouver l'existence ou l'exactitude d'une donnée ou d'un fait enregistré au cours de l'étude clinique seront conservés pendant 15 ans par l'investigateur ou par l'hôpital s'il s'agit d'un dossier médical hospitalier.

Les documents sources seront : le dossier médical, les comptes rendus de consultation, les résultats d'examen biologique et les comptes rendu d'examen d'imagerie.

12.3 Confidentialité des données

Conformément aux dispositions concernant la confidentialité des données auxquelles ont accès les personnes chargées du contrôle de qualité d'une recherche impliquant la personne humaine (article L.1121-3 du code de la santé publique), conformément aux dispositions relatives à la confidentialité des informations concernant notamment la nature des médicaments expérimentaux, les essais, les personnes qui s'y prêtent et les résultats obtenus (article R. 5121-13 du code de la santé publique), les personnes ayant un accès direct prendront toutes les précautions nécessaires en vue d'assurer la confidentialité des informations relatives aux médicaments expérimentaux, aux essais, aux personnes qui s'y prêtent et notamment en ce qui concerne leur identité ainsi qu'aux résultats obtenus. Ces personnes, au même titre que les investigateurs eux-mêmes, sont soumises au secret professionnel (selon les conditions définies par les articles 226-13 et 226-14 du code pénal).

Pendant la recherche ou à son issue, les données recueillies sur les personnes qui s'y prêtent et transmises au promoteur par les investigateurs (ou tous les autres intervenants spécialisés) seront rendues anonymes.

Elles ne doivent en aucun cas faire apparaître en clair les noms des personnes concernées ni leur adresse. Seul, les initiales du patient seront enregistrées, accompagnées d'un numéro codé propre à l'étude indiquant l'ordre d'inclusion des sujets.

Le promoteur s'assurera que chaque personne qui se prête à la recherche a donné son accord par écrit pour l'accès aux données individuelles la concernant et strictement nécessaires au contrôle de qualité de la recherche.

13. CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE

13.1 Engagement des investigateurs et du promoteur

L'investigateur s'engage à ce que cette étude soit réalisée en conformité avec la loi de santé publique n°2004-806 du 9 août 2004 modifiée par la Loi n° 2012-300 du 5 mars 2012 et par l'ordonnance n° 2016-800 du 16 juin 2016 concernant les recherches impliquant la personne humaine, le décret d'application n° 2016-1537 du 16/11/2016 modifiant le chapitre Ier du titre II du livre 1er de la première partie du code de la santé publique relatif aux recherches impliquant la personne humaine ainsi que les arrêtés en vigueur. L'investigateur s'engage également à travailler en accord avec la Déclaration d'Helsinki de l'Association Médicale Mondiale (Tokyo 2004, révisée).

13.2 Contrôle de Qualité

L'investigateur se porte garant de l'authenticité des données recueillies dans le cadre de l'étude et accepte les dispositions légales autorisant le promoteur de l'étude à mettre en place un contrôle de qualité. L'investigateur coordinateur et les investigateurs associés acceptent donc de se rendre disponibles lors des visites de Contrôle de Qualité effectuées par l'Attaché de Recherche Clinique le cas échéant.

13.3 Cahier d'observation

Toutes les informations requises par le protocole seront consignées dans le cahier d'observation électronique Redcap et une explication sera apportée pour chaque donnée manquante. Les données seront recueillies au fur et à mesure qu'elles seront obtenues et transcrites dans Redcap de façon nette et lisible.

14. CONSIDERATIONS ETHIQUES

14.1 Comité de Protection des Personnes

Le protocole, la note d'information et le formulaire de consentement ont été validés par le CPP Sud-Est I le 09.09.2021. Le protocole a été amendé le 27.08.2021 et le 10.02.2022.

Le résumé de l'étude et l'avis favorable du CPP ont été adressés pour information par le promoteur à l'ANSM avant le début de l'étude.

14.2 Information du patient et formulaire de consentement éclairé écrit

Les sujets seront informés de façon complète et loyale, en des termes compréhensibles, des objectifs et des contraintes de l'étude, des risques éventuels encourus, des mesures de surveillance et de sécurité nécessaires, de leurs droits de refuser de participer à l'étude ou de la possibilité de se rétracter à tout moment. L'investigateur doit également informer les sujets de l'avis rendu par le CPP.

Toutes ces informations figurent sur une note d'information **(ANNEXE I)** et un formulaire de consentement remis au sujet **(ANNEXE II).** Le consentement libre, éclairé et écrit du sujet sera recueilli par l'investigateur. Ces documents sont approuvés par le CPP et sont à utiliser pour l'essai concerné, à l'exclusion de tout autre document.

Deux exemplaires originaux seront co-signés par le médecin investigateur et le sujet. Un exemplaire sera remis au sujet, le second exemplaire sera conservé dans le classeur investigateur de l'étude.

14.3 Amendements au protocole

Les modifications apportées au protocole devront être qualifiées de substantielles ou non par le promoteur.

Elles feront, selon leur nature, l'objet d'un nouvel avis du Comité de Protection des Personnes.

Le protocole a été amendé le 27.08.2021 pour ajout des prélèvements de muqueuse génitale.

Le protocole a été amendé le 10.02.2022 pour élargissement de l'inclusion des patients atteints de BD dont le diagnostic a été fait il y a plus de 5 ans si la maladie est active ou non traitée.

14.4 Prise en charge relative à la recherche

Les prélèvements de salive, plaque dentaire, muqueuse inflammée, selle et sang seront réalisés dans le cadre de la recherche. La consultation, durant laquelle les informations et le consentement seront remis au patient, sera une consultation de suivi des patients dans le cadre de leur maladie.

Pour les témoins, un entretien sera réalisé afin d'expliquer le protocole, de recueillir le consentement et de réaliser les prélèvements.

15. TRAITEMENT DES DONNEES ET CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DONNEES RELATIVES A LA RECHERCHE

15.1 Saisie et traitement des données

La saisie des données sera réalisée par Morgane JOUBERT (Interne, DES de médecine interne), par l'assistance de recherche clinique du service de médecine interne, du CHU de Clermont-Ferrand Mme Alia TRIGUI.

L'analyse statistique sera réalisée par Mme DE ANTONIO MARIE concernant les parties épidémiologies, les caractéristiques de la maladie et les paramètres inflammatoires. Elle sera analysée par le biostatisticien du laboratoire M2ISH, mandaté par Pr BARNICH, concernant les comparaisons de composition du microbiote oral, digestif et génital.

15.2 CNIL

Cette étude entre dans le cadre de la « Méthodologie de Référence » (MR-001) en application des dispositions de la loi du 6 août 2004 relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements de données à caractère personnel et modifiant la loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés. Ce changement a été homologué par

décision du 5 janvier 2006. Le CHU de Clermont-Ferrand, promoteur de l'étude, a signé un engagement de conformité à cette « Méthodologie de Référence » en date du 15/03/2007.

15.3 Archivage

Les documents suivants seront archivés par le nom de l'étude dans les locaux du service de Médecine Interne du CHU de Clermont-Ferrand jusqu'à la fin de la période d'utilité pratique soit de Janvier 2020 à janvier 2021.

Ces documents sont :

- Protocole et annexes, amendements éventuels
- Formulaires d'information et consentements originaux signés
- Données individuelles (copies authentifiées de données brutes)
- Documents de suivi
- Analyses statistiques
- Rapport final de l'étude

A l'issue de la période d'utilité pratique, l'ensemble des documents à archiver sera transféré aux archives centrales et sera placé sous la responsabilité du Promoteur pendant 15 ans après la fin de l'étude conformément aux pratiques institutionnelles.

Aucun déplacement ou destruction ne pourra être effectué sans l'accord du Promoteur. Au terme des 15 ans, le promoteur sera consulté pour destruction. Toutes les données, tous les documents et rapports pourront faire l'objet d'audit ou d'inspection.

16. FINANCEMENT ET ASSURANCE

16.1 Budget de l'étude

Obtention d'un financement à hauteur de 10 000 euros (€) de la part de la société française de médecine interne (SNFMI) le reste du financement de l'étude sera financé sur les fonds propres du laboratoire M2iSH.

Refus à deux reprises de l'appel d'offre interne du CHU de Clermont-Ferrand de l'ordre de 25 000 euros.

16.2 Assurance

Conformément aux dispositions réglementaires, le CHU de Clermont-Ferrand en sa qualité de promoteur a souscrit une assurance responsabilité civile destinée à garantir les éventuels dommages résultant de la recherche auprès de la société d'assurances Biomedicinsure. Le numéro de contrat est 0840718730010.

Il est à noter que le non-respect des conditions légales de la recherche (absence d'avis du CPP, non consentement de la personne, poursuite d'une recherche suspendue ou interdite) est une clause d'exclusion de la garantie.

17. COMMUNICATION - REGLES DE PUBLICATION

Les données ne seront divulguées qu'après accord conjoint préalable de l'investigateur et du promoteur. Les résultats feront l'objet de communications et de publications.

Les règles d'authorship seront : Morgane Joubert, Nicolas Barnich, Elisabeth Billard, Marie De Antoinio, Bruno Perreira, Julien Delmas, Benjamin Bonnet, David Saadoun et Marc André.

18. FAISABILITE DE L'ETUDE

Possibilité de recrutement de patients

Le service de médecine interne du CHU Gabriel Montpied, centre investigateur et centre de compétences pour la maladie de Behçet. Le service de médecine interne de la Pitié Salpêtrière est le centre de référence national de la maladie de Behçet. La file active des services impliqués dans la prise en charge de la maladie de Behçet est suffisante pour envisager l'effectif de 30 sujets par groupe. Le recrutement de sujets supplémentaires pourrait être requis à l'issue des premières analyses, si la puissance se révélait insuffisante. Morgane JOUBERT, interne en médecine interne, investigatrice associée, va effectuer un stage, dans le service du Pr Cacoub à la Pitié Salpêtrière, de mai à novembre 2022, elle pourra effectuer le recrutement de patients supplémentaires.

Compétence des laboratoires

Les analyses seront effectuées par les laboratoires locaux spécialisés en biochimie et en immunologie.

Compétences des équipes impliquées

L'unité de recherche M2ISH (Microbes, Intestin, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte) UMR Inserm/ Université d'Auvergne U1071, USC INRA 2018, est spécialisée depuis plusieurs années dans la relation bactérie-hôte et plus particulièrement dans les maladies inflammatoires du tube digestif.

L'extraction de l'ADN 16 S bactérien, au niveau de la salive et à partir des écouvillons, a été mise au point lors de l'année recherche de Mme JOUBERT Morgane.

Stockage des prélèvements

La collection sera mise en place avec l'appui de la plateforme CRB-Auvergne et bénéficiera de la norme NF 96-900.

CONCLUSION

La physiopathologie de la maladie de Behçet ferait intervenir des altérations dans la composition du microbiote qui dans un contexte de susceptibilité génétique modifieraient l'activation de l'immunité, tant innée qu'adaptative. Cette revue systématique met en exergue différents mécanismes pouvant expliquer le rôle du microbiote : (i) la diminution des bactéries productrices de butyrate serait à l'origine de modifications épigénétiques, (ii) la diminution de bactéries impliquées dans le métabolisme du tryptophane jouerait sur la sécrétion d'IL-22. En ce qui concerne le microbiote oral, cette revue souligne le rôle du streptocoque par le biais du mimétisme moléculaire et de la nétose. Si cette revue reprend, selon la méthode rigoureuse PRISMA, l'ensemble des études traitant de l'analyse du microbiote dans la maladie de Behçet, celles-ci comportent de nombreux biais. En effet, dans les études citées, patients et témoins ne partagent pas forcément le même mode de vie. Le choix de ne séquencer que certaines régions hypervariables de l'ADN codant l'ARN ribosomal 16S ne permet pas d'avoir un bon reflet des espèces de streptocoques présentes au sein du microbiote oral. Ces études n'évaluent pas non plus la composition différentielle entre les divers habitats de la bouche. Pour pallier les biais, nous avons décidé de mener une étude cas/témoins multicentrique de type physiopathologie intitulée « Behçetbiot ». Le critère de jugement principal de cette étude est d'établir les profils microbiens (via analyse des régions hypervariables de V1 à V9 d'ADN bactérien codant l'ARNr 16S) de la plaque dentaire, de l'aphte, de la muqueuse non pathologique et de la salive pour les comparer à des patients témoins sains appariés selon le statut face au tabagisme et le mode de vie. Les critères de jugement secondaires sont de comparer (i) la composition des microbiotes digestifs et génitaux, (ii) les taux des métabolites générés par le microbiote digestif (acides gras à chaine courte et dérivés métaboliques du tryptophane), et (iii) les taux des cytokines pro-inflammatoires salivaires et sanguines.

Pr. Pierre CLAVELOU
Doyen – Directeur,

U.F.R. DE MÉDECINE
Clermont-Ferrand

Pr. David SAADOUN
Le Président du Jury,

REFERENCES

Partie 1 : Microbiome and Behçet's disease: A systematic review

1. Hatemi G, Seyahi E, Fresko I, Talarico R, Hamuryudan V. One year in review 2020: Behçet's syndrome. Clin Exp Rheumatol 2020;38 Suppl 127:3–10.

2. Davatchi F, Chams-Davatchi C, Shams H, Shahram F, Nadji A, Akhlaghi M, et al. Behcet's disease: epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis. Expert Review of Clinical Immunology 2017;13:57–65.

3. Calamia KT, Wilson FC, Icen M, Crowson CS, Gabriel SE, Kremers HM. Epidemiology and clinical characteristics of Behçet's disease in the US: a population-based study. Arthritis Rheum 2009;61:600–4.

4. McGonagle D, Aydin SZ, Gül A, Mahr A, Direskeneli H. 'MHC-I-opathy'-unified concept for spondyloarthritis and Behçet disease. Nat Rev Rheumatol 2015;11:731–40.

5. Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T, Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, et al. Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behçet's disease. Arthritis Res Ther 2010;12:R80.

6. Matsumura N, Mizushima Y. Leucocyte movement and colchicine treatment in Behcet's disease. Lancet 1975;2:813.

7. Van der Houwen TB, Van Hagen PM, Van Laar J a. M. Immunopathogenesis of Behçet's disease and treatment modalities. Semin Arthritis Rheum 2022;52:151956.

8. Emmi G, Becatti M, Bettiol A, Hatemi G, Prisco D, Fiorillo C. Behçet's Syndrome as a Model of Thrombo-Inflammation: The Role of Neutrophils. Front Immunol 2019;10:1085.

9. Batu ED. Neutrophil-mediated Thrombosis and NETosis in Behçet's Disease: a Hypothesis. J Korean Med Sci 2020;35:e213.

10. Becatti M, Emmi G, Silvestri E, Bruschi G, Ciucciarelli L, Squatrito D, et al. Neutrophil Activation Promotes Fibrinogen Oxidation and Thrombus Formation in Behçet Disease. Circulation 2016;133:302–11.

11. Darrah E, Andrade F. NETs: the missing link between cell death and systemic autoimmune diseases? Front Immunol 2012;3:428.

12. Le Joncour A, Martos R, Loyau S, Lelay N, Dossier A, Cazes A, et al. Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease. Ann Rheum Dis 2019;78:1274–82.

13. Cosan F, Cetin EA, Akdeniz N, Emrence Z, Cefle A, Deniz G. Natural Killer Cell Subsets and Their Functional Activity in Behçet's Disease. Immunological Investigations 2017;46:419–32.

14. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Hentati F, Kahan A, Ayed K, Chabbou A, et al. Phenotype and functional profile of T cells expressing gamma delta receptor from patients with active Behçet's disease. J Rheumatol 1994;21:2301–6.

15. Hasan MS, Bergmeier LA, Petrushkin H, Fortune F. Gamma Delta (γδ) T Cells and Their Involvement in Behçet's Disease. J Immunol Res 2015;2015:705831.

16. Greco A, De Virgilio A, Ralli M, Ciofalo A, Mancini P, Attanasio G, et al. Behçet's disease: New insights into pathophysiology, clinical features and treatment options. Autoimmunity Reviews 2018;17:567–75.

17. Lee KH, Chung H-S, Kim HS, Oh S-H, Ha M-K, Baik J-H, et al. Human α-enolase from endothelial cells as a target antigen of anti–endothelial cell antibody in Behçet's disease. Arthritis & Rheumatism 2003;48:2025–35.

18. Reeves E, Islam Y, James E. ERAP1: a potential therapeutic target for a myriad of diseases. Expert Opin Ther Targets 2020;24:535–44.

19. Kirino Y, Nakajima H. Clinical and Genetic Aspects of Behçet's Disease in Japan. Intern Med 2019;58:1199–207.

20. Rodríguez-Carrio J, Nucera V, Masala IF, Atzeni F. Behçet disease: From pathogenesis to novel therapeutic options. Pharmacol Res 2021;167:105593.

21. Ahmed MB, Houman H, Miled M, Dellagi K, Louzir H. Involvement of chemokines and Th1 cytokines in the pathogenesis of mucocutaneous lesions of Behçet's disease. Arthritis & Rheumatism 2004;50:2291–5.

22. Sonmez C, Yucel AA, Yesil TH, Kucuk H, Sezgin B, Mercan R, et al. Correlation between IL-17A/F, IL-23, IL-35 and IL-12/-23 (p40) levels in peripheral blood lymphocyte cultures and disease activity in Behcet's patients. Clin Rheumatol 2018;37:2797–804.

23. Filleron A, Tran TA, Hubert A, Letierce A, Churlaud G, Koné-Paut I, et al. Regulatory T cell/Th17 balance in the pathogenesis of paediatric Behçet disease. Rheumatology (Oxford) 2021;61:422–9

24. Remmers EF, Cosan F, Kirino Y, Ombrello MJ, Abaci N, Satorius C, et al. Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R/IL12RB2 regions associated with Behçet's disease. Nat Genet 2010;42:698–702.

25. Eyerci N, Balkan E, Akdeniz N, Keles S. Association of MICA Alleles and Human Leukocyte Antigen B in Turkish Patients Diagnosed With Behçet's Disease. Arch Rheumatol 2018;33:352–7.

26. Burillo-Sanz S, Montes-Cano M-A, García-Lozano J-R, Ortiz-Fernández L, Ortego-Centeno N, García-Hernández F-J, et al. Mutational profile of rare variants in inflammasome-related genes in Behçet disease: A Next Generation Sequencing approach. Sci Rep 2017;7:8453.

27. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. BMJ 2009;339:b2700.

28. Gagnière J, Raisch J, Veziant J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. World J Gastroenterol 2016;22:501–18.

29. Michaudel C, Sokol H. The Gut Microbiota at the Service of Immunometabolism. Cell Metab 2020;32:514–23.

30. Al Nabhani Z, Dulauroy S, Marques R, Cousu C, Al Bounny S, Déjardin F, et al. A Weaning Reaction to Microbiota Is Required for Resistance to Immunopathologies in the Adult. Immunity 2019;50:1276-1288.e5.

31. Lavelle A, Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2020;17:223–37.

32. Ojo O, Feng Q-Q, Ojo OO, Wang X-H. The Role of Dietary Fibre in Modulating Gut Microbiota Dysbiosis in Patients with Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. Nutrients 2020;12:3239.

33. Fellows R, Denizot J, Stellato C, Cuomo A, Jain P, Stoyanova E, et al. Microbiota derived short chain fatty acids promote histone crotonylation in the colon through histone deacetylases. Nature Communications 2018;9:105.

34. Luu M, Pautz S, Kohl V, Singh R, Romero R, Lucas S, et al. The short-chain fatty acid pentanoate suppresses autoimmunity by modulating the metabolic-epigenetic crosstalk in lymphocytes. Nat Commun 2019;10:760.

35. Consolandi C, Turroni S, Emmi G, Severgnini M, Fiori J, Peano C, et al. Behçet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. Autoimmunity Reviews 2015;14:269–76.

36. Mehmood N, Low L, Wallace GR. Behçet's Disease-Do Microbiomes and Genetics Collaborate in Pathogenesis? Front Immunol 2021;12:648341.

37. Brown EM, Kenny DJ, Xavier RJ. Gut Microbiota Regulation of T Cells During Inflammation and Autoimmunity. Annu. Rev. Immunol. 2019;37:599–624.

38. Ye Z, Zhang N, Wu C, Zhang X, Wang Q, Huang X, et al. A metagenomic study of the gut microbiome in Behcet's disease. Microbiome 2018;6:135.

39. Nara K, Kurokawa MS, Chiba S, Yoshikawa H, Tsukikawa S, Matsuda T, et al. Involvement of innate immunity in the pathogenesis of intestinal Behçet's disease. Clin Exp Immunol 2008;152:245–51.

40. Marsland BJ. Regulating inflammation with microbial metabolites. Nat Med 2016;22:581–3.

41. Cai T, Wang Q, Zhou Q, Wang C, Hou S, Qi J, et al. Increased expression of IL-22 is associated with disease activity in Behcet's disease. PLoS One 2013;8:e59009.

42. Lindahl H, Olsson T. Interleukin-22 Influences the Th1/Th17 Axis. Front Immunol 2021;12:618110.

43. Ke Y, Sun D, Jiang G, Kaplan HJ, Shao H. IL-22-induced regulatory CD11b+ APCs suppress experimental autoimmune uveitis. J Immunol 2011;187:2130–9.

44. Zenewicz LA. IL-22 Binding Protein (IL-22BP) in the Regulation of IL-22 Biology. Front Immunol 2021;12:766586.

45. Huang Y, Jiang H, Chen Y, Wang X, Yang Y, Tao J, et al. Tranilast directly targets NLRP3 to treat inflammasome-driven diseases. EMBO Mol Med 2018;10:e8689.

46. Malcova H, Strizova Z, Milota T, Striz I, Sediva A, Cebecauerova D, et al. IL-1 Inhibitors in the Treatment of Monogenic Periodic Fever Syndromes: From the Past to the Future Perspectives. Frontiers in Immunology 2021;11:3658.

47. Van der Houwen TB, Van Laar JAM, Kappen JH, Van Hagen PM, de Zoete MR, van Muijlwijk GH, et al. Behçet's Disease Under Microbiotic Surveillance? A Combined Analysis of Two Cohorts of Behçet's Disease Patients. Front Immunol 2020;11:1192.

48. Dinh DM, Volpe GE, Duffalo C, Bhalchandra S, Tai AK, Kane AV, et al. Intestinal Microbiota, Microbial Translocation, and Systemic Inflammation in Chronic HIV Infection. J Infect Dis 2015;211:19–27.

49. Zhai R, Xue X, Zhang L, Yang X, Zhao L, Zhang C. Strain-Specific Anti-inflammatory Properties of Two Akkermansia muciniphila Strains on Chronic Colitis in Mice. Front Cell Infect Microbiol 2019;9:239.

50. Gao J, Xu K, Liu H, Liu G, Bai M, Peng C, et al. Impact of the Gut Microbiota on Intestinal Immunity Mediated by Tryptophan Metabolism. Front Cell Infect Microbiol 2018;8:13.

51. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. Nat Rev Microbiol 2018;16:745–59.

52. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005;43:5721–32.

53. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. Arch Microbiol 2018;200:525–40.

54. Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. J Microbiol Methods 2007;69:330–9.

55. Kaneko F, Oyama N, Yanagihori H, Isogai E, Yokota K, Oguma K. The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behçet's Disease. Eur J Dermatol 2008;18:489–98.

56. Zhu B, Macleod LC, Kitten T, Xu P. Streptococcus sanguinis biofilm formation & interaction with oral pathogens. Future Microbiol 2018;13:915–32.

57. Lehner T. The Role of Heat Shock Protein, Microbial and Autoimmune Agents in the Aetiology of Behget's Disease. International Reviews of Immunology 1997;14:21–32.

58. Tanaka T, Yamakawa N, Yamaguchi H, Okada AA, Konoeda Y, Ogawa T, et al. Common antigenicity between Yersinia enterocolitica-derived heat-shock protein and the retina, and its role in uveitis. Ophthalmic Res 1996;28:284–8.

59. Lule S, Colpak AI, Balci-Peynircioglu B, Gursoy-Ozdemir Y, Peker S, Kalyoncu U, et al. Behçet Disease serum is immunoreactive to neurofilament medium which share common epitopes to bacterial HSP-65, a putative trigger. J Autoimmun 2017;84:87–96.

60. Sumioka R, Nakata M, Okahashi N, Li Y, Wada S, Yamaguchi M, et al. Streptococcus sanguinis induces neutrophil cell death by production of hydrogen peroxide. PLOS ONE 2017;19.

61. Balt J, Jamyanjav B, Jav S, Dandii Z, Ganbold C, Horie Y, et al. Clinical features of Behcet's disease in Mongolia: a multicenter study. Clin Rheumatol 2020;39:2697–706.

62. Lagkouvardos I, Lesker TR, Hitch TCA, Gálvez EJC, Smit N, Neuhaus K, et al. Sequence and cultivation study of Muribaculaceae reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family. Microbiome 2019;7:28.

63. Ottman N, Reunanen J, Meijerink M, Pietilä TE, Kainulainen V, Klievink J, et al. Pili-like proteins of Akkermansia muciniphila modulate host immune responses and gut barrier function. PLOS ONE 2017;12:e0173004.

64. Kim JC, Park MJ, Park S, Lee E-S. Alteration of the Fecal but Not Salivary Microbiome in Patients with Behçet's Disease According to Disease Activity Shift. Microorganisms 2021;9:1449.

65. Seoudi N, Bergmeier LA, Drobniewski F, Paster B, Fortune F. The oral mucosal and salivary microbial community of Behçet's syndrome and recurrent aphthous stomatitis. J Oral Microbiol 2015;7:27150.

66. Emmi G, Bettiol A, Niccolai E, Ramazzotti M, Amedei A, Pagliai G, et al. Butyrate-Rich Diets Improve Redox Status and Fibrin Lysis in Behçet's Syndrome. Circ Res 2021;128:278–80.

67. Pagliai G, Dinu M, Fiorillo C, Becatti M, Turroni S, Emmi G, et al. Modulation of gut microbiota through nutritional interventions in Behçet's syndrome patients (the MAMBA study): study protocol for a randomized controlled trial. Trials 2020;21:511.

68. Choi HJ, Seo MR, Ryu HJ, Baek HJ. Cross-cultural adaptation and validation of the Behcet's Disease Current Activity Form in Korea. Korean J Intern Med 2015;30:714–8.

69. Yay M, Çelik Z, Aksoy A, Alibaz-Öner F, Inanç N, Ergun T, et al. Oral health is a mediator for disease severity in patients with Behçet's disease: A multiple mediation analysis study. Journal of Oral Rehabilitation 2019;46:349–54.

70. Charles J, Castellino FJ, Ploplis VA. Past and Present Behçet's Disease Animal Models. Curr Drug Targets 2020;21:1652–63.

71. Wang Q, Yi S, Su G, Du Z, Pan S, Huang X, et al. Changes in the Gut Microbiome Contribute to the Development of Behcet's Disease via Adjuvant Effects. Frontiers in Cell and Developmental Biology 2021;9:2482.

72. Islam SMS, Ryu H-M, Sayeed HM, Byun H-O, Jung J-Y, Kim H-A, et al. Eubacterium rectale Attenuates HSV-1 Induced Systemic Inflammation in Mice by Inhibiting CD83. Front Immunol 2021;12:712312.

73. Rivière A, Selak M, Lantin D, Leroy F, De Vuyst L. Bifidobacteria and Butyrate-Producing Colon Bacteria: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. Front Microbiol 2016;7:979.

74. Askari G, Moravejolahkami AR. Synbiotic Supplementation May Relieve Anterior Uveitis, an Ocular Manifestation in Behcet's Syndrome. Am J Case Rep 2019;20:548–50.

75. Escalda C, Botelho J, Mendes JJ, Machado V. Association of bacterial vaginosis with periodontitis in a cross-sectional American nationwide survey. Sci Rep 2021;11:630.

76. Onywera H, Williamson A-L, Cozzuto L, Bonnin S, Mbulawa ZZA, Coetzee D, et al. The penile microbiota of Black South African men: relationship with human papillomavirus and HIV infection. BMC Microbiol 2020;20:1–18.

77. Lousada MB, Lachnit T, Edelkamp J, Rouillé T, Ajdic D, Uchida Y, et al. Exploring the human hair follicle microbiome. Br J Dermatol 2021;184:802–15.

78. Kirshen C, Edwards L. Noninfectious genital ulcers. Semin Cutan Med Surg 2015;34:187–91.

79. Coit P, Mumcu G, Ture-Ozdemir F, Unal AU, Alpar U, Bostanci N, et al. Sequencing of 16S rRNA reveals a distinct salivary microbiome signature in Behçet's disease. Clinical Immunology 2016;169:28–35.

80. Shimizu J, Kubota T, Takada E, Takai K, Fujiwara N, Arimitsu N, et al. Bifidobacteria Abundance-Featured Gut Microbiota Compositional Change in Patients with Behcet's Disease. PLoS ONE 2016;11:e0153746.

81. Shimizu J, Kubota T, Takada E, Takai K, Fujiwara N, Arimitsu N, et al. Relative abundance of Megamonas hypermegale and Butyrivibrio species decreased in the intestine and its possible association with the T cell aberration by metabolite alteration in patients with Behcet's disease (210 characters). Clin Rheumatol 2019;38:1437–45.

82. Oezguen N, Yalcinkaya N, Kücükali CI, Dahdouli M, Hollister EB, Luna RA, et al. Microbiota stratification identifies disease-specific alterations in neuro-Behçet's disease and multiple sclerosis. Clin. Exp. Rheumatol. 2019;37 Suppl 121:58–66.

83. Tecer D, Gogus F, Kalkanci A, Erdogan M, Hasanreisoglu M, Ergin Ç, et al. Succinivibrionaceae is dominant family in fecal microbiota of Behçet's Syndrome patients with uveitis. PLoS One 2020;15:e0241691.

84. Yasar Bilge NS, Pérez Brocal V, Kasifoglu T, Bilge U, Kasifoglu N, Moya A, et al. Intestinal microbiota composition of patients with Behçet's disease: differences between eye, mucocutaneous and vascular involvement. The Rheuma-BIOTA study. Clin Exp Rheumatol 2020;38 Suppl 127:60–8.

Partie 2 : Compréhension du role du microbiote salivaire et de la plaque dentaire dans la maladie de Behçet

1. Leccese P, Alpsoy E. Behçet's Disease: An Overview of Etiopathogenesis. Front Immunol 2019;10:1067.

2. Direskeneli H. Innate and Adaptive Responses to Heat Shock Proteins in Behcet's Disease. Genet Res Int 2013;2013:249157.

3. Consolandi C, Turroni S, Emmi G, Severgnini M, Fiori J, Peano C, et al. Behçet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. Autoimmunity Reviews 2015;14:269–76.

4. Mumcu G, Cimilli H, Karacayli Ü, Inanc N, Türe-Özdemir F, Eksioglu-Demiralp E, et al. Salivary levels of HNP 1–3 are related to oral ulcer activity in Behçet's disease. International Journal of Dermatology 2013;52:1198–201.

5. Davatchi F. Behçet's disease. Int J Rheum Dis 2018;21:2057–8.

6. Burillo-Sanz S, Montes-Cano M-A, García-Lozano J-R, Ortiz-Fernández L, Ortego-Centeno N, García-Hernández F-J, et al. Mutational profile of rare variants in inflammasome-related genes in Behçet disease: A Next Generation Sequencing approach. Sci Rep 2017;7:8453.

7. Ye Z, Zhang N, Wu C, Zhang X, Wang Q, Huang X, et al. A metagenomic study of the gut microbiome in Behcet's disease. Microbiome 2018;6:135.

8. Greene JC, Vermillion JR. THE SIMPLIFIED ORAL HYGIENE INDEX. J Am Dent Assoc 1964;68:7–13.

ANNEXE I :NOTE D'INFORMATION

Compréhension du rôle du microbiote salivaire et de la plaque dentaire dans la maladie de Behçet

- **Promoteur**
  C.H.U. de Clermont-Ferrand
  58 Rue de Montalembert
  63003 Clermont-Ferrand Cedex 1

- **Investigateur coordonnateur** :

Pr. Marc ANDRÉ
PU-PH ; Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 04.73.75.14.35
Courriel : mandre@chu-clermontferrand.fr

Madame, Monsieur,

Nous vous proposons de participer à une étude clinique pour mieux comprendre la maladie de Behçet et les facteurs déclenchants de cette pathologie.

L'objectif de cette étude est de comprendre le rôle du microbiote, c'est-à-dire l'ensemble des bactéries, salivaire, de la plaque dentaire, de la muqueuse orale saine et associée à l'aphte et de la muqueuse génitale dans la maladie de Behçet.
De nombreuses études internationales ont aussi montré l'impact du microbiote intestinal, anciennement appelé flore digestive, que nous allons également étudier. Nous allons, de plus, réaliser l'étude des composés générés par le microbiote intestinal (acides gras à chaînes courtes issus de la digestion des fibres alimentaires et dérivés métaboliques du tryptophane).

Nous allons inclure dans cette étude des patients chez qui le diagnostic de maladie de Behçet a été posé dans les 5 ans ou présentant une maladie active et/ou non traitée, ainsi que des témoins associés deux à deux aux patients (personne vivant sous le même toit que le cas atteint de la maladie de Behçet avec un régime alimentaire similaire et le même statut par rapport au tabac du fait de l'impact des différents facteurs environnementaux sur le microbiote) pour comparer les caractéristiques du microbiote salivaire, de la plaque dentaire, de la muqueuse orale saine, de l'aphte, de la muqueuse génitale et le microbiote digestif. Une étude concernant les marqueurs de l'inflammation sanguine (CRP, haptoglobine, orosomucoïde) et des composés générés par le microbiote sera aussi réalisée dans le sang et les selles (butyrate, pyruvate, acétate qui sont issus de la digestion des fibres alimentaires par les bactéries du colon).

Les patients et témoins ne doivent pas avoir participé à une autre étude, portant sur l'ingestion de probiotique ou d'antibiotique durant les 6 semaines avant l'inclusion.

La participation à ce protocole ne durera que le temps d'une consultation au cours de laquelle un questionnaire alimentaire, un questionnaire sur l'activité de la maladie (BSAS), un score simplifié d'hygiène bucco-dentaire vous seront posés et les prélèvements seront effectués. Le prélèvement de selles pourra être réalisé à domicile et envoyé par la poste dans le service de médecine interne du CHU de Clermont-Ferrand (Enveloppe préaffranchie fournie).
Les témoins apparentés aux patients seront rémunérés à hauteur de 50 euros. Les patients ne seront pas rémunérés.

L'ensemble des prélèvements (sang, salive, plaque dentaire, muqueuses et selles) sera collecté dans les services de médecine interne ou d'ophtalmologie du CHU de Clermont-Ferrand et du service médecine interne I de l'hôpital de la Pitié Salpêtrière (APHP) et conservé au Centre de Ressources Biologiques Auvergne (CRB) à Clermont Ferrand pour être analysé, sous la responsabilité du promoteur de l'étude.

Les prélèvements réalisés chez les patients et les témoins seront les suivants :

- Un écouvillon de plaque dentaire,
- Un écouvillon prélevé au niveau d'un aphte si présent
- Un écouvillon prélevé au niveau de la muqueuse saine
- Un écouvillon prélevé au niveau vaginal si vous êtes une femme ou au niveau du sillon balano-préputial si vous êtes un homme (par auto-prélèvement selon le schéma joint avec la fiche clinique).
- 1 flacons de **5 mL** de salive,
- 4 tubes de 5 mL de sang (2 tubes EDTA (violets) et 2 tubes héparinés (verts))
- 1 pot de selles, 1 flacons de 5 mL de salive,

Sauf opposition de votre part, vos prélèvements seront conservés et pourront être utilisés pour des programmes de recherches médicales ou scientifiques visant à améliorer les connaissances et la prise en charge de la maladie de Behçet, dans le respect de la confidentialité. Vous pouvez exprimer cette opposition à tout moment auprès du service. Votre accord est révocable à tout moment. Aucun examen de vos caractéristiques génétiques constitutionnelles ne sera réalisé sans votre consentement écrit. Conformément à la loi (art. 16-1 et 16-6 du code civil), ces prélèvements ne pourront être cédés à titre commercial, ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice. Ils pourront être utilisés pour des recherches effectuées soit par les équipes de recherche du CHU de Clermont-Ferrand, soit en partenariat avec un ou plusieurs organismes publics ou privés en France ou à l'étranger soit, après cession, par un ou plusieurs organismes publics ou privés en France ou à l'étranger.

En cas de changement de la finalité de conservation et/ou d'utilisation de ces échantillons, une nouvelle information vous sera délivrée afin d'exprimer de nouveau votre possibilité opposition (sauf avis contraire du CPP ou impossibilité prouvée de retrouver les personnes).

Il n'y aura pas de bénéfices directs à court terme pour vous mais le but est de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie de Behçet.
Il n'y a pas de risque ou d'effets secondaires attendus dans ce protocole.

Votre participation à cette recherche n'engendrera pour vous aucun frais supplémentaire par rapport à ceux que vous auriez dans le suivi habituel de cette maladie.
Toutefois, pour pouvoir participer à cette recherche vous devez être affilié(e) ou bénéficier d'un régime de sécurité sociale, et ne pas être placé sous sauvegarde de justice.

Le CHU de Clermont-Ferrand, qui organise cette recherche en qualité de promoteur, a contracté une assurance conformément aux dispositions législatives, garantissant sa responsabilité civile et celle de tout intervenant auprès de la société d'assurances Biomedicinsure (contrat n°0840718730010). Dans le cas où votre état de santé serait altéré du fait de votre participation à l'étude, conformément à la loi n°2012-300 du 5 mars 2012 relative aux recherches impliquant la personne humaine, vous seriez en droit de recevoir des dédommagements dans le cadre de ce contrat d'assurance spécifique.

Cette recherche a reçu l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes Sud-Est I le 08/09/2021.
Il est possible que cette recherche soit interrompue, si les circonstances le nécessitent, par le promoteur ou à la demande de l'autorité de santé.

Protection de vos données personnelles :

Dans le cadre de cette recherche, le CHU de Clermont-Ferrand est responsable de la mise en œuvre du traitement de données à caractère personnel. Ce traitement informatique a pour but d'analyser les résultats de la recherche au regard de l'objectif de cette dernière qui vous a été présenté.
Le fondement juridique, au regard de l'article 6 du RGPD (Règlement Général sur la Protection des Données) est l'intérêt légitime du CHU de Clermont-Ferrand, en tant qu'établissement de santé Hospitalo-Universitaire à vocation de recherche, à mettre en œuvre le traitement de données médicales à des fins de recherche scientifique (article 9.2 du RGPD).
A cette fin, les données médicales vous concernant et les données relatives à vos habitudes de vie nécessaires pour la recherche seront transmises au Promoteur, ou aux personnes ou sociétés agissant pour son compte, en France ou à l'étranger.
Ces données seront identifiées par un numéro de code et vos initiales. Ces données pourront également, dans des conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé françaises, à d'autres entités du CHU de Clermont Ferrand.

Les données seront conservées 15 ans après la fin de la recherche, selon les dispositions légales en vigueur.

Conformément aux dispositions de la loi informatique et libertés du 6 janvier 1978 modifiée, vous disposez d'un droit d'accès, de rectification et de limitation du traitement de vos données. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées.
Conformément à l'article 17.3 du RGPD, les données recueillies préalablement au retrait du consentement, le cas échéant, ne pourront pas être effacées et pourront continuer à être traitées dans les conditions prévues par la recherche.
Pour exercer ces droits ou pour toute question sur le traitement de vos données, vous pouvez contacter notre délégué à la protection des données : CHU de Clermont-Ferrand – Direction de la Qualité – Gestion des Risques et Droits des Usagers – 58 rue Montalembert – 63003 Clermont-Ferrand cedex 1 (ou dpd@chu-clermontferrand.fr)
Vous pouvez également accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L. 1111-7 du code de la santé publique. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous suit dans le cadre de la recherche et qui connaît votre identité.

Si vous estimez, après nous avoir contactés, que vos droits Informatique et Libertés ne sont pas respectés ou que le dispositif de contrôle d'accès n'est pas conforme aux règles de protection des données, vous pouvez adresser une réclamation auprès de la CNIL par courrier à CNIL, 3 place de Fontenoy, TSA 80715, 75334 Paris Cedex 07, ou par internet https://www.cnil.fr/fr/plaintes.

Vous êtes libre d'accepter ou de refuser de participer à cette recherche. De plus vous pouvez exercer à tout moment votre droit de retrait de cette recherche. Le fait de ne plus participer à cette recherche ne modifiera pas la qualité des soins qui vous sont prodigués. Vous pouvez demander à tout moment des explications complémentaires sur l'étude à l'équipe soignante.
Par ailleurs, vous pourrez être tenu informé des résultats globaux de cette recherche à la fin de l'étude.

Lorsque vous aurez lu cette note d'information et obtenu les réponses aux questions que vous vous posez en interrogeant le médecin investigateur, il vous sera proposé, si vous en êtes d'accord, de donner votre consentement écrit en signant le document préparé à cet effet. Vous disposez d'un délai de réflexion d'une semaine entre le jour où l'information vous a été donnée et la signature du consentement.

ANNEXE II : FORMULAIRE DE CONSENTEMENT DE PARTICIPATION A UNE RECHERCHE IMPLIQUANT LA PERSONNE HUMAINE

Compréhension du rôle du microbiote salivaire et de la plaque dentaire dans la maladie de Behçet

- **Promoteur**
  C.H.U. de Clermont-Ferrand
  58 Rue de Montalembert
  63003 Clermont-Ferrand Cedex 1

Investigateur coordonnateur :
Pr. Marc ANDRÉ
PU-PH ; Service de Médecine Interne, CHU Gabriel Montpied, CLERMONT-FERRAND
Service de Médecine Interne, Hôpital Gabriel Montpied, CHU CLERMONT-FERRAND
58 rue Montalembert, BP 69, F-63003,
Clermont-Ferrand cedex 1
Tel : 0473751435
Courriel : mandre@chu-clermontferrand.fr

Je soussigné(e)
Mme, M. *(rayer les mentions inutiles*) (*nom, prénom*)……
Né(e) le ……..……...
Demeurant……
Déclare :
- que le Docteur (*nom, prénom, téléphone*) ……..…….. m'a proposé de participer à l'étude sus nommée,
- qu'il m'a expliqué en détail le protocole,
- qu'il m'a notamment fait connaître :
  - l'objectif, la méthode et la durée de l'étude
  - les contraintes et les risques potentiels encourus
  - mon droit de refuser de participer et en cas de désaccord de retirer mon consentement à tout moment
  - mon obligation d'inscription à un régime de sécurité sociale
  - que, si je le souhaite, à son terme, je serais informé(e) par le médecin investigateur de ses résultats
  - que le Comité de Protection des Personnes Sud Est I a émis un avis favorable en date du 08/09/2021
  - que dans le cadre de cette étude le promoteur, le CHU de Clermont-Ferrand, a souscrit à une assurance couvrant cette recherche.
- que j'ai répondu en toute bonne foi aux questions concernant mon état de santé et ma participation à d'autres études,
- que je ne suis pas placé sous sauvegarde de justice.
- *qu'il m'a été précisé que je pouvais m'opposer à la conservation de mes échantillons et à leur réutilisation pour des programmes de recherches médicales ou scientifiques visant à améliorer les connaissances et la prise en charge de mon affection :*

☐ Je donne mon accord pour que les prélèvements biologiques effectués sur moi soient conservés et utilisés à des fins de recherche.

☐ Je m'oppose à ce que les prélèvements biologiques effectués sur moi soient conservés et utilisés à des fins de recherche.

Les informations relatives à l'étude recueillies par l'investigateur sont traitées confidentiellement. J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette recherche puissent faire l'objet d'un traitement informatisé anonyme. J'ai bien noté que les droits d'accès, de rectification, d'opposition et de limitation du traitement des données prévus par la loi informatique et libertés du 6 janvier 1978 modifiée s'exercent à tout moment auprès du médecin qui me suit dans le cadre de la recherche et qui connaît mon identité ou du délégué de protection des données du promoteur dont les coordonnées sont mentionnées dans la note d'information qui m'a été remise.

Après avoir discuté librement et obtenu réponse à toutes mes questions, j'accepte librement et volontairement de participer à cette recherche impliquant la personne humaine dans les conditions précisées dans la note d'information et le formulaire de consentement.

Nom et prénom du sujet : **……** **Date :……./……./…….** **Signature**	**Nom de l'investigateur :** **……** **Date :……./……./…….** **Signature :**

Ce document est à réaliser en 2 exemplaires originaux, dont le premier doit être gardé 15 ans par l'investigateur, un autre remis à la personne donnant son consentement.

ANNEXE III : CAHIER D'OBSERVATION PATIENT

Eligibilité du patient

CRITERES D'INCLUSION	
Homme ou Femme ≥ 18 ans,	❒ Oui ❒ Non
Patients adultes répondant aux critères de classification internationaux de la maladie de Behçet (« International criteria for the classification of Behçet's disease » révisés en 2013),	❒ Oui ❒ Non
Ayant développé la maladie dans les 5 ans précédant l'étude.	❒ Oui ❒ Non
Capacité de fournir un consentement éclairé	❒ Oui ❒ Non
Affiliation au régime de la Sécurité Sociale.	❒ Oui ❒ Non
CRITERES DE NON-INCLUSION	
Femme enceinte, allaitante, ou susceptible de l'être.	❒ Oui ❒ Non
Patients incapables majeurs ou privés de libertés	❒ Oui ❒ Non
Antibiothérapie administrée dans les 6 semaines précédant l'inclusion.	❒ Oui ❒ Non
Patient sans témoin apparié selon le mode de vie	❒ Oui ❒ Non
Patient dont le témoin n'a pas le même statut face au tabagisme	❒ Oui ❒ Non

Données démographiques

Date de l'inclusion : |__|__| / |__|__| / |__|__|__|__|

Date de naissance: |__|__| / |__|__|__|__| **(mois/année)**

Sexe: ❒ Masculin ❒ Féminin

Tabac : ❒ Jamais

❒ Actuel Nombre de cigarette/jour = |__|__|
Année de début : |__|__|__|__|

❒ Ancien Nombre de cigarette/jour = |__|__|
Année de début : |__|__|__|__|
Année de fin : |__|__|__|__|

Age au diagnostic : …… ans

Patient francophone : ❒OUI ❒NON

Statut HLA B51 : ❒ positif ❒ négatif

Centre de suivi : médecine interne GM (01) – Ophtalmologie GM (02) – APHP Pitié Salpêtrière médecine interne (03)

Niveau socio-éducatif : ❒ ≤ BEP ❒ BAC ❒ Etudes Supérieures

Catégorie socio-professionnelle :

❒ Agriculteurs exploitants
❒ Artisans commerçants chefs d'entreprise
❒ Cadres et professions intellectuelles supérieures
❒ Professions intermédiaires (instituteurs, fonctionnaires, employés administratifs, personnels de services, clergé)
❒ Employés
❒ Ouvriers
❒ Sans emploi
❒ Retraité
❒ Etudiant

Origine géographique :

❒Turquie
❒Irak
❒Magreb
❒Afrique noire
❒Japon
❒Europe (Caucasien)
❒Amérique du nord
❒Amérique du Sud
❒Madagascar
❒KOSOVO
Autre : laquelle ?_____

Antécédents

	Antécédents familiaux de maladies inflammatoires	**Antécédents personnels de maladies inflammatoires** :
Aphtose bipolaire	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Maladie de Behçet	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Psoriasis cutané	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Spondylarthrite ankylosante	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Rhumatisme psoriasique	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
SEP	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
MICI	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Syndrome des abcès aseptique	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Hidrosadénite suppurative	❒OUI ❒NON	❒OUI ❒NON
Autres maladies de systèmes	❒OUI ❒NON Si oui, préciser :…..	❒OUI ❒NON Si oui, préciser :…..
Maladie mono-inflammatoire mono-génique	❒OUI ❒NON Si oui, préciser :…..	❒OUI ❒NON Si oui, préciser :…..

Manifestations en lien avec la maladie de Behçet le jour de la consultation

Manifestations oculaires	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Lésions cutanées	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Manifestations articulaires	❒OUI ❒NON
Manifestations neurologiques	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Manifestations digestives	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Manifestations pulmonaires	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Manifestations artérielles/Cardiologiques	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Manifestations veineuses	❒OUI ❒NON si oui préciser :
Aphtose orale	❒OUI ❒NON
Aphtose génitale	❒OUI ❒NON
Aphtose péri-anale	❒OUI ❒NON
Autres manifestations :	❒OUI ❒NON

Premiers signes au diagnostic

Aphtose :
❒Oui ❒aphtose orale ❒aphtose génitale ❒péri-anale
❒Non

Manifestations oculaires
❒Oui ❒segment antérieur ❒postérieur ❒intermédiaire
❒Non

Si atteinte du segment postérieur
❒Uvéite
❒Papillite
❒Œdème maculaire
❒Œdème papillaire
❒Vascularite rétinienne

Lésions cutanées :
❒Oui
❒Non

Si lésions cutanées :
❒Erythème noueux
❒Pseudo-folliculite
❒Pyoderma gangrenosum
❒Hydrosadénite
❒Autres _____

Manifestations neurologiques
❒Oui
❒Non

Si manifestations neurologiques :
❒Parenchymateuse
❒Vasculaire
❒Méningite aseptique
❒Céphalées
❒Myélite
❒HTIC
❒Autres _____

Manifestations digestives
❒Oui
❒Non

Si manifestations digestives
❒Iléite
❒Aphte gastro-œsophagien
❒Aphte oesophagien
❒Rectorragies
❒ Autres : _____

Manifestations pulmonaires
❒Oui
❒Non

Si manifestations pulmonaires
❒Nodules
❒Cavernes
❒ Autres : _____

Manifestations artérielle/ cardiaque
❒Oui
❒Non

Si manifestations cardiaques
❒Anévrysme
❒Rupture d'anévrysme
❒Fistule artério-veineuse
❒Syndrome coronarien aigü
❒ Autres : _____

Manifestations veineuses
❒Oui
❒Non

Si manifestations veineuses
❒TVP
❒TVS
❒ Autres : _____

Autres manifestations
❒Oui lesquelles _____
❒Non

Score BSAS au moment de l'inclusion dans l'étude : ___*/100*

Traitements en lien avec la maladie de Behçet

		Date de début	Date d'arrêt /en cours
Colchicine	❒OUI ❒NON	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
AINS	❒OUI ❒NON	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
Corticoïdes	❒OUI ❒NON Si oui : Posologie :……mg/j Molécule :……..	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
Thalidomide	❒OUI ❒NON Si oui : Posologie :……mg/j	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
Apémilast	❒OUI ❒NON Si oui : Posologie :……mg/j	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours

DMARDs		**Date de début**	**Date d'arrêt /en cours**
Methotrexate	❒OUI ❒NON	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
Azathioprine	❒OUI ❒NON	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
Cyclosporine	❒OUI ❒NON	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours
Cyclophosphamide	❒OUI ❒NON	__/__/____	__/__/____ ❒ en cours

Biologiques		**Date de début**	**Date d'arrêt /en cours**
Anti TNF	❒OUI ❒NON Si oui préciser :……..	_ _/_ _/_ _ _ _	_ _/_ _/_ _ _ _ ❒ en cours
Tocilizumab	❒OUI ❒NON	_ _/_ _/_ _ _ _	_ _/_ _/_ _ _ _ ❒ en cours
Anti IL1	❒OUI ❒NON	_ _/_ _/_ _ _ _	_ _/_ _/_ _ _ _ ❒ en cours

- Autres traitements prescrits pour la MB au moment de la prise en charge :
  - Nom du traitement :
  - *Date d'introduction : _ _/_ _/ _ _ _*
  - *Date d'interruption : _ _/_ _/_ _*

Traitements au long cours suivi par le patient SANS la maladie de Behçet

Nom du médicament :

Date d'introduction : _ _/_ _/_ _ _ _

Prélèvements

		Date
Ecouvillonnage de la plaque dentaire	❒OUI ❒NON	-- /--/----
Écouvillonnage au niveau de la muqueuse inflammée (aphte)	❒OUI ❒NON	--/--/----
Prélèvement de la muqueuse génitale Si homme: patient circoncis	❒OUI ❒NON ❒OUI ❒NON	--/--/----
Recueil salivaire (2ML)	❒OUI ❒NON	--/--/----
Prélèvement de fèces	❒OUI ❒NON	--/--/----
Prélèvement d'échantillons de sang sur tube EDTA	❒OUI ❒NON	--/--/----
Prélèvement d'échantillons de sang sur tubes héparinés	❒OUI ❒NON	--/--/----
Scoring de plaque dentaire	❒0 ❒1 ❒2 ❒3 ❒non réalisé	--/--/----

ANNEXE IV : QUESTIONNAIRE ALIMENTAIRE

Consommations alimentaires

Qu1. Au cours des 3 derniers mois, à quels moments avez-vous mangé ?

Notez le jour de la semaine	J-1 (hier) _____	J-2 _____	J-3 _____
Matin	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp
Midi	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp
Après-midi	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp
Soir	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp
Nuit	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp	1☐ Oui 2☐ Non 3☐ nsp
Refuse de répondre	4☐	4☐	4☐

Qu2. Habituellement, mangez-vous du riz, des pâtes, des pommes de terre, ou de la semoule chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante 1☐ Oui 2☐ Non 3☐ Nsp 4 ☐ Refus

↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

Qu3. Habituellement, mangez –vous des légumes – sauf les pommes de terre- chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante 1☐ Oui 2☐ Non 3☐ Nsp 4 ☐ Refus

↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

Qu4. Habituellement, mangez –vous des légumes secs – haricots secs, lentilles etc…- <u>chaque semaine</u> ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante 1☐ Oui 2☐ Non 3☐ Nsp 4 ☐ Refus

↓ Combien en mangez-vous par semaine ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 2 à 3 fois par mois
- 2☐ une fois par mois ou moins
- 3☐ jamais

Qu 5. Habituellement, consommez-vous des fruits – y compris des jus de fruits 100 % - chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante

1☐ Oui ↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

2☐ Non ↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

3☐ Nsp 4☐ Refus

Qu6. Habituellement, consommez-vous des produits laitiers-lait-yaourt-fromage, hors crème dessert- chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante

1☐ Oui ↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

2☐ Non ↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

3☐ Nsp 4☐ Refus

Qu7. Habituellement, mangez-vous de la viande, de la volaille ou des œufs chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante

1☐ Oui ↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

2☐ Non ↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

3☐ Nsp 4☐ Refus

Qu8. Habituellement, mangez-vous du poisson ou d'autres produits de la pêche-incluant des conserves – <u>chaque semaine</u> ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante

1☐ Oui ↓ Combien en mangez-vous par semaine ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

2☐ Non ↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 2 à 3 fois par mois
- 2☐ une fois par mois ou moins
- 3☐ jamais

3☐ Nsp 4☐ Refus

Qu9. Habituellement, mangez-vous des aliments comme les chips, les biscuits apéritifs, la cacahuète salées chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante

1☐ Oui ↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

2☐ Non ↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

3☐ Nsp 4☐ Refus

Qu10. Habituellement, mangez-vous des aliments comme les hamburgers, les kebabs, les pizzas ou les friands chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante

1☐ Oui ↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

2☐ Non ↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

3☐ Nsp 4☐ Refus

Qu11. Habituellement, mangez-vous des aliments comme les gâteaux, les viennoiseries, les crèmes desserts ou les glaces chaque jour ?

Une seule réponse dans la colonne correspondante 1☐ Oui 2☐ Non 3☐ Nsp 4☐ Refus

↓ Combien en mangez-vous par jour ?
- 1☐ 1 fois
- 2☐ 2 fois
- 3☐ 3 fois
- 4☐ 4 fois et plus

↓ Combien de fois en mangez-vous ?
- 1☐ 4 à 6 fois par semaine
- 2☐ 2 à 3 fois par semaine
- 3☐ une fois par semaine ou moins
- 4☐ jamais

Qu12. Habituellement, quelle boisson buvez-vous ? (*une seule réponse)*

Uniquement de l'eau sans ajout……1
Principalement de l'eau sans ajout……...2
Principalement d'autres boissons ……....3
Uniquement d'autres boissons ……..... 4
Ne sait pas ……..... 5
Refuse de répondre……..... 6

Q13. La question suivante concerne votre consommation de boissons sur les 12 derniers mois. Combien de fois vous est-il arrivé de consommer et combien de verres avez-vous consommé au cours d'une journée ordinaire ?

	Je n'en consomme jamais	Fréquence de consommation						Nombre de verres consommés				
		Tous les jours	4 à 6 fois / sem	2 à 3 fois par sem	2 à 4 fois par mois	1 fois par mois ou moins	Nsp Refus	1	2	3	> 3	Nsp Refus
De l'eau sans ajout	0☐	1☐	2☐	3☐	4☐	5☐	6☐ 7☐	1☐	2☐	3☐	4☐	5☐ 6☐
Des sodas ou des sirops (hors produit « 0 » ou light)	0☐	1☐	2☐	3☐	4☐	5☐	6☐ 7☐	1☐	2☐	3☐	4☐	5☐ 6☐
Des boissons alcoolisées	0☐	1☐	2☐	3☐	4☐	5☐	6☐ 7☐	1☐	2☐	3☐	4☐	5☐ 6☐

ANNEXE V : SCHEMA D'ETUDE

Hôpital Pitié Salpétrière

CLERMONT-FERRAND
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE

Service de médecine interne I

Service de médecine interne et Immunologie clinique

Site Gabriel-Montpied

Patient suivi pour une maladie de Behçet répondant aux critères internationaux révisés en 2013 depuis < 5 ans ou ayant une maladie active ou non traitée au moment de l'inclusion avec son témoin sain apparié selon le mode de vie

Consultation médicale habituelle ou hospitalisation

Signature du consentement
Examen clinique
Evaluation score BSAS
Remplissage questionnaires alimentaires
Interrogatoire sur traitement

REDCap

Critères de non inclusion :
Antibiotique dans les 6 semaines qui ont précédé l'inclusion
Femme enceinte
Patient sous mesure de protection judicaire
Absence de témoins apparié selon le mode de vie

Recrutement **témoins** ayant le même mode de vie que le cas, le même niveau socio-économique et le même statut face au tabagisme

Prélèvement d'échantillons de sang sur 2 tubes EDTA + 2 tubes héparinés

Ecouvillonnage :
- De la plaque dentaire :
- De la muqueuse inflammée (aphte)
- De la muqueuse orale saine
- De la muqueuse génitale

Recueil salivaire : 2mL
Prélèvement de selles

Stockage au CRB auvergne : Banque de données biologiques

Analyses

Cultures bactéries buccales : aphte et muqueuse saine

Laboratoire de **bactériologie :**
CHU Clermont-Ferrand

Extraction ADN + séquençage ADN codant pour ARN 16S

M2iSH

+ prestataires

CRP, haptoglobine, orosomucoïde, dérivés métaboliques du tryptophane

Laboratoire de **biochimie :**
CHU Clermont-Ferrand

IL-17, IL-23, IL-22, IL-10, IL1-β, TNF-α, IFN-γ

Laboratoire d'**immunologie :**
CHU de Clermont-Ferrand

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.
Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.
Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette FACULTE et de mes chers CONDISCIPLES, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la Probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes MAÎTRES, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les HOMMES m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'OPPROBRE et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Compréhension du rôle du microbiote dans la maladie de Behçet : revue de la littérature et présentation du protocole de l'étude Behçetbiot

RESUME

Partie 1: Microbiome et maladie de Behçet : revue systématique

Objectifs : L'objectif de cette revue systématique est de décrire l'altération du microbiote des patients atteints de la maladie de Behçet et les mécanismes impliqués dans la relation entre le microbiote et l'activation de l'immunité tant innée qu'adaptative afin d'améliorer la compréhension de la physiopathologie de cette pathologie.

Méthodes : Une recherche systématique d'articles pertinents a été réalisée sur les bases de données Pubmed et Cochrane Library en utilisant les termes suivants : "microbiota ET Behçet's disease" ou "microbiome ET Behçet's disease". Quinze des articles ont été inclus dans la synthèse qualitative selon la méthode PRISMA.

Résultats : Cette revue systématique souligne la présence d'une dysbiose intestinale. Cette dysbiose est marquée par (i) une diminution des bactéries productrices de butyrate qui pourrait affecter la différenciation des cellules T et la régulation épigénétique des gènes liés à l'immunité, (ii) une modification de la composition en bactérie métabolisant le tryptophane qui pourrait conduire à une dérégulation de la sécrétion d'IL-22, (iii) une diminution des bactéries connues pour avoir des propriétés anti-inflammatoires. En ce qui concerne le microbiote oral, cette revue souligne le rôle possible des Streptocoques par mimétisme moléculaire et par génération de nétose. Les études cliniques montrent (i) que le besoin de soins dentaires est associé à une évolution plus sévère de la maladie, (ii) qu'un bain de bouche enrichi en antibiotiques réduit la douleur et les aphtes. La transplantation de microbiote fécal de patients atteints de la maladie de Behçet dans des modèles de souris entraine une diminution de la production d'acides gras à chaîne courte, l'activation des neutrophiles et des réponses Th1/Th17. De plus, les souris recevant le microbiote de patients présentent une exacerbation de l'uvéite auto-immune expérimentale et de l'encéphalomyélite auto-immune expérimentale. Chez des souris infectées par le HSV-1 mimant une maladie de Behçet, l'administration de bactéries productrices de butyrate améliore les symptômes et les paramètres immunitaires.

Conclusion : Le microbiome serait un déclencheur de la maladie de Behçet en jouant un rôle sur la régulation de l'immunité et les modifications épigénétiques.

Partie 2 : Compréhension du rôle du microbiote oral dans la maladie de Behçet : Behçetbiot

Introduction : L'étiopathogénie de la maladie de Behçet demeure partiellement expliquée. Des données suggèrent que la réaction inflammatoire au cours cette maladie résulte d'une perturbation de l'homéostasie des réponses immunitaires innée et adaptative chez des individus génétiquement prédisposés. Le microbiome dans cette pathologie pourrait être un déclencheur de la maladie en jouant un rôle sur la régulation de l'immunité et les modifications épigénétiques. L'objectif de cette étude est d'établir les profils microbiens : de la plaque dentaire, de la muqueuse orale, de la salive et de les comparer à des témoins.

Méthodes : Des échantillons obtenus par écouvillonnages de muqueuse saine, d'aphte, de plaque dentaire et de salive vont être prélevés chez 30 patients atteints d'une maladie de Behçet active et 30 témoins sains suivis en médecine interne G. Montpied au CHU de Clermont-Ferrand et en Médecine interne 1 à l'hôpital de la Pitié Salpêtrière à Paris. L'ADN extrait des échantillons oraux va être soumis à un séquençage de l'ADN codant pour l'ARN ribosomal 16S (régions hypervariables de V1 à V9). Le critère de jugement principal vise à comparer la composition des microbiotes oraux entre patients et témoins sains appariés sur le mode de vie. En critères de jugements secondaires, la composition du microbiote fécal et génital et les métabolites du microbiote digestif (acides gras à chaine courte, dérivés métaboliques du tryptophane) seront comparés entre cas et témoins sains.

Résultats : L'étude est en cours. Pour le moment, 5 patients ont été inclus. L'analyse du microbiote sera réalisée à la fin de l'étude pour éviter un biais d'analyse.

Mots clés :

- Behçet's disease
- Microbiota
- Microbiome
- *Streptococcus*
- Epigenetic
- SCFA
- Butyrate
- Tryptophan
- Netosis,
- Molecular mimicry