La science pour la santé
From science to health

PROTOCOLE DE RECHERCHE IMPLIQUANT LA PERSONNE HUMAINE

Réservé au promoteur	N° Inserm	N° IDRCB	N° CPP	N°CNIL	N° Clinical Trial *(si applicable)*
	C21-60	2022-A00207-36		908450	
	Qualification Réglementaire	☐ RIPH du 1° médicament ☐ RIPH du 1° médicament thérapie innovante ☐ RIPH du 1° dispositif médical ☐ RIPH du 1° hors produit de santé		☐ RIPH du 2° à risques et contraintes minimes ☒ RIPH du 3° non interventionnelle	

Nutrition, microbiote intestinal et santé :
collecte de selles auprès des participants de la cohorte NutriNet-Santé

Nutrition, gut microbiota and health :
Feces sample collection in NutriNet-Santé participants

NutriGut-Santé

VERSION N°1.0 DU 11/06/2021

CONFIDENTIEL

Investigateur principal (statutaire):	**Responsable scientifique (statutaire):**
Dr Mathilde TOUVIER **Fonction** : Directrice de l'EREN, Directrice de Recherche, Investigatrice principale de la cohorte NutriNet-Santé **Unité Inserm d'affiliation :** U1153 – Equipe 3 EREN **DR de rattachement :** Paris 5/7 **Adresse :** EREN SMBH Université Sorbonne Paris Nord – 74, rue Marcel Cachin – 93017 Bobigny Cedex **Tel :** 01.48.38.89.33 **Fax :** 01.48.38.89.31 **Email :** m.touvier@eren.smbh.univ-paris13.fr	Dr Mélanie DESCHASAUX--TANGUY **Fonction : Chargée de Recherche** ***Unité Inserm d'affiliation :*** U1153 – Equipe 3 EREN **DR de rattachement :** Paris 5/7 **Adresse :** EREN SMBH Université Sorbonne Paris Nord – 74, rue Marcel Cachin – 93017 Bobigny Cedex **Tel :** 01.48.38.89.77 **Fax :** 01.48.38.89.31 **Email :** m.deschasaux@eren.smbh.univ-paris13.fr

☒ **Monocentrique** ☒ **Nationale**
☐ **Multicentrique** ☐ **Européenne/Internationale**

Promoteur :	**Contact :**
Inserm - Pôle Recherche Clinique (PRC) Biopark, Bâtiment A, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 Paris	Liza BELHADJI, Chef de projet Inserm liza.belhadji@inserm.fr rgrc.siege@inserm.fr Tél: 01 44 23 63 51 / Fax: 01 44 23 67 10

SIGNATURE DU PROTOCOLE

N° Inserm : C21-60

Version et date du protocole : V1.0 du 11/06/2021

Ce protocole a été lu et approuvé à la date notée ci-dessous.

Les parties ont bien pris connaissance de l'ensemble du présent protocole et de ses annexes, approuvent ces documents et s'engagent à mener la recherche conformément au protocole et aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

Représentant du promoteur : **Sandrine COUFFIN-CADIERGUES** Responsable Promotion Pôle Recherche Clinique Inserm, Institut National de la Santé et de la Recherche médicale Biopark, bâtiment, 8 rue de la Croix Jarry 75013 Paris	**Date :** **Signature** : Par délégation du Président Directeur Général de l'Inserm, la Responsable promotion du PRC.

Investigateur principal/ coordonnateur …… …… Adresse :	**Date :** **Signature :**

HISTORIQUE DES VERSIONS DU PROTOCOLE

Version	Date	Motif de la modification
V1.0	11.06.2021	NUTRIGUT étude ancillaire à NutriNet-Santé

LISTE DES ABREVIATIONS

ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ARC	Attaché de recherche clinique
BI	Brochure investigateur
CIC	Centre d'investigation clinique
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CPP	Comité de Protection des Personnes
CRF	Case report form/ Cahier observation
CV	Curriculum vitae
DM	Dispositif médical
DTA/MTA	Data Transfert Agreement /Material Transfert Agreement
EI/EIG	Evènement ou effet indésirable / Evènement indésirable grave
ITMO	Institut thématique multi-organismes
MR	Méthodologie de référence (CNIL)
MTI	Médicament de thérapie innovante
PRC	Pôle Recherche Clinique de l'Institut de Santé Publique de l'Inserm
RCP	Résumé des caractéristiques du produit
RIPH	Recherche impliquant la personne humaine
RQRC	Cellule « Réglementation et qualité en recherche clinique » du PRC
VRB	Fichier national des volontaires (volontaires recherche nationale)

SOMMAIRE

1. **JUSTIFICATION DE LA RECHERCHE - HYPOTHESES DE TRAVAIL 7**
2. **OBJECTIFS 7**
   2.1. Objectif principal 7
   2.2. Objectifs secondaires 8
3. **CRITERES D'EVALUATION 8**
   3.1. Critère d'évaluation principal 8
   3.2. Critère d'évaluation secondaire 8
4. **CONCEPTION DE LA RECHERCHE 8**
   4.1. Type de recherche 8
   4.2. Méthodologie de la recherche 8
   4.3. Calendrier prévisionnel de la recherche 9
5. **SELECTION DES PERSONNES 9**
   5.1. Populations étudiées 9
   5.2. Critères d'inclusion 9
   5.3. Critères de non-inclusion 9
   5.4. Modalités de recrutement 10
6. **REALISATION PRATIQUE DU PROTOCOLE 10**
   6.1. Sélection 10
   6.2. Modalités d'information et d'accord de participation 10
   6.3. Visites d'inclusion et de suivi 11
   6.4. Visite de sortie prématurée de la recherche 12
   6.5. Arrêt de participation de la personne à la recherche 12
   6.6. Fin de recherche 12
      6.6.1. Définition de la fin de la recherche 12
      6.6.2. Description des règles d'arrêt définitif ou temporaire d'une partie ou de la totalité de la recherche 12
7. **PRODUITS ADMINISTRES (MEDICAMENT, DISPOSITIF MEDICAL, MTI…) 13**
8. **PARAMETRES ETUDIES OU CRITERES D'EFFICACITE 13**
   8.1. Définition des paramètres étudiés ou critères d'évaluation (principaux et secondaires) de l'efficacité et technique(s) de mesure 13
   8.2. Méthodes et calendriers prévus pour mesurer, recueillir, analyser les paramètres étudiés (critères d'efficacité ou autres) 13
9. **ECHANTILLONS BIOLOGIQUES 13**
   9.1. Conditions de prélèvement 13
   9.2. Modalités de codage et d'étiquetage 14
   9.3. Traitement des échantillons 14
   9.4. Transport 14
   9.5. Stockage et/ou destruction 15
   9.6. Description du système qualité de la collection 15
10. **VIGILANCE DE LA RECHERCHE 15**
11. **RECUEIL ET TRAITEMENT DES DONNEES 15**
   11.1. Description des données recueillies 16
   11.2. Définition des données sources 16
   11.3. Circuit des données 17
   11.4. Conservation et archivage des documents et des données de la recherche à l'issue de celle-ci 18
   11.5. Transfert de données hors Union Européenne 18

11.6. Récapitulatif des catégories de données recueillies, leurs sources, leurs destinataires, leur but, leurs durées de conservation. 18
12. **ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES 19**
12.1. Responsable de l'analyse statistique 19
12.2. Calcul d'effectif 19
12.3. Description du plan d'analyse statistique 20
12.3.1. Analyse des critères principaux 20
12.3.2. Analyse des critères secondaires 20
13. **CONFIDENTIALITE 21**
13.1. Modalités de respect de la confidentialité vis à vis des personnes 21
13.2. Modalités de respect de la confidentialité vis à vis de la recherche 21
14. **COMMUNICATION 21**
14.1. Modalités relatives à la publication des résultats 21
14.2. Modalités relatives au résumé du rapport final et au rapport final 22
14.3. Modalités d'information des personnes ayant participé à la recherche sur ses résultats globaux 22
14.4. Modalités d'information des personnes sur les données de santé en cours et après la recherche 22
14.5. Modalités relatives à la communication presse 22
15. **PROTECTION DES PERSONNES 22**
15.1. Justification éthique du protocole 22
15.2. Adéquation du lieu à la recherche 23
15.3. Dispositions éthiques et réglementaires 23
15.4. Comité de Protection des Personnes (CPP) 23
15.5. ANSM 23
15.6. Cnil (à compléter par le Promoteur en fonction des caractéristiques de la recherche) 23
15.7. Fichier VRB 23
16. **GOUVERNANCE ET COMITE 24**
16.1. Comité de surveillance indépendant 24
16.2. Préciser les autres comités de la recherche 24
17. **ASSURANCE QUALITE 24**
17.1. Description 24
17.2. Monitorage (contrôle qualité de la recherche) 24
18. **MODIFICATIONS SUBSTANTIELLES DU PROTOCOLE 24**
19. **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 24**
20. **ANNEXES (A COMPLETER PAR LE PROMOTEUR) 26**

1. JUSTIFICATION DE LA RECHERCHE - HYPOTHESES DE TRAVAIL

Le microbiote intestinal fait actuellement l'objet d'une attention croissante de la part de la communauté scientifique mais aussi du public, du fait de la mise en évidence de son rôle dans la physiologie humaine. Le microbiote intestinal permet en effet de valoriser certains composés de l'alimentation indigestibles autrement, comme les fibres, de produire des vitamines et des hormones, de métaboliser les xénobiotiques et les acides biliaires. Les différents métabolites résultant de l'activité du microbiote (ex : acides gras à chaine courte issus de la fermentation des fibres) agiraient en outre comme signal à destination d'autres organes[1–3]. Le microbiote intestinal joue également un rôle clé dans la mise en place et le fonctionnement de l'immunité de l'hôte. Un dérèglement de l'équilibre existant au niveau du microbiote peut ainsi conduire à un état d'inflammation systémique à bas bruit et des signatures microbiennes ont en particulier été associées à différentes pathologies comme l'obésité, le diabète, les troubles gastrointestinaux ou encore les maladies neurodégénératives[1,4,5]. Toutefois, la causalité des associations entre microbiote intestinal et incidence de différentes pathologies n'a le plus souvent pas été établie avec certitude, des altérations du microbiote pouvant être à la fois l'origine mais aussi la résultante du développement d'une maladie. Etudier la composition et l'activité du microbiote intestinal et ses facteurs de variation apparaît donc comme un enjeu important pour mieux comprendre son fonctionnement et proposer des leviers d'action et pistes d'intervention pour la moduler, dans une stratégie globale de prévention des maladies chroniques.

Parmi les facteurs susceptibles d'influencer la composition du microbiote intestinal (ex. mode de vie, pratiques d'hygiène, prise de médicament, génétique, environnement)[6–11], la nutrition jouerait un rôle primordial. Les aliments et boissons ingérés fournissent en effet les composés nécessaires au métabolisme et à la croissance des micro-organismes, entraînant une sélection de communautés bactériennes spécialisées. Les importantes modifications de modes de vie et d'alimentation observées au cours de ces dernières décennies sont fortement suspectées de perturber l'équilibre installé entre l'hôte et son microbiote intestinal. Au-delà de leur contenu en nutriments, nos régimes alimentaires contiennent également d'autres composés bioactifs (ex : polyphénols) et font émerger de nouveaux enjeux (ex : structure temporelle des régimes, transformation des aliments, présence d'additifs ou de contaminants comme les résidus de pesticides, prise de compléments alimentaires, exclusions alimentaires, index glycémique) qu'il est nécessaire de prendre en compte.

Ainsi, il est crucial d'explorer et de caractériser de façon plus précise, au sein d'échantillons de taille importante constitués d'individus aux caractéristiques variées, la manière dont la composition du microbiote intestinal est influencée par l'alimentation de l'hôte et ses conséquences pour la santé.

2. OBJECTIFS

2.1. *Objectif principal*

L'objectif principal de cette recherche est d'étudier les liens entre nutrition, profils de microbiote intestinal et santé.

Spécifiquement, les objectifs de cette recherche sont donc :

- d'étudier les associations entre la nutrition dans toutes ses dimensions et les profils de microbiote intestinal (objectif descriptif) ;

- d'étudier les associations entre les profils de microbiote intestinal et la santé (objectif étiologique) ;

- d'étudier de potentielles modifications ou médiations des associations entre nutrition et santé par les profils de microbiote intestinal.

Les profils de microbiote intestinal comprennent les profils de composition ainsi que les profils fonctionnels.

La nutrition comprend l'alimentation dans son ensemble (apports en énergie, alcool, nutriments et autres composés bioactifs, consommation d'aliments, régimes alimentaires, transformation des aliments, présence d'additifs, de contaminants et de composés néoformés, etc.), le statut nutritionnel, l'activité physique.

La santé comprend le statut pondéral et la composition corporelle, la prévalence ou l'incidence de pathologies (cancer, maladies cardiovasculaires, diabète, troubles gastrointestinaux, santé mentale, santé respiratoire, allergies, infections, etc.), la prise de médicaments, ou encore certains

biomarqueurs métaboliques (profil lipidique, inflammation, stress oxydant, profils métabolomiques, etc.).

2.2. *Objectifs secondaires*

Décrire la diversité des profils de microbiote intestinal au sein des participants de la cohorte NutriNet-Santé en fonction des caractéristiques sociodémographiques et économiques (ex. âge, sexe, région d'habitation, position socioéconomique) et de mode de vie (ex. lieu de vie, tabagisme, animaux de compagnie).

3. CRITERES D'EVALUATION

3.1. *Critère d'évaluation principal*

- Caractérisation des facteurs nutritionnels associés aux profils de microbiote intestinal
- Caractérisation des profils de microbiote intestinal associés à la santé
- Caractérisation d'un potentiel effet modificateur (interaction) ou médiateur des profils de microbiote intestinal dans les associations entre nutrition et santé

3.2. *Critère d'évaluation secondaire*

- Caractérisation des facteurs individuels associés aux profils de microbiote intestinal.

4. CONCEPTION DE LA RECHERCHE

4.1. *Type de recherche*

- Recherche observationnelle/non-interventionnelle ne portant sur aucun produit de santé
- Monocentrique
- Nationale
- Transversale (une seule collecte de données) au sein d'une étude de cohorte prospective avec collecte répétée (deux collectes) pour un sous-groupe).

La recherche consiste en une collecte de selles auprès d'un sous-échantillon de participants déjà inclus dans la cohorte NutriNet-Santé. Afin d'évaluer la variabilité intra-individuelle de la composition du microbiote, une deuxième collecte sera réalisée 2 à 3 mois après la première pour un petit nombre de participants. La collecte de selles permettra l'étude des caractéristiques du microbiote intestinal en lien avec la nutrition d'une part et la santé d'autre part, à partir des données collectées dans le cadre de la participation à la cohorte NutriNet-Santé[12]. L'étude NutriNet-Santé est une étude basée sur Internet (plateforme participant : https://etude-nutrinet-sante.fr/).

4.2. *Méthodologie de la recherche*

La recherche a pour objectif de construire une sous-cohorte de participants au sein de la cohorte NutriNet-Santé pour lesquels un prélèvement de selles va être effectué pour caractériser la composition du microbiote intestinal. NutriGut-Santé constitue donc le volet « microbiote » de l'étude NutriNet-Santé et s'appuie sur les infrastructures techniques et règlementaires de collecte de données mises en place dans le cadre de la cohorte NutriNet-Santé. La mise en place de NutriGut-Santé a été approuvée par l'instance de gouvernance de NutriNet-Santé.

L'étude NutriNet-Santé porte sur les relations entre nutrition et santé. Elle a inclus plus de 170 000 participants depuis son lancement en 2009 (Comité de Qualification Institutionnel de l'Inserm n°IRB0000388 FWA00005831, CCTIRS n°08.301, CNIL n°908450). Les participants sont caractérisés et suivis à l'aide de questionnaires entièrement administrés en ligne (ex. questionnaires portant sur les caractéristiques sociodémographiques et de mode de vie, l'état de santé et la prise de médicaments, l'alimentation, l'activité physique et les mesures anthropométriques). Les évènements de santé sont déclarés par les participants en ligne puis validés à partir des dossiers médicaux (CCTIRS n°08.301bis, CNIL n°909216) et d'un chainage aux bases de données médico-administratives du SNIIRAM (Institut des données de santé n°14, CCTIRS n°11.675, conseil de la CNAMTS du 25/09/2012, CNIL n°2012-260, Décret du Conseil d'Etat n°2013-175). Environ 19 600 volontaires ont également participé à un volet clinico-biologique de l'étude entre 2011 et 2014, comprenant notamment un prélèvement sanguin et des mesures anthropométriques et de pression artérielle (CPP n°C09-45, CCTIRS n°10.367, CNIL

n°1460707). L'ensemble des questionnaires et de plus amples informations sur les autorisations règlementaires obtenues sont disponibles au lien suivant : https://info.etude-nutrinet-sante.fr/node/2.

Les participants de NutriGut-Santé seront recrutés sur la base du volontariat parmi les participants à la cohorte NutriNet-Santé (« Nutrinautes ») en maximisant la diversité des profils inclus. Les participants recevront par voie postale à leur domicile un kit d'auto-prélèvement de selles comprenant des instructions détaillées. Les échantillons seront renvoyés par voie postale par le participant au laboratoire de traitement qui déterminera les caractéristiques de leur microbiote intestinal.

La caractérisation fine et détaillée des participants à l'étude (en particulier au niveau de l'alimentation) est un atout pour conduire la recherche présentée ici. Les données collectées dans le cadre de la participation à la cohorte NutriNet-Santé permettront d'une part de sélectionner une grande diversité de profils d'individus pour répondre aux objectifs de recherche (diversité de profils en termes d'âge, de sexe, de statut socioéconomique, de statut pondéral, d'alimentation et de mode de vie) et d'autre part d'étudier les associations entre facteurs nutritionnels, caractéristiques individuelles, profils de microbiote intestinal et santé.

*N.B : pour toute la suite du document, le « **laboratoire de traitement** » désigne l'équipe du Dr Benoit Chassaing au sein de l'Institut Cochin à Paris (équipe « Interactions microbiote/mucus dans les maladies inflammatoires chroniques », U1016 Inserm, UMR8104 CNRS, Université de Paris).*

4.3. *Calendrier prévisionnel de la recherche*

-Durée des inclusions : 5 ans
-Durée de participation : 6 mois (de l'inclusion au renvoi des échantillons de selles)
-Durée totale de la recherche : 10 ans renouvelables (durée d'exploitation de la cohorte NutriNet-Santé)

Cette recherche observationnelle n'implique aucune restriction pour le volontaire en termes de participation à d'autres recherches.

Les objectifs de NutriGut-Santé sont larges et à long terme. Les échantillons biologiques collectés vont permettre de conduire de nombreuses analyses qui nécessiteront plusieurs années après la fin de la collecte. C'est pourquoi nous souhaiterions aligner la durée de la recherche sur la durée d'exploitation de la cohorte NutriNet-Santé, c'est-à-dire 10 ans renouvelables.

5. SELECTION DES PERSONNES

5.1. *Populations étudiées*

La sous-cohorte « NutriGut-Santé » vise le recrutement de 10 000 participants (dont N=300 pour qui 2 collectes seront effectuées à 2-3 mois d'intervalle) pour mener à bien ses objectifs. Le nombre de 10 000 est un objectif cible à l'issue des 5 ans de recrutement. Ces participants seront recrutés sur la base du volontariat parmi les participants à la cohorte NutriNet-Santé de manière à maximiser la diversité des profils inclus (âge, sexe, statut socioéconomique, statut pondéral, alimentation et mode de vie : tabagisme, activité physique, consommation d'alcool).

La recherche n'inclura pas de personnes vulnérables.

L'objectif de la sous-cohorte NutriGut-Santé est d'étudier les liens entre nutrition, profils de microbiote intestinal et santé. Pour cela, nous avons donc besoin d'inclure des participants permettant une grande diversité de profils au niveau des caractéristiques individuelles, des habitudes alimentaires ou encore de l'état de santé. Ainsi, la recherche comporte peu de critères d'inclusion/non-inclusion (cf. ci-dessous).

5.2. *Critères d'inclusion*

- Participant à la cohorte NutriNet-Santé
- Âge ≥ 18 ans
- Résident de France métropolitaine

5.3. *Critères de non-inclusion*

- Personne faisant l'objet d'une mesure de sauvegarde de justice
- Personne faisant partie de l'une des catégories de personnes vulnérables

- Diagnostic de COVID-19 (clinique ou par PCR) dans le mois précédant la collecte
- Suspicion de COVID-19 dans le mois précédant la collecte (signes cliniques en faveur d'une infection : fièvre associée à des céphalées, signes respiratoires, ou anosmie/agueusie)
- Contact avec un patient COVID-19 dans le mois précédant la collecte

5.4. *Modalités de recrutement*

Les participants seront recrutés sur la base du volontariat au sein des participants à la cohorte NutriNet-Santé.

La première étape de sélection va consister à recueillir l'intérêt et le consentement des participants de NutriNet-Santé pour participer à la collecte de selles « NutriGut-Santé ». Une communication sera ainsi envoyée par e-mail (mode de contact privilégié des participants à la cohorte NutriNet-Santé) via la plateforme NutriNet-Santé à l'ensemble des participants à la cohorte. Les Nutrinautes recevront un e-mail présentant brièvement la recherche et les invitant à se connecter à leur espace personnel NutriNet-Santé pour répondre à un questionnaire de recrutement. Le questionnaire de recrutement comportera de plus amples informations sur la recherche, la vérification des critères d'inclusion et d'exclusion, la lettre complète d'information et le formulaire de consentement à participer à la recherche que le Nutrinaute choisira de signer ou non.

La seconde étape sera de sélectionner parmi les Nutrinautes consentant à participer à la recherche (qui seront peut-être plus nombreux que nécessaire) ceux qui seront inclus dans la sous-cohorte NutriGut-Santé. Le principe de cette sélection est d'assurer la plus grande diversité de profils possibles. Les modalités de sélection vont dépendre des caractéristiques des volontaires. Selon la distribution en termes d'âge, de sexe, de statut socioéconomique, de statut pondéral, d'alimentation et de mode de vie (tabagisme, activité physique, consommation d'alcool), la sélection pourra se faire de façon aléatoire ou par strate pour garantir une représentation suffisante de différents groupes (par exemple pour éviter la surreprésentation de certaines catégories d'âge).

En pratique, pour des raisons de logistique de collecte et d'analyse des échantillons et de financement, nous effectuerons une première sélection de n=6000 participants puis nous complèterons le recrutement pour atteindre n=10 000 à l'issue des 5 ans de recrutement.

Pour n=300 participants, une étude de stabilité/variabilité intra-individuelle des profils de microbiote intestinal dans le temps sera effectuée, nécessitant un second prélèvement 2 à 3 mois après le premier. Les Nutrinautes devront exprimer leur consentement pour ce deuxième prélèvement dans le questionnaire de recrutement. Une fois les 6000 premiers participants sélectionnés pour le premier prélèvement, nous sélectionnerons 300 participants ayant consenti au deuxième prélèvement de manière à ce qu'ils représentent la diversité des profils observés dans l'échantillon global en termes d'âge, de sexe, de statut socioéconomique, de statut pondéral, d'alimentation et de mode de vie (tabagisme, activité physique, consommation d'alcool).

Les participants seront informés de leur sélection ou non-sélection par e-mail (y compris s'ils sont sélectionnés pour la collecte répétée).

6. REALISATION PRATIQUE DU PROTOCOLE

6.1. *Sélection*

L'ensemble des participants à la cohorte NutriNet-Santé âgés de plus de 18 ans, résidant en France métropolitaine seront invités à participer à la recherche. Ces personnes seront identifiées à l'aide des données régulièrement collectées dans le cadre de leur participation à la cohorte NutriNet-Santé.

6.2. *Modalités d'information et d'accord de participation*

Les Nutrinautes seront contactés par e-mail par le biais de la plateforme NutriNet-Santé. Ce premier e-mail de contact présentera brièvement les objectifs de la recherche et invitera les Nutrinautes à se connecter à leur espace personnel sécurisé en ligne sur la plateforme NutriNet-Santé pour répondre au questionnaire d'inclusion.

Ce questionnaire initial d'inclusion s'inscrit dans le cadre de l'étude NutriNet-Santé. Il permettra de collecter des informations pour mettre à jour le profil des participants concernant un certain nombre de

caractéristiques qui seront utiles pour étudier le microbiote dans le cadre de NutriGut-Santé. Il constitue par ailleurs la « porte d'entrée » de NutriGut-Santé au travers de la lettre d'information et du consentement.

Le questionnaire d'inclusion se présentera comme suit :

- Introduction – description complète de la recherche : objectifs, modalités et contraintes de la recherche et invitation à y participer
  - Le Nutrinaute n'est pas intéressé → remerciements et fin du questionnaire
  - Le Nutrinaute est intéressé → Partie 1
- Partie 1 – antécédents médicaux (y compris critères de non-inclusion) et prise de médicaments : liste à cocher → Partie 2
- Partie 2 – lettre d'information complète suivie d'une invitation à signer un consentement électronique (incluant une option pour participer ou non à la collecte répétée)
  - Le consentement n'est pas signé → remerciements et fin du questionnaire
  - Le consentement est signé → Partie 3
- Partie 3 – information sur la suite du protocole :
  - Une sélection définitive de volontaires doit être effectuée pour répondre à des critères méthodologiques, le processus peut prendre plusieurs semaines.
  - Réception prochaine d'un e-mail informant de la sélection ou de la non-sélection (y compris pour la collecte répétée)
  - Vérification de l'adresse postale pour le futur envoi du kit de collecte et du numéro de téléphone pour le suivi
- Fin du questionnaire, remerciements

Le Nutrinaute pourra à tout moment interrompre le remplissage de son questionnaire et y revenir ultérieurement. Le questionnaire restera à disposition dans son espace personnel pendant 6 mois. Une relance sera effectuée au bout de 2 mois si nécessaire, en fonction du nombre de participants déjà sélectionnés. Des relances supplémentaires pourront être envisagées pour atteindre l'objectif de recrutement de N=10 000.

Le consentement daté et signé sera transféré dans la rubrique « Mes consentements » sur l'espace personnel des volontaires sur le site NutriNet-Santé afin qu'ils puissent le consulter et le modifier librement à tout moment.

Un processus de sélection sera mis en place pour inclure, parmi les personnes ayant donné leur consentement, celles qui permettent de maximiser la diversité des profils inclus pour l'échantillon global et pour le sous-échantillon qui procèdera à la collecte répétée : âge, sexe, statut socioéconomique, statut pondéral, alimentation et mode de vie (tabagisme, activité physique, consommation d'alcool). A l'issue de ce processus, des e-mails seront envoyés pour informer les participants de leur inclusion ou non dans le protocole de recherche.

6.3. *Visites d'inclusion et de suivi*

Les Nutrinautes sélectionnés pour participer à la recherche recevront un e-mail les informant de leur inclusion (pour la collecte principale et la collecte répétée le cas échéant) et de l'envoi, par voie postale, d'un kit d'auto-prélèvement de selles à leur domicile. Nous prévoyons plusieurs lots d'envoi pour tenir compte des contraintes logistiques (capacités d'envoi et de réception des kits).

Le format des kits est adapté au format des boîtes aux lettres classiques. Ce type de collecte ne présente aucun risque pour les participants et permet de minimiser les contraintes (notamment de déplacement) associées.

Une fois le kit reçu à leur domicile, les participants devront réaliser un auto-prélèvement de selles de préférence sous 1 semaine en utilisant le kit et en suivant les instructions précises contenues dans le guide du participant. Les échantillons de selles collectés devront être renvoyés par la poste sous 48 h au laboratoire de traitement en utilisant l'enveloppe de réexpédition pré-adressée et préaffranchie fournie à cet effet. Les échantillons seront accompagnés d'une fiche annexe à compléter par le participant, comportant le numéro du kit et précisant la date et l'heure du recueil des selles ainsi que la date d'envoi des selles. Il sera demandé aux participants de n'ajouter aucune mention sur l'enveloppe fournie afin de garantir la non-identification de l'échantillon.

En parallèle, les participants seront invités (via le guide du participant) à remplir un court questionnaire sur leur espace personnel NutriNet-Santé visant à recueillir les informations suivantes :

- Date et heure du recueil de selles
- Date et heure de la dernière prise alimentaire
- Date d'envoi des selles
- Toute maladie ou problème médical rencontré durant la semaine précédant le recueil des selles

Maladies ou problèmes médicaux	Date de début	Date de fin
Exemple *Mal de tête*	*Exemple* *06/06/2022*	*Exemple* *07/06/2022*

- Tout traitement pris durant la semaine précédant le recueil des selles, et antibiotiques pris au cours des 3 mois précédents, le cas échéant

Traitement et posologie	Date de début	Date de fin
Exemple *1 comprimé de paracétamol, 500 mg*	*Exemple* *06/06/2022*	*Exemple* *06/06/2022*

Le questionnaire comportera également un lien vers le guide du participant dans l'éventualité d'une perte de la version papier.

Une deuxième collecte sera mise en place pour un sous-échantillon de N=300 participants. Un e-mail ainsi qu'un deuxième kit de collecte seront envoyés à ces participants 2 à 3 mois après envoi du premier kit. Ce 2ème échantillon de selles permettra d'évaluer la variabilité intra-individuelle des caractéristiques du microbiote intestinal. La deuxième collecte devra s'effectuer selon les mêmes modalités que la première.

6.4. *Visite de sortie prématurée de la recherche*

Non applicable.

6.5. *Arrêt de participation de la personne à la recherche*

À tout moment, le volontaire pourra retirer son consentement et interrompre sa participation à la recherche. Il pourra pour cela contacter l'investigateur principal de la recherche par e-mail (support@etude-nutrinet-sante.fr) ou via le formulaire de contact sur le site de l'étude (https://etude-nutrinet-sante.fr/contact). Il pourra également retirer son consentement directement à partir de la rubrique « Mes consentements » sur son espace personnel NutriNet-Santé.

6.6. *Fin de recherche*

6.6.1. Définition de la fin de la recherche

La fin de la recherche correspond à la fin de l'exploitation des échantillons biologiques et à la fin des analyses utilisant les données issues de ces échantillons biologiques pour répondre aux objectifs de la recherche. Les objectifs de NutriGut-Santé sont larges et à long terme. Les échantillons biologiques collectés vont permettre de conduire de nombreuses analyses qui nécessiteront plusieurs années après la fin de la collecte. C'est pourquoi nous souhaiterions aligner la durée de la recherche sur la durée d'exploitation de la cohorte NutriNet-Santé, c'est-à-dire 10 ans renouvelables.

6.6.2. Description des règles d'arrêt définitif ou temporaire d'une partie ou de la totalité de la recherche

Conformément à l'article R1123-26 du Code de la santé publique, si la recherche n'a pas débuté (c'est-à-dire si les inclusions n'ont pas débuté) dans les deux ans qui suivent l'obtention de l'avis favorable du CPP, l'accord du comité sera considéré comme caduc. Toutefois, sur justification produite avant l'expiration dudit délai, celui-ci peut être prorogé par le comité concerné. Cette demande de prorogation, présentée par le Promoteur au comité, devra être accompagnée d'un courrier justifiant le retard par rapport au calendrier prévisionnel initial. En l'absence d'accord sur la demande de prorogation, la recherche devra être re-déposée au CPP dans le cadre d'une soumission initiale.

En cours de recherche, si le rythme et le nombre d'inclusions paraissent insuffisants, l'Inserm pourra décider de son arrêt si aucune autre solution ne peut être envisagée.

Le promoteur, les autorités compétentes peuvent interrompre la recherche pour toute autre raison justifiée (déviations majeures au protocole ne permettant pas de garantir la sécurité des participants, la qualité des données et des résultats de la recherche).

Aucun évènement indésirable n'est attendu pour cette recherche non-interventionnelle. Aucune règle d'arrêt de la recherche n'est donc définie sur cette base.

7. PRODUITS ADMINISTRES (médicament, dispositif médical, MTI…)

Non applicable.

8. PARAMETRES ETUDIES OU CRITERES D'EFFICACITE

8.1. Définition des paramètres étudiés ou critères d'évaluation (principaux et secondaires) de l'efficacité et technique(s) de mesure

Les échantillons de selles seront utilisés pour caractériser le profil de microbiote intestinal des participants en termes de composition taxonomique et fonctionnelle par séquençage du gène de l'ARNr 16S et/ou séquençage métagénomique « shotgun » : abondance et diversité des taxons microbiens et profils fonctionnels correspondant, abondance et diversité des gènes microbiens et profils fonctionnels correspondant.

8.2. Méthodes et calendriers prévus pour mesurer, recueillir, analyser les paramètres étudiés (critères d'efficacité ou autres)

Le séquençage sera effectué dans les 6 mois qui suivent le renvoi des kits par les participants. Les profils de microbiote intestinal obtenus pourront ensuite être analysés en lien avec les facteurs nutritionnels et la santé.
Le séquençage du gène de l'ARNr 16S permet de caractériser de manière coût-efficace les profils taxonomiques de microbiote intestinal. Le séquençage métagénomique « shotgun », plus coûteux, permet une caractérisation plus détaillée des profils taxonomiques et fonctionnels du microbiote intestinal. Un arbitrage entre séquençage 16S et shotgun sera donc effectué en fonction d'un rapport cout-efficacité. Le séquençage 16S sera appliqué à l'ensemble des échantillons permettant d'obtenir le profil de microbiote intestinal pour chaque volontaire. Le séquençage métagénomique « shotgun » sera quant à lui appliqué sur un nombre plus restreint d'échantillons pour étudier plus en détails certaines associations apparaissant comme particulièrement pertinentes après analyses issues des données 16S.
Une fois les profils de microbiote intestinal obtenues, les analyses des associations avec les facteurs nutritionnels et la santé pourront être conduites. Les analyses prospectives des associations entre microbiote intestinal et incidence de pathologies nécessiteront d'attendre plusieurs années pour observer l'incidence de ces pathologies dans notre échantillon d'étude.

9. ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

Dans le cadre de la recherche et pour répondre à ses objectifs, une collection biologique va être constituée.

9.1. *Conditions de prélèvement*

-Nature des échantillons : selles
-Modalité d'obtention des échantillons : éléments biologiques prélevés spécifiquement à des fins de recherche.
-Modalités pratiques de réalisation du ou des prélèvements : auto-prélèvement à partir d'une émission naturelle de selles ; les participants devront prélever environ 1g de selles à l'aide de la cuillère calibrée fournie et les placer dans un tube contenant une solution de conservation à température ambiante ; la collecte de selles se fera au moment choisi par les participants, il est toutefois demandé aux participants de réaliser cette collecte de préférence dans la semaine suivant la réception du kit de collecte pour faciliter la logistique de suivi.
-Lieu de réalisation du prélèvement : auto-prélèvement à domicile

Un sous-échantillon de 300 personnes devra réaliser une seconde collecte de selles 2 à 3 mois après la première, selon les mêmes modalités que la première.

La collecte de selles sera conduite selon le protocole de référence SOP 05 « Selles auto-collectées préservées dans une solution de stabilisation pour envoi au laboratoire de traitement sous 7 jours » établi par le programme International Human Microbiome Standards (EU-IHMS) et adapté pour les contraintes de ce protocole.

9.2. *Modalités de codage et d'étiquetage*

Le matériel de collecte (tube, fiche annexe) sera étiqueté au moment de la préparation des kits à l'aide d'étiquettes à code-barres de type 1D. Des étiquettes supplémentaires seront laissées à disposition du participant dans le cas où un réétiquetage du matériel serait nécessaire.

En pratique, un kit de collecte va être attribué à chaque participant sélectionné à l'aide d'un scanner de code-barre. La correspondance entre le participant et le numéro de son kit sera stockée dans un premier fichier comprenant des données identifiantes (nom, prénom, adresse, numéro de téléphone) et le numéro du kit de prélèvement (code-barre). Ce fichier sera utilisé de façon ponctuelle pour l'attribution et l'envoi des kits et le suivi de la collecte (questions, relances) jusqu'à la réception d'un échantillon valide au laboratoire d'analyses. L'accès à ce fichier sera restreint. Il sera stocké sur un serveur dont les accès seront protégés et la sauvegarde quotidienne assurée. L'accès à ce fichier contenant des données non-pseudonymisées sera limité à un nombre restreint de personnes habilitées et dûment nommées. Un avertissement/rappel concernant la nature sensible des données contenues dans ce fichier sera ajouté dans le nom du fichier et son contenu. Ce fichier sera détruit à l'issue du processus de collecte.

Suite à l'attribution des kits aux volontaires, un deuxième fichier sera créé comprenant le numéro du kit de prélèvement (code-barre) et l'identifiant pseudonymisé NutriNet-Santé (identifiant utilisé en routine en interne par les chercheurs de l'EREN pour leurs analyses). L'accès à ce fichier sera restreint à un nombre limité de personnes autorisées et dûment nommées au sein de l'EREN. C'est ce fichier qui permettra de lier les données « microbiote » issues du kit de prélèvement aux données collectées par ailleurs dans le cadre de l'étude NutriNet-Santé.

En pratique, seul l'identifiant pseudonymisé NutriNet-Santé sera ensuite associé aux données microbiote pour être utilisé lors des analyses. Si nécessaire, il sera possible de remonter au numéro du kit de prélèvement d'une part et aux informations du volontaire d'autre part dans des conditions de sécurité optimales (accès restreint, nombre limité de personnes autorisées).

9.3. *Traitement des échantillons*

Les selles seront collectées à l'aide d'un système de recueil comprenant un grand sac plastique pour couvrir les WC et un tampon absorbant à mettre sur le sac plastique. Un échantillon de selles d'environ 1g sera ensuite prélevé à l'aide de la cuillère calibrée fournie à cet effet. Le participant devra ensuite placer la cuillère dans le tube de collecte contenant une solution de stabilisation, en s'assurant que l'échantillon soit bien immergé dans le liquide. La solution de stabilisation (e.g., DNA/RNA Shield) permet de conserver le prélèvement à température ambiante pendant plusieurs jours. L'échantillon sera ensuite envoyé au laboratoire de traitement par voie postale.

Le tube contenant le prélèvement de selles sera homogénéisé et aliquoté en condition anaérobie et un échantillon sera prélevé pour en extraire l'ADN. Le tube « mère » et l'aliquote seront stockés à -80°C en attendant leur utilisation. L'ADN extrait sera séquencé par séquençage à haut débit du gène de l'ARNr 16S et/ou séquençage métagénomique « shotgun ».

9.4. *Transport*

Les échantillons de selles collectés par les participants devront être renvoyés au laboratoire de traitement par voie postale de préférence sous 48 h. L'échantillon et une « fiche annexe » comprenant les informations minimales de collecte (date et heure de recueil des selles, date d'envoi) devront être placés dans l'enveloppe de réexpédition (type Lettre Verte) pré-adressée et préaffranchie fournie à cet effet. Il sera demandé aux participants de n'ajouter aucune mention sur l'enveloppe fournie afin de garantir la non-identification de l'échantillon.

Après traitement (réception, aliquotage et séquençage), l'ensemble du matériel biologique restant (ADN bactérien extrait, tube « mère », aliquote) sera transféré dans la biobanque NutriNet-Santé au moyen d'un transport sous carboglace réalisé par une entreprise spécialisée.

9.5. *Stockage et/ou destruction*

L'ensemble du matériel biologique restant après traitement et séquençage (ADN bactérien extrait, tube « mère », aliquote) sera conservé à -80°C au sein du laboratoire de traitement en attendant leur transfert dans la biobanque NutriNet-Santé.

Ces échantillons pseudonymisés seront conservés à -80°C dans la biobanque NutriNet-Santé (statut de « Centre de Ressources Biologiques », CPP n°C09-45, CCTIRS n°10.367, CNIL n°1460707) pendant 10 ans renouvelables (durée d'exploitation de la cohorte NutriNet-Santé) et pourront être utilisés ultérieurement dans le cadre de la recherche et dans le cadre de futurs projets de recherche publique impliquant l'EREN et pouvant impliquer des partenaires publiques nationaux ou internationaux. L'ensemble du matériel collecté ne pourra être utilisé que par l'EREN ou dans le cadre de partenariat avec l'EREN dans le cadre d'objectifs fixés.

Si à l'issue de la recherche, une conservation des éléments biologiques restants est prévue, la démarche CODECOH sera mise en œuvre conformément aux dispositions prévues à l'article L.1243-3 du code de la santé publique.

9.6. *Description du système qualité de la collection*

Dès réception par le laboratoire de traitement, un identifiant interne sera attribué aux échantillons reçus et un contrôle qualité sera effectué pour vérifier leur conformité : comparaison de la date de réception avec les dates de recueil et d'envoi indiquées sur la fiche annexe accompagnant l'échantillon, quantité de selles dans le tube et aspect, quantité de liquide dans le tube.

La réception et le traitement des échantillons seront effectués à l'aveugle de toute donnée relative au Nutrinaute.

La date de réception des échantillons (identifiés par le numéro de kit indiqué sur le code-barre) et les informations indiquées sur la fiche annexe accompagnant les échantillons seront consignées dans un fichier de suivi. Chaque semaine, le laboratoire de traitement transmettra ce fichier à l'EREN ainsi que l'ensemble des fiches annexes réceptionnées, permettant un suivi de la collecte et la prise de décision sur les éventuelles relances à effectuer (par e-mail ou téléphone). Les fichiers (tableau de réception et fiches annexes) seront conservés sur un serveur sécurisé à l'EREN.

Les conditions de sécurité optimale pour le stockage des échantillons seront assurées au sein du laboratoire de traitement et de la biobanque NutriNet-Santé (enregistrements continus de la température des congélateurs, alarme température, appareil de secours, accès sécurisé, etc.).

10. VIGILANCE DE LA RECHERCHE

Aucun effet indésirable n'est attendu pour cette recherche qui consiste à prélever un échantillon de selles à partir d'un recueil naturel.

11. RECUEIL ET TRAITEMENT DES DONNEES

Le traitement des données à caractère personnel des personnes se prêtant à la présente recherche a pour seule finalité la réalisation de la recherche. Ce traitement inclut la gestion des données relatives aux personnes se prêtant à la recherche, en vue de permettre le recueil, la saisie, le contrôle de validité et de cohérence et l'analyse statistique des données recueillies au cours de la recherche.

Concernant les responsabilités liées au traitement :

Le traitement des données à caractère personnel nécessaire à la mise en œuvre de l'étude est placé sous la responsabilité de l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm). Il répond à l'exécution d'une mission d'intérêt public dont est investi l'Inserm (RGPD, art. 6.1.e) qui justifie le traitement des données personnelles de santé des participants à des fins de recherche scientifique (RGPD, art. 9.2.j). Ce traitement est mis en œuvre conformément aux dispositions de la loi n°78-17 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés et au Règlement Général sur la Protection des Données (Règlement (UE) 2016/679).

Concernant les référentiels applicables, le traitement des données est encadré par :

- le règlement (UE) 2016/679 du 27 avril 2016, dit Règlement Général sur la Protection des Données (Règlement (UE) 2016/679) ;
- la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 (78-17), relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés ainsi que par la loi du 7 juin 1951 sur l'obligation, la coordination et le secret en matière de statistiques (n°51-711) qui règlementent le recueil et l'utilisation de données personnelles dans le cadre de cette étude
- le décret n° 2019-536 du 29 mai 2019 modifié pris pour l'application de la loi du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés ;
- les dispositions du code de la santé publique relatives aux recherches impliquant la personne humaine.

Les données collectées dans le cadre de la participation à la cohorte NutriNet-Santé, autres que les données « microbiote » collectées spécifiquement dans le cadre de ce protocole, ne font pas l'objet de cette demande d'autorisation au CPP.

11.1. Description des données recueillies

Seules des données strictement nécessaires et pertinentes pour répondre aux objectifs de la recherche seront collectées.

Certaines données seront collectées au moment du questionnaire de recrutement (avant l'inclusion dans le protocole) et entrent dans le cadre du suivi de la cohorte NutriNet-Santé (elles ne font donc pas l'objet de cette demande d'autorisation au CPP qui concerne le volet microbiote « NutriGut-Santé ») :
-critères d'exclusion : diagnostic de COVID-19 (clinique ou par PCR), suspicion de COVID-19 (signes cliniques en faveur d'une infection : fièvre associée à des céphalées, signes respiratoires, ou anosmie/agueusie) et/ou contact avec un patient COVID-19 dans le mois précédant la collecte
-antécédents médicaux/chirurgicaux pouvant affecter le microbiote intestinal: diabète, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), maladies inflammatoires chroniques/auto-immunes, cancer, maladies infectieuses (VIH, hépatite B, hépatite C), insuffisance rénale chronique, résection intestinale, interventions chirurgicales associées à l'obésité (chirurgie bariatrique), transplantation d'organe, perte de poids récente de plus de 10 kilos dans les 3 derniers mois, grossesse/allaitement
-prise de médicaments pouvant affecter le microbiote intestinal : 1) au cours des 3 mois précédant la collecte : statines, antipsychotiques, immunosuppresseurs, traitements de l'obésité (ex. orlistat), antibiotiques, metformine ; 2) au cours de la semaine précédant la collecte : corticoïdes, anti-inflammatoires non stéroïdiens, opiacés, inhibiteurs de la pompe à protons, laxatifs
-adresse postale et numéro de téléphone

Ces données permettront de mettre à jour les informations collectées dans le cadre du suivi de la cohorte NutriNet-Santé pour s'assurer de la bonne caractérisation du profil des participants et permettre de les contacter pour les besoins de la recherche (envoi des kits, relances).

D'autres données seront collectées spécifiquement dans le cadre de cette recherche (elles font donc l'objet de cette demande d'autorisation au CPP), après inclusion dans le protocole, au moment de la collecte de selles par le participant :
-date et heure du recueil de selles
-date et heure de la dernière prise alimentaire
-date d'envoi des selles
-maladie ou problème médical rencontré durant la semaine précédant le recueil des selles
-traitement pris durant la semaine précédant le recueil des selles (ou au cours des 3 mois précédents dans le cas des antibiotiques)

Enfin certaines données seront issues du traitement des échantillons de selles. Le traitement par séquençage permettra notamment d'obtenir le profil de microbiote fécal des individus.

11.2. Définition des données sources

Les données collectées dans le cadre du suivi des participants à la cohorte NutriNet-Santé seront utilisées dans le cadre de cette recherche, d'une part pour la sélection des participants et d'autre part pour les analyses.

Ces données comprennent notamment :
-des données collectées à l'aide de questionnaires en ligne (caractéristiques sociodémographiques et de mode de vie, consommations alimentaires, activité physique, caractéristiques anthropométriques, santé et prise de médicaments, etc.) sur une plateforme sécurisée dédiée (https://etude-nutrinet-sante.fr/): l'ensemble des questionnaires posés dans le cadre du suivi de la cohorte et susceptible d'être utilisés dans le cadre de cette recherche est disponible au lien suivant : https://info.etude-nutrinet-sante.fr/node/11;
-des données de santé : celles-ci sont déclarées par les participants par le biais de questionnaires en ligne ou directement sur une plateforme dédiée à la déclaration des évènements de santé ; les évènements de santé « majeurs » sont validés à partir des dossiers médicaux récupérés auprès des participants ou, si besoin, auprès de leur médecin/structure de soin ; un chainage avec les données du SNIIRAM a également été autorisé par décret du Conseil d'Etat (décret no 2013-175 du 26 février 2013) ;
-des données obtenues dans le cadre d'une visite clinique réalisée pour un sous-échantillon de la cohorte NutriNet-Santé (n=19 600) entre 2011 et 2014
-des données issues des prélèvements biologiques (sang, urine) collectés dans le cadre de la visite de 2011-2014 ou plus récemment dans le cadre du protocole SAPRIS-SERO (gouttes de sang séchées sur papier buvard).

L'étude NutriNet-Santé a reçu toutes les autorisations éthiques et règlementaires nécessaires. L'ensemble de ces autorisations est listé au lien suivant : https://info.etude-nutrinet-sante.fr/node/12.

11.3. Circuit des données

-Données collectées au moment du questionnaire de validation de participation à la recherche et de la collecte de selles par le participant obtenues par auto-remplissage de questionnaires en ligne sur la plateforme sécurisée NutriNet-Santé (questionnaires programmés en PHP/HTML, environnement Symfony). Les données sont stockées dans des bases de données MariaDB ou Oracle. Les données brutes issues du remplissage des questionnaires (1 fichier par questionnaire) sont exportées automatiquement et quotidiennement sur un serveur au format CSV format via un lien SSH (Secure Shell) sur un VPN (Virtual Private Network). La plateforme NutriNet-Santé est basée sur les normes suivantes : GNU Privacy Guard, XML Web Services and SOAP, TLS/SSL/SHA256.

-Données collectées au moment de la collecte de selles par le participant sur la fiche « annexe » au format papier. Les données présentes sur la fiche « annexe » (identifiant de l'échantillon, date et heure de recueil et date d'envoi de l'échantillon) seront saisies dans un fichier informatique (Excel) par le laboratoire de traitement au moment de la réception des échantillons. Le laboratoire de traitement indiquera dans le même fichier le numéro du kit (code-barre), la date de réception et la conformité de l'échantillon. Ce fichier sera implémenté à chaque nouvelle réception d'échantillon et sera envoyé de façon hebdomadaire à l'EREN pour suivi. Les fiches « annexes » seront scannées et transmises à l'EREN de façon hebdomadaire. Les fichiers (tableau de suivi de réception et fiches annexes) seront conservés sur un serveur sécurisé à l'EREN.

-Données de profil de microbiote fécal issues du traitement des échantillons de selles par séquençage (séquençage de l'ADNr 16S et/ou « shotgun »). Les données obtenues à l'issues du séquençage (séquences brutes, tables d'abondance d'espèces moléculaires microbiennes et/ou de gènes microbiens et tables d'abondance fonctionnelle obtenues après une étape de pré-traitement) identifiées à partir de l'identifiant de l'échantillon seront transférées à l'EREN dès leur obtention via un canal de transfert sécurisé et temporaire (ex. filesender) où elles seront conservées pendant 10 ans renouvelables (durée d'exploitation de la cohorte NutriNet-Santé) et utilisées par l'EREN dans le cadre de cette recherche ou dans le cadre de futurs projets de recherche publique pouvant impliquer des partenaires nationaux ou internationaux. L'ensemble de ces données dissociées des données personnelles des Nutrinautes pourront être utilisées par le laboratoire de traitement dans le cadre de projets de recherche publique pouvant impliquer des partenaires nationaux ou internationaux après avis de l'EREN.

Le traitement de données non-pseudonymisées (adresses, numéro de téléphone) sera réalisé exclusivement par des personnes habilitées au sein de l'EREN et dans le respect de la confidentialité. Aucune donnée non-pseudonymisée ne sera transmise en dehors de l'EREN.

La correspondance entre l'identifiant de l'échantillon de selles et l'identifiant « NutriNet-Santé » du volontaire sera réalisée par une personne habilitée de l'EREN et stockée dans un fichier comprenant

l'identité du volontaire, son identifiant utilisateur NutriNet-Santé, son adresse (pour l'envoi du kit) et son numéro de téléphone (pour le suivi). L'accès à ce fichier sera restreint. Ce fichier sera stocké sur un serveur dont les accès seront protégés et la sauvegarde quotidienne assurée. L'accès à ce fichier contenant des données non-pseudonymisées sera limité à un nombre restreint de personnes habilitées et dûment nommées. Un avertissement/rappel concernant la nature sensible des données contenues dans ce fichier sera ajouté dans le nom du fichier et son contenu. L'utilisation de ce fichier est ponctuelle dans le but d'effectuer l'étiquetage des kits avant envoi ou d'éventuels relances. En dehors de ce cadre il sera stocké dans un coffre-fort. Le numéro du kit sera associé à un identifiant interne (utilisé en routine par les chercheurs de l'EREN pour leurs recherches) qui permettra si nécessaire de remonter aux informations du volontaire dans des conditions de sécurité optimales. Une fois la correspondance faite pour l'ensemble des volontaires le fichier contenant les données non-pseudonymisées sera détruit. Cette correspondance ne sera pas transmise à l'extérieur de l'EREN.

Le stockage des données, la confidentialité et les mesures de sécurité sont strictement observées au sein de l'EREN et différents aspects informatiques (structure des serveurs, sécurité des données, etc.) ont été approuvés par la CNIL.

11.4. Conservation et archivage des documents et des données de la recherche à l'issue de celle-ci

Les documents relatifs à la recherche sont archivés conformément à la réglementation en vigueur.
Le promoteur et les investigateurs conservent les documents relatifs à la recherche, qui leur sont spécifiques pendant une durée de 10 ans renouvelable (si le projet de recherche le justifie, renouvellement du consentement auprès des volontaires au bout des 10 ans).

Les données sont conservées 10 ans en base active et ~~20~~ 10 ans en archivage à partir de la première inclusion sur disques déconnectés redondés et conservés dans un coffre-fort ignifugé au sein des locaux techniques de l'équipe (surveillance 24h/24 du site et accès par badge, clé et code). Procédure de récupération par l'administrateur système de l'équipe à la demande de la direction uniquement.

Aucun déplacement ou destruction ne peut se faire sans l'accord du promoteur. Au terme de la durée réglementaire d'archivage, le promoteur sera consulté pour destruction.

Toutes les données, tous les documents et les rapports peuvent faire l'objet d'audit ou d'inspection.

11.5. Transfert de données hors Union Européenne

Un transfert de données hors Union Européenne peut avoir lieu dans le cadre de la réalisation de ce projet de recherche. Il sera encadré par des garanties appropriées et adaptées prévues dans un/une contrat/convention de partage entre l'Inserm et le(s) destinataire(s) des données dans des conditions permettant de garantir la confidentialité des données concernées.

Récapitulatif des catégories de données recueillies, leurs sources, leurs destinataires, leur but, leurs durées de conservation.

Catégories de données	Sources	Destinataires	But	Durée de conservation
Données personnelles et nominatives*	Questionnaire de recrutement (en ligne), dans le cadre du suivi de la cohorte NutriNet-Santé	EREN	Mise à jour des caractéristiques et coordonnées des participants à la cohorte NutriNet-Santé	10 ans, renouvelables
Données relatives à la collecte	Questionnaire de collecte (en ligne)	EREN	Caractériser la collecte (date, heure, prise de médicament, problème de santé)	10 ans, renouvelables
Données relatives à la collecte	Fiche annexe (papier)	Laboratoire de traitement et EREN	Caractériser la collecte (date, heure, envoi) et	10 ans, renouvelables

			vérifier sa conformité	
Données de profils de microbiote intestinal	Séquençage des échantillons de selles	EREN	Caractériser les profils de microbiote intestinal	10 ans, renouvelables

* Comme indiqué au point 11.1, les données collectées dans le cadre du questionnaire de recrutement font partie du suivi de la cohorte NutriNet-Santé et ne font donc pas l'objet de la présente demande au CPP

12. ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES

12.1. Responsable de l'analyse statistique

Les analyses statistiques seront conduites sous la responsabilité des investigatrices principales de la recherche (Mathilde Touvier et Mélanie Deschasaux-Tanguy) et/ou de l'investigateur principal de la cohorte NutriNet-Santé. La recherche comprend différents types d'analyses statistiques pour répondre à ses différents objectifs.

12.2. Calcul d'effectif

Le nombre total de participants pour lesquels des échantillons de selles seront collectés (n=10 000) a été déterminé pour permettre d'observer un nombre suffisant de cas prévalent ou incident de pathologies chroniques (cancer, diabète, maladies cardiovasculaires, troubles fonctionnels digestifs, obésité, etc.) pour les analyses étiologiques et pour assurer une diversité suffisante de profils de participants et en particulier de profils d'expositions nutritionnelles. Ceci permettra une exploration fine des associations entre nutrition, microbiote intestinal et santé, et en particulier l'exploration d'associations prospectives entre les profils de microbiote intestinal et l'incidence de pathologies, nécessaire pour faire avancer les connaissances dans le domaine.

Etant donné le nombre et la diversité des facteurs nutritionnels, microbiens et de santé qui seront explorés dans le cadre de cette recherche il n'est pas possible de fournir ni un calcul d'effectif unique, ni un calcul d'effectif exhaustif pour l'ensemble des paramètres étudiés.

Pour un échantillon de n=10 000, avec une erreur de première espèce α de 5% et une puissance 1-β de 80%, nous avons effectué les estimations suivantes, à partir des données de prévalence/incidence observées dans la cohorte NutriNet-Santé :

1) en considérant 30% de participants exposés chez les cas et 20% chez les non-cas et une prévalence de 50% pour le surpoids, 35% pour l'obésité, 19% pour les troubles fonctionnels digestifs (au moins un), 10% pour le syndrome de l'intestin irritable, 5.7% pour le cancer, 2.4% pour les maladies cardiovasculaires et 1.4% pour le diabète de type 2 [13–15], les ORs détectables (modèles de régression logistique) seraient : >1.12/<0.89, >1.13/<0.88, >1.17/<0.85, >1.23/<0.81, >1.30/<0.77, >1.49/<0.67 et >1.68/<0.59 respectivement.

2) en considérant 30% de participants exposés et une incidence après 5 ans de 2% pour les cancers et 1.7% pour les maladies cardiovasculaires, les HRs détectables (modèles de Cox) seraient >1.54/<0.65 et >1.60/<0.63 respectivement.

Un échantillon de N=10 000 nous permettra donc d'étudier les associations avec dans un premier temps la prévalence de pathologies et, à plus long terme avec l'incidence de pathologies (à partir de 5 ans post-collecte).

Pour les analyses descriptives (différences de profils de microbiote intestinal, en termes d'abondances microbiennes ou fonctionnelles et de diversité, en fonction des facteurs nutritionnels ou individuels étudiés), un échantillon de n=10 000 nous permettra de détecter des effets de petite taille et d'étudier notamment des expositions nutritionnelles plus rares comme par exemple certains régimes restrictifs (régimes végétariens, sans gluten, etc.), ce qui permettra une exploration fine et complète des associations entre facteurs nutritionnels et profils de microbiote intestinal. Par exemple, pour un échantillon de n=10 000, avec une erreur de première espèce α de 0.1% (prenant en compte les tests multiples) et une puissance 1-β de 80%, les f^2 détectables (modèles linéaires généralisés) seraient

>0.004 en prenant en compte des facteurs de confusion potentiels et les r détectables (corrélations) seraient >0.04.

Si l'on considère les facteurs associés à la composition du microbiote intestinal dans son ensemble (dissimilarités inter-individuelles : diversité β), une précédente étude[16] a estimé que la comparaison de groupes de N=100 permettait déjà de mettre en évidence des effets de taille modeste. Notre échantillon complet sera donc confortable pour mettre en évidence des effets de taille plus réduite.

Enfin, de précédentes études publiées sur des échantillons d'environ n=1000 [8–10] ont permis de mettre en évidence des associations entre facteurs individuels et profils de microbiote intestinal, ce qui suggère que notre échantillon de n=10 000 permettra d'observer des effets de taille au moins similaire.

12.3. Description du plan d'analyse statistique

12.3.1. Analyse des critères principaux

Différents types d'analyses vont être mises en œuvre pour répondre aux objectifs de cette recherche.

Les profils de microbiote intestinal seront étudiés sous forme d'indicateurs globaux de diversité intra-individuelle « alpha » (richesse, indice de Shannon, diversité phylogénétique, etc.) ou de diversité inter-individuelle « beta » (indices de Bray-Curtis, UniFrac, etc.) ou encore d'abondance de taxon bactériens, de gènes ou de fonctions.

Ces profils de microbiote intestinal seront étudiés en association avec : 1) des facteurs nutritionnels, pouvant être étudiés sous forme d'apport en nutriments, de consommation d'aliments, de score nutritionnel, de profil alimentaire global (obtenu notamment par analyse en composante principale) ; 2) la santé comprenant des caractéristiques anthropométriques, des concentrations en biomarqueurs, la prise de médicaments, la prévalence de pathologie et l'incidence de pathologie.

Ces différentes analyses feront intervenir des méthodes adaptées pour l'étude du microbiote intestinal et plus généralement des données de grande dimension, notamment : PERMANOVA, analyse en coordonnées principales (PCoA), partial-least square (PLS), reduced rank regression, random forest, co-inertie, Procrustes, corrélations partielles et modèles linéaires généralisés (distribution binomiale avec inflation de zéros), analyses de réseau (permettant d'explorer la dynamique de l'écosystème microbien). L'étude des associations avec la santé fera également intervenir des modèles de régression linéaire et logistiques, des modèles mixtes (par exemple pour étudier les variations de poids) et des modèles de Cox. Des pénalisations de type Elastic-Net ainsi que le boosting seront utilisés pour sélectionner les associations les plus pertinentes. Des analyses de médiation (marginal structural modelling/path analysis, PLS path modelling, etc.) seront également conduites ainsi que des études d'interactions. Cela permettra d'étudier d'une part si les associations entre nutrition et santé sont médiées par l'intermédiaire des profils de microbiote intestinal et, d'autre part si les associations entre nutrition et santé sont modifiées selon les profils de microbiote intestinal.

Toutes les analyses prendront en compte un grand nombre de facteurs de confusion potentiels, notamment des facteurs socio-démographiques, de mode de vie, des apports nutritionnels autres que ceux considérés et d'autres facteurs environnementaux disponibles dans les bases de données de la cohorte NutriNet-Santé (par exemple : allaitement maternel, mode d'accouchement, environnement de vie pendant l'enfance et la vie adulte, animaux de compagnie, prise de médicaments, allergies, etc.).

Les analyses prendront également en compte les tests multiples en utilisant notamment la correction proposée par Benjamini et Hochberg (false discovery rate).

Les tests seront bilatéraux et une valeur de $P<0.05$ sera considérée comme significative. Les logiciels SAS 9.4 et R 3.4 seront utilisés pour les analyses.

12.3.2. Analyse des critères secondaires

Le même type de méthodes sera déployé pour analyser les associations entre facteurs individuels (hors alimentation) et profils de microbiote intestinal (objectif secondaire) que celles décrites ci-dessus pour les analyses des critères principaux.

13. CONFIDENTIALITE

13.1. *Modalités de respect de la confidentialité vis à vis des personnes*

Les tubes de collecte de selles ainsi que la fiche annexe seront identifiés à l'aide d'un code-barres de type 1D. La correspondance entre l'identifiant « NutriNet-Santé » du volontaire et le code-barres de son kit de collecte sera réalisée à l'aide d'un scanner de code-barres par une personne habilitée de l'EREN. L'accès au fichier de correspondance sera limité à un nombre restreint de personnes habilitées et dûment nommées et cette correspondance ne sera pas transmise en dehors de l'EREN. Les échantillons seront identifiés par leur numéro de code-barres pour le séquençage. Les données issues du séquençage seront donc transmises à l'EREN avec ce numéro de code-barres et la correspondance avec l'identifiant interne (utilisé en routine par les chercheurs de l'EREN pour leurs recherches sera effectuée au moment de la réception des données à l'EREN. Les données issues du séquençage seront par la suite uniquement identifiées uniquement avec cet identifiant interne, permettant de faire le lien avec les autres données collectées dans le cadre du suivi de la cohorte dans des conditions de sécurité optimales. La correspondance entre le numéro du kit et l'identifiant interne ne sera accessible qu'à un nombre limité de personnes habilitées et dûment nommées. Cette correspondance ne sera pas transmise en dehors de l'EREN.

Pour les éventuels transferts de données à l'extérieur de l'EREN, l'identifiant interne est remplacé par un identifiant externe. La correspondance entre l'identifiant interne et l'identifiant externe ne sera accessible qu'à un nombre limité de personnes habilitées et dûment nommées. Cette correspondance ne sera pas transmise en dehors de l'EREN.

Les identifiants internes et externes « NutriNet-Santé » sont générés avec des fonctions de génération aléatoire secrètes (création d'une séquence via une fonction aléatoire sur chaque caractère, concaténation avec un grain de sel et fonction de chiffrement qui encapsule la variable, longueur : 32).

13.2. *Modalités de respect de la confidentialité vis à vis de la recherche*

L'accès aux données cliniques et sources sera direct en cas de monitorage, audits commandés par le promoteur ou inspections menées par les autorités administratives compétentes.

14. COMMUNICATION

En respect des engagements pris par l'Inserm et des obligations réglementaires, toute recherche promue par l'Inserm est enregistrée sur un site public : EUDRACT pour les recherches médicamenteuses, et en règle générale sur www.clinicaltrials.gov pour l'ensemble des autres recherches.

14.1. *Modalités relatives à la publication des résultats*

Toutes les données recueillies au cours de cette recherche sont la propriété du promoteur et de l'EREN et ne peuvent être communiquées en aucun cas à une tierce personne sans leur accord écrit.

Les données collectées dans le cadre de la participation à la cohorte NutriNet-Santé, autres que les données « microbiote » collectées spécifiquement dans le cadre de cette recherche ne sont pas concernées.

Les résultats sont publiés après analyse finale sous la forme d'articles scientifiques dans des revues à comité de lecture, exposés lors de conférences nationales et internationales. Toute publication ou communication (orale ou écrite) est décidée d'un commun accord entre les investigateurs coordonnateurs et principaux et les responsables scientifiques et est adressée au promoteur et respectera les recommandations internationales :"Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly work in Medical Journals" (http://www.icmje.org/recommendations).

Toute publication doit suivre les règles présentes dans la charte des publications définie par AVIESAN. La mention de l'origine du financement, des autorisations des autorités compétentes, du consentement des participants doit apparaitre dans les remerciements selon le modèle suggéré ci-dessous : */Ethics statement /*/This study is part of clinical trial ****CXX-XX** sponsored by Inserm. It was granted approval by local Ethics Committee or "Comité de Protection des Personnes" on ---****DATE**---, and

registered in a public trials registry (****CT XXXX**). All study participants gave their informed consent (electronically) to participation, in line with French legal guidelines.

En respect des engagements pris par l'Inserm et des obligations réglementaires les résultats seront publiés sur le site public sur lequel aura été enregistré la recherche.

Afin de respecter le principe de science ouverte et de renforcer l'accès ouvert aux publications Inserm, les auteurs sont invités à déposer les articles publiés présentant les résultats de la recherche dans HAL (archive ouverte nationale destinée au recueil, à la mise à disposition et à la préservation de la production scientifique française).

14.2. *Modalités relatives au résumé du rapport final et au rapport final*

Une fois la recherche terminée, un rapport final des résultats est établi dans un délai d'un an suivant la fin de la recherche.

Le **rapport final** de la recherche est un document écrit, suffisamment détaillé pour permettre de comprendre le déroulement de la recherche et d'émettre un jugement objectif sur la qualité des données de cette recherche. Il est rédigé, en collaboration, par le coordonnateur et le biostatisticien de cette recherche et soumis à tous les investigateurs pour avis. Une fois qu'un consensus est obtenu, la version finale est avalisée par la signature de chacun des investigateurs et tenu à disposition de l'Inserm. Il ne sera adressé à l'ANSM qu'à sa demande.

Ce rapport comprend un **résumé des résultats** rédigé selon le plan de référence de l'autorité compétente. Le résumé est validé et transmis par l'Inserm à l'autorité compétente et au CPP selon les modalités établies pour chaque type de recherche. Cette transmission doit être réalisée dans un délai d'un an suivant la fin de la recherche.

14.3. *Modalités d'information des personnes ayant participé à la recherche sur ses résultats globaux*

A l'issue de la recherche, la personne qui s'y est prêtée a le droit d'être informée des résultats globaux de cette recherche, selon les modalités qui lui seront décrites :
-les participants seront informés des résultats globaux de la recherche par le biais de la publication de résumés en français (avec un lien vers l'article intégral en anglais) sur la plateforme de l'étude NutriNet-Santé ;
-un profil détaillé individuel de microbiote intestinal et une comparaison de ce profil par rapport à l'ensemble des Nutrinautes participant à cette recherche pourra être envoyé aux participants sur demande. Il sera bien précisé que ce profil est à valeur descriptive/informative uniquement et qu'il ne permet pas à l'heure actuelle de poser un quelconque diagnostic médical. Aucun autre résultat individuel ne sera communiqué aux participants.

14.4. *Modalités d'information des personnes sur les données de santé en cours et après la recherche*

Non applicable.

14.5. *Modalités relatives à la communication presse*

Les articles et résumés mais également les communications orales issus de cette recherche seront adressés avant publication au Pôle Recherche Clinique et au Département de l'information scientifique et de la communication (DISC).

15. **PROTECTION DES PERSONNES**

15.1. *Justification éthique du protocole*

La recherche est menée dans le respect des dispositions prévues à l'article L.1121-2 du Code de la santé publique.

Cette recherche ne présente ni bénéfices individuels ni risques prévisibles (les prélèvements de selles n'entrainent aucun risque, le kit de collecte et les instructions fournis permettent de réaliser les prélèvements de manière simple, rapide et hygiénique).

Grâce à leur participation à cette recherche, les volontaires contribueront à une meilleure connaissance scientifique dans le domaine nutrition et santé et plus particulièrement des liens entre nutrition, microbiote intestinal et santé.

15.2. *Adéquation du lieu à la recherche*

Conformément à l'article L1121-13 du Code de la santé publique, la recherche sera réalisée dans un lieu disposant des moyens humains, matériels et techniques adaptés à la recherche et compatibles avec les impératifs de sécurité des personnes qui s'y prêtent.

Dans le cadre de cette recherche, une collecte de selles sera réalisée par les participants eux-mêmes à leur domicile. Un prélèvement de selles sera effectué à partir d'une émission naturelle de selles. Un guide comportant des instructions précises sur les manipulations à effectuer pour la collecte sera fourni aux participants en format papier et sera également disponible sur leur espace personnel NutriNet-Santé en ligne. Un gant sera également fourni aux participants pour effectuer le prélèvement dans des conditions d'hygiène optimales. En cas de question concernant la collecte de selles et pour assurer son bon déroulé, les participants auront à leur disposition pour y répondre une rubrique FAQ https://etude-nutrinet-sante.fr/faq/, un formulaire de contact https://etude-nutrinet-sante.fr/contact, un numéro de téléphone : 01 48 38 89 76 ou encore un e-mail : microbiote@etude-nutrinet-sante.fr.

Aucun risque prévisible particulier n'est associé à cette collecte de selles.

15.3. *Dispositions éthiques et réglementaires*

La recherche sera menée dans le respect de la réglementation française en vigueur, notamment des dispositions relatives aux recherches impliquant la personne humaine prévues aux articles L 1121-1 et suivants du Code de la santé publique, des lois de Bioéthique, de la loi Informatique et Libertés, du règlement général sur la protection des données, de la déclaration d'Helsinki, et du présent protocole.

L'investigateur s'engage à mener la recherche conformément à ces dispositions éthiques et réglementaires. Il est conscient que tous les documents ainsi que toutes les données relatives à la recherche pourront faire l'objet d'audits et d'inspections réalisées dans le respect du secret professionnel et sans que puisse être opposé le secret médical. L'investigateur reconnaît que les résultats de la recherche sont la propriété de l'Inserm, promoteur de la recherche.

15.4. *Comité de Protection des Personnes (CPP)*

Avant de réaliser la recherche, le promoteur soumet le projet à l'avis d'un comité de protection des personnes désigné de manière aléatoire dans des conditions prévues à l'article L. 1123-14 du Code de la santé publique et lui fournira pour cela tous les renseignements nécessaires.
La recherche ne pourra débuter que lorsque l'Inserm aura été informé de l'avis favorable sans réserve délivré par le CPP à propos du protocole soumis sous réserve de l'obtention de toute autre autorisation nécessaire à la mise en œuvre du projet. Cet avis comportera le titre et le numéro du protocole attribué par le promoteur, les documents examinés, ainsi que la date de son examen et la liste des membres du CPP y ayant participé.

Le promoteur informera le CPP de tous les amendements ultérieurs.

15.5. *ANSM*

Préalablement au démarrage de la recherche, l'avis favorable du CPP ainsi que le résumé de la recherche seront transmis par le promoteur à l'ANSM pour information.

15.6. *Cnil*

Cette recherche ne pourra débuter qu'à l'obtention de l'autorisation de la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (Cnil).

15.7. *Fichier VRB*

Non applicable.

16. GOUVERNANCE ET COMITE

16.1. *Comité de surveillance indépendant*

Non nécessaire.

16.2. *Préciser les autres comités de la recherche*

Non nécessaire.

17. ASSURANCE QUALITE

17.1. *Description*

Le rôle de l'assurance qualité est de garantir la sécurité des personnes qui se prêtent aux recherches impliquant la personne humaine et d'assurer la crédibilité des données issues de ces recherches et leur reconnaissance par la communauté médicale et scientifique.

L'investigateur est le garant de la qualité du déroulement de la recherche. Elle est encadrée selon les procédures standards de l'Inserm et les procédures spécifiques à la recherche le cas échéant. Toutes les procédures spécifiques de la recherche doivent être validées par le promoteur.

17.2. *Monitorage (contrôle qualité de la recherche)*

Non applicable.

18. MODIFICATIONS SUBSTANTIELLES DU PROTOCOLE

Un amendement pourra être envisagé dans le cas de modifications substantielles du protocole décrit pour la recherche portant notamment sur l'utilisation des données, la durée de la recherche et la durée d'utilisation des échantillons et des données.

Toute demande de modification de la recherche par rapport au projet de recherche initialement autorisé doit être soumise, par l'investigateur coordonnateur, pour avis, au promoteur.

Les modalités de soumission sont disponibles sur l'intranet de l'Inserm.

Après avis favorable, l'Inserm mettra en œuvre les procédures administratives réglementaires nécessaires à l'obtention de l'approbation de ces modifications substantielles par le CPP et/ou de l'autorité administrative compétente.

19. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Lynch, S. V. & Pedersen, O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *New England Journal of Medicine* **375**, 2369–2379 (2016).
2. Schroeder, B. O. & Bäckhed, F. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease. *Nature Medicine* **22**, 1079–1089 (2016).
3. Rowland, I. *et al.* Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr* **57**, 1–24 (2018).
4. Chen, Y., Zhou, J. & Wang, L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Front Cell Infect Microbiol* **11**, 625913 (2021).
5. Fan, Y. & Pedersen, O. Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nat Rev Microbiol* **19**, 55–71 (2021).
6. Goodrich, J. K. *et al.* Human Genetics Shape the Gut Microbiome. *Cell* **159**, 789–799 (2014).
7. Deschasaux, M. *et al.* Depicting the composition of gut microbiota in a population with varied ethnic origins but shared geography. *Nature Medicine* **24**, 1526–1531 (2018).
8. Falony, G. *et al.* Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* **352**, 560–564 (2016).
9. Zhernakova, A. *et al.* Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* **352**, 565–569 (2016).

10. Asnicar, F. *et al.* Microbiome connections with host metabolism and habitual diet from 1,098 deeply phenotyped individuals. *Nat Med* **27**, 321–332 (2021).
11. Rothschild, D. *et al.* Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature* **555**, 210–215 (2018).
12. Hercberg, S. *et al.* The Nutrinet-Santé Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* **10**, (2010).
13. Beslay, M. *et al.* Ultra-processed food intake in association with BMI change and risk of overweight and obesity: A prospective analysis of the French NutriNet-Santé cohort. *PLoS Med* **17**, e1003256 (2020).
14. Schnabel, L. *et al.* Association Between Ultra-Processed Food Consumption and Functional Gastrointestinal Disorders: Results From the French NutriNet-Santé Cohort. *Am J Gastroenterol* **113**, 1217–1228 (2018).
15. Partula, V. *et al.* Associations between consumption of dietary fibers and the risk of cardiovascular diseases, cancers, type 2 diabetes, and mortality in the prospective NutriNet-Santé cohort. *Am J Clin Nutr* **112**, 195–207 (2020).
16. Casals-Pascual, C. *et al.* Microbial Diversity in Clinical Microbiome Studies: Sample Size and Statistical Power Considerations. *Gastroenterology* **158**, 1524–1528 (2020).

20. **ANNEXES** **(à compléter par le promoteur)**

Synopsis V1 du 11/06/2021
NIFC V1 du 11/06/2021
Questionnaires V1 du 11/06/2021
Guide du participant