



HAL
open science

La transplantation de microbiote fécal : une nouvelle stratégie thérapeutique dans la prise en charge des infections à *Clostridium difficile*

Faustine Détail

► To cite this version:

Faustine Détail. La transplantation de microbiote fécal : une nouvelle stratégie thérapeutique dans la prise en charge des infections à *Clostridium difficile*. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-02017504

HAL Id: dumas-02017504

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02017504>

Submitted on 13 Feb 2019

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.

THESE POUR LE DIPLÔME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le : 23 Mars 2018

Par DETAIL Faustine

LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL :
UNE NOUVELLE STRATEGIE THERAPEUTIQUE
DANS LA PRISE EN CHARGE DES *INFECTIONS A*
CLOSTRIDIUM DIFFICILE

- Président du jury et directeur de thèse : Jean-Marc CHILLON, Professeur des Université-Praticien Hospitalier
- Membres du jury :
 - Camille SAINTE-BEUVE, Docteur en Pharmacie
 - Estelle MARCHIENNE, Docteur en Pharmacie

REMERCIEMENTS

A Monsieur CHILLON Jean-Marc ;

Merci d'avoir accepté la Présidence de ma thèse et de vous être rendu disponible.

A Madame SAINTE-BEUVE Camille ;

Merci d'avoir accepté avec enthousiasme d'être membre du jury de ma thèse ainsi que pour ton soutien tout au long de mes études. C'est un véritable plaisir de travailler pour toi au sein de ton officine.

A Mademoiselle MARCHIENNE Estelle ;

Merci d'avoir accepté d'être membre de mon jury. Tu es plus qu'une collègue, une véritable amie.

A mes parents ;

Merci de m'avoir toujours soutenue et encouragée durant toutes ces années d'étude. Merci à toi maman de m'avoir supportée pendant mes révisions et examens où je n'étais vraiment pas facile, tu étais patiente, disponible et à l'écoute. Merci de t'être rendue disponible tout au long de ma thèse, surtout pour les corrections de fautes d'orthographe.

Merci à toi papa de m'avoir encouragée et donnée cette envie d'entrepreneuriat. Tu es un exemple de réussite pour moi.

Enfin je vous remercie pour votre amour, votre présence, votre patience, votre écoute. Merci d'avoir fait de notre famille ce qu'elle est aujourd'hui.

A mes sœurs, les 3 F;

Déjà merci de me supporter. Merci de me donner la chance d'être une tata investie. Merci pour toutes ces années de rire et à celle qui parlera le plus fort pour se faire entendre. Merci pour ces années de souvenirs, ce lien familial est ce qu'il y a de plus important pour moi.

A ma mamie chérie ;

Du haut de tes 1m... (Je ne le dirai pas : promis) et de tes 90ans, tu es le pilier de cette famille. Merci de m'avoir accueillie chez toi (sans internet) pour que je puisse réviser ma première année de pharmacie et la passer avec succès.

A Jacques ;

Merci de t'être toujours intéressé à mes études et de m'avoir encouragée.

A mon BIBI ;

Merci d'avoir été mon binôme de TP, de révisions, de craquages. Merci pour ces heures au téléphone, ces soirées, ces sessions shoppings ensemble.

Merci pour ton amitié fidèle qui perdura malgré ton déménagement à Rennes !

A Fiorella et Louise ;

Mes plus vieilles amies, merci pour cette amitié qui perdure depuis maintenant plus de 10 ans. Vous m'avez toujours soutenue et comprise que mes études prenaient du temps.

A tous les autres copains ;

Merci pour votre soutien et votre amitié.

Enfin Antoine ;

Juste merci d'être arrivé dans ma vie. Tu es la plus belle chose qui m'est arrivé. Merci pour tout, je n'ai pas de mot pour décrire ce que tu représentes pour moi.

A notre futur à deux.

Table des matières

Liste des abréviations	6
Liste des figures	8
Liste des tableaux	9
1 Les infections à <i>Clostridium Difficile</i>	10
1.1 Bactériologie	10
1.2 Epidémiologie	11
1.3 Physiopathologie	13
1.4 Facteurs de risque	14
1.5 Formes cliniques	15
1.5.1 Portage asymptomatique	15
1.5.2 Diarrhées simples post antibiotiques	16
1.5.3 Colite pseudomembraneuse	16
1.5.4 Les complications	16
1.5.5 Les récives	17
1.6 Diagnostic	17
1.6.1 Diagnostic microbiologique	19
1.6.1.1 Mise en évidence de <i>C. Difficile</i> dans les selles	19
1.6.1.2 Mise en évidence d'une souche toxigène	20
1.6.1.3 Mise en évidence des toxines libres dans les selles	20
1.6.2 Diagnostic endoscopique	21
1.6.3 Quelle stratégie utiliser pour le diagnostic?	21
1.7 Traitement	22
1.7.1 Traitement du 1 ^{er} épisode	23
1.7.2 Traitements des récives	24
1.7.3 Autres approches thérapeutiques	25
1.8 Les mesures de prévention	27
2 Le Microbiote intestinal	27
2.1 Description du microbiote intestinal [24]	28
2.2 Fonctions du microbiote intestinal	30
2.2.1 Une fonction digestive	30
2.2.2 Les fonctions métaboliques	31
2.2.3 Les fonctions immunitaires	32
2.2.4 Les fonctions neurologiques	32
2.3 La dysbiose	32
3 La transplantation de microbiote fécal	34
3.1 Indications de la transplantation de microbiote fécal	34
3.2 Le statut de la transplantation	34
3.3 Le donneur	35
3.3.1 Choix du donneur	36

3.3.2	Premier entretien médical	36
3.3.3	Screening biologique: agents pathogènes à rechercher [30]	37
3.3.3.1	Dépistages dans le sang	38
3.3.3.2	Dépistages dans les selles	38
3.3.4	Deuxième entretien médical [30]	39
3.3.5	Préparation du donneur	40
3.4	Préparation de la transplantation [31]	40
3.5	Préparation du receveur	43
3.6	Administration du transplant	44
3.6.1	Administration par voie basse	44
3.6.1.1	Par coloscopie	44
3.6.1.2	Par lavement	44
3.6.2	Administration par voie haute	44
3.6.2.1	Par sonde	45
3.6.2.2	En gélules	45
3.7	La traçabilité	45
3.8	Effets indésirables	47
3.9	Résultats des études	47
3.10	Les limites de la TMF	48
3.10.1	La sécurité du receveur	48
3.10.2	L'acceptabilité	48
4	Perspectives	49
4.1	Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin	50
4.2	Les maladies métaboliques	51
4.3	Les maladies psychiatriques [44]	51
4.4	Trouble de l'autisme	52
4.5	Maladie de Parkinson	52
5	Conclusion	53
	Bibliographie	54
	Annexes	59

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS	=	Anti-inflammatoire Non Stéroïdien
ANSM	=	Agence nationale de sécurité du médicament
ARS	=	Agence Régionale de la Santé
ATB	=	Antibiotique
<i>C. Difficile</i>	=	<i>Clostridium Difficile</i>
CI	=	Contre Indiqué
CMV	=	Cytomégalovirus
CPM	=	Colite Pseudomembraneuse
CRP	=	Protéine C réactive
CSP	=	Code de Santé Public
DASRI	=	Déchets d'Activités de Soins à Risques Infectieux
EBV	=	Epstein Bar Virus
FDA	=	Food Drug Administration
GHD	=	Glutamate déshydrogénase
ICD	=	<i>Infection à Clostridium Difficile</i>
IgG	=	Immunoglobulines G
IPP	=	Inhibiteur des Pompes à Protons
IV	=	Intra Veineuse
MICI	=	Maladie Inflammatoire Chronique Intestinale
PO	=	Per Os

PUI	=	Pharmacie à Usage Intérieur
RCH	=	Rectocolite Hémorragique
TMF	=	Transplantation de Microbiote Fécal
VHB	=	Virus de l'Hépatite B
VHC	=	Virus de l'Hépatite C
VIH	=	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VO	=	Voie Orale
VPN	=	Valeur Prédictive Négative

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Coloration de gram de Clostridium Difficile (*C. Difficile*)

Figure 2 : Incidence (exprimée pour 10 00 patients-jours) des Infections à Clostridium Difficile (ICD) liée aux soins en Europe (d'après l'enquête européenne réalisée sous l'égide du European Study Group on Clostridium Difficile en 2009) d'après Bauer et Al.

Figure 3 : Représentation schématique des étapes et des facteurs de risques d'infection à Clostridium Difficile (ICD)

Figure 4 : Aspect de colite pseudomembraneuse (CPM) à l'endoscopie

Figure 5 : Consistance des selles selon l'échelle de Bristol

Figure 6 : Algorithme de diagnostic des Infections à *Clostridium Difficile* (ICD)

Figure 7 : Les entérotypes prédominant chez les individus

Figure 8 : Bactérie intestinale dégradant le cholestérol vu par microscope électronique

Figure 9 : Chronologie (versant « donneur ») de la transplantation fécale (en l'absence de congélation)

Figure 10 : Les 3 principales étapes de la transplantation fécale

Figure 11 : Chronologie de la procédure de la transplantation de microbiote fécal

Figure 12 : Maladies associées à un dysfonctionnement du microbiote intestinal

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Méthodes de diagnostic microbiologique des infections à *C. Difficile* : cibles, points forts et points faibles

Tableau 2 : Schéma de la prise en charge des premiers épisodes d'ICD selon l'état de l'infection

Tableau 3 : Schéma de la prise en charge d'une première récurrence d'ICD

Tableau 4 : Schéma de la prise en charge d'une deuxième récurrence d'ICD

Tableau 5 : Questionnaire de présélection (spécifique au don de selles)

Tableau 6 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur

Tableau 7 : Questionnaire de sélection (événements depuis la visite de présélection)

Clostridium Difficile (*C. difficile*) est une bactérie dont le pouvoir pathogène a été découvert en 1978. Depuis une dizaine d'années, l'incidence des infections à *C. Difficile* (ICD) à travers le monde est en nette augmentation. Cela s'associe à une augmentation de leur sévérité et de leur pronostic péjoratif. Les infections à *C. Difficile* sont la principale cause de diarrhées nosocomiales et représentent 10 à 25 % des diarrhées post antibiotiques et plus de 95 % des cas de colites pseudomembraneuses (CPM). La mortalité est estimée à 2 %. Le traitement repose sur l'administration d'antibiotiques : le métronidazole est donné en première intention et la vancomycine en seconde intention pour les formes sévères et en cas de contre-indications au métronidazole. Les récurrences sont fréquentes (20 % des cas), d'où l'intérêt de trouver de nouvelles thérapeutiques pour limiter ces multiples récurrences. Dans ce cadre, la transplantation de microbiote fécal constitue une nouvelle alternative thérapeutique.

Dans une première partie, les infections à *C. Difficile*, la bactériologie, l'épidémiologie, la physiopathologie, les facteurs de risques, le diagnostic, les traitements et les mesures de préventions seront abordés. Dans une seconde partie, le terme microbiote intestinal sera défini. Dans une troisième partie, la transplantation de microbiote fécale dans la prise en charge des ICD sera étudiée. Enfin, dans une quatrième partie, seront abordées les perspectives de la transplantation de microbiote fécale dans la prise en charge d'autres pathologies.

1 Les infections à *Clostridium Difficile*

1.1 Bactériologie

C. Difficile est un bacille à gram positif (figure 1), anaérobie strict, sporulé. Les spores sont ovales, subterminales et déformantes. Parfois, *C. Difficile* peut être mobile grâce à une ciliature péritriche. En culture en anaérobiose, il se développe facilement sur le TCCA (gélose cœur-cervelle additionné de sang de cheval 5%, de taurocholate 0.1%, de cyclosérine 250mg/L et de céfoxitine 10mg/L). Les colonies sont grises, mates, opaques et fluorescentes à la lumière ultra-violette. Leur contour est irrégulier et leur odeur est caractéristique avec une odeur de crottin de cheval. [1]



Figure 1 : Coloration de gram de *C. Difficile*. [1]

1.2 Epidémiologie

L'incidence des ICD a considérablement augmenté ces dernières années allant de 1 à 10 cas pour 10 000 patients-jours. Cela est marqué par la dissémination mondiale d'une souche dite « hyper virulente » (souche 027/NAP1/BI), responsable d'une augmentation de la sévérité des ICD ainsi que d'une augmentation de la mortalité.

En Amérique du Nord :

Plusieurs études rétrospectives démontrent : [2]

- une augmentation significative de l'incidence des ICD : elle a été multipliée par 2 ou 3 entre 1996 et 2003 chez les personnes de plus de 65 ans ;
- une augmentation de la sévérité des ICD : la proportion de formes compliquées (choc septique et/ou mégacolon toxique et/ou perforation digestive) est passée de 7,1 % à 18,2 % entre 1991-1992 et 2003. La létalité à 30 jours a été multipliée par 3 entre 1990 et 2003 ;
- une moins bonne réponse aux traitements par métronidazole : les échecs aux traitements ont été multipliés par 2,5 entre 2002 et 2004 et le taux de récurrences dans les deux mois de l'épisode initial a été multiplié par 2 chez les patients âgés de plus de 65 ans (28,9 vs 58,4%). Cette évolution n'a pas été directement liée à l'émergence du clone 027 mais plutôt liée à une plus grande sévérité des ICD.

En Europe :

Des épidémies similaires à celles d'Amérique du Nord ont touché l'Europe en commençant d'abord par le Royaume-Uni puis les Pays-Bas, la Belgique et enfin la France. En 2009, une étude européenne a été réalisée dans plus de 100 établissements de santé de 34 pays. Les résultats indiquent une augmentation de l'incidence des ICD de 4,1 cas pour 10 000 patients-jours. Une grande disparité d'un pays et d'un établissement à l'autre au sein d'un même pays est remarquée (figure 2). [3]

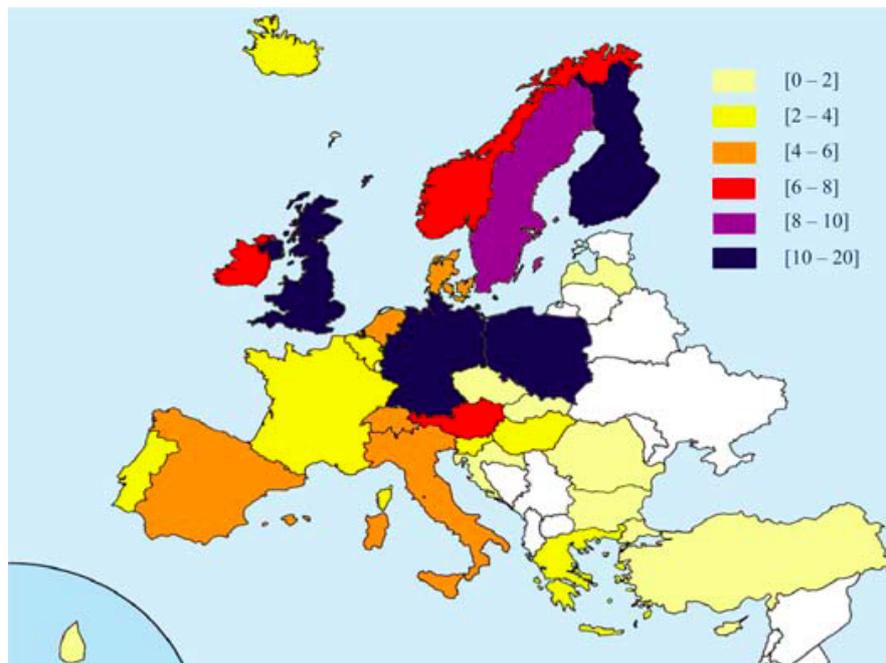


Figure 2 : Incidence (exprimée pour 10 00 patients-jours) des ICD liées aux soins en Europe (d'après l'enquête européenne réalisée sous l'égide du EuropeanStudy Group on *Clostridium difficile* en 2009) d'après Bauer et al. [3]

En France :

En 2009, l'incidence des ICD était de 2,28 cas pour 10 000 patients-jours dans les hôpitaux de court séjour et de 1,14 cas pour 10 000 patients-jours dans les hôpitaux moyen/long séjour d'après une étude multicentrique prospective menée sous l'égide du Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN). [4] Elle est passée à 3,9 cas pour 10 000 patients-jours en 2013 d'après une étude menée à l'occasion de la réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. [5]

Une enquête épidémiologique des ICD a été réalisée au CHU d'Amiens d'avril 2014 à mai 2015. Dans cette étude, 1 882 demandes de recherche de *C. Difficile* pour 1 307 patients ont été dénombrées. Cent soixante huit recherches se sont avérées positives (8,09 %) concernant 140 patients (10,7 %) soit 39 recherches de *C. Difficile* positives pour 10 000 patients-jours.

L'incidence des ICD est de :

- 3,87 cas pour 10 000 patients-jours en court séjour ;
- 0,56 cas pour 10 000 patients-jours en moyen/long séjour ;

Seize patients ont fait une récurrence (11 %) avec 4 patients ayant fait plus d'une récurrence. [6]

L'incidence des ICD est importante de par le fort pouvoir pathogène du *C. Difficile* que nous allons développer ci-dessous.

1.3 Physiopathologie

Les bactéries et les spores de *C. Difficile* se retrouvent dans les selles. Le mode de transmission est oro-fécale. La contamination se fait soit par manu portage, soit à partir de l'environnement contaminé. Chez un patient atteint de diarrhée à *C. Difficile*, son environnement est contaminé en 24 h par les spores. Malgré un nettoyage correct, ces derniers peuvent persister pendant des mois dans l'environnement.

La physiopathologie des ICD fait intervenir 3 étapes : [7]

- une étape de contamination par ingestion des spores de *C. Difficile*. Ces spores vont résister à l'acidité gastrique et se transforment en formes végétatives sous l'action des sels biliaires ;
- une étape d'adhésion et de colonisation digestive facilitée par une dysbiose intestinale souvent occasionnée par une antibiothérapie récente et une rupture de l'effet barrière intestinale ;
- une étape de germination et production de toxines.

Les souches toxigènes de *C. Difficile* produisent dans la lumière intestinale des toxines A et B qui sont à l'origine des manifestations cliniques. Ce sont des exotoxines protéiques, létales et cytotoxiques. Les deux toxines détruisent les jonctions serrées des entérocytes par dépolymérisation des filaments d'actine. Cela induit une réaction inflammatoire intense due à une stimulation de la production de cytokines et à un recrutement de polynucléaire au niveau de la lamina propria du tractus digestif à l'origine des diarrhées.

Le pouvoir pathogène des deux toxines est encore débattu. Des études ont été réalisées mais les résultats sont contradictoires : Kuehne *et Al* ont montré que les deux toxines prises séparément peuvent induire le décès des hamsters. [8] Par contre, Lyras *et Al* ont montré que la toxine B serait plus importante dans le développement de la maladie que la toxine A. [9]

1.4 Facteurs de risque

Les facteurs de risque des ICD sont (figure 3) : [10]

- les âges extrêmes de la vie : moins de 6 ans et plus de 65 ans ;
- la prise récente (< 2 mois) d'un antibiotique qui détruit le microbiote intestinal. Les antibiotiques les plus fréquemment associés à une ICD sont la clindamycine, les céphalosporines, l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique et les fluoroquinolones ;
- les antécédents de diarrhées associés aux antibiotiques ;
- une maladie sous-jacente sévère, comorbidité ;
- les affections digestives chroniques ;
- l'immunodépression ;
- les chimiothérapies anticancéreuses (méthotrexate, doxorubicine, cyclophosphamide, 5-fluoro-uracile) ;

- l'ensemble des médicaments entraînant une modification du microbiote intestinal ou de la motilité intestinal (laxatifs, lavements barytés, antiacides, ralentisseur du transit, traitement des maladies inflammatoires de l'intestin, inhibiteurs des pompes à protons (IPP)) ;
- des facteurs liés à l'hospitalisation : durée de séjour, chirurgie, interventions gastro-intestinales, nutrition entérale, promiscuité des patients, densité importante de soins.

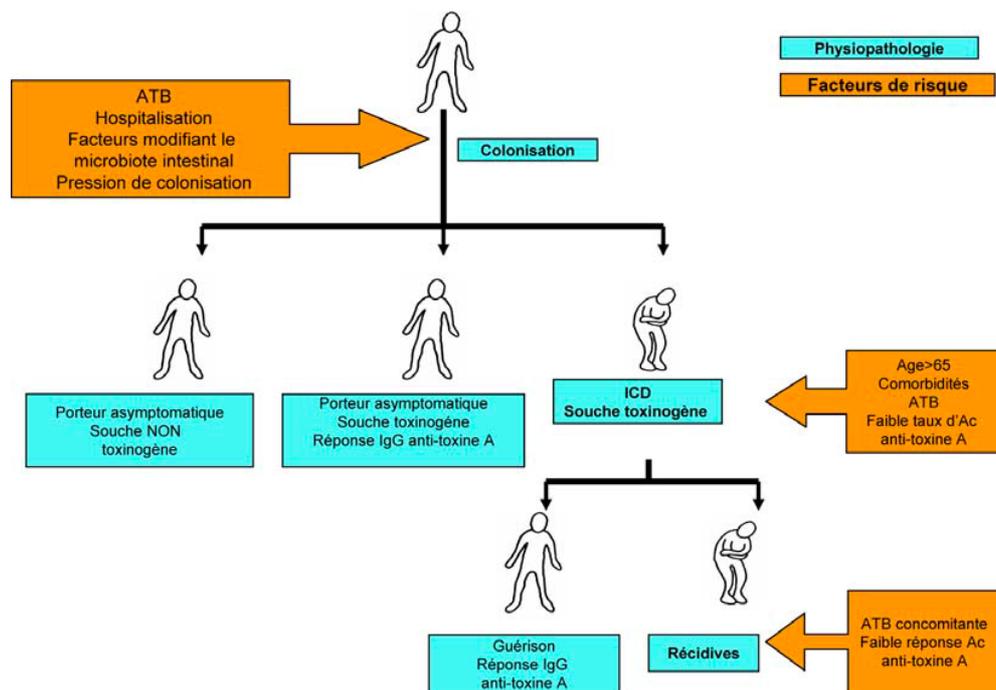


Figure 3 : Représentation schématique des étapes et des facteurs de risque d'ICD. [10]

1.5 Formes cliniques

La contamination par *C. Difficile* présente différentes formes cliniques allant du portage asymptomatique à la colite fulminante. [7]

1.5.1 Portage asymptomatique

C. Difficile est retrouvé de manière asymptomatique chez au moins 3 % de la population saine en milieu communautaire. Le portage asymptomatique de souche toxigènes ou non touche 50% des patients hospitalisés plus de quatre semaines. [11]

1.5.2 Diarrhées simples post antibiotiques

Les symptômes surviennent 3 à 7 jours après le début de l'antibiothérapie et peuvent durer jusqu'à plusieurs semaines dans les cas extrêmes. Les diarrhées post antibiotiques se caractérisent par une diarrhée modérée nauséabonde (c'est-à-dire au moins trois selles non formées par jour, sans glaire ni sang visibles) associée à une fièvre modérée sans altération de l'état général. A l'endoscopie, la muqueuse est d'aspect normal ou érosif. [7]

1.5.3 Colite pseudomembraneuse

La déclaration d'une CPM est grave. Elle débute par une diarrhée liquide abondante (> 7 selles par jour) non sanglante généralement, souvent accompagnée d'une hyperthermie, d'une perte d'appétit, de nausées et de douleurs abdominales. Les bilans sanguins montrent habituellement une hyperleucocytose et un syndrome biologique inflammatoire (élévation de la protéine C réactive (CRP)). A l'endoscopie, la muqueuse est recouverte de plaques surélevées jaunâtres éparses ou confluentes selon le stade de la maladie appelées plaques pseudomembraneuses. Une nécrose superficielle de la muqueuse est observée au niveau de ces plaques (figure 4). [7]



Figure 4 : Aspect de colite pseudomembraneuse à l'endoscopie. [12]

1.5.4 Les complications

Les complications surviennent chez environ 10 % des patients. Les CPM peuvent se compliquer en colite fulminante, mégacôlon toxique et choc septique, potentiellement mortel. Cela nécessite une prise en charge médicochirurgicale urgente. Les colites fulminantes sont caractérisées par une altération majeure de l'état général, une diarrhée profuse, un abdomen tendu et douloureux, une déshydratation pouvant évoluer vers un choc hypovolémique et fréquemment une hyperleucocytose. [7]

1.5.5 Les récurrences

Les fréquences des récurrences des ICD sont élevées. Elles surviennent dans 20 % des cas dans les deux mois suivant l'épisode initial. 40 % des patients présentant une première récurrence feront des récurrences multiples. Les récurrences sont de deux types :

- une rechute liée à la persistance des spores dans le tube digestif malgré un traitement efficace ;
- une réinfection due à l'acquisition plus tardive d'une nouvelle souche de *C. Difficile*.

Les facteurs de risques de récurrences sont :

- un âge supérieur à 65 ans ;
- l'administration concomitante d'antibiotiques ;
- la sévérité de la maladie sous-jacente, la durée d'hospitalisation et une faible réponse immunitaire après un premier épisode.

1.6 Diagnostic

Le diagnostic initial des ICD repose sur la clinique. [7] Il est systématique chez tout patient présentant une diarrhée associée aux soins. La recherche de *C. Difficile* se fait devant toutes selles diarrhéiques survenant à J+3 d'hospitalisation : c'est la « règle des 3 jours ». Le prélèvement s'effectue sur les selles diarrhéiques du patient lorsque les conditions suivantes sont réunies :

- aspect 5, 6, 7 sur l'échelle de bristol (figure 5) ; [13]
- ≥ 3 selles par 24 h ou moins ou émission plus fréquente que d'habitude.

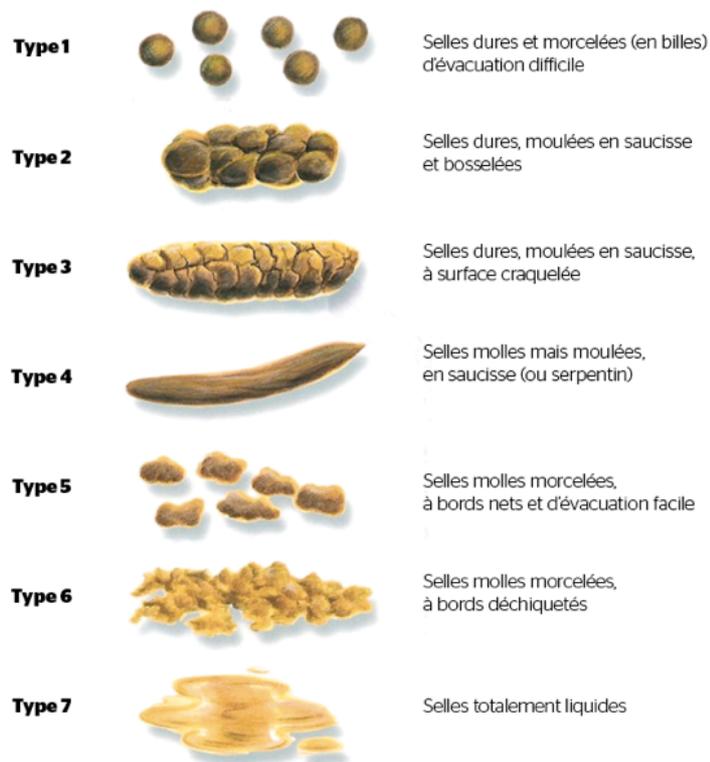


Figure 5 : Consistance des selles selon l'échelle de bristol. [13]

Le prélèvement doit être conservé à + 4°C. En cas d'iléus ou de mégacôlon toxique, la diarrhée peut être absente. Les selles des enfants de moins de 3 ans ne peuvent pas être testées car les nouveaux nés (de 6 mois à 1 an) sont fréquemment porteurs asymptomatiques. Ensuite, ce portage asymptomatique diminue progressivement. [14]

Le diagnostic est rapide, sensible et spécifique permettant ainsi de débiter un traitement adapté à l'ICD et prévenir les infections nosocomiales. Il repose sur la mise en évidence microbiologique de *C. Difficile* dans les selles (soit par la présence de la bactérie ou la détection des toxines) ou la présence de pseudomembranes au cours d'un examen endoscopique ou histologique. [7]

Il est inutile de répéter les tests et d'effectuer des contrôles microbiologiques de guérison. En effet, les spores sont détectables chez 7 % (2/28) des patients à la fin du traitement et une culture est positive chez 56 % (15/27) des patients 1-4 semaines après l'arrêt du traitement selon l'étude de Sethi et al. [15]

1.6.1 Diagnostic microbiologique

Le diagnostic des ICD repose sur l'isolement de *C. Difficile* et sur la détection des toxines dans les selles diarrhéiques (tableau 1). [16]

Tableau 1 : Méthodes de diagnostic microbiologique des infections à *C. difficile* : cibles, points forts et points faibles. [16]

Méthodes	Cibles	Points forts	Points faibles
Culture toxigénique	• Isolement de la souche et détermination de la production de toxines in vitro	• Méthode de référence • Très sensible • Possibilité de faire un antibiogramme • Surveillance de la sensibilité aux antibiotiques • Possibilité de réaliser un typage • Détection de l'émergence de nouveaux clones	• Long (2-4 jours), en 2 étapes • Spécificité bonne mais imparfaite (portage de souches toxigènes dont les gènes codant pour les toxines ne sont pas activés in vivo mais le sont in vitro après culture) • Pour la détection des toxines, nécessité de tester plusieurs colonies car co-infections possibles
Test de cytotoxicité	• Toxine B (et toxine A)	• Méthode de référence • Très sensible • Très spécifique (détection de la production de toxine in vivo)	• Long (1-2 jours) • Non standardisé • Infrastructure de laboratoire adaptée à la culture cellulaire • Neutralisation possible de l'effet cytopathogène
Test immuno-enzymatique (EIA) détectant la GDH	• Enzyme métabolique (glutamate déshydrogénase)	• Rapide (30 min) • Simple • Très sensible • VPN $\geq 97\%$ pour une prévalence $\leq 20\%$ ^{11,12} • Bonne corrélation avec la culture ¹¹	• Manque de spécificité (76% en comparaison avec la culture toxigénique) ¹¹ • Faible VPP ¹¹ • Doit être couplé à la recherche de toxine • Détecte les souches toxigènes et non toxigènes
Test immuno-enzymatique (EIA) détectant les toxines A ou A+B	• Toxines A ou A+B	• Rapide (30 min) • Simple • Très spécifique (97%) ¹¹ • Préférer les tests de 2 ^e génération qui détectent les toxines A et B, car émergence des souches A ⁻ B ⁺ (1,5-10%) ¹⁴	• Peu sensible (52-66%) ¹¹ • La VPP est insuffisante en cas de faible prévalence; doit être utilisé en combinaison avec un autre test ¹¹ • Coûteux
Biologie moléculaire (PCR)	• Gènes <i>tcdA</i> codant pour la toxine A et/ou <i>tcdB</i> codant pour la toxine B	• Rapide (2 heures) • Très sensible ¹¹ • Détecte les gènes codant pour les toxines • Certains tests donnent une identification présomptive du clone 027	• Spécificité bonne mais imparfaite (portage de souches toxigènes dont les gènes codant pour les toxines ne sont pas activés; 3%) ¹⁵ • Coûteux • Nouveaux clones émergents hypervirulents non détectés

1.6.1.1 Mise en évidence de *C. Difficile* dans les selles

Dans les selles, on peut détecter le *C. Difficile* soit par la culture soit par la mise en évidence du glutamate déshydrogénase (GDH). [17]

- La culture

La culture est la technique la plus sensible mais présente l'inconvénient d'être une technique longue. Elle permet également un typage des souches mais ne différencie pas les souches toxigènes des souches non toxigènes.

- La mise en évidence de la GDH

La GDH est une enzyme produite par *C. Difficile*. Elle est détectée par un test immuno-enzymatique directement dans les selles. Cette méthode présente une valeur prédictive négative (VPN) de plus de 99 % permettant ainsi d'écarter les négatifs. En revanche, un résultat positif devra être confirmé par un deuxième test de recherche de toxine.

1.6.1.2 Mise en évidence d'une souche toxigène

- La culture toxigénique

La culture toxigénique se fait en 2 étapes : une souche de *C. Difficile* en culture est isolée puis son pouvoir toxigène est déterminé soit par le test de cytotoxicité, soit par des méthodes immuno-enzymatiques, soit par PCR détectant les gènes des toxines. Plusieurs colonies doivent être testées car des coïnfections avec des souches non-toxigènes et toxigènes sont possibles.

Cette méthode est sensible, peu spécifique et longue mais elle permet le typage des souches et la réalisation d'un antibiogramme ce qui présente un avantage.

1.6.1.3 Mise en évidence des toxines libres dans les selles

Les toxines de *C. Difficile* peuvent être mise en évidence dans les selles par un test de cytotoxicité, par un test immuno-enzymatique ou par la biologie moléculaire.

- Le test de cytotoxicité :

Ce test consiste à mettre en évidence l'effet cytopathogène de la toxine B à partir d'un filtrat de selles déposé sur une culture cellulaire. Il présente une bonne sensibilité et spécificité mais cette dernière nécessite une confirmation par des tests de neutralisations à l'aide d'un antisérum de *C. Difficile* ou *C. Sordelli*. La réalisation du test de cytotoxicité présente certains inconvénients : elle est longue (24 à 48 heures) et nécessite une infrastructure adaptée. Il existe un défaut de standardisation entre les laboratoires.

- Le test immuno-enzymatique :

Rapide (20 min) et simple, ce test permet de dépister soit les toxines A soit les deux toxines A et B. Il présente une bonne spécificité (supérieure à 95 %) mais sa sensibilité est plus faible que celle du test de cytotoxicité.

- Les techniques de biologie moléculaire :

Le gène de la toxine B est détecté à partir de selles grâce à des tests de PCR. Cette méthode est sensible et rapide mais manque de spécificité avec une possible détection de porteur asymptomatique. De plus, elle reste coûteuse.

1.6.2 Diagnostic endoscopique

Le test endoscopique manque de sensibilité. Les pseudomembranes ne sont pas systématiques en cas d'ICD modérées ou au début de la maladie. Donc, un résultat négatif ne peut pas exclure une CPM ou une ICD. De plus, ce test est invasif et il y a un risque de perforation en cas de colite fulminante. Le diagnostic endoscopique est réservé pour confirmer une ICD lorsque les tests du laboratoire ne sont pas concluants ou pour exclure d'autres pathologies qui pourraient coexister. [17]

1.6.3 Quelle stratégie utiliser pour le diagnostic?

Le diagnostic des ICD doit combiner : sensibilité, spécificité, rapidité et moindre coût. Selon les pays, plusieurs algorithmes existent (figure 6). Majoritairement, les diagnostics reposent d'abord sur un premier test ayant une excellente VPN : la détection de GDH. Si le résultat est négatif, le diagnostic d'ICD sera exclu. Si le résultat est positif, le diagnostic d'ICD sera confirmé par un des deux tests de référence, soit par le test de cytotoxicité, soit par la culture toxigénique. [17]

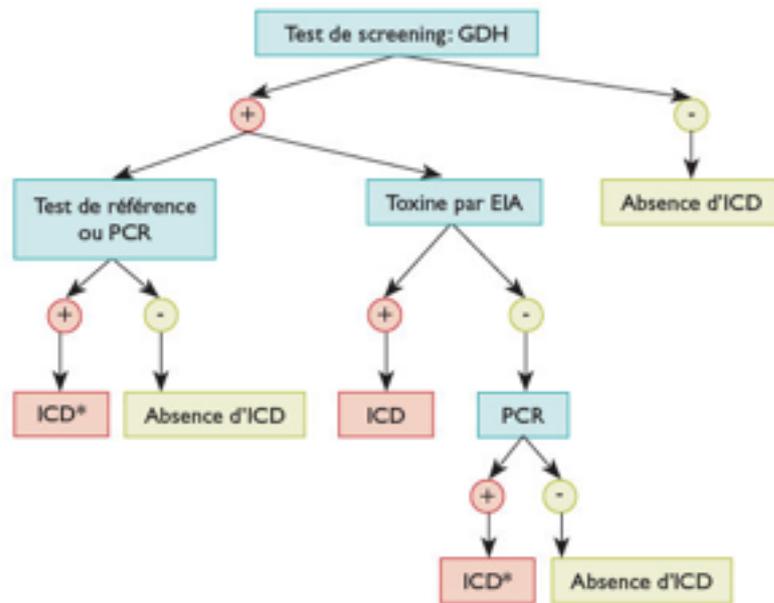


Figure 6 : Algorithme de diagnostic des ICD. [17]

L'incidence et les récives des ICD sont très élevées d'où l'importance de trouver une thérapeutique efficace et rapide.

1.7 Traitement

Le traitement des ICD repose d'abord sur quelques mesures générales : [18]

- correction des troubles hydro-électrolytiques et réhydratation ;
- arrêt ou changement de l'antibiothérapie ;
- arrêt des ralentisseurs de transit et des IPP ;
- traitement d'emblée si suspicion d'ICD ;
- mesures d'hygiène pour éviter la propagation (isolement du patient, limitation des déplacements, signalétique sur la porte, hygiène des mains, matériel à usage unique, gestion des déchets, désinfection à la javel de la chambre).

Les schémas thérapeutiques varient en cas de premier épisode ou de récive.

1.7.1 Traitement du 1^{er} épisode

Le schéma thérapeutique en cas de premier épisode est présenté dans le tableau n°2.

Tableau 2 : Schéma de la prise en charge des premiers épisodes d'ICD selon l'état de l'infection d'après les recommandations de l'ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) pour le traitement des ICD. [20]

1 ^{er} épisode (dure environ 6 jours)	
Forme légère à modéré : Leucocyte < 15 G/l et créatinémie < 1.5 x valeur de base	En l'absence de facteur de risque de récurrence <ul style="list-style-type: none"> • Première intention = métronidazole PO 500mg 3 fois par jour pendant 10 jours <ul style="list-style-type: none"> ○ Si évolution défavorable et/ou persistance après 3-5 jours : switch vancomycine PO 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours • Seconde intention : si contre-indication au métronidazole, on donne de la vancomycine PO 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours <ul style="list-style-type: none"> ○ Si évolution défavorable et/ou persistance après 3-5 jours : avis spécialisé • En présence de facteur de risque initiaux de récurrence : population ciblée <ul style="list-style-type: none"> ○ Première intention = fidaxomicine PO 200mg 2 fois par jour pendant 10 jours
Forme sévère : Leucocyte > 15 G/l et créatinémie > 1.5 x valeur de base	<ul style="list-style-type: none"> • vancomycine PO 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours
Formes compliquées : hypotension, lléus, mégacôlon toxique, choc septique. VO impossible	<ul style="list-style-type: none"> • métronidazole IV 500mg/8h + vancomycine voie entérale (lavement ou sonde nasogastrique) 500mg 4 fois par jour pendant 10 jours + consultation spécialisée • Si échec : traitement par vancomycine + injection immunoglobulines polyvalente 200 à 400 mg/Kg dose unique ou répétés, • Chirurgie de sauvetage (colectomie) en cas de colite fulminante avec choc (mortalité importante).

PO = per os, IV = intraveineuse, VO = voie orale

Le traitement par vancomycine est plus efficace pour les ICD sévères mais reste coûteux et entraîne un risque de sélection plus élevée des entérocoques résistants à la vancomycine. Ce traitement est donc préféré pour les patients non répondeurs ou ayant une intolérance au métronidazole.

La Fidaxomicine (Dificlir®) est un nouvel antibiotique de la classe des macrocycliques. Il possède un spectre d'activité étroit (bactéries à Gram positif) et une faible absorption digestive. Deux études internationales randomisées en double aveugle de phase III ont démontré que le taux de guérison est équivalent au traitement de référence par vancomycine (88,2 % vs 85,6 %, respectivement) mais que le risque de récurrence sous 28 jours diminue sous fidaxomicine (15,4 % vs 25,3 %). De plus, une diminution du temps de résolution de la diarrhée et une moindre sélection d'entérocoques résistants à la vancomycine sont remarquées. [19]

1.7.2 Traitements des récurrences

Le schéma thérapeutique en cas de récurrence est présenté dans le tableau n°3.

Tableau 3 : Schéma de la prise en charge d'une première récurrence d'ICD d'après les recommandations de l'ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) pour le traitement des ICD. [20]

Première récurrence (dans les 8 premières semaines après l'épisode initial)

- **Traitement alternatif : métronidazole ou vancomycine**
 - **Fonction de l'efficacité du premier traitement ou de la tolérance**
 - **ou bithérapie par vancomycine + métronidazole en PO ou IV si forme grave**
- Si présence d'au moins un facteur sur les 3 facteurs de risques connus de récurrence et absence de forme grave : **fidaxomicine PO 200mg 2 fois par jour pendant 10 jours**
- **Transplantation fécale**

PO = per os, IV = intraveineuse

Lors d'une seconde récurrence, le traitement va différer (tableau 4).

Tableau 4 : Schéma de la prise en charge d'un deuxième récurrence d'ICD d'après les recommandations de l'ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) pour le traitement des ICD. [20]

Deuxième récurrence

- vancomycine PO à posologie dégressive : 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours, 125mg 2 fois par jour pendant 10 jours, 125mg/j pendant 10 jours, 125mg tous les 2 jours pour 7 jours, 125mg tous les 3 jours pour 14 jours
- fidaxomicine PO 200mg 2 fois par jour pendant 10 jours
- Transplantation fécale

PO = per os

Des critères cliniques (symptomatologie digestive) et biologiques (diminution de la CRP) permettent de juger de l'efficacité du traitement. De plus, il n'est pas nécessaire d'effectuer des coprocultures de contrôle.

1.7.3 Autres approches thérapeutiques

Dans la prise en charge des ICD, il existe d'autres approches thérapeutiques telles que l'injection de gammaglobulines humaines, d'anticorps monoclonaux, de probiotiques ou même la vaccination et enfin la transplantation de microbiote fécale. [7]

- Les injections intraveineuses (IV) de gammaglobulines polyvalentes humaines

Les injections IV de gammaglobulines polyvalentes humaines riches en anticorps antitoxines A et B peuvent être utilisées pour traiter les formes compliquées d'ICD en association avec la vancomycine. Le mécanisme d'action est mal connu mais consiste en un passage dans la lumière intestinale d'immunoglobuline G (IgG) antitoxines, secondaire à l'inflammation colique. Le succès thérapeutique varie de 43 à 100 % selon le protocole choisi (posologie, rythme et délai d'administration varient).

- Des anticorps monoclonaux antitoxines A et B

Des anticorps monoclonaux antitoxines A et B peuvent également être utilisés pour la prévention secondaire des ICD. Une étude chez les patients traités par vancomycine ou métronidazole a comparé deux groupes : un ayant reçu une perfusion d'anticorps et l'autre un placebo. Les résultats ont mis en évidence un taux de récurrence de 7 % dans le groupe ayant reçu des anticorps vs 25 % dans le groupe placebo. Donc, le traitement par anticorps semble efficace pour le traitement d'un premier épisode de récurrence ou de multiples récurrences. [21]

- L'administration de probiotiques

L'administration de probiotiques comme *Saccharomyces boulardii* (1 gramme par jour pendant 4 semaines) en association avec des antibiotiques pour traiter les ICD a démontré son efficacité. En effet, dans une étude versus placebo, la co-administration de l'antibiothérapie standard (vancomycine ou métronidazole) et de probiotique diminue de 50 % le taux de récurrence. [22]

Saccharomyces boulardii entraînerait une protéolyse des toxines A et B de *C. Difficile* et de leurs récepteurs et stimulerait la réponse immunitaire des antitoxines A.

- La vaccination

La vaccination pour prévenir les récurrences d'ICD après un premier épisode est en essai de phase II en Angleterre et aux Etats-Unis d'Amérique. Cette vaccination repose sur l'utilisation d'anatoxine.

- La Transplantation de microbiote fécale. Cette nouvelle approche thérapeutique sera détaillée dans la troisième partie.

1.8 Les mesures de prévention

Ces mesures de prévention permettent de diminuer la dissémination et la prévalence des infections en milieu hospitalier. Elles s'appuient sur quelques règles simples :

- l'isolement géographique des patients infectés et présentant une incontinence fécale pendant la durée de l'épisode diarrhéique ;
- l'utilisation rationnée des antibiotiques ;
- la désinfection quotidienne des locaux ;
- le renforcement de l'hygiène des mains : port de gants systématique pour tout contact avec un patient infecté ou son environnement proche, lavage des mains après le retrait des gants à l'eau savonneuse ou solution hydro alcoolique.

Pour la prévention des ICD dans les unités de soins, il existe des recommandations fournies par les établissements hospitaliers et les institutions qui sont disponibles sur leur site internet. De même, il est retrouvé sur le site de l'agence régionale de la santé (ARS) des Hauts-de-France un document sur la « Conduite à tenir devant un phénomène infectieux » [23]).

Dans la deuxième partie, il est important de définir ce qu'est le microbiote intestinal pour comprendre l'intérêt de la transplantation de microbiote fécale dans les ICD.

2 Le Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal est un écosystème complexe qui peut être considéré comme un organe à part entière car tous les micro-organismes qui le colonisent sont responsables de nombreuses fonctions essentielles au maintien de notre santé.

Dans cette seconde partie, la composition, les fonctions du microbiote, la définition et la prise en charge d'une dysbiose seront expliquées.

2.1 Description du microbiote intestinal [24]

Le microbiote est l'ensemble des micro-organismes qui peuplent notre tube digestif. Il est composé de 100 000 milliards de bactéries soit 10 à 100 fois le nombre de cellules de notre organisme. [25] Cela représente un génome bactérien d'environ 10^8 gènes soit 100 à 150 fois le génome humain. De plus, il participe pour 40 % au poids fécal et pèse entre 1 et 2 kg. Selon ces estimations, l'homme serait donc constitué à 90 % de bactéries.

Le microbiote intestinal est qualitativement et quantitativement variable le long du tractus digestif avec des densités bactériennes différentes :

- 10^3 dans le duodénum ;
- 10^5 dans le jéjunum ;
- 10^8 dans l'iléon ;
- 10^{12} dans le colon (décrit à partir d'échantillon de selles, ce qui correspond au microbiote fécal).

Le microbiote intestinal varie transversalement entre la lumière et la muqueuse intestinale. Les bactéries sont soit structurées en biofilm si elles sont associées à la muqueuse intestinale soit sous forme libre ou fixées aux particules alimentaires au niveau de la lumière intestinale. [24]

Sa composition est également variable selon les individus, l'âge, les périodes de la vie. A chaque individu correspond son « code barre » bactérien unique et stable. [24]

Plusieurs facteurs contrôlent la flore intestinale comme le pH dans la lumière colique, le potentiel redox, les sels biliaires, le mucus, les défensines (famille de peptides antimicrobiens impliqués dans l'immunité), le système immunitaire associé à l'intestin. [26]

A la naissance, l'intestin du nouveau-né est stérile, il est colonisé dès les premiers jours de la vie en rentrant en contact avec des bactéries de la flore fécale et vaginale maternelle lors de l'accouchement par voie basse ou de la flore cutanée lors d'une césarienne. Puis sous l'influence du mode d'alimentation (allaitement ou lait infantile), de la diversification

alimentaire, du niveau d'hygiène, de la génétique, des traitements médicaux (prise d'antibiotiques par la mère ou l'enfant) et de l'environnement, sa composition va évoluer vers un microbiote individuel unique pendant les premières années de la vie. Par la suite, vers l'âge de deux voire quatre ans, il deviendra stable et proche de celui de l'adulte. [26]

A partir de 65 ans, le microbiote intestinal se modifie. Il perd en stabilité et augmente en complexité. Les principaux facteurs de modifications sont la consommation de médicaments (antibiotiques, laxatifs, IPP, anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) ...), les modifications physiologiques digestives liées à l'âge (ralentissement du transit), la diminution de la diversification alimentaire, l'altération de la composition chimique du mucus avec l'âge. [26]

La composition du microbiote n'est pas entièrement définie. En effet, seul 30 % des micro-organismes qui la composent sont identifiés car la majorité des espèces est anaérobie et seulement 20 % sont cultivables par les méthodes bactériologiques classiques. De nouvelles techniques de séquençage de l'ARN 16S et de tout l'ADN bactérien ont permis d'identifier de nouvelles espèces. [27]

Chez les individus, il est possible de distinguer trois groupes ou « entérotypes » selon la nature des espèces qui prédominent dans leur microbiote (figure 7) : Bactéroïdes, Prevotella et Ruminococcus (bactéries du genre Clostridia). [27]

Environ 1/3 des espèces sont communes à la plupart des individus, c'est le noyau central, et 2/3 sont spécifiques à l'hôte, c'est son identité méta génomique. Le microbiote est composé également d'un microbiote fongique, regroupant les champignons et les levures, et d'un virome, qui modifient le patrimoine génétique ou l'expression des bactéries intestinales.

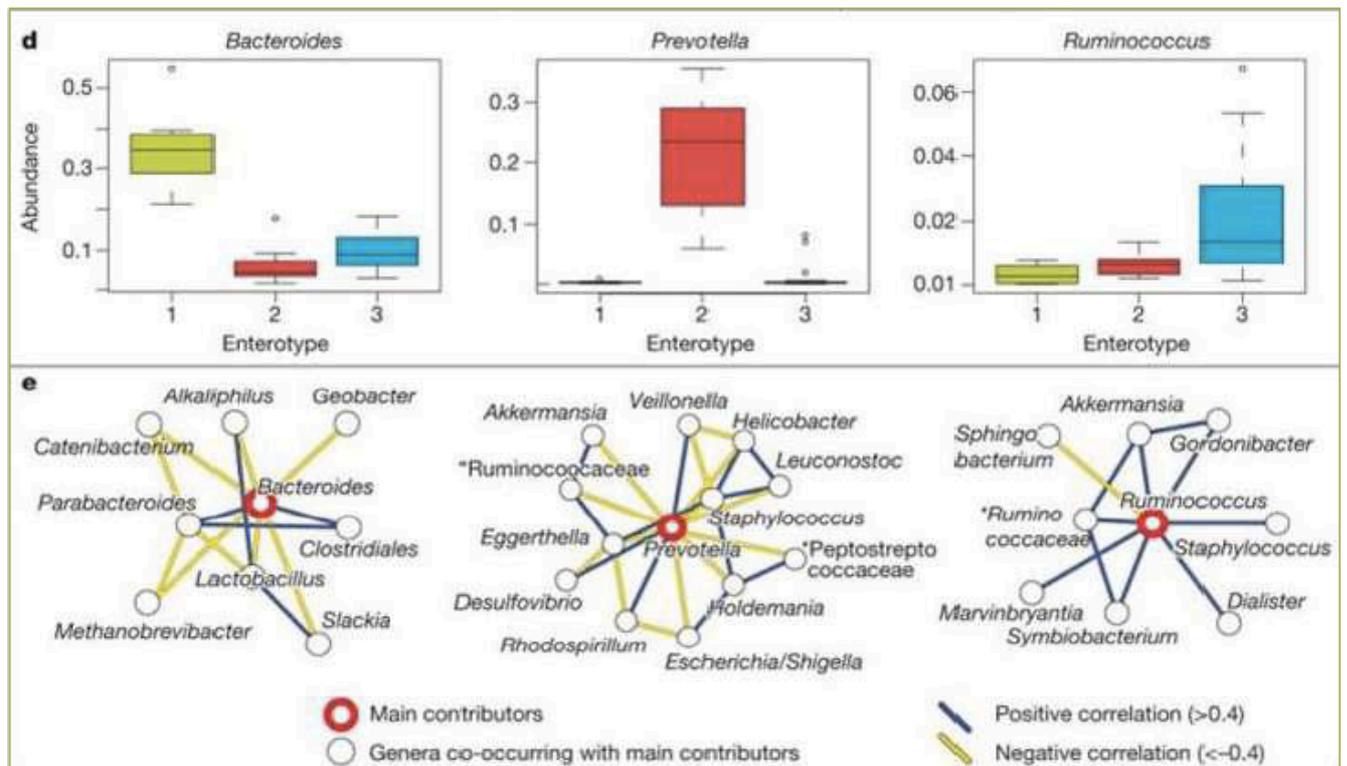


Figure 7 : Les entérotypes prédominant chez les individus. [27]

2.2 Fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal joue un rôle majeur dans les fonctions digestives, métaboliques, immunitaires et neurologiques. [28] Il assure son propre métabolisme en puisant ses sources d'énergie dans les glucides et les protéines d'origine alimentaire non digérées dans la partie supérieure du tractus digestif et dans les sécrétions endogènes (mucopolysaccharides, débris cellulaires, enzymes, stérols, ...).

2.2.1 Une fonction digestive

Le microbiote participe à la maturation du tube digestif et contribue à définir l'épaisseur de la muqueuse intestinale, la taille des villosités, la production de mucus, la vascularisation épithéliale et l'activité enzymatique de la muqueuse. Il possède également un rôle similaire à celui d'une barrière.

2.2.2 Les fonctions métaboliques

Les bactéries du microbiote jouent un rôle direct dans la digestion en :

- assurant la fermentation des substrats et des résidus alimentaires non digestibles ;
- facilitant l'assimilation des nutriments grâce à ses enzymes ;
- assurant l'hydrolyse de l'amidon, de la cellulose, des polysaccharides ... ;
- participant à la synthèse de certaines vitamines (vitamines K, B12, B8) ;
- régulant plusieurs voies métaboliques : dégradation du cholestérol (figure 8), absorption des acides gras, du calcium, du magnésium ...



Figure 8 : Bactérie intestinale dégradant le cholestérol vue par microscope électronique.

[28]

2.2.3 Les fonctions immunitaires

Le microbiote joue un rôle essentiel dans la maturation du système immunitaire intestinal, la régulation de la réponse immunitaire et la protection contre les pathogènes extérieurs en empêchant leurs implantations et leurs multiplications. De plus, il a été démontré que chez les animaux sans microbiote (dits axéniques), le système immunitaire est moins développé. Il a été prouvé aussi que certaines bactéries possèdent la capacité de prévenir le développement de maladies inflammatoires tandis que d'autres bactéries sont capables de susciter l'inflammation. Le microbiote peut donc commander des réponses pro- et anti-inflammatoires. Ceci souligne l'importance de la diversité des bactéries du microbiote. En effet, cette diversité évite la colonisation du tractus digestif par une seule espèce bactérienne, colonisation qui serait alors pathogène.

2.2.4 Les fonctions neurologiques

Le système nerveux qui commande l'intestin contient 200 millions de neurones. Parmi ces neurones, 80 % sont afférents, c'est-à-dire qu'ils véhiculent l'information dans le sens intestin-cerveau.

Le microbiote a donc un rôle polyvalent sur l'organisme. Il est donc logique de se demander si une dysfonction de ce microbiote intervient dans les maladies métaboliques (diabète, obésité), dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (maladie de Crohn et rectocolite hémorragique) et/ou dans les maladies neuropsychiatriques (autisme, schizophrénie, anxiété, dépression, troubles bipolaires).

2.3 La dysbiose

Une dysbiose est un déséquilibre qualitatif et fonctionnel de la flore intestinale entraînant une perte de l'effet barrière. Elle pourrait donc être un facteur de prédisposition à certaines maladies. Les liens étroits qui ont été établis entre le microbiote et l'inflammation intestinale, entre le microbiote et le système immunitaire et entre le microbiote et le cerveau pourraient expliquer certaines situations pathologiques.

Il existe plusieurs pistes thérapeutiques pour modifier la composition du microbiote :

- l'alimentation. Certains aliments favorisent le développement de bactéries bénéfiques pour la flore intestinale ;
- les antibiotiques visant les bactéries néfastes. Cependant, un traitement antibiotique ne peut pas être utilisé en traitement chronique à cause de la pression de sélection qu'il entraîne ;
- les probiotiques qui sont des micro-organismes vivants (bactéries ou levures tels que *Bifobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L casei*, *Saccharomyces*), non pathogènes capable de restaurer la flore intestinale que l'on prend par voie orale ;
- les prébiotiques qui sont des composants alimentaires non digestibles, utiles à la croissance ou à l'activité de certaines populations bactériennes ;
- les symbiotiques qui combinent pré et probiotiques ;
- la transplantation fécale qui repose sur la réintroduction d'un microbiote complet et sain. Ce dernier est préparé à partir des selles d'un donneur et introduit dans l'intestin du malade par sonde, coloscopie ou lavement. Ce traitement permet de normaliser le microbiote perturbé du receveur et de rétablir ses fonctions indispensables.

La transplantation fécale suscite un grand intérêt dans le monde médical. C'est une nouvelle approche thérapeutique dans la prise en charge des maladies. Elle a fait l'objet de plusieurs études notamment pour le traitement des ICD où elle a démontré son efficacité.

Dans la troisième partie, je vais aborder plus en détail cette nouvelle approche thérapeutique.

3 La transplantation de microbiote fécal

3.1 Indications de la transplantation de microbiote fécal

La transplantation de microbiote fécal (TMF) est fortement envisagée pour la prise en charge d'une ICD : [29]

- récurrente (plus de 3 épisodes de diarrhée d'intensité légère à modérée), réfractaire aux traitements par la vancomycine à posologie régressive pendant 6 à 8 semaines associée ou non à un autre antibiotique ;
- récurrente avec au moins 2 épisodes de diarrhée grave ayant entraîné une hospitalisation et associé à une morbidité importante ;
- fulminante ou grave ne répondant pas au traitement standard après 48 heures.

Elle est suggérée pour les ICD modérées ne répondant pas au traitement standard par vancomycine pendant une semaine.

3.2 Le statut de la transplantation

Le statut de la transplantation a fait l'objet de recommandation par l'Agence nationale de sécurité du médicament (ANSM) en 2014. [30] Le code de la Santé Publique ne prévoit pas de statut particulier pour le microbiote fécal. Toutefois, dans la mesure où le microbiote fécal est utilisé à visée curative à l'égard des maladies humaines, il doit être considéré comme un médicament conformément à l'article L. 5111-1 du code de la Santé publique. Un médicament est défini comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. ».

De plus, à ce stade précoce du développement de ce produit et en l'absence d'autorisation de mise sur le marché, celui-ci peut être utilisé dans le cadre législatif et réglementaire

applicable aux préparations magistrales et hospitalières (article L. 5121-1 du code de la Santé Publique), ou aux médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique (article L. 5121-1-1 du même code).

Au niveau international, le statut du microbiote fécal est différent selon les pays : aux Etats-Unis, la Food Drug administration (FDA) le considère comme un médicament alors que certains états membres de l'Union Européenne (Royaume-Uni, Danemark et Pays-Bas) le considère comme un tissu.

L'établissement de santé voulant effectuer une TMF doit déposer à l'ANSM une demande d'essai clinique et un dossier du médicament expérimental où l'ensemble de la procédure sera décrit. L'ANSM autorisera ou non la TMF.

3.3 Le donneur

La transplantation de microbiote fécale consiste en une succession d'étapes à réaliser dans un temps imparti (figure 9). [30]

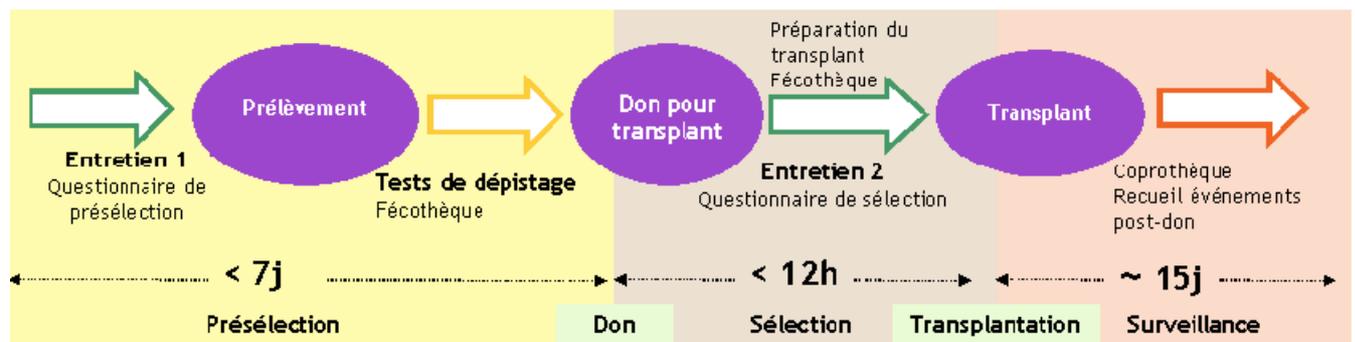


Figure 9 : Chronologie (versant « donneur ») de la transplantation fécale selon l'ANSM.

[30]

Ces étapes sont :

- l'analyse des antécédents médicaux du donneur grâce à un questionnaire de pré-sélection au cours d'un premier entretien médical (tableau 5 et annexe 1) ;
- l'analyse des tests sanguins et des tests sur les selles afin d'éviter le risque d'une transmission d'agents pathogènes (annexe 2) ;
- la sélection définitive du donneur au cours d'un deuxième entretien médical ;
- le consentement du donneur et du receveur (annexe 3).

La première étape est le choix du type de donneur.

3.3.1 Choix du donneur

Le candidat au don peut soit avoir un lien avec le receveur (parent proche ou partenaire) ou soit être anonyme. L'ANSM dans ces recommandations préconise le choix d'un donneur anonyme car les principes généraux régissant le don et l'utilisation des éléments et produits du corps humain doivent s'appliquer ici et notamment l'anonymat du don (cf. art. 16 et suivants du Code civil, art. L. 1211-5 du Code de Santé Public (CSP) pour les produits du corps humain et art. L. 1221-7 du CSP pour le sang). [30]

3.3.2 Premier entretien médical

Après le choix du type de donneur, une série d'étape permettra de sélectionner un donneur compatible.

L'équipe médicale analyse les antécédents médicaux du donneur grâce à un questionnaire de pré-sélection qui repose d'une part sur celui prévu pour le dépistage dans le cadre du don du sang complété d'autre part par un autre questionnaire spécifique au don de selles afin de détecter tous risques éventuels de transmission d'agents infectieux. Selon les résultats du questionnaire de pré-sélection, l'investigateur de la transplantation va décider si le candidat peut poursuivre ou non les démarches. [30]

Tableau 5 : Questionnaire de présélection (spécifique au don de selles) selon l'ANSM. [30]

INFORMATIONS	CRITERES DE NON INCLUSION ABSOLUE	CRITERES DE NON INCLUSION « RELATIVE » (à justifier)
Co-morbidités	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Donneur avec une pathologie chronique connue ▪ Antécédent de fièvre typhoïde ▪ Troubles digestifs (diarrhée aiguë ou chronique) dans les 3 mois précédant le don 	Donneurs avec antécédents familiaux : <ul style="list-style-type: none"> - MICI (lien de parenté) - maladies auto-immunes (lien de parenté) - cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)
Traitement médicamenteux	Donneur suivant un traitement curatif au long cours	Donneur traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don ³
Voyages	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Séjour en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don ▪ Résidence de plusieurs années en zone intertropicale ▪ Hospitalisations à l'étranger de plus de 24h dans les 12 derniers mois (y compris membres de l'entourage du donneur)¹ 	
Âge	Donneur mineur ²	Donneur âgé (>65 ans) ⁴
Statut pondéral	Non limitant mais 	Donneur avec IMC>30 ⁵

¹ Afin d'éviter le portage de bactéries multirésistantes - cf. Recommandations pour la prévention de la transmission croisée des «Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe), Haut Conseil de Santé Publique, Juillet 2013

² En l'absence d'arguments scientifiques, il convient de ne pas inclure les mineurs, en application des principes généraux régissant le don et l'utilisation des éléments et produits du corps humain (art. L. 1241-2 du CSP) et de l'art. L. 1121-7 du CSP applicable dans le cadre des recherches biomédicales

³ Pour des raisons d'efficacité : le microbiote pouvant être altéré

⁴ Chez le sujet âgé d'une part, le microbiote peut être modifié et d'autre part, le risque de co-morbidités est plus important

⁵ D'une part, les personnes obèses présentent un microbiote modifié et d'autre part, de premiers résultats précliniques ont montré qu'il est possible de transférer via le microbiote des pathologies telles que l'obésité et le diabète

3.3.3 biologique: agents pathogènes à rechercher [30]

Si à l'issu du premier entretien, l'investigateur décide d'inclure le candidat, celui-ci va subir des tests de dépistage de maladies transmissibles par le sang et les selles (tableau 7). Le donneur devra donc fournir suite à cet entretien un échantillon de sang et de selles.

3.3.3.1 Dépistages dans le sang

Les examens réalisés sur l'échantillon de sang sont :

- numération de la formule sanguine (NFS) ;
- sérologie virale : virus de l'immunodéficience humaine (VIH), virus des hépatites B et C (VHB ET VHC), cytomégalovirus (CMV), Epstein Barr virus (EBV), virus T-lymphotropique humain ;
- sérologie bactérienne de *Treponema pallidum* ;
- sérologie parasitaire du *Toxoplasma gondii*, *Trichinella*, *Strongyloïdes stercoralis*.

3.3.3.2 Dépistages dans les selles

Les examens réalisés sur l'échantillon de selles sont :

- sérologie virale : Adénovirus, Astrovirus, Calcivirus, Picomavirus, Rotavirus, Virus des hépatites A et E ;
- sérologie bactérienne : *Clostridium difficile*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus*, *Salmonella*, *Shigella*, Bactéries multi résistantes aux antibiotiques ;
- sérologie parasitaires : *Strongyloides stercoralis*, *Cryptosporidium sp*, *Cyclospora sp*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Isoospora sp*, *Microsporidies*.

Tableau 6 : Listes des agents infectieux à dépister chez le donneur selon l'ANSM. [30]

Toute dérogation à cette liste devra impérativement être justifiée.

	SANG	SELLES
Bactéries	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Treponema pallidum</i> 	Coproculture standard et orientée: <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Clostridium difficile</i> ▪ <i>Listeria monocytogenes</i> ▪ <i>Vibrio cholerae</i> / <i>Vibrio parahemolyticus</i> ▪ <i>Salmonella</i> ▪ <i>Shigella</i> ▪ Bactéries multirésistantes aux antibiotiques
Virus ¹	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Virus de l'immunodéficience humaine (HIV)² ▪ Virus T-lymphotropique humain (HTLV) ▪ Virus des hépatites B et C (HVB² HVC²) ▪ Cytomégalovirus (CMV) / Virus Epstein-Barr (EBV)³ 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Adénovirus ▪ Astrovirus ▪ Calcivirus (norovirus, sapovirus) ▪ Picornavirus (entérovirus, Virus Aichi) ▪ Rotavirus ▪ Virus des hépatites A et E
Parasites	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Strongyloïdes stercoralis</i> ▪ <i>Toxoplasma gondii</i>³ ▪ <i>Trichinella sp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Strongyloïdes stercoralis</i> ▪ <i>Cryptosporidium sp.</i> ▪ <i>Cyclospora sp.</i> ▪ <i>Entamoeba histolytica</i> ▪ <i>Giardia intestinalis</i> ▪ <i>Isospora sp.</i> ▪ <i>Microsporidies</i>

¹Les virus sont recherchés dans les selles à l'aide de tests de biologie moléculaire par PCR

²Charge virale (PCR) en plus de la sérologie

³Uniquement pour vérifier l'absence de séro-discordance avec le receveur

3.3.4 Deuxième entretien médical [30]

Le don aura lieu au maximum 7 jours après la pré-sélection du donneur. Le laps de temps entre le dépistage et le don doit être le plus court possible pour minimiser le risque de contamination entre les tests et le don. Le jour effectif du don, un deuxième entretien médical est nécessaire accompagné d'un second questionnaire « allégé » afin de détecter d'éventuelles symptômes d'infection (fièvre, diarrhée, vomissement) (tableau 8). En l'absence d'événement particulier, le donneur pourra être définitivement inclus.

Tableau 7 : Questionnaire de sélection (événements depuis la visite de présélection) selon l'ANSM. [30]

CRITERES DE NON INCLUSION	INCLUSION SUR LA BASE D'UNE APPRÉCIATION INDIVIDUELLE
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Episode de diarrhée (>3 selles molles à liquide /j) chez le donneur ou les membres de son entourage ▪ Situations à risque de contamination : <ul style="list-style-type: none"> - Voyage à l'étranger - Contact avec du sang humain (piercing, tatouage, piqûre, plaie, projection, soins dentaires...) - Comportement sexuel à risque - Présence de lésions anales (afin de limiter le risque de transmission du virus du papillome humain et des virus de l'herpès) 	<p>Recherche des événements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Consultation médicale (motif) ▪ Maladie contractée (laquelle, date et durée) ▪ Prise de médicaments (lesquels, date de la dernière prise)

3.3.5 Préparation du donneur

Pour que le donneur fournisse suffisamment de selles le jour du don, il est possible de lui administrer un laxatif doux (hydroxyde de magnésium ou citrate de magnésium) la veille de la transplantation. Par ailleurs, 5 jours avant la transplantation, il devra exclure de son alimentation tous les aliments dont le receveur peut-être allergique.

3.4 Préparation de la transplantation [31]

L'ANSM stipule dans son rapport que le protocole de fabrication de la suspension fécale doit garantir le maintien de la qualité du don et l'absence de contamination depuis son obtention jusqu'à son administration. La fabrication de la suspension fécale relève de la responsabilité de la pharmacie à usage intérieure (PUI) d'un établissement de santé et doit être décrit dans le dossier du médicament expérimental. Le contrôle des préparations de selles est faite par le laboratoire de microbiologie de cet établissement s'il en dispose, dans le cas contraire il peut être sous traité.

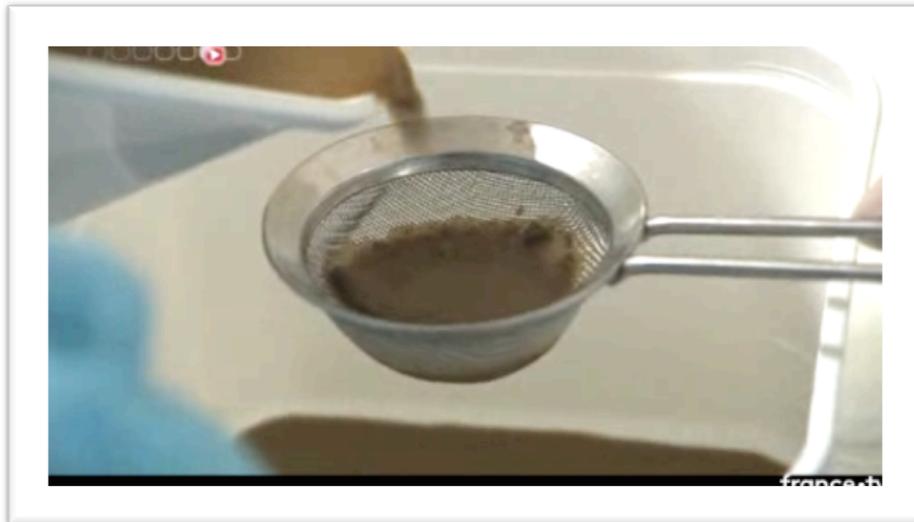
Le jour de la transplantation, le donneur fournit des selles fraîches sur le site de la TMF. Pour qu'elles soient acceptées, les selles doivent être moulées et l'examen macroscopique normal

(absence d'urine, de sang ou de pus). Une fois que la quantité de matière fécale nécessaire pour la transplantation est recueillie, le temps entre la préparation et la TMF doit être le plus court possible (au moins dans les 6 à 8 heures). L'échantillon de selles obtenu est mélangé à du sérum physiologique pour injection IV sans conservateur ou à de l'eau stérilisée. Les quantités respectives du mélange varient selon les protocoles choisis. Puis, il faut homogénéiser le mélange à l'aide d'un vortex ou manuellement jusqu'à ce qu'il soit liquide et homogène. Cette dilution est ensuite filtrée afin d'enlever les grosses particules (les débris alimentaires non digérés) à travers un chinois en acier, réutilisable ou non, ou un filtre à café ou un tampon de gaz fixé sur la partie supérieure du récipient qui est utilisé pour l'instillation. Si le clinicien décide de choisir un système réutilisable pour la filtration, il faudra respecter scrupuleusement des procédures de stérilisation. Dans le cas contraire, les objets ayant servi à la filtration seront jetés dans les déchets d'activités de soins à risques infectieux (DASRI). Cette préparation est ensuite mise dans des sacs à lavement en cas d'administration rectale ou dans des seringues en cas d'administration par voie coloscopique ou par sonde. La préparation peut être conservée au frais dans un récipient hermétiquement fermé.

Les personnes réalisant la préparation doivent respecter des précautions de sécurité car les selles sont de niveau 2 de risque biologique (port de gants, de blouse, de masque et de lunettes de protection). Par ailleurs, il est préférable de réaliser cette préparation sous une hotte et sur une paillasse dédiée.



1. Préparation du transplant : mélange des selles fraîches à de l'eau ou du sérum physiologique.



2. Filtration du mélange.



3. Injection du transplant fécal selon la méthode choisie.

Figure 10 : Les 3 principales étapes de la transplantation fécale. [32]

3.5 Préparation du receveur

Un bilan bactériologique (coproculture à la recherche *E.coli* entéro-hémorragique, sérologie *h.pylori*, sérologie syphilis), virologique (sérologie VIH, VHC, VHB, CMV, EBV) et parasitologique (des selles et toxoplasme) doit être effectué avant la TMF chez le receveur.

Le receveur sera prétraité avant la transplantation par de la vancomycine per os (PO) afin de réduire la charge de *C. Difficile* sous forme végétative. La posologie est de 250mg trois fois par jour pendant 4 jours ou 500mg deux fois par jour pendant 7 jours. L'antibiothérapie sera arrêtée 1 à 3 jours avant la transplantation. Il est également possible d'effectuer un lavage colique par voie orale à l'aide d'un purgatif (polyéthylène glycol) le jour de la transplantation.

Il faut éviter l'excrétion de selles pendant au moins 4 heures après la TMF afin de maximiser le temps de contact de la suspension fécale avec la muqueuse du receveur. Pour cela, il sera administré immédiatement ou au maximum 6 heures après la TMF un anti-diarrhéique (de préférence du loperamide (Imodium®)). Un alitement est conseillé aussi longtemps que possible et au moins jusqu'au lendemain de la TMF.

3.6 Administration du transplant

Selon les différentes études menées, les protocoles changent avec notamment des variations de la quantité de matière selles nécessaire, du volume de diluant utilisé pour la préparation, du volume de préparation injectée et de la voie d'administration. [33]

3.6.1 Administration par voie basse

Selon les protocoles, la quantité de matière fécale utilisée varie en moyenne de 5 à 300 grammes à diluer dans 200mL ou 500mL de liquide. Le volume de suspension à instiller est de 250 à 500mL. L'administration par voie basse peut se faire soit par coloscopie ou par lavement rectal.

3.6.1.1 Par coloscopie

Le lieu de dispersion du transplant varie selon les études mais en général, le transplant est soit dispersé en totalité au niveau du caecum ou progressivement le long du tractus gastro-intestinal, réparti en doses d'environ 5ml toutes les 3 minutes. Cette technique permet au clinicien d'identifier les zones où la muqueuse colique est endommagée par l'infection. Les complications ou comorbidités et les risques entraînés par la coloscopie sont faibles.

3.6.1.2 Par lavement

De plus petites quantités de volume à administrer sont nécessaires. Cette technique est moins invasive, moins coûteuse, ne nécessite pas de compétences spécifiques et peut être facilement répétée. Il peut cependant y avoir un risque biologique en cas de fuites postérieures.

3.6.2 Administration par voie haute

Selon les protocoles, la quantité de matière fécale utilisée varie en moyenne de 30 à 100 grammes à diluer dans 200ml à 400ml de liquide. Le volume de suspension à instiller est de 50 à 400ml. L'administration par voie haute peut se faire soit par sonde ou par une gélule.

3.6.2.1 Par sonde

L'administration est réalisée par une sonde soit naso-gastrique (pénétrant par une narine et arrivant dans l'estomac), duodénale (pénétrant par une narine et arrivant dans le duodénum) ou gastroscopie (pénétrant par la bouche et arrivant dans l'estomac). La réalimentation du patient peut avoir lieu immédiatement après. Une deuxième TMF est nécessaire dans la majorité des cas suite notamment aux sécrétions gastriques et pancréatiques qui peuvent dégrader le transplant.

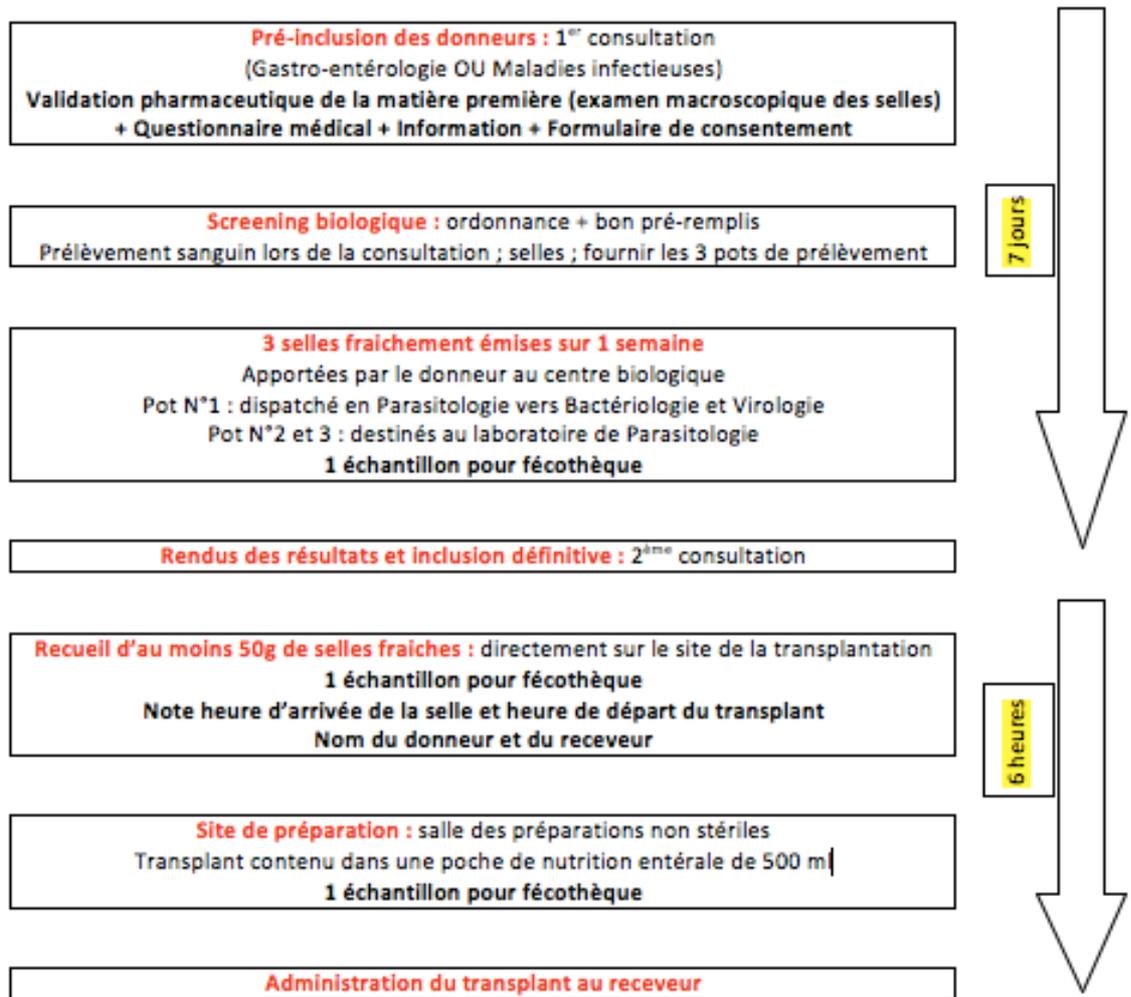
3.6.2.2 En gélules

Cette technique reste expérimentale et n'est pas encore agréée par la FDA. Le patient ingère 24 à 38 gélules de 0,47ml en association à un antibiotique (vancomycine). Les gélules sont préparées le jour de la TMF à partir de 100 grammes de matière fécale diluée dans du sérum physiologique. La suspension est centrifugée, décantée et remise en suspension. Les gélules sont ensuite remplies par pipetage et scellées.

La transplantation est un médicament selon l'ANSM, elle nécessite un protocole très précis afin de détecter tout problème qui pourrait survenir lors de la TMF.

3.7 La traçabilité

Les centres investigateurs doivent incorporer à leur protocole une traçabilité rigoureuse (figure 10) permettant d'identifier et de faire le lien entre le donneur et le receveur et entre les différentes étapes de la TMF allant du dépistage du donneur, au don et enfin à la transplantation. [33]



**Figure 11 : Chronologie de la procédure de la transplantation de microbiote fécale,
(Protocole du CH de Corbie pour la demande auprès de l'ANSM, 2016)**

L'ANSM recommande de conserver pour la fécothèque un échantillon des selles brutes émises par le donneur lors du premier bilan de dépistage et le jour du don, ainsi qu'un échantillon du transplant pendant au moins 2 ans à -80°C. Elle recommande également un recueil des événements cliniquement pertinents survenant chez le donneur (maladie infectieuse, fièvre, diarrhée, vomissement) 2 semaines après le don et chez le receveur dans les heures suivant la procédure et à long terme (au minimum 2 ans). [30]

3.8 Effets indésirables

Les effets indésirables constatés sont bénins et principalement dus à la voie d'administration : [34]

- des diarrhées, des crampes et des ballonnements ;
- des maux de gorge par sonde naso-gastrique ;
- un inconfort rectal, des flatulences, des nausées et des ballonnements par voie coloscopique ;
- une prolifération bactérienne dans l'intestin grêle par voie naso-gastrique ou duodénale.

3.9 Résultats des études

Plusieurs études sorties à ce jour rapportent des résultats prometteurs pour la prise en charge des ICD par TMF.

Entre 1958 et 2011, plusieurs études ont été publiées mais elles se limitaient à un faible nombre de patients (317 patients). Les résultats de ces études sont concluants. En effet, 85 à 90% des patients traités par TMF ne récidivent pas pendant la période de suivi (de trois jours à cinq ans). Le taux de résolution est plus élevé lorsque le don est fait par un partenaire ou un parent (93%), contrairement aux dons par un donneur non apparenté (84%). [34]

Van Nood et Al ont publié une étude multicentrique en 2013 incluant 49 patients ayant une récurrence d'ICD. Le taux de guérison sans récurrence était de 81% dans le groupe ayant reçu la TMF versus 31% dans le groupe ayant reçu la vancomycine seule pendant quatorze jours. Chez trois patients, une deuxième transplantation de selles fut nécessaire. [35]

Brandt et Al ont publié une étude multicentrique en 2012 afin d'évaluer l'effet de la TMF sur les ICD récurrentes. Le taux de guérison primaire, c'est-à-dire la disparition des symptômes sans récurrence dans les 90 jours suivant la TMF, est de 91%. Le taux de guérison secondaire, c'est-à-dire la résolution des symptômes après un traitement par vancomycine avec ou sans nouvelle TMF, est de 98%. [36]

Ces études mettent en évidence une variation de l'efficacité de la TMF en fonction de la voie d'instillation, du volume de préparation administré et la préparation du receveur avant la transplantation. [37]

Gough et Al ont remarqué que le taux de résolution est de 98,5% lorsque le transplant est réalisé avec de l'eau alors qu'il est de 86% lorsqu'il est réalisé avec du sérum physiologique. Par ailleurs, le taux de guérison est supérieur lors de l'administration du transplant par voie basse par rapport à une administration par voie haute. [34]

3.10 Les limites de la TMF

La TMF présente différentes limites que ce soit au niveau de la sécurité et de son application.

3.10.1 La sécurité du receveur

Il faut être conscient du risque de transmission d'agents pathogènes et donc être très prudent lors des différentes étapes de la sélection du donneur.

De plus, les études se limitent au mieux à 24 semaines de suivi. Ainsi, les conséquences sur le long terme de la transplantation sont floues. La TMF est testée pour des pathologies infectieuses ou maladies inflammatoires digestives mais le microbiote peut jouer un rôle dans d'autres pathologies tel que l'obésité, le diabète, certaines maladies neuropsychiatriques. Donc existe-t-il un risque de développer d'autres pathologies non dépistées chez le donneur ? [38]

3.10.2 L'acceptabilité

La deuxième limite est l'acceptabilité de la TMF pour le patient. Le patient ressent un sentiment d'aversion face à la transplantation. Mais cela est moins négatif que l'on ne pense, 97 % des patients ayant reçu une transplantation accepteraient de recommencer ce traitement vu son efficacité. [39]

Zipursky et Al ont mené en 2012 une enquête sur 192 patients sans colite. Lorsqu'ils connaissent l'efficacité respective des deux traitements, 81 % des patients choisiraient une transplantation plutôt que la prise d'antibiotiques seule et ce taux augmenterait à 90 % si l'instillation de selles pourrait être inodore et incolore. [40]

Les perspectives de la TMF sont larges car le microbiote a un rôle central dans le fonctionnement normal de l'organisme. De nombreuses études ont vu le jour pour étudier les bénéfices de la TMF dans certaines maladies. Les résultats obtenus sont prometteurs.

4 Perspectives

Grâce à l'étude du microbiote et de ces fonctions, les chercheurs ont mis en évidence son rôle potentiel dans les maladies métaboliques (diabète, obésité), les maladies auto-immunes (maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI), rectocolite hémorragique (RCH)), et plus récemment l'hypothèse d'un rôle dans les maladies psychiatriques (autisme, schizophrénie, anxiété), dans l'anorexie mentale, le syndrome du côlon irritable et les allergies (figure 11). [41]

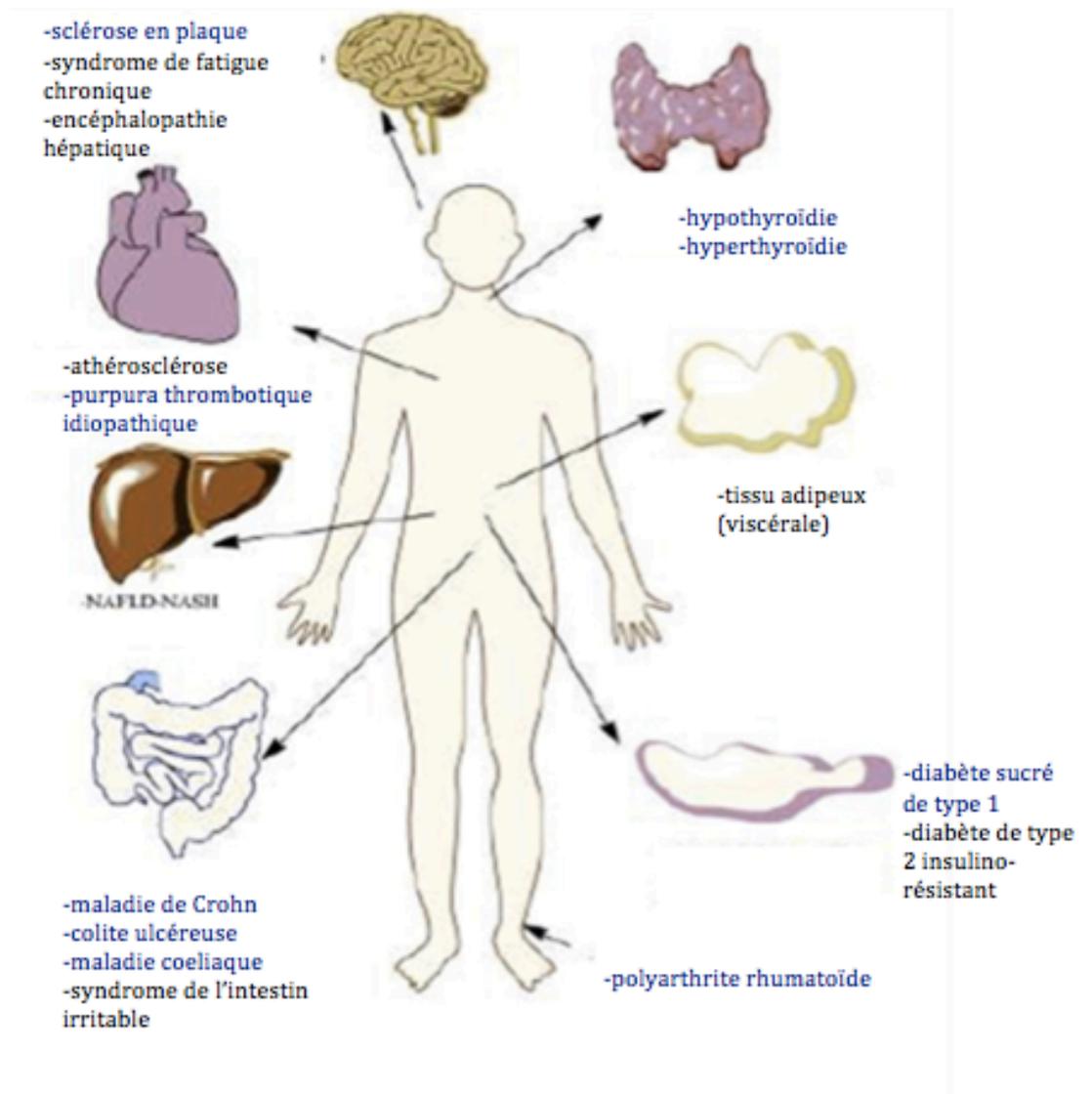


Figure 12 : Maladies associées à un dysfonctionnement du microbiote intestinal (bleu = maladies auto-immunes, noir = maladies inducibles). [41]

4.1 Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

La maladie de Crohn et la RCH sont deux maladies inflammatoires évoluant entre phase de rémission et poussées. Elles entraînent des diarrhées parfois sanglantes et de fortes douleurs abdominales.

Paramsothy S et Al ont mené une étude sur 85 patients atteints de RCH modérée. Les patients étaient sevrés aux corticoïdes pendant toute la durée de l'étude. Ils ont été répartis en deux groupes après tirage au sort : l'un recevait un placebo, l'autre se recevait 5 fois par

semaine un mélange de microbiotes intestinaux issus de 3 à 7 donneurs pendant 8 semaines. A la fin de ces 8 semaines, 27 % des patients traités par le microbiote présentaient une amélioration des lésions et des symptômes contre 8 % dans le groupe placebo. Le soulagement a persisté jusqu'à 8 semaines après la fin du traitement. [42]

4.2 Les maladies métaboliques

Les maladies métaboliques sont nombreuses et leurs incidences importantes. Le microbiote joue un rôle important comme le démontre plusieurs études. Il est donc normal d'envisager la TMF comme possible traitement.

En comparant 2 groupes de souris, l'un possédant une flore microbienne entraînant une prédisposition à l'obésité, l'autre étant composé de souris axéniques (c'est-à-dire exclus de tous germes saprophytes ou pathogènes et donc de microbiote), il a été remarqué que le groupe possédant un microbiote avait une tendance à l'obésité contrairement au groupe axénique. De même, Backhed et Al ont montré que des souris ayant un microbiote présentaient une masse grasse 42 % supérieure à des souris axéniques. De plus, lorsque les souris axéniques recevaient un microbiote, il en résultait une augmentation de 60 % de la masse grasse en deux semaines. [44]

L'incidence de l'obésité chez l'homme étant très importante, la mise en évidence d'un lien entre microbiote et obésité permettrait d'envisager une prise en charge de cette pathologie et une amélioration des conditions de vie des personnes obèses. [43]

Vrieze A et Al, quand à eux, ont étudié l'impact du microbiote dans les syndromes métaboliques. Ils ont montré une amélioration de l'insulino-résistance suite à la TMF sans impact positif sur le poids corporel. [41]

4.3 Les maladies psychiatrique [45]

Comme déjà précisé, le système nerveux contrôlant l'intestin contient plus de 200 millions de neurones, 80 % d'entre eux étant afférents (véhiculent l'information dans le sens cerveau-intestin). Il est donc envisageable que l'information transmise au système nerveux central pourrait être modifié par la composition du microbiote intestinale.

Plusieurs études révèlent que les changements dans la composition du microbiote influencent la physiologie et le fonctionnement du cerveau et donc la psychologie. Des expériences ont été faites sur des souris. Ainsi, en inversant le microbiote d'une souris docile et d'une souris agressive, cela entraîne une inversion de leur comportement. Donc, en modulant la composition du microbiote, il pourrait être possible de réduire les troubles psychiques.

Les études à ce jour sont encore trop peu nombreuses sur le sujet et nécessitent d'identifier les espèces bactériennes responsables des troubles psychiatriques.

4.4 Trouble de l'autisme

Les enfants atteints d'autisme ont trois fois plus de diarrhées et de constipations et 2,5 fois plus de douleurs abdominales comparativement aux autres enfants. Ces enfants présentent également un microbiote moins diversifié que celui des autres.

Une étude a été publiée en 2017 concernant des enfants atteints de trouble autistique et présentant des troubles gastro-intestinaux. Une amélioration des symptômes digestifs mais également des symptômes comportementaux a été obtenue en rééquilibrant le microbiote. [46]

4.5 Maladie de Parkinson

Un lien a été établi entre la composition du microbiote et la maladie de Parkinson. L'étude repose sur 72 sujets sains et 72 patients atteints de la maladie de Parkinson. Les patients atteints de la maladie de Parkinson présentaient une réduction de 77,6 % des bactéries de type *Prevotellaceae* comparativement aux sujets sains. Ainsi, la composition du microbiote pourrait être utilisée comme un bio marqueur précoce de la maladie. [47]

5 Conclusion

L'importance de la fréquence, de la sévérité et des récurrences multiples des ICD augmentent depuis plusieurs années d'où la nécessité de trouver une prise en charge rapide et efficace. De plus, le nombre d'échecs face aux différentes antibiothérapies ne cesse d'augmenter. La TMF rapporte des résultats prometteurs mais des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces premiers résultats et définir la sécurité des « bonnes pratiques » d'administration. Sur le long terme, il manque également des données sur les conséquences de la modification du microbiote.

Des études sont en cours pour essayer de trouver la bactérie qui ferait la différence entre la guérison et l'échec. A l'avenir, il pourrait donc être possible de ne plus utiliser de selles mais uniquement la bactérie active.

L'impact du microbiote intestinal sur la santé est peu à peu découvert. Les perspectives de la TMF sont larges et ne cessent de croître.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Freney J, Renaud F, Leclercq R, et al, (2007). Précis de bactériologie clinique. 2^{ème} éd Eska.
- [2] Barbut F, Le Monnier A, Eckert C, (2012). Infections à *Clostridium difficile* : aspects cliniques épidémiologiques et thérapeutiques. Reanimation ; 21 : 373-383.
- [3] Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT, (2009). European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *clostridium difficile* infection (CDI). Clin Microbiol Infect ; 15 : 1067-1079.
- [4] Eckert C, Coignard B, Herbet M, et al, (2013). Clinical and microbiological features of *Clostridium difficile* infection in France : the ICD-RAISIN 2009national survey. Med Mal infect ; 43 : 67-74.
- [5] Rame L, Petit A, Suzon L, et al, (2013). Prévalence des infections à *Clostridium difficile* (CD) chez les patients hospitalisés avec une diarrhée : résultats d'une étude biannuelle prospective multicentrique. 33^{ème} Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, 21-22 novembre 2013 ; Paris.
- [6] Legrand-Pluquet E, (2015). Epidémiologie des infections à C.difficile au CHU d'Amiens 1/04/2012 au 31/03/2015. 2^{ème} journée d'infectiologie, 22 octobre 2015 ; Amiens.
- [7] Eckert C, Barbut F, Meynard J-L, et al, (2013). Infections digestives à *Clostridium difficile* : diagnostic et traitement. Infectiologie en réanimation ; 25 : 441-460.
- [8] Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, et al, (2010). The role of toxin A and toxin B in *Clostridium difficile* infection. Nature; 467 : 711-713.
- [9] Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, et al (2009). Toxin B is essential for virulence of *Clostridium difficile*. Nature ; 458 : 1176-1179.
- [10] Barbut F, Le Monnier A, Eckert C, (2012). Infections à *Clostridium difficile* : aspects cliniques épidémiologiques et thérapeutiques. Réanimation ; 21 : 373-383.

[11] Hurley B, Nguyen C, (2002). The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhoea. Arch intern med ; 162 : 2177-2184.

[12] La transplantation fécale : un traitement d'avenir de la colite à *Clostridium difficile* ? Disponible sur http://www.jle.com/fr/revues/hpg/e-docs/la_transplantation_fecale_un_traitement_davenir_de_la_colite_a_clostridium_difficile_292481/article.phtml?tab=images (consulté le 17 février 2018).

[13] Consistance des selles selon l'échelle de Bristol. Disponible sur http://www.fmcgastro.org/textes-postus/postu-2015/troubles-fonctionnels-intestinaux-et-maladies-inflammatoires-chroniques-intestinales/attachment/06_05_coffin01_fmt/ (consulté le 26 janvier 2018).

[14] Barbut F, **Diagnostic des infections à *Clostridium difficile* (ICD)** : quand et comment ? 16^{ème} journée national d'infectiologie, 12 juin 2015 ; Nancy. Disponible sur http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/JNI/JNI15/2015-JNI-sympo-ICD_Barbut.pdf (consulté le 26 janvier 2018).

[15] Sethi A, Al-Nassir W, Nerandzic M, et al (2010). Persistence of skin contamination and environmental shedding of clostridium difficile during and after treatment of C.difficile infection. Infect Control Hosp Epidemiol ; 31 : 21-27

[16] Bertaiola L, Chard C, (2015). Diagnostic microbiologique des infections à clostridium difficile. Rev Med Suisse 11 : 1840-1843. Disponible sur <https://www.revmed.ch/RMS/2015/RMS-N-489/Diagnostic-microbiologique-des-infections-a-Clostridium-difficile> (consulté le 26 janvier 2018).

[17] Bruneel F, (2013). Prise en charge des infections à *Clostridium difficile*, grands classiques et nouveautés. 10ème journée Réanimation et Urgences Respiratoires, 11 Avril 2013 ; Marseille. Disponible sur <http://www.jrur.org/documents/2013/2013-Bruneel.pdf> (consulté le 26 janvier 2018).

[18] Barbut F, Guery B, Eckert C, (2014). Comment traiter une infection digestive à Clostridium difficile en 2014? Réanimation ; 23 : 284-297.

- [19] Zanella M-C, Frossard J-L, Louis Simonet M, (2013). Récidives d'infection à *Clostridium difficile* : l'importance du microbiote intestinal. *Revue médicale Suisse* ; 9 : 1898-1904.
- [20] Actualisation des recommandations pour le traitement des infections à *Clostridium difficile* par l'ESCMID (mars 2014) disponible sur <http://www.infectiologie.com/fr/recommandations.html> (consulté le 26 janvier 2018).
- [21] Lowy I, Molrine D, Leav B, et al, (2010). Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med* ; 362(3) : 197-205.
- [22] McFarland L, Surawicz C, Greenberg R, et al, (1994). A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* ; 271(24) : 1913-1918.
- [23] Conduite à tenir devant un phénomène infectieux par l'ARS. Disponible sur https://www.hauts-de-france.ars.sante.fr/sites/default/files/2017-03/2017-03_Classeur%20Ehpad%20ex-Picardie.pdf (consulté le 26 janvier 2018).
- [24] Le microbiote intestinal dans tous ses états par le Groupe Pileje (laboratoire de micronutrition). Disponible sur http://pro.groupepileje.fr/IMG/pdf/lsmicrobiote02_hd.pdf (consulté le 26 janvier 2018).
- [25] Leclerc M, Juste C, Blottière H, et al, (2007). Microbiote intestinal : un univers méconnu. *Cah Nutr Diet* ; 42 : 22-27.
- [26] Goulet O, (2009). La flore intestinale : un monde vivant à préserver. *Journal de pédiatrie et de puériculture* ; 22 : 102-106.
- [27] Bourlioux P, (5 juin 2013). Actualité du microbiote intestinal, Académie de pharmacie, groupe de travail microbiote intestinal santé environnement. Disponible sur [http://www.acadpharm.org/dos_public/Transfert de Flore - P. BOURLIOUX_05.06.2013.pdf](http://www.acadpharm.org/dos_public/Transfert_de_Flore_-_P._BOURLIOUX_05.06.2013.pdf) (consulté le 26 janvier 2018).
- [28] Gerard P, (2011). Le microbiote intestinal : composition et fonctions. *Phytothérapie* ; 9 : 72-75.

- [29] Jeffrey S, Weissman-Walter C, (2012). Stool transplants: Ready for Primetime? *Curr Gastroenterol Rep* ; 14 : 313-316.
- [30] Recommandation de l'ANSM : La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais clinique. Mars 2014.
- [31] Modalités pratiques pour la réalisation d'une transplantation de microbiote fécal (TMF) par le Groupe Français de Transplantation fécale. Disponible sur <http://www.gftf.fr/45+modalites-pratiques-pour-la-realisation-d-une-transplantation-de-microbiote-fecal-tmf.html> (consulté le 1 février 2018).
- [31] Transplantation fécale : un traitement à encadrer. Disponible sur https://www.allodocteurs.fr/actualite-sante-transplantation-fecale-un-traitement-a-encadrer_12955.html (consulté le 17 février 2018).
- [33] Sokol H, Galperine T, Kapel N, et al, (2015). Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes : Recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépatogastro et oncologie digestive* ; 22(4) : 278-290.
- [34] Gough E, Shaikh H, Manges AR, (2011). Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* ; 53 : 994-1002.
- [35] Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al, (2013). Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* ; 368 : 407-415.
- [36] Brandt L, Reddy S, (2011). Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *J Clin Gastroenterol* 45(Suppl) : 159-167.
- [37] Rohle F, Stollman N, (2012). Fecal microbiota transplantation in relapsing CD infection *Clostridium difficile* infection. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* ; 5(6) : 403-420.
- [38] Petrof E, Gloor G, Vanner S, et al, (2013). Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection : «RePOOPulating» the gut. *Microbiome* ; 1 : 1-12.

- [39] Lynch T, Chong P, Zhang J, et al, (2013). Characterization of a stable, metronidazole-resistant *Clostridium difficile* clinical isolate. *PLoS One* ; 8 : e 53757.
- [40] Zipursky JS, Sidorsky TI, Freedman CA et al, (2012). Patient attitudes toward the use of fecal microbiota transplantation in the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* ; 55 : 1652-8.
- [41] Vrieze A, De groot P, Kootte R, et al, (2013). Fecal transplant: A safe and sustainable clinical therapy for restoring intestinal microbial balance in human disease? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* ; 27 : 127-137.
- [42] Paramsothy S, Kamm M, Kaakoush N, (2017). Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* Mar 25 ; 389(10075) : 1218-1228.
- [43] Gérard P, (2012). Microbiote intestinale et lipides : impact sur la santé humaine. *OCL* ; 19(4) : 223-227.
- [44] Backhed F, Ding H, Wang T, et al, (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* ; 101 : 15718-15723.
- [45] Microbiote intestinale (flore intestinale) : une piste sérieuse pour comprendre l'origine de nombreuses maladies par l'INSERM. Disponible sur <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale> (consulté le 12 février 2018).
- [46] Kang W, Adams J, Gregory A, et al, (2017). Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome* 5 : 10.
- [47] Scheperjans F, Aho V, Pereira P, et al, (2015). Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Mov Disord*. Mar ; 30(3) : 350-358.

Annexes

Annexe 1

Questionnaire médicale de présélection pour transplantation de microbiote fécal

Date de l'entretien avec le médecin :/...../.....

Donneur potentiel

Nom:

Prénom:.....

Date de naissance :.....

Receveur

Nom du receveur potentiel :

Lien entre donneur et receveur :

Information Co-morbidités	Vérification de l'absence de critères de non inclusion absolue chez le donneur	Absence de critères de non inclusion relative ou justification par le médecin
Co-morbidités	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur sans pathologie chronique connue (y compris diabète) <input type="radio"/> Absence d'antécédent de fièvre typhoïde <input type="radio"/> Absence de troubles digestifs (diarrhée aiguë ou chronique) dans les 3 mois précédant le don 	Absence d'antécédents familiaux : <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Maladie inflammatoires chroniques de l'intestin (lien de parenté) <input type="radio"/> maladies auto-immunes (lien de parenté) <input type="radio"/> cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)
Traitement médicamenteux	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur ne prenant pas un traitement curatif au long cours 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Le donneur n'a pas été traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don
Voyages	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Le donneur n'a pas séjourné en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don <input type="radio"/> Le donneur n'a pas résidé plus d'un an zone intertropicale <input type="radio"/> Le donneur ni son entourage n'a pas été hospitalisé à l'étranger plus de 24h dans les 12 derniers mois 	
Age	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Le donneur est majeur 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur âge à moins de 65ans
Statut pondéral	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> IMC du donneur <30 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur avec IMC >30

<p>Si présence d'un critère de non inclusion relative, décision du médecin et justification :</p>	<p>Signature :</p>
--	---------------------------

Annexe 2

Procédure pharmaceutique de validation de la matière première au regard des résultats de bilans biologiques

Date du jour :/...../.....

Nom du donneur :

Prénom du donneur :

Date de naissance du donneur :

Liste des agents infectieux à dépister obligatoirement chez le donneur : **si présence de l'un des agents infectieux dans le sang ou les selles, l'utilisation du don est impossible.**

	SANG	Date du bilan sanguin et résultats	SELLES	Date bilan selles et résultats
BACTERIES	<input type="radio"/> Treponema pallidum		<input type="radio"/> Clostridium difficile	
			<input type="radio"/> Listeria monocytogenes	
			<input type="radio"/> Vibrio cholerae / Vibrio parahaemolyticus	
			<input type="radio"/> Salmonella	
			<input type="radio"/> Shigella	
			<input type="radio"/> Bactéries multirésistantes aux antibiotiques	
VIRUS	<input type="radio"/> Virus de l'immunodéficience humaine (HIV) <input type="radio"/> Virus T-lymphotrophique humain (HTLV) <input type="radio"/> Virus des hépatites B (HBV) <input type="radio"/> Virus des hépatites C (HVC) <input type="radio"/> Cytomégalovirus (CMV) / Virus Epstein-Barr (EBV)		<input type="radio"/> Adénovirus	
			<input type="radio"/> Astrovirus	
			<input type="radio"/> Calcovirus (norovirus, sapovirus)	
			<input type="radio"/> Picornavirus (entérovirus, Virus Aichi)	
			<input type="radio"/> Rotavirus	
PARASITES	<input type="radio"/> Strongyloïdes stercoralis <input type="radio"/> Toxoplasma gondii <input type="radio"/> Trichinella sp.		<input type="radio"/> Strongyloïdes stercoralis	
			<input type="radio"/> Cryptosporidium sp.	
			<input type="radio"/> Cyclospora sp.	
			<input type="radio"/> Entamoeba histolytica	
			<input type="radio"/> Giardia intestinalis	
			<input type="radio"/> Isospora sp.	
			<input type="radio"/> Microsporidies	

Signature médecin :	Signature pharmacien:
---------------------	-----------------------

Annexe 3

Formulaire de consentement éclairé pour le **don** de microbiote fécale

Je confirme avoir compris les informations relatif au don de microbiote fécale et consens aux examens requis par ce don. Je confirme avoir reçu une information écrite et orale sur la transplantation de microbiote fécale.

J'ai eu l'occasion de poser des questions complémentaires. J'y ai reçu des réponses satisfaisantes. J'ai eu suffisamment de temps pour réfléchir à ma participation.

Je suis conscient du fait que j'ai le droit de révoquer mon consentement à l'utilisation de mon don à tout moment avant que le matériel n'ait subi le moindre traitement. Dans ce cas, je dois contacter Dr Heyman, responsable de la transplantation de microbiote fécale au CH Corbie.

Je confirme que si je devais contracter un problème de santé dans les jours/semaines qui suivent le don, j'en avertirai mon médecin.

Je confirme que j'ai répondu aux questions complémentaires du médecin en mon âme et conscience.

Nom du donneur :

Fait le : à

Signature :

Nom du médecin responsable :

Fait le : à

Signature et cachet du service :

RESUME

Clostridium difficile est une bactérie au pouvoir pathogène important. L'infection à *C. difficile* (ICD) est favorisée par l'administration d'antibiotique qui perturbe l'équilibre de la flore intestinale, ce qui va permettre à *C. difficile* d'infecter l'intestin. L'ICD va du simple portage asymptomatique à la colite fulminante. Les récurrences sont fréquentes et représentent 20% des cas dans les deux mois suivant l'épisode initial. Le traitement de l'épisode initial repose sur l'administration d'antibiotiques : métronidazole ou vancomycine. Le nombre d'échecs face aux différentes antibiothérapies et l'incidence des ICD ne cesse d'augmenter ces dernières années d'où l'importance de trouver un nouveau traitement efficace. Cette nouvelle stratégie thérapeutique s'appelle la transplantation de microbiote fécal (TMF). Cette méthode consiste à restaurer le microbiote intestinal en introduisant une flore intestinale saine. Le microbiote sain provient des selles d'un donneur obtenues après une série de tests de dépistage afin de prévenir de toute transmission d'agents pathogènes. Plusieurs études sorties à ce jour rapportent des résultats prometteurs pour la prise en charge des ICD par TMF. Le taux de guérison primaire (c'est-à-dire la disparition des symptômes sans récurrence dans les 90 jours suivant la TMF) est de 91% suite à la TMF. Cependant, malgré ces résultats prometteurs, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats et définir la sécurité d'emploi.

Mots clés: Microbiote, *clostridium difficile*, transplantation fécale

DETAIL, Faustine

LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL : UNE NOUVELLE STRATEGIE THERAPEUTIQUE
DANS LA PRISE EN CHARGE DES *INFECTIONS A CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie
Université de Picardie Jules Verne, Année 2017-2018

Mots clés: Microbiote, *clostridium difficile*, transplantation fécale

RESUME

Clostridium difficile est une bactérie au pouvoir pathogène important. L'infection à *C. difficile* (ICD) est favorisée par l'administration d'antibiotique qui perturbe l'équilibre de la flore intestinale, ce qui va permettre à *C. difficile* d'infecter l'intestin. L'ICD va du simple portage asymptomatique à la colite fulminante. Les récurrences sont fréquentes et représentent 20% des cas dans les deux mois suivant l'épisode initial. Le traitement de l'épisode initial repose sur l'administration d'antibiotiques : métronidazole ou vancomycine. Le nombre d'échecs face aux différentes antibiothérapies et l'incidence des ICD ne cesse d'augmenter ces dernières années d'où l'importance de trouver un nouveau traitement efficace. Cette nouvelle stratégie thérapeutique s'appelle la transplantation de microbiote fécal (TMF). Cette méthode consiste à restaurer le microbiote intestinal en introduisant une flore intestinale saine. Le microbiote sain provient des selles d'un donneur obtenues après une série de tests de dépistage afin de prévenir de toute transmission d'agents pathogènes. Plusieurs études publiées à ce jour rapportent des résultats prometteurs pour la prise en charge des ICD par TMF. Le taux de guérison primaire (c'est-à-dire la disparition des symptômes sans récurrence dans les 90 jours suivant la TMF) est de 91% suite à la TMF. Cependant, malgré ces résultats prometteurs, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats et définir la sécurité d'emploi.

Key words : Microbiote, *clostridium difficile*, transplantation fécal

SUMMARY

Clostridium difficile is a bacterium with significant pathogenicity. *C. difficile* infection (CDI) encouraged by the administration of antibiotic that disrupts the balance of the intestinal flora, which will allow *C. difficile* to infect the intestine. CDI goes from a simple asymptomatic carriage to fulminant colitis. Recurrences are frequent, it's 20% of cases within two months of the initial episode. Treatment of the initial episode is based on the administration of antibiotics: metronidazole or vancomycin. The number of failures for different antibiotic therapies and the incidence of CDI has been steadily increasing in recent years, we need to find an effective new treatment. This new therapeutic strategy is called fecal microbiota transplantation (FMT). This method consists in restoring the intestinal microbiota by introducing a healthy intestinal flora. Healthy microbiota comes from a donor stool obtained after a series of screening tests to prevent transmission of pathogens. Several studies published promising results for the management of CDIs by TMF. The primary cure rate (that is the disappearance of symptoms without recurrence within 90 days of FMT) is 91% following FMT. However, despite these promising results, further studies are needed to confirm these results and define job security.