



HAL
open science

Mise en place d'une activité de transplantation de microbiote fécal dans un centre hospitalier universitaire et suivi des patients traités

Batiste Martel

► **To cite this version:**

Batiste Martel. Mise en place d'une activité de transplantation de microbiote fécal dans un centre hospitalier universitaire et suivi des patients traités. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-02176782

HAL Id: dumas-02176782

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02176782>

Submitted on 8 Jul 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.

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES

Préparé au sein de l'Université de Caen Normandie

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie

MISE EN PLACE D'UNE ACTIVITÉ DE TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL DANS UN CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE ET SUIVI DES PATIENTS TRAITÉS

Présenté par

Batiste MARTEL

Né le 02 mars 1992 à Digne-les-Bains

Soutenu publiquement le 05 octobre 2018
devant le jury composé de

M. Michel BOULOUARD	Professeur des universités, Pharmacologie, Université de Caen Normandie	Président
M. Guillaume SAINT LORANT	Praticien hospitalier, docteur en pharmacie CHU de Caen - PAST, Université de Caen Normandie	Directeur
Mme Stéphanie VIENNOT	Praticien hospitalier, Hépto-gastro-entérologue, CHU de Caen	Membre
M. Rui BATISTA	Praticien hospitalier, docteur en pharmacie Chef de service, Assistance publique des Hôpitaux de Paris	Membre
M. Christophe ISNARD	Maître de conférences des universités, Praticien hospitalier, docteur en pharmacie, CHU de Caen – Université de Caen Normandie	Membre

Mémoire dirigé par M. Guillaume SAINT LORANT



LISTE DES ENSEIGNANTS – CHERCHEURS

Année Universitaire 2017 / 2018

Directeur de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques
Professeur Michel BOULOUARD

Assesseurs
Professeur Frédéric FABIS
Professeur Pascale SCHUMANN-BARD

Directrice administrative et Directrice administrative adjointe
Madame Sarah CHEMTOB
Madame Alexandra HOUARD

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

BOULOUARD Michel	Physiologie, Pharmacologie
BUREAU Ronan	Biophysique, Chémoinformatique
COLLOT Valérie	Pharmacognosie
DALLEMAGNE Patrick	Chimie médicinale
DAUPHIN François	Physiologie, Pharmacologie
DELEPEE Raphaël	Chimie analytique
FABIS Frédéric	Chimie organique
FRERET Thomas	Physiologie, Pharmacologie
GARON David	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
GAUDUCHON Pascal Eméritat jusqu'au 31/08/2019	Biologie cellulaire
GIARD Jean-Christophe	Bactériologie, Virologie
MALZERT-FREON Aurélie	Pharmacie galénique
RAULT Sylvain Eméritat jusqu'au 31/08/2019	Chimie thérapeutique
ROCHAIS Christophe	Chimie organique
SCHUMANN-BARD Pascale	Physiologie, Pharmacologie
SICHEL François	Toxicologie
SOPKOVA Jana	Biophysique, Drug design
VOISIN-CHIRET Anne-Sophie	Chimie médicinale



MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

ANDRE Véronique – HDR

Biochimie, Toxicologie

BOUET Valentine – HDR

Physiologie, Pharmacologie

CAILLY Thomas – HDR

Chimie bio-inorganique, Chimie organique

DENOYELLE Christophe – HDR

Biologie cellulaire et moléculaire,

Biochimie, Cancérologie

DHALLUIN Anne

Bactériologie, Virologie, Immunologie

ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR

Parasitologie, Mycologie médicale

GROO Anne-Claire

Pharmacie galénique

KIEFFER Charline

Chimie médicinale

KRIEGER Sophie (Praticien hospitalier)

Biologie clinique

LAPORTE-WOJCIK Catherine

Chimie bio-inorganique

LEBAILLY Pierre – HDR

Santé publique

LECHEVREL Mathilde – HDR

Toxicologie

LEGER Marianne

Physiologie, Pharmacologie

LEPAILLEUR Alban – HDR

Modélisation moléculaire

N'DIAYE Monique

Parasitologie, Mycologie médicale,

Biochimie clinique

PAIZANIS Eleni

Physiologie, Pharmacologie

PEREIRA-ROSENFELD Maria de Fatima

Chimie organique et thérapeutique

POTTIER Ivannah

Chimie et toxicologie analytiques

PREVOST Virginie – HDR

Chimie analytique, Nutrition, Education

thérapeutique du patient

QUINTIN Jérôme

Pharmacognosie

RIOULT Jean-Philippe

Botanique, Mycologie, Biotechnologies

SINCE Marc

Chimie analytique

VILLEDIEU Marie

Biologie et thérapies innovantes des

cancers

PROFESSEUR AGREGE (PRAG)

PRICOT Sophie

Anglais



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE

U.F.R. Santé
Faculté des Sciences Pharmaceutiques

PERSONNEL ASSOCIE A TEMPS PARTIEL (PAST)

SAINT-LORANT Guillaume

Pharmacie clinique

SEGONZAC Alain

Pharmacologie, Essais cliniques

RICHARD Estelle

Pharmacie officinale

Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

REMERCIEMENTS

A **Monsieur Michel BOULOUARD**, pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A **Guillaume SAINT LORANT**, merci de m'avoir proposé ce sujet passionnant dès mon premier semestre d'internat, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour le temps que tu m'accordes, tout au long de ces années. C'est un véritable plaisir de travailler avec toi et je t'en remercie très sincèrement.

A **Rui BATISTA**, je vous remercie d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse en qualité d'expert en pharmacotechnie dans ce domaine. Je vous remercie pour votre soutien, et pour m'avoir ouvert les portes de vos locaux parisiens. Je vous prie de croire en l'assurance de ma profonde considération.

A **Stéphanie VIENNOT**, pour ta disponibilité et ton expertise dans ce domaine passionnant qu'est l'hépatogastro-entérologie. Merci pour tes conseils avisés de clinicienne et ta relecture sur les aspects cliniques de ce travail.

A **Christophe ISNARD**, pour ton dynamisme et ton expertise de microbiologiste passionné. C'est une grande fierté de t'avoir dans mon jury, merci.

A **Marie**, tu m'as encadré sur un autre travail tout aussi palpitant qu'est l'automatisation de la pharmacie, merci pour tout ce que tu m'as apporté durant ces mois de stage à tes côtés. Merci également à **Sébastien** pour ton infatigabilité, et à **Rodolphe** pour ta rigueur sans faille. Quel beau projet nous avons su mener.

A **Madame Hecquard et toute l'équipe de la pharmacie du CHU de Caen**, pour ces années d'internat qui m'ont tant apporté sur le plan professionnel et humain. Quel plaisir de travailler dans cette pharmacie, je vous en remercie.

A Jean-Pierre et Annie, mes chers parents qui m'ont toujours soutenu, et à **Loïsa**, ma brillante sœur, c'était toi il y a 4 ans, accompagnée de ton Olivier. Je vous dédie ce travail. Merci à toute ma famille pour ces moments passés, présents et futurs.

A Marion, pour ta motivation, ton fidèle soutien, et tous ces bons moments qui nous attendent encore.

A mes amis de longue date et de moins longue date, aux alpins et aux lapins...

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	1
INTRODUCTION GENERALE.....	3
1. AUTOUR DU MICROBIOTE FECAL.....	5
1.1. LE MICROBIOTE DU TUBE DIGESTIF ET SON MICROBIOME	5
1.1.1. <i>Définition et composition</i>	5
1.1.2. <i>Ses fonctions dans l'organisme</i>	8
1.2. DYSBIOSES ET PATHOLOGIES ASSOCIEES	15
1.2.1. <i>Pathologies du tractus digestif</i>	16
1.2.2. <i>Pathologies métaboliques et hépatiques</i>	24
1.2.3. <i>Autres pathologies en lien avec une dysbiose</i>	34
1.3. LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL	41
1.3.1. <i>Historique</i>	41
1.3.2. <i>Définition et statut réglementaire</i>	42
1.3.3. <i>Mécanisme d'action</i>	43
1.3.4. <i>Indication et place dans la stratégie thérapeutique</i>	44
1.3.5. <i>Essais cliniques et données de sécurité</i>	45
2. MISE EN PLACE DE LA TMF AU CHU DE CAEN.....	49
2.1 CONTEXTE.....	49
2.1.1 <i>La genèse du projet</i>	49
2.1.2 <i>Les autorisations</i>	49
2.1 MATERIELS ET METHODE	50
2.2 RESULTATS	52
2.2.1 <i>Le don</i>	52
2.2.2 <i>La préparation à la PUI</i>	54
2.2.3 <i>L'administration du transplant au receveur</i>	58
2.2.4 <i>Financement et costing</i>	60
2.2.5 <i>Mise en place d'une convention de sous-traitance avec un autre centre hospitalier</i>	62
2.2.6 <i>Essais cliniques</i>	62
2.3 RETOUR D'EXPERIENCE SUR LA COHORTE DE PATIENTS TRAITES PAR TMF AU CHU.....	63
2.3.1 <i>Description de la cohorte</i>	63
2.3.2 <i>Résultats d'efficacité de la cohorte</i>	70
3. RECENSEMENT DES PRATIQUES LIEES AUX ASPECTS PHARMACOTECHNIQUES ET REGLEMENTAIRES DE LA TMF.....	71
3.1 OBJECTIFS	71
3.2 METHODES.....	72
3.3 RESULTATS	72
3.4 DISCUSSION.....	75
DISCUSSION GENERALE.....	79
CONCLUSION GENERALE.....	83
BIBLIOGRAPHIE.....	85
ANNEXES.....	103

LISTE DES ABREVIATIONS

AGCC : Acide Gras à Chaîne Courte
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des dispositifs médicaux
BPP : Bonnes Pratiques de Préparation
BPPH : Bonnes Pratiques de Pharmacie Hospitalière
CCAM : Classification Commune des Actes Médicaux
CHC : Carcinome Hépato-Cellulaire
CPP : Comité de Protection des Personnes
CSP : Code de la Santé Publique
ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
EFS : Etablissement Français du Sang
ESCMID : *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease*
ETP : Equivalent Temps Plein
GDH : Glutamate DésHydrogénase
GFTF : Groupe Français de Transplantation Fécale
GvHD : *Graft versus Host Disease*
HAA : Hépatite Aiguë Alcoolique
ICD : Infection à *Clostridium difficile*
IPP : Inhibiteur de la Pompe à Protons
LPS : LipoPolySaccharide
MAF : Maladie Alcoolique du Foie
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin
NAFLD : *Non-Alcoholic Fatty Liver disease*
NASH : *Non-Alcoholic Steato Hepatitis*
NOD-2 : *Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-2*
PCR : *Polymerase Chain Reaction*
PIH : Prestations Inter-Hospitalières
PRC : Programme de Recherche Clinique
PUI : Pharmacie à Usage Intérieur
TMF : Transplantation de Microbiote Fécal
TNF- α : *Tumor Necrosis Factor- α*

INTRODUCTION GENERALE

Le **microbiote intestinal** de l'homme est un ensemble de micro-organismes composé de 10^{14} bactéries représentant un génome bactérien d'environ 100 à 150 fois le génome humain. Il s'agit d'un écosystème très diversifié, complexe et spécifique de chaque individu. Depuis le début des années 2000, la recherche fondamentale a mis en évidence le rôle majeur du microbiote intestinal dans la physiologie humaine et, lorsqu'il est déséquilibré, dans de nombreuses pathologies digestives et extra-digestives. Une **dysbiose** du microbiote intestinal apparaît alors comme un facteur de prédisposition à certaines maladies. L'exemple le plus documenté à ce jour est l'infection digestive récidivante à *Clostridium difficile*.

La **transplantation de microbiote** fécal (TMF) est une thérapeutique qui consiste à administrer par voies naturelles une préparation de matières fécales provenant d'un donneur sain à un receveur ayant une pathologie en lien avec un déséquilibre du microbiote intestinal, cela dans le but de le restaurer. Les études scientifiques s'intéressant à l'efficacité de la pratique, déjà utilisée depuis de nombreuses années, n'ont émergé qu'en 2013 pour le traitement des **infections digestives récidivantes à *Clostridium difficile*** (1–3). Depuis, la TMF a été inscrite dans les recommandations européennes et américaines pour le traitement de cette indication (4,5), et son utilisation s'est rapidement développée à travers le monde. Bien qu'encourageants, ces résultats restent limités aux seules connaissances actuelles de l'écosystème complexe qu'est le microbiote fécal. Le recul encore trop faible des effets à long terme de la transplantation et le manque de contrôle sur la possibilité de rééquilibrer ou de moduler le microbiote intestinal, sont des enjeux majeurs quant à la possibilité d'enrichir les connaissances et d'influer, voire de maîtriser l'évolution de pathologies associées à son déséquilibre.

L'encadrement et le développement de la TMF, qui pourrait probablement n'être qu'une étape dans la recherche et le développement de traitements personnalisés issus du microbiote, doit être réalisé sous conditions strictes. En constante évolution, la difficulté de **cadrer** et **d'harmoniser** les pratiques au sein de chaque centre hospitalier est un challenge. Dans ce contexte, le Groupe Français de Transplantation Fécale (GFTF) a été créé en 2014, soutenu par l'Académie Nationale de Pharmacie, afin d'harmoniser et sécuriser la TMF dans la pratique clinique.

Au Centre Hospitalo-Universitaire de Caen, la technique a été mise en place en 2016 par une équipe pluridisciplinaire de professionnels de santé, à l'aide des recommandations pour

la pratique clinique courante pour la transplantation fécale dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes publiées par Sokol et coll. en 2015 (6).

L'objectif de cette thèse est de décrire la mise en place de l'activité de transplantation de microbiote fécal au sein du Centre Hospitalo-Universitaire de Caen.

Après avoir fait un état des lieux des connaissances actuelles sur le microbiote intestinal, les pathologies associées à un déséquilibre de ce dernier sont décrites, et notamment les infections à *Clostridium difficile* récidivantes, seule indication actuellement validée en Europe et aux Etats-Unis pour le traitement par transplantation fécale. Puis la pratique de TMF est présentée, de son historique, aux résultats d'efficacité et de sécurité qui lui sont associés.

La deuxième partie de cette thèse décrit tout d'abord la **mise en place de la technique** dans le Centre Hospitalo-Universitaire de Caen. Ensuite, la cohorte de patients traités pour une infection à *Clostridium difficile* récidivante dans le centre est présentée, ainsi que les **résultats cliniques** associés.

Enfin, dans une troisième partie, les résultats d'une enquête nationale menée auprès des centres hospitaliers universitaires réalisant ou sous-traitant des préparations de transplantation fécale seront présentés, ils portent notamment sur des **aspects pharmacotechniques** et **réglementaires** de la TMF.

1. AUTOUR DU MICROBIOTE FECAL

1.1. Le microbiote du tube digestif et son microbiome

1.1.1. Définition et composition

Microbiote vient du grec *mikros* « petit » et *biotós* signifiant « la vie ».

Le microbiote intestinal est défini comme un **écosystème** comprenant l'ensemble des micro-organismes unicellulaires non pathogènes (bactéries, virus, levures, parasites) qui colonise et vit dans le tractus digestif de l'être humain, allant de la bouche jusqu'à l'anus et incluant les matières fécales produites.

Le microbiote intestinal comprend le **microbiote fécal** qui représente le contenu luminal du côlon distal, le **microbiote mucosal** qui représente une partie du contenu de la couche de mucus tapissant la paroi intestinale, et le **microbiote luminal** du côlon proximal (7).

Il est compris dans son **microbiome**, l'ensemble des constituants moléculaires qui caractérisent un microbiote, à savoir un métagénome, un métatranscriptome, un métaprotéome et un métabolome (8).

Il existe différents microbiotes spécifiques de certaines zones anatomiques de l'être humain, tels que le microbiote de la peau, du vagin ou du tractus oto-rhino-laryngologiste par exemple, qui se composent de populations microbiennes qui sont propre à ces zones, et qui sont de tailles différentes. Cette thèse se concentre sur le microbiote intestinal.

Les premières connaissances du microbiote ont eu lieu de part les avancées pionnières des travaux de Pasteur au début du XX^{ème} siècle avec la découverte du concept de vie microbienne en l'absence d'oxygène. Puis dans les années 1970-80, les travaux de culture en anaérobiose de bactéries intestinales en laboratoire par Freter (9) et Finegold (10) permettent un essor majeur des connaissances en microbiologie intestinale et notamment une répartition en genres microbiens.

Progressivement, avec l'amélioration des méthodes de détection, une collection de micro-organismes du microbiote intestinal a été constituée, composée de **400 espèces** dont seules 40 à 60 composent le microbiote dit **dominant** de chaque individu.

Aujourd'hui encore, des souches nouvelles sont isolées, avec l'apparition d'approches moléculaires permettant d'extraire des informations génétiques complètes à partir de contenus intestinaux, à les caractériser par séquençage et à les comparer à des séquences codant l'ARN

de l'ensemble des gènes des génomes dominants connus : bactéries, phages, levures, protistes, plasmides.

De ce fait, des centaines d'espèces sont aujourd'hui approuvées par le comité international de bactériologie systématique et reconnues comme composant le microbiote intestinal humain, en proportions uniques d'un individu à l'autre.

Le microbiote intestinal se compose de **10¹⁴ bactéries** et sa densité y atteint plus de 10¹¹ bactéries par gramme de contenu dans le côlon. Il est également composé de phages, 10 à 100 fois plus nombreux que les bactéries les plus représentées, et dont le rôle régulateur permettrait une homéostasie écologique. *A contrario*, les eucaryotes présents dans le microbiote sont en quantité très faible et ne passeraient en dominance que dans certains états pathologiques ou lors d'apports nutritionnels particuliers.

En termes de comparaisons, le corps humain comprend environ 10¹³ cellules, représentant un poids de 70 kg, alors que le microbiote intestinal humain, avec ses 10¹⁴ micro-organismes, pèse environ 2 kg, et comporte 150 fois plus de gènes que le génome humain.

Du règne des bactéries, **3 phyla** dominants se distinguent dans le microbiote intestinal : les *Firmicutes*, les *Bacteroidetes* et les *Actinobacteria* (11) (figure n°1). Il existe un noyau phylogénétique d'environ 60 espèces (12) et un noyau métagénomique d'environ 200 000 gènes (11) qui sont à la fois dominants et prévalents chez l'homme.

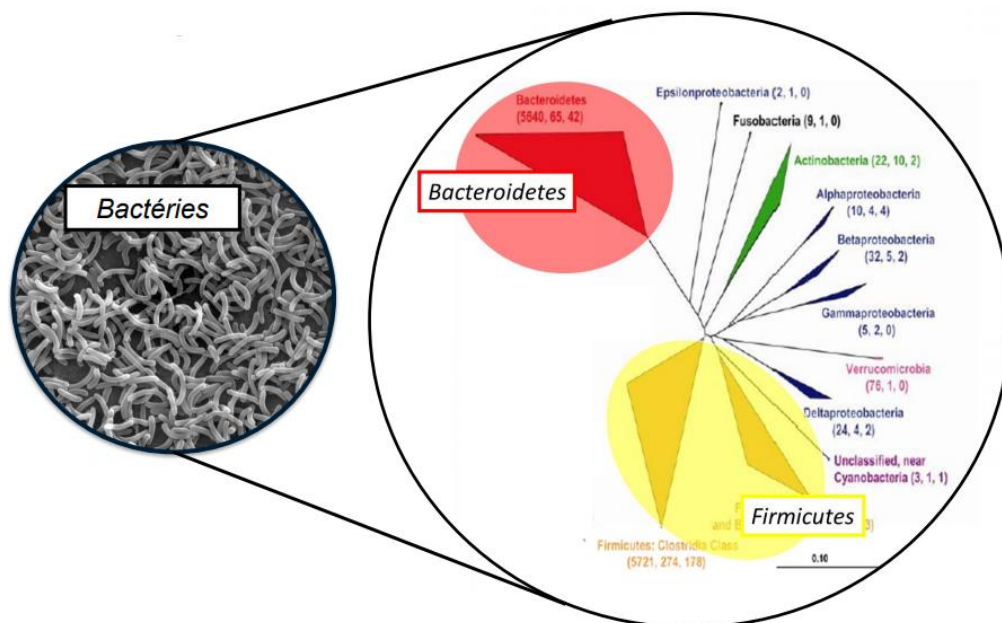


Figure n°1 : Représentation des principaux *phylums* bactériens du microbiote intestinal, d'après Sokol

Le *phylum* des *Firmicutes* représente majoritairement les Gram-positifs dominants. Ce *phylum* est organisé en groupes de bactéries, dont par exemple le groupe des *Clostridium* cluster XIVa qui, d'après la littérature, représente 14 à 31% des bactéries totales (13) (figure n°1 et 2). Il contient des bactéries du genre *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Butyrivibrio*.

Le *phylum* des *Bacteroidetes* représente les Gram-négatifs dominants, avec les genres *Bacteroides*, *Prevotella*, *Parabacteroides*, et apparentés. Ils représentent 9 à 42% des bactéries totales.

Le *phylum* des *Actinobacteria* contient les bactéries du genre *Bifidobacterium* (0,7% à 10%) et le groupe des *Collinsella-Atopobium* (0,3% à 3,7%) (14).

D'autres bactéries sont retrouvées en sous-dominance, généralement dans le microbiote du côlon, c'est le cas des entérobactéries, des lactobacilles et des streptocoques (15).

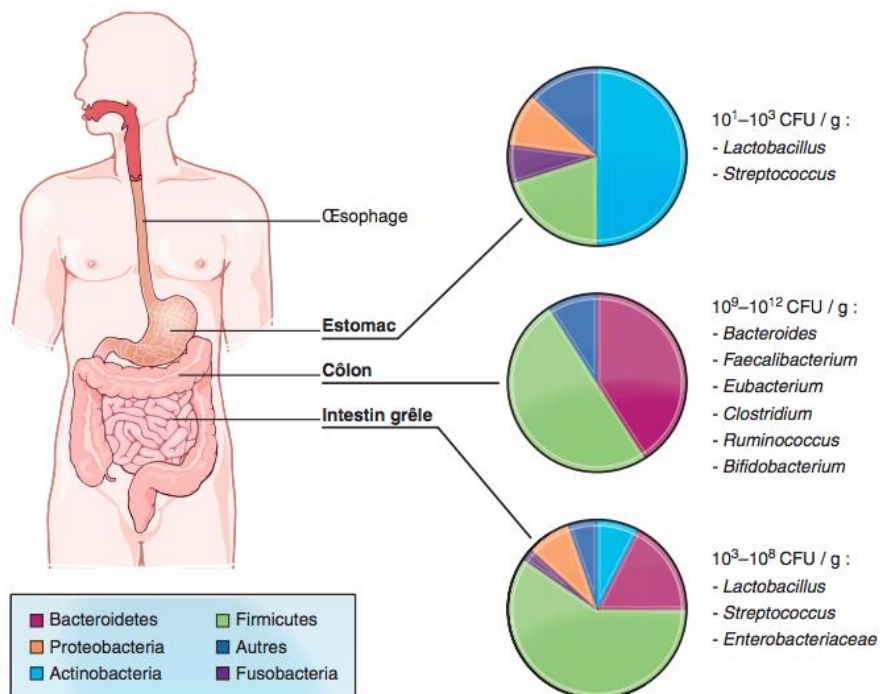


Figure n°2 – Composition et densité du microbiote intestinal (16)

La composition du microbiote dominant varie énormément **dans les premiers stades de vie** (17) et **avec le grand âge** (18). Mais pendant la plus longue partie de la vie, les études montrent que la diversité des espèces dominantes apparaît remarquablement **stable dans le temps**, pour un individu donné, d'un jour à l'autre et au cours des années. En effet, différents travaux scientifiques concluent que les mêmes grands *phylums* sont présents dans le microbiote de chaque individu, avec des proportions qui varient d'un individu à l'autre mais qui restent très probablement dans le même équivalent log-unité en termes de population, lorsque les profils

moléculaires de parties de microbiote d'un seul individu et d'un individu à l'autre sont étudiés (19–22). Zoetendal et coll. parlaient de « **stabilité du noyau phylogénétique intra-individu** » (23).

Il a également été montré que la diversité des espèces pour les groupes sous-dominants, par exemple *Lactobacillus*, est beaucoup moins stable dans le temps que celle des groupes dominants (20) et que la stabilité des communautés est plus grande dans le côlon que dans l'iléon.

Des **facteurs endogènes**, tels que la qualité et la quantité du mucus, le pH intraluminal, le péristaltisme, le système immunitaire, ou **exogènes**, tels que les xénobiotiques, l'alimentation, la localisation géographique ou le rythme circadien peuvent provoquer des modulations de la composition du microbiote intestinal, cependant ces modulations restent **temporaires** et **réversibles** et montrent une certaine **résilience** du microbiote dominant (24).

1.1.2. Ses fonctions dans l'organisme

Le microbiote intestinal peut actuellement être considéré comme un véritable organe à part entière, du fait de ses fonctions physiologiques, pour la plupart bénéfiques pour son hôte, l'homme (figure n°3). Il est d'ailleurs qualifié de « **deuxième cerveau** » dans le domaine scientifique.

Fonction de barrière

Le microbiote intestinal joue un rôle direct et indirect dans le maintien d'une barrière intestinale, processus indispensable à l'homéostasie intestinale. La finalité est de maintenir une distance suffisante avec le microbiote résidant et d'établir une **barrière** efficace vis-à-vis des pathogènes.

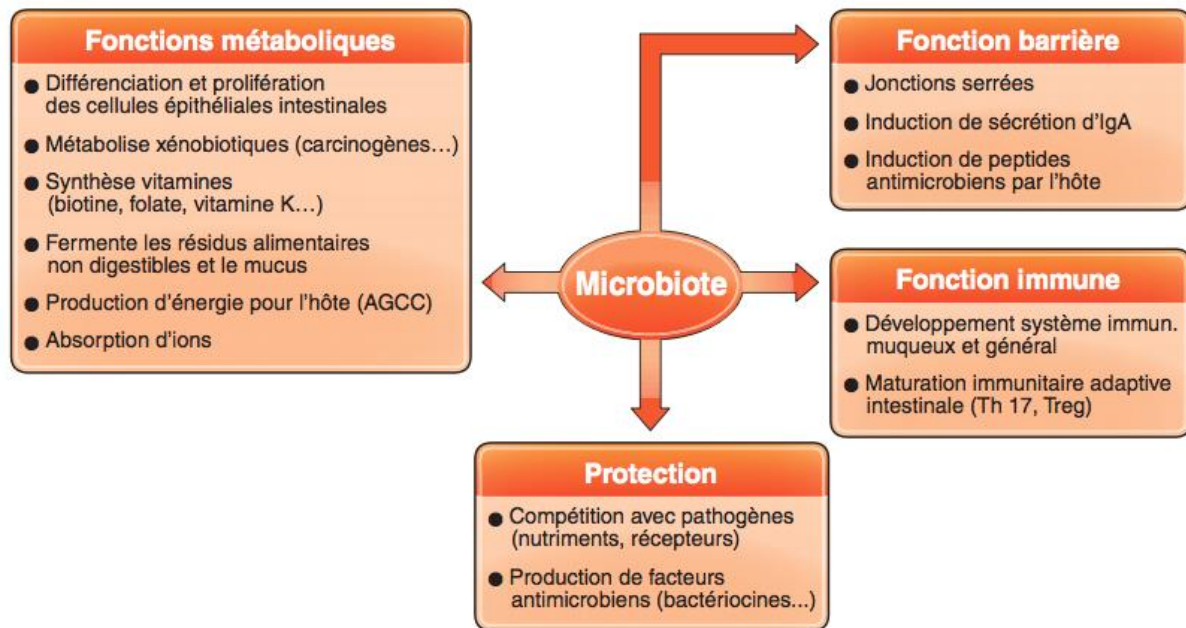


Figure n°3 – Résumé des principales fonctions du microbiote intestinal vis-à-vis de l'hôte (16)

L'effet direct décrit est un effet protecteur envers les bactéries pathogènes exogènes et les bactéries endogènes présentes en faible quantité mais potentiellement délétères en cas d'augmentation de leur concentration. Cet effet résulte d'une **adaptation** des bactéries constituant le microbiote intestinal dominant à leur environnement, car elles occupent des **sites d'adhésion, consomment des nutriments disponibles** et **modifient l'écosystème** à leur avantage par les produits de leur métabolisme (25). De ce fait, si une espèce bactérienne est déjà présente dans le tractus digestif, il est difficile pour une autre bactérie de la même espèce, de s'y implanter simultanément. Les travaux de Lee et coll. publiés en 2013 dans *Nature* mettent en évidence ces faits sur des modèles murins (26).

Pour qu'une bactérie exogène s'implante dans l'intestin et exerce ses effets, elle doit présenter un **avantage écologique** lui permettant d'occuper une **niche écologique** de manière plus efficace que les bactéries commensales (27). Dans l'exemple de l'infection à *Clostridium difficile*, survenant spécifiquement chez des patients ayant subi une perturbation de leur microbiote intestinal généralement par une antibiothérapie, l'essai clinique mené par Gerding et coll. a montré que l'administration de **spores de *C. difficile* non toxigène** au cours d'une infection à ce germe avait un **effet préventif** sur la récurrence (28).

La preuve de l'effet de barrière thérapeutique est celle de la **transplantation de microbiote fécal**, décrite par van Nood et coll. en 2013, dont l'objectif de l'administration massive de microbiote d'un sujet sain est d'occuper brutalement l'ensemble des niches écologiques libres afin **d'empêcher la recolonisation** par les souches pathogènes (3).

D'autres mécanismes décrits dans la littérature peuvent expliquer un effet « barrière » du microbiote intestinal. Les bactéries du microbiote produisent des bactériocines, détruisant les bactéries pathogènes (29), et des acides gras, qui ont une incidence sur le pH local et empêchent la prolifération de certains pathogènes (30).

L'effet indirect de barrière passe par la stimulation du **système immunitaire muqueux**, incluant des effets sur les cellules épithéliales (renforcement des jonctions serrées entre les cellules épithéliales (31) et immunitaires, avec notamment la production de mucus (32) et de peptides anti-microbiens (33) et la sécrétion d'Immunoglobulines A (8,34) (Figure n°4).

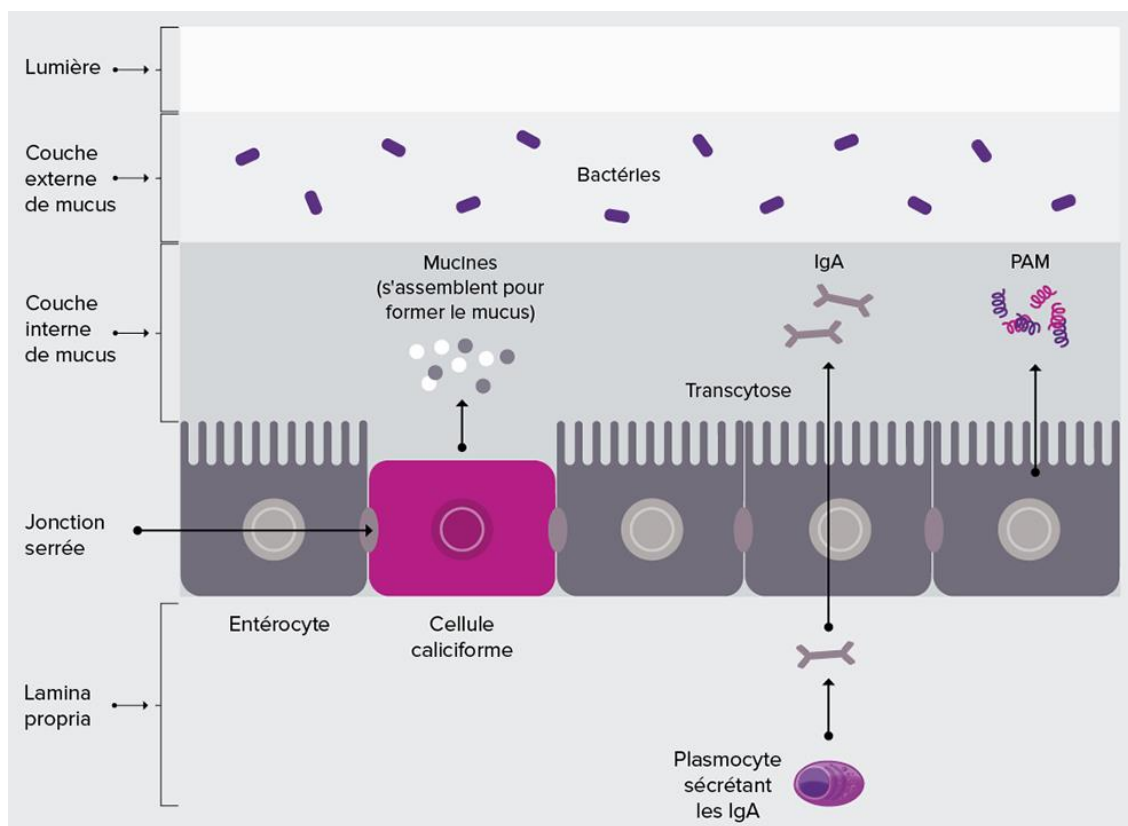


Figure n°4 – Effet « barrière » indirect du microbiote intestinal *via* l'hôte (35)

Fonction de système immunitaire

Le microbiote intestinal joue un rôle clé dans le **contrôle de l'activation et la maturation des cellules immunitaires intestinales** et systémiques (figure n°4). Il est en contact permanent avec les antigènes de la lumière intestinale et des micro-organismes commensaux ou en transit.

La coévolution et l'établissement du microbiote intestinal et du système immunitaire se faisant dans les premières années de la vie, leur étroite relation permet de penser que le système immunitaire peut contrôler le microbiote dans sa composition et sa diversité.

Le lieu de la réponse immunitaire intestinale est situé dans la muqueuse intestinale qui comprend l'épithélium, la *lamina propria* et la *muscularis mucosae*. Ces différentes structures contiennent des lymphocytes intra-épithéliaux, des peptides anti-microbiens (PAM), et ont également une immunité mécanique avec la présence de jonctions serrées (figure n°4). L'intestin présente également des structures lymphoïdes associées, nommées GALT (*Gut-associated Lymphoid Tissue*) drainées par des ganglions lymphatiques, qui sont spécialisées dans la capture et le transport d'antigènes vers les cellules immunitaires sous-jacentes. Les plaques de Peyer présentes au niveau de l'intestin grêle, et des tissus lymphoïdes isolés solitaires sont également décrits et présents tout au long du tractus digestif (8,16,36).

Fonction métabolique

L'activité métabolique du microbiote intestinal, qui correspond à la capacité des bactéries à transformer les composés alimentaires en métabolites assimilables par l'hôte, est également une fonction primordiale. Les liens entre le microbiote intestinal, l'aliment et l'hôte sont ainsi décisifs pour maintenir une homéostasie de l'écosystème digestif et assurer la santé de l'hôte. Les métabolites formés sont absorbés et utilisés par l'organisme, ils ont pour la majorité d'entre eux, des effets bénéfiques pour la santé mais ils peuvent pour certains, avoir des effets délétères.

Chez l'homme, la masse la plus importante du microbiote intestinal est située dans le **côlon**.

Les **glucides** et les **protéines** ingérés mais non digérés dans la partie supérieure du tractus digestif sont les **principaux substrats**, sources de carbone et d'énergie du microbiote. Leur biotransformation implique l'existence d'une variété d'activités métaboliques des micro-organismes présents (37).

La composition phylogénétique du microbiote varie fortement d'un sujet sain à l'autre, cependant les fonctions exercées par les différents microbiotes sont très semblables. Ehrlich et son équipe ont mis en évidence un « noyau fonctionnel » chez les microbiotes, composé

essentiellement de gènes codant des activités métaboliques telles que la synthèse des acides gras à chaîne courte, des acides aminés essentiels et des vitamines (38). Il existe ainsi une redondance des fonctions entre différentes espèces, permettant d'assurer le maintien des activités essentielles.

Concernant le **métabolisme des glucides**, ce sont principalement les polysides présents dans les céréales, les fruits et les légumes, tels que l'amidon, la cellulose et les pectines qui sont fermentescibles. En fonction du régime alimentaire, la quantité quotidienne de ces glucides fermentables qui parvient au côlon varie de 10 à 60 g (37).

Il s'agit d'une **dégradation anaérobie** impliquant la contribution de différents groupes microbiens aux activités métaboliques complémentaires. Ces micro-organismes interagissent entre eux pour former une chaîne trophique qui assure la transformation des glucides en métabolites fermentaires tels que les Acides Gras à Chaîne Courte (AGCC) et des gaz principalement (figure n°5).

Cette dégradation nécessite l'intervention d'hydrolases, enzymes non produites par l'hôte mais par certaines espèces bactériennes et permet d'utiliser les fragments osidiques libérés comme source d'énergie. Elle permet également la dégradation des fibres qui libèrent des polyphénols et des vitamines aux activités anti-oxydantes et/ou anti-inflammatoires pour l'hôte (39–41).

Les espèces bactériennes du genre *Bacteroides* sont capables d'utiliser un grand nombre de polysides différents, ce qui leur confère la capacité de s'adapter à différents régimes alimentaires. Les autres espèces sont plus spécialisées dans l'hydrolyse d'un substrat donné et semblent susceptibles d'être plus affectées par les changements alimentaires (42).

Le processus de fermentation des glucides qui s'en suit est majoritairement réalisé par des espèces bactériennes utilisant la voie de la glycolyse qui convertit les glucides en pyruvate, celui-ci étant transformé en produits terminaux de fermentation par différentes voies métaboliques, tels que des acétates, propionates, et butyrates et en gaz (hydrogène, dioxyde de carbone, et méthane). D'autres espèces produisent également des métabolites intermédiaires tel que le succinate, le lactate, l'éthanol ou le formate qui sont métabolisés par d'autres espèces en produits finaux (43,44) (figure n°5). Ces métabolites intermédiaires contribuent au **maintien de la diversité microbienne** dans le côlon.

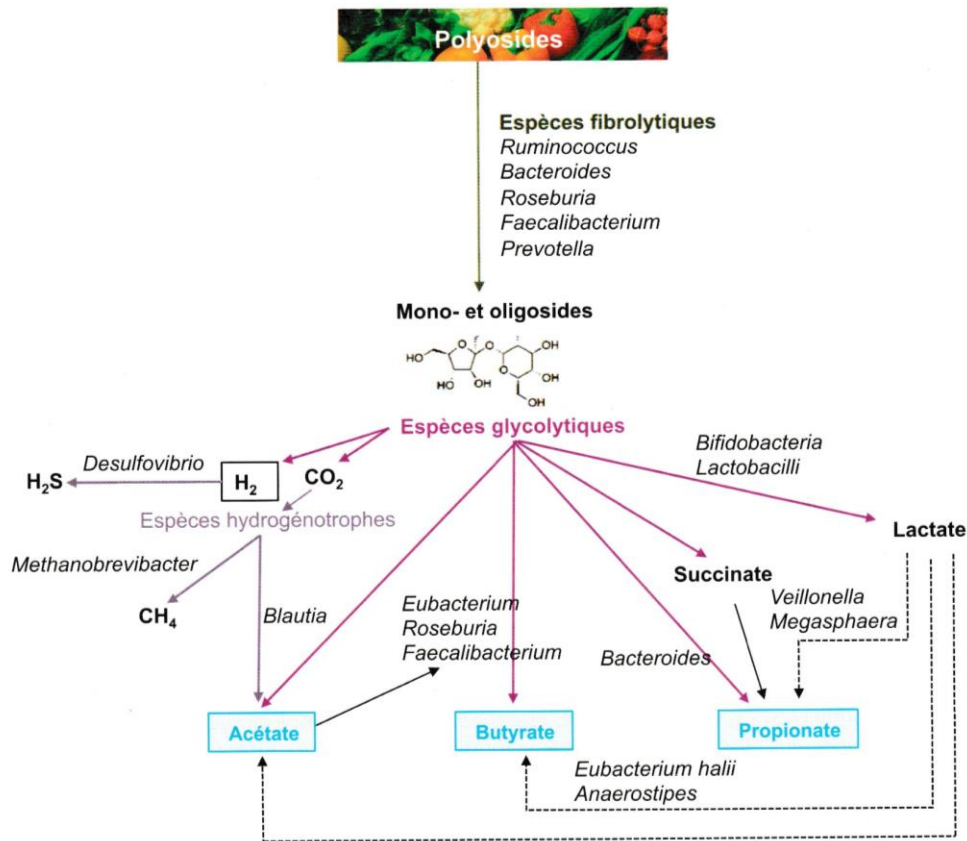


Figure n°5 – Chaîne trophique de la fermentation des glucides (8)

Le métabolisme des protéines est la principale source d'azote du microbiote intestinal. Les protéines parvenant au côlon, en quantité variant en moyenne de 12 à 18 grammes par jour en fonction du régime alimentaire, proviennent de 2 sources : les protéines alimentaires résiduelles, et les protéines endogènes comme les enzymes ou les mucines. Leur biodégradation fait intervenir un grand nombre d'espèces bactériennes (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*) ayant des activités de protéolyses complémentaires : protéases, désaminases, transaminases. Ces protéases ont un pH optimal proche de la neutralité, elles s'avèrent particulièrement actives dans la partie du tractus digestif où le pH est le plus élevé : le côlon distal (45).

Les travaux de Macfarlane et coll. datant de 1991 montrent que les peptides et acides aminés libérés par l'hydrolyse des protéines sont utilisés par des espèces bactériennes, qui ne fermentent pas les glucides, telles que les *Acidaminococcus*, les *Veillonella* et *Peptococcus* (46). En revanche, les espèces qui fermentent les glucides utilisent les produits de la dégradation des protéines comme source d'azote (45). Contrairement à la fermentation des glucides, la dégradation des protéines dans le côlon génère de nombreux métabolites potentiellement toxiques pour l'hôte, comme des phénols, des indoles, des ammoniacs ou des amines. Ceci

montre que la fermentation des glucides contribue à diminuer la disponibilité des composés toxiques issus de la protéolyse en stimulant la protéosynthèse bactérienne.

Concernant le métabolisme des lipides, ce sont les espèces bactériennes possédant des lipases qui permettent d'hydrolyser les triglycérides à chaînes longues (47). Les lipides sont principalement absorbés dans l'intestin grêle, et peu parviennent jusqu'au côlon (5 à 8 grammes par jour). Le régime alimentaire fait, là encore, varier cette quantité. Les travaux de Scott et coll. publiés dans *Pharmacology Research* en 2013 montrent que les régimes riches en graisses modifient la composition du microbiote en faisant varier le ratio *Bacteroidetes/Firmicutes*. Ils modifient également l'activité du microbiote en diminuant les quantités d'AGCC et de bifidobactéries (43).

L'ingestion de lipides est associée à la sécrétion d'acides biliaires qui peuvent être transformés en composés bioactifs par le microbiote intestinal. Les acides biliaires primaires, synthétisés à partir du cholestérol dans le foie, sont conjugués à des acides aminés et sécrétés dans le tube digestif. Ils subissent ensuite une déconjugaison par des espèces bactériennes telles que des *Bifidobacterium*, des *Bacteroides*, puis sont transformés par certains clusters de *Clostridium* en métabolites pouvant exercer des effets anti-inflammatoires, ou au contraire, avoir un pouvoir carcinogène (48).

Les sels biliaires retrouvés et identifiés dans les selles ont échappé au cycle entéro-hépatique et sont parvenus au côlon où ils ont été métabolisés en acides biliaires secondaires, tels que l'acide désoxycholique et l'acide lithocholique (49,50).

Baron et coll. a observé un rôle du microbiote intestinal sur les hormones stéroïdiennes, qui, une fois passées par le cycle entéro-hépatique, sont excrétées conjuguées dans la bile et sont déconjuguées par des espèces bactériennes du microbiote intestinal, telles que des *Escherichia coli* (49).

Enfin, le métabolisme des gaz, dont l'hydrogène est le plus représenté, intervient majoritairement dans le côlon. Les processus fermentaires y produisent des quantités importantes d'hydrogène (46). L'élimination de ces gaz a lieu majoritairement par consommation par des espèces bactériennes hydrogénotrophes telles que les *Methanobrevibacter* ou *Blautia hydrogenotrophica* (51), et mineurairement par excrétion pulmonaire et anale, et est indispensable au maintien de l'efficacité des fermentations (37,46).

Ainsi, le maintien de la diversité des espèces microbiennes d'un hôte est assuré par la variété des substrats disponibles. Il en découle un rôle déterminant sur les activités

métaboliques du microbiote. Parmi la diversité des métabolites produits par les bactéries, certains peuvent avoir une activité bénéfique ou néfaste pour la physiologie humaine. Les activités sont fonction de la qualité du **régime alimentaire** dont ce dernier représente un moyen d'intérêt majeur pour modifier ou moduler l'activité métabolique du microbiote intestinal et pour promouvoir des effets bénéfiques pour la santé.

Ces activités sont également fonction de la **qualité du microbiote**, dont les communautés bactériennes participant aux rôles bénéfiques ou délétères restent encore à identifier (8).

Les fonctions métaboliques du microbiote ont également un impact sur les transformations métaboliques des **xénobiotiques**.

Plusieurs exemples dans ce domaine ont des applications cliniques importantes, car les modulations du microbiote peuvent modifier la pharmacologie de nombreux médicaments.

Les processus enzymatiques en lien avec le microbiote des intestins sont décrits dans le tableau 1. On retrouve notamment l'inactivation de certains médicaments par **réduction**, c'est notamment le cas de la digoxine. On retrouve également la **déconjugaison** des AINS et de l'irinotécan, qui engendrent une toxicité intestinale (52).

Tableau n°1 : Exemples d'activités métaboliques de micro-organismes du microbiote, capables d'influencer l'activité de médicaments (8)

Activité métabolique	Molécules
Déconjugaison	Irinotécan, acides biliaires, indométacine
Protéolyse	Insuline orale
Réduction	Digoxine, oméprazole, métronidazole
Hydrolyse	Lactulose
Déshydroxylation	Lévodopa

Après avoir décrit les différentes fonctions du microbiote intestinal, nous abordons des déséquilibres qu'il est susceptible de subir, et leur lien avec diverses pathologies.

1.2. Dysbioses et pathologies associées

Le microbiote intestinal est un écosystème structuré ayant de nombreuses inter-relations logiques. Sa richesse et sa biodiversité sont des éléments qui pourraient favoriser sa **stabilité**, sa **résistance** aux stress et sa **résilience**.

La **dysbiose** est considérée comme une rupture de la symbiose microbiote-hôte, dont la signature serait la restriction de biodiversité ou de richesse microbienne, voire même de la structure du microbiote. Et cela pourrait être la cause (ou la conséquence) d'une multitude de pathologies (figure n°6).

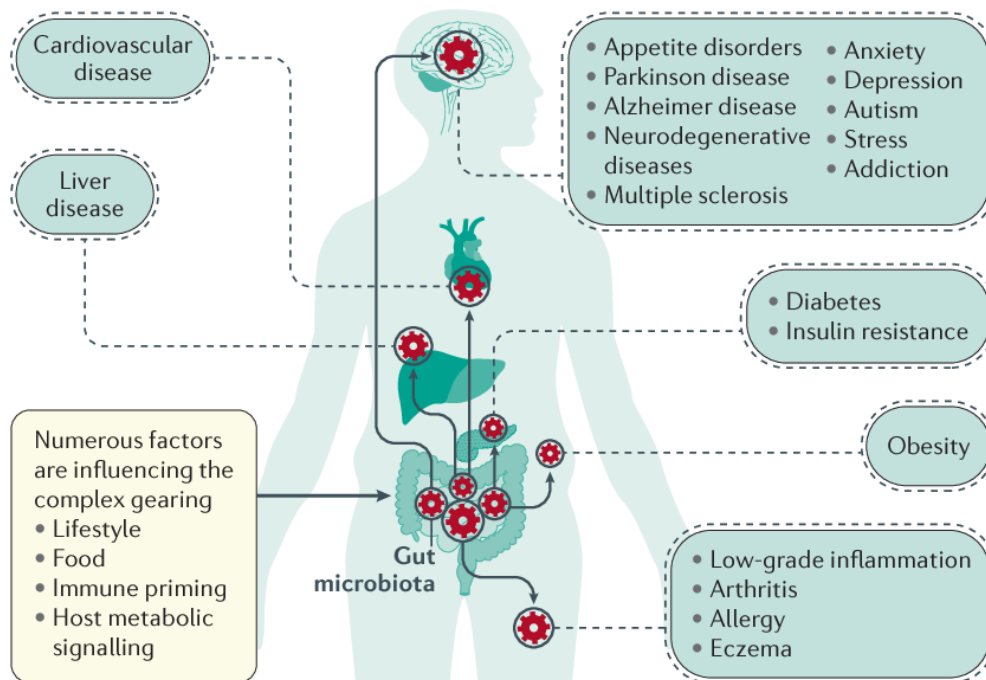


Figure n°6 : L'implication du microbiote intestinal dans plusieurs pathologies (53)

Les différents chapitres de cette partie illustrent une association entre ce type de dysbiose et certaines pathologies.

1.2.1. Pathologies du tractus digestif

Diarrhée infectieuse

La **diarrhée infectieuse** due aux antibiotiques est fréquente et a un impact important en santé publique. Les perturbations aiguës engendrées par **l'antibiothérapie** affectent brutalement l'écosystème digestif, en impactant directement l'environnement par la perte de micro-organismes usuels mais aussi le microbiote lui-même, en pouvant y introduire un ou plusieurs pathogènes. Une fois l'antibiothérapie stoppée, une ré-augmentation des micro-organismes commensaux dominants du côlon est généralement observée, aboutissant à un nouvel équilibre et à une résilience (24,54,55) (figure n°7). Le risque écologique principal est la **persistance de souches microbiennes antibiorésistantes** (55). Les conséquences

pathologiques de la perturbation du microbiote colique sont, à court terme, l'apparition d'une diarrhée, voire d'une colite, et à plus long terme, d'un risque d'**intestin irritable** (56).

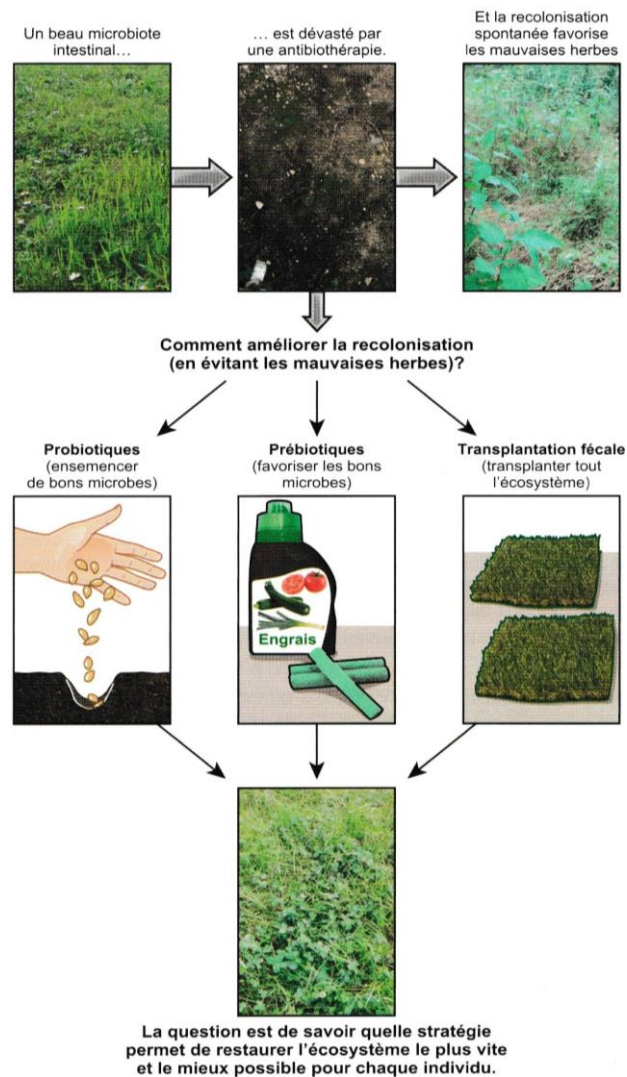


Figure n°7 : Représentation de la résilience d'un écosystème et comment le manipuler (parallèle entre une pelouse et le microbiote intestinal), d'après (57)

Les mécanismes qui participent à l'apparition d'une diarrhée pendant ou au décours des traitements antibiotiques sont : une **diminution de la capacité fermentaire** avec un risque de **diarrhée osmotique** si l'alimentation est riche en substrats fermentescibles, et une **diminution de l'effet de barrière** qui augmente le risque d'infection intestinale.

A l'état normal, le microbiote colique transforme les sucres mal absorbés par fermentation en acides gras à chaîne courte, ce qui en **réduit la charge osmotique** et l'**effet diarrhéogène**. Ces sucres peuvent être des fibres ou des saccharides (58). L'antibiothérapie, en diminuant la flore de fermentation, augmente le risque de diarrhée chez les sujets consommant des saccharides. L'effet de barrière exercé par le microbiote limite également l'implantation et la multiplication

des pathogènes. Lorsque la quantité de ces bactéries protectrices endogènes est diminuée par une antibiothérapie, le risque d'observer une pullulation des pathogènes augmente (59,60).

Généralement, une diarrhée due aux antibiotiques est dite « simple » lorsqu'elle est isolée, en l'absence de syndrome dysentérique et de signes systémiques. Les troubles débutent quelques jours après le début de l'antibiothérapie, mais peuvent survenir jusqu'à 6 semaines après son arrêt. La plupart du temps, les troubles disparaissent spontanément et rapidement à l'arrêt de l'antibiothérapie.

La majorité des antibiotiques ont un impact sur le microbiote intestinal lorsqu'ils sont administrés par voie orale mais aussi par voie parentérale, si leur pharmacocinétique comprend une élimination biliaire. Le risque de diarrhée est favorisé après administration d'antibiotiques à large spectre, d'association de plusieurs antibiotiques et en cas de régime riche en saccharides ou de nutrition entérale par sonde.

La correction et la prévention de la déshydratation implique des conseils hygiéno-diététiques, dont la diminution de la consommation des aliments riches en saccharides diarrhéogènes.

Divers anti-diarrhéiques, dont des **probiotiques**, ont démontré une efficacité avec un niveau de preuve élevé pour le traitement ou la prévention de la diarrhée (60) (figure n°7).

Les infections à *Clostridium difficile* (ICD) représentent la **première cause de diarrhée nosocomiale**. La grande fréquence de récurrences, l'existence de **souches hypervirulentes** et l'augmentation de la résistance au métronidazole sont les principales difficultés thérapeutiques rencontrées avec ce germe (56). Les facteurs de risque de développer une ICD sont décrits dans le tableau n°2.

Tableau n°2 : Facteurs de risque de développer une infection à *Clostridium difficile*

Antibiothérapie
Âge > 65 ans
Hospitalisation (actuelle ou récente)
Chimiothérapie ou cancer
Chirurgie
Traitement par inhibiteurs de la pompe à protons
Maladies inflammatoires de l'intestin
Immunosuppression

Clostridium difficile est une bactérie anaérobie commensale de la flore digestive humaine et présente dans le milieu extérieur.

Elle apparaît sous forme de bacille fin et droit, sporulé avec une capacité de mobilité. C'est une bactérie à Gram positif.

Elle n'est pas invasive mais certaines souches produisent des **toxines A et B**, causant des symptômes et des lésions allant de la diarrhée simple à des colites dont la forme la plus sévère et potentiellement mortelle est la **colite pseudomembraneuse**. Elle se transmet par **voie manuportée directe** ou **féco-orale**.

Le tableau clinique est une diarrhée liquide, abondante et non sanglante qui débute en moyenne 7 jours après le début d'une antibiothérapie. Sont associés à ce tableau une fièvre modérée, des douleurs abdominales, une hyperleucocytose et d'autres critères définissant la sévérité de l'atteinte (tableau n°3). Des lésions aphtoïdes à type de pseudo-membranes, sont identifiables à la rectosigmoïdoscopie sous forme de plaques jaunâtres, dues à l'accumulation de leucocytes, de mucine et de débris cellulaires, pouvant se compliquer d'un choc septique, d'une péritonite, d'un mégacôlon toxique voire d'une perforation colique.

Des colites fulminantes sont également observées, elles sont de mauvais pronostic (24 à 36% de décès).

Tableau n°3 : Critères prédictifs de colite sévère à *Clostridium difficile*

Âge > 65 ans
Comorbidités
Immunosuppression
Utilisation de ralentisseurs du transit ou d'opioïdes
Fièvre
Hypotension
Douleurs abdominales sévères et/ou distension
Iléus
Ascite clinique
Hypo-albuminémie profonde

Les souches commensales sont généralement non sécrétrices des toxines et donc non pathogènes, cependant, certains sujets adultes et nourrissons sont **porteurs sains** de *C. difficile* toxinosécréteurs. Ces porteurs sains ont un microbiote dominant exerçant une fonction de barrière qui maintient les *C. difficile* à des niveaux de population sous-dominants.

Des **souches hypervirulentes** épidémiques et nosocomiales identifiées par le **ribotype 027** à la PCR sont à risque léthal accru.

Les spores de *C. difficile* sont très résistantes et peuvent survivre plusieurs mois dans le milieu extérieur, ce qui favorise la transmission nosocomiale.

C'est pourquoi le contrôle de la diffusion nosocomiale repose sur le diagnostic précoce des patients infectés symptomatiques, leur **isolement** dit « **contact** », une hygiène stricte avec une décontamination de l'environnement par solution hypochlorée, l'utilisation de gants lors des manipulations des liquides biologiques et le lavage méticuleux des mains par des solutions antiseptiques.

Le traitement curatif repose sur une antibiothérapie ciblant *C. difficile*, comprenant le métronidazole, la vancomycine ou la fidaxomicine. Le métronidazole est recommandé dans les formes minimales à modérées. En cas d'échec clinique après 5 à 7 jours de traitement, il faut avoir recours à la vancomycine. Cette dernière s'utilise *per os* et est indiquée en première intention dans les formes sévères (5).

En cas de rechute, il est nécessaire de prescrire une antibiothérapie, généralement la vancomycine. Les formes multi récidivantes nécessitent de discuter d'autres traitements, tels que la fidaxomicine (5). La fidaxomicine réduit de moitié le risque de rechute par rapport à la vancomycine (62).

La transplantation fécale a une efficacité démontrée dans les essais cliniques en double aveugle. Elle est indiquée dans les **infections à *Clostridium difficile* récidivantes chez l'adulte**, à partir de la **seconde récidive**, soit le 3^{ème} épisode (figure n°8). La TMF ne doit être réalisée qu'après échec d'un traitement bien conduit par vancomycine ou fidaxomicine. Du fait de sa difficulté de mise en place en pratique, elle est limitée à des centres experts suivant des règles pharmacologiques strictes (63).

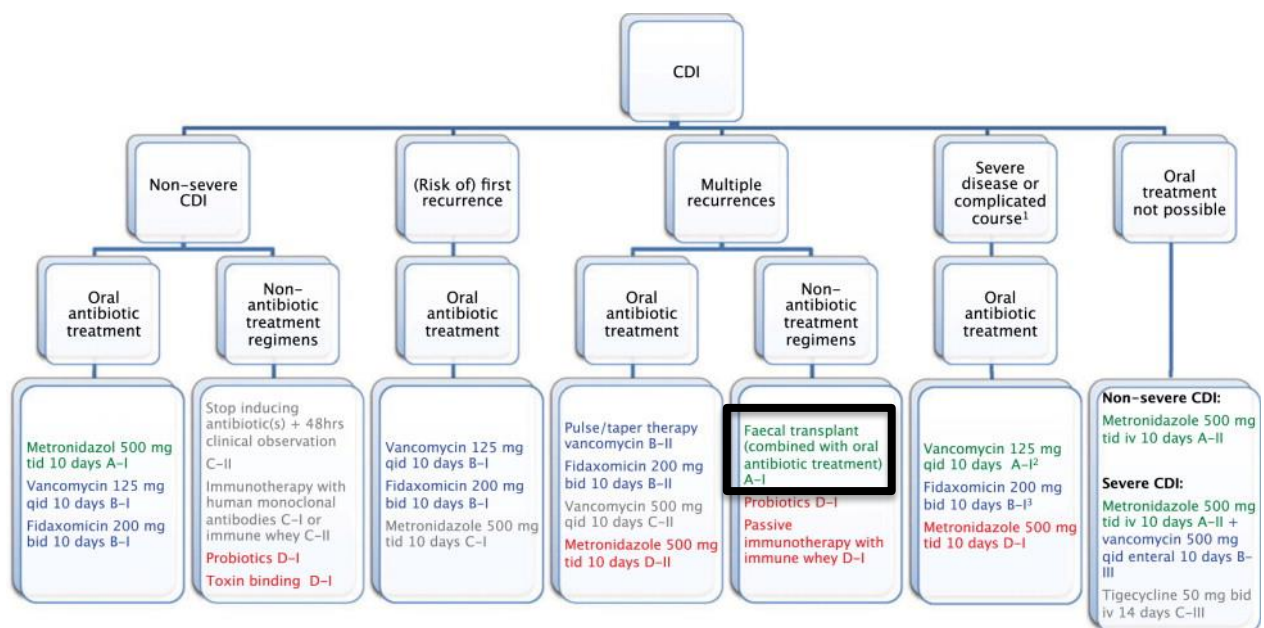


Figure n°8 : Recommandations européennes (ESCMID) de traitement de l'infection à *Clostridium difficile* (5)

Une autre thérapeutique récente est un anticorps monoclonal anti-toxine B de *Clostridium difficile* (Bezlotoxumab) qui a l'autorisation de mise sur le marché en prévention des récurrences d'ICD chez les adultes à haut risque.

Un vaccin est également à l'étude.

D'autres micro-organismes tels que *Klebsiella oxytoca* ou *Candida albicans* peuvent exercer un pouvoir pathogène sur le tractus digestif, mais ne sont pas décrits ici.

Microbiote et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

La **maladie de Crohn** et la **rectocolite hémorragique** représentent les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Elles sont responsables de signes digestifs variables, allant de douleurs abdominales à une diarrhée hémorragique, auxquels peuvent s'ajouter des atteintes extra-digestives de type articulaires, cutanées, ophtalmiques ou biliaires (64).

Ces maladies ont un retentissement important sur la qualité de vie des personnes atteintes.

Le microbiote intestinal apparaît comme un élément clé dans la physiopathologie des MICI.

Grâce au séquençage ADN et à la mise à disposition d'outils bio-informatiques, il a pu être mis en évidence une **restriction de la biodiversité** des *Firmicutes*, une diminution de la proportion de certains groupes bactériens ayant une activité anti-inflammatoire (65,66) tels que les *Clostridium leptum*, et une augmentation de la proportion d'entérobactéries. Ces dysbioses ont pour conséquences des modifications du contenu luminal (acides biliaires, peptides antimicrobiens, nutriments, phages) influençant **l'immunité intestinale** et promouvant **l'inflammation chronique** (67).

Les résultats d'efficacité d'essais cliniques randomisés sur la rectocolite hémorragique sont hétérogènes, et ne sont pas aussi concluants que les essais sur les infections récurrentes à *Clostridium difficile*, mais certains d'entre eux apportent toutefois une efficacité significative versus placebo (68,69).

Microbiote et syndrome de l'intestin irritable

Le **syndrome de l'intestin irritable** fait partie des troubles fonctionnels intestinaux, correspondant à un ensemble hétérogène de symptômes digestifs chroniques, sans anomalie histologique, endoscopique ou biologique évidente. Il est caractérisé par un inconfort ou une douleur de l'abdomen associé à des troubles du transit. Il affecte 10% de la population générale.

Bien que la physiopathologie du syndrome de l'intestin irritable, considérée comme multifactorielle (figure n°9), demeure toujours imparfaitement comprise, (symptômes liés à un dysfonctionnement des communications entre le système nerveux central et le système nerveux entérique (70,71)), des études montrent un dysfonctionnement associé à la présence d'anomalies qualitatives, quantitatives ou fonctionnelles du microbiote. En effet, plus d'une dizaine d'études démontrent des dysbioses, dont les plus rapportées sont une baisse de la diversité, notamment du microbiote mucosal et un excès de certaines clostridies (72,73) et *Firmicutes* (74,75), en contraste avec la réduction des bifidobactéries au contact de la muqueuse intestinale (76–78).

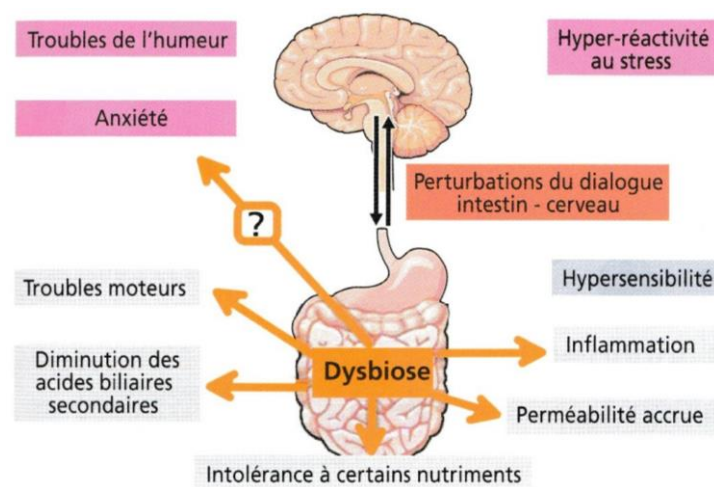


Figure n°9 : Anomalies physiopathologiques contribuant à la survenue d'un syndrome de l'intestin irritable (8)

Une pullulation bactérienne endoluminale est également décrite. Elle contribuerait au ballonnement abdominal dont se plaignent les patients atteints. Selon une méta-analyse de Ford et coll. datant de 2009, la probabilité de pullulation bactérienne endoluminale au cours du syndrome de l'intestin irritable est 3 fois supérieure à celle d'une population contrôle (79).

D'autres mécanismes décrits chez la souris pourraient expliquer certaines conséquences de ces dysbioses : elles seraient à l'origine de troubles moteurs intestinaux du fait d'une

diminution de l'expression d'enzymes impliqués dans la synthèse de neuromodulateurs et d'une diminution de la stimulation de la synthèse de protéines musculaires spécifiques (8).

Les dysbioses seraient également à l'origine de la survenue d'une hypersensibilité viscérale (80), et favoriseraient l'altération de la barrière intestinale et la survenue d'une inflammation de bas grade.

Corriger la dysbiose par transplantation de microbiote fécal pourrait être une piste thérapeutique attractive. Une étude pilote belge sur 12 patients a montré une amélioration des symptômes du syndrome de l'intestin irritable à 12 semaines chez 75% d'entre eux (81). Une étude clinique hollandaise publiée en 2015 montrait également une amélioration chez 70% des patients atteints (82).

Microbiote et *Graft versus Host Disease (GvHD)* intestinale

Certaines pathologies hématologiques nécessitent une transplantation de cellules souches hématopoïétiques allogéniques d'un donneur sain et compatible à un receveur malade atteint. La réaction du greffon contre l'hôte ou *Graft versus Host Disease (GvHD)* est une réaction des cellules immunocompétentes telles que les lymphocytes T activés provenant d'un donneur, contre les cellules épithéliales des tissus de l'hôte, suite à des réactions inflammatoires en cascade. Le tractus gastro-intestinal peut ainsi être atteint, avec des signes cliniques digestifs tels que douleurs abdominales et diarrhée. Le traitement consiste généralement à diminuer l'inflammation par ajout de corticostéroïdes au traitement immunosuppresseur de base. Lorsque la *GvHD* est résistante aux corticostéroïdes, une immunothérapie de seconde ligne est envisagée, cependant aucun standard n'est défini.

Il a été montré que la diversité du microbiote intestinal était perturbée lors d'une *GvHD* (83). Le microbiote intestinal étant en lien avec les réponses immunitaires, des résultats cliniques indiquent une association entre le développement de la *GvHD* et le microbiote intestinal. Ce dernier conditionnerait également les résultats de transplantation de cellules souches hématopoïétiques (84). La transplantation de microbiote fécal pourrait constituer une option thérapeutique dans cette pathologie. Les résultats d'une étude pilote réalisée au Japon pour évaluer la sécurité de la TMF lors d'allogreffe de cellules souches, montrent que sur les 4 patients atteints de *GvHD* résistante aux corticostéroïdes et traités par TMF, tous ont répondu favorablement. Aucun effet indésirable grave attribué à la TMF n'a été observé (85).

Un essai clinique français de phase II est en cours, nommé HERACLES, évaluant l'efficacité de la TMF dans le traitement de la *GvHD* résistante aux corticostéroïdes. Un autre essai clinique, ODYSSEE, évaluait l'efficacité d'une transplantation de microbiote fécal autologue dans la correction d'une dysbiose chez des patients atteints de leucémie myéloïde aigüe et subissant une chimiothérapie d'induction intensive pour provoquer une aplasie médullaire.

Les résultats de ces essais cliniques ainsi que de nouvelles études permettront de consolider les données scientifiques et rendra peut-être possible l'indication de la TMF dans cette pathologie.

1.2.2. Pathologies métaboliques et hépatiques

Microbiote, surpoids et diabète

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, en 2014, le **surpoids** touchait plus de 1,9 milliard d'adultes dont plus de 600 millions d'obèses. C'est un problème de santé publique majeur avec une prévalence qui continue d'augmenter mondialement, en particulier dans les catégories de population les plus défavorisées des pays développés. Cette épidémie sous-tend une augmentation du risque des maladies cardiométaboliques, dont les cardiovasculaires qui sont la 1^{ère} cause de mortalité dans le monde actuellement, Les maladies cardiovasculaires sont intimement associées entre elles ainsi qu'à d'autres comorbidités comme la stéato-hépatite non alcoolique, des maladies respiratoires et des cancers dont la prévalence progresse également (86).

Cette partie est divisée en deux, la première revient sur les progrès dans la connaissance du microbiote intestinal au cours de l'obésité et ses liens avec l'alimentation. La seconde décrit le lien entre le microbiote intestinal et les désordres du métabolisme glucidique caractéristiques du syndrome métabolique, avec un intérêt plus particulier sur l'**insulinorésistance** et le **diabète de type 2**.

L'obésité est associée à une dérégulation du bilan énergétique en lien avec des interactions complexes entre notre biologie et nos modes de vie qui ont changé drastiquement ces 40 dernières années. Cette complexité comprend notamment des perturbations tissulaires

avec des **altérations métaboliques** et **immuno-inflammatoires** dans le tissu adipeux, le foie, le muscle, le cerveau et **l'intestin**, mais aussi des modifications dans les **dialogues** entre ces organes.

L'étude du microbiote intestinal dans ce domaine s'est intensifiée ces dix dernières années et a permis de mettre en lumière une dysbiose au cours de l'obésité et des comorbidités associées. Le rôle fondamental de l'alimentation dans la modification de la composition du microbiote est désormais établi et ces progrès récents ouvrent un espoir important pour l'identification de nouvelles approches thérapeutiques dans l'obésité où les traitements efficaces sur le long terme sont peu nombreux.

Des expérimentations pionnières ont démontré le rôle du microbiote intestinal dans la **régulation pondérale** chez le rongeur. Comparées à des souris conventionnelles, des souris « axéniques » dépourvues de microbiote, et soumises à un régime hyper-lipidique ont une adiposité réduite malgré des apports alimentaires accrus et une dépense énergétique augmentée. Après transfert du microbiote caecal de souris conventionnelles, les souris axéniques prennent rapidement du poids et en particulier de la masse grasse sans changement net d'apports alimentaires (87,88). Ces observations ont permis de démontrer que le microbiote intestinal est impliqué dans le stockage énergétique et dans l'installation de complications métaboliques associées à l'excès de masse grasse (87). Egalement, ces résultats ont révélé que les perturbations métaboliques étaient **transmissibles** par le microbiote intestinal d'un animal à l'autre.

Les travaux de Ridaura et coll. ont permis d'illustrer qu'un transfert de selles humaines à des souris axéniques les ont rendues « humanisées ». En effet, utilisant des selles provenant de jumeaux discordants sur leur poids, il a été observé que les souris axéniques recevant les selles du jumeau obèse grossissaient davantage et développaient plus d'anomalies métaboliques que celles qui recevaient les selles du jumeau mince (89).

Un autre exemple de cas clinique a relaté la prise de poids d'une patiente dans les suites d'un transfert de microbiote fécal pour le traitement efficace d'une infection à *Clostridium difficile*, le microbiote provenait de sa fille obèse, un équilibre alimentaire drastique était suivi par la patiente et des interventions de réduction pondérale avaient été organisées (90).

Ces résultats suggèrent également la **transmissibilité du phénotype obésité** *via* le transfert de microbiote et démontrent l'importance de bien sélectionner les donneurs dans le cadre de greffes fécales.

L'impact du microbiote sur le métabolisme de l'hôte est en partie attribué à sa capacité à métaboliser les hydrates de carbones complexes (91) grâce à un équipement d'enzymes hydrolytiques conduisant à la formation des acides gras à chaîne courte (AGCC) et à l'efficacité de leur absorption intestinale (92). Cependant, les études menées chez l'homme sur la biochimie de ces acides gras montrent des résultats discordants et ne permettent pas une conclusion unanime.

Chez l'homme, des modifications à la fois quantitatives et qualitatives du microbiote fécal ont été observées en comparant des individus obèses et non obèses par différentes techniques (figure n°10).

Grâce à l'analyse métagénomique par séquençage des gènes bactériens, il a été observé que certains individus ont un plus faible nombre de gènes bactériens que d'autres. On parle chez ces patients de « flore appauvrie » ou de sujets *LGC* (*Low Gene Count*). Ces sujets sont caractérisés par une prévalence accrue d'anomalies métaboliques, liée au risque cardiométabolique comme l'insulinorésistance, la dyslipidémie, l'inflammation au niveau systémique et au niveau du tissu adipeux, comparé aux sujets ayant une richesse bactérienne plus importante, appelés *HGC* (93,94).

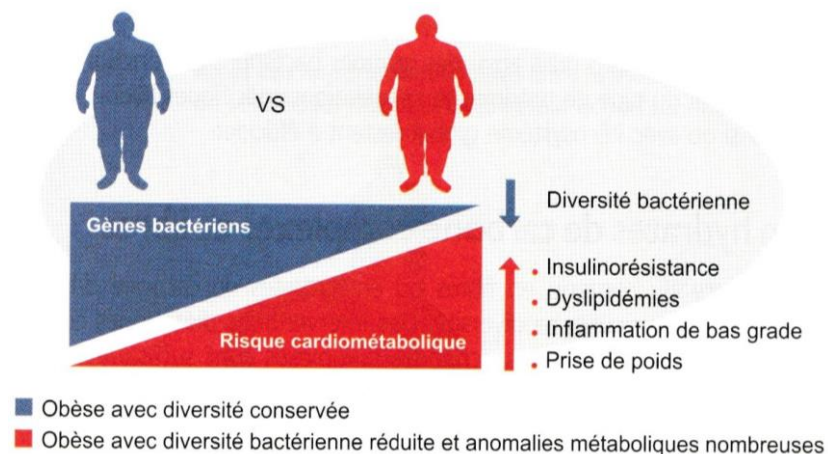


Figure n°10 : Diversité bactérienne et altérations métaboliques (8)

La richesse bactérienne pourrait être un facteur prédictif des résultats pondéraux ou métaboliques. Les sujets *LGC* prennent plus de poids au cours d'un suivi prospectif que les sujets *HGC* (94). Les sujets *HGC* ont également de meilleurs résultats après une intervention diététique en termes d'amélioration métabolique et inflammatoire que les *LGC* (93).

Dans une autre étude de petit effectif, Kim et coll. a montré qu'un régime strictement végétarien et enrichi en fibres était capable d'induire une perte de poids associée à une amélioration de la

sensibilité à l'insuline et du profil lipidique chez les patients diabétiques (95). Une réduction de l'inflammation intestinale associée à des changements de microbiote et du profil des AGCC a également été observée, montrant des relations entre changements alimentaires, microbiote intestinal et améliorations immuno-inflammatoires.

En termes de caractéristiques alimentaires, il est avéré que les **effets de l'alimentation** sur le microbiote intestinal sont importants. En comparant le microbiote de sujets vivants en Afrique rurale et en Europe Occidentale, des différences ont été mises en évidence au niveau des *phyla* bactériens, avec une augmentation de l'abondance des *Bacteroidetes* et une diminution des *Firmicutes* chez les sujets africains. L'augmentation des apports en fibres chez ces derniers pourrait en partie expliquer les différences et promouvoir la richesse de la diversité bactérienne. Cette diversité permet, chez les enfants africains, une métabolisation des fibres plus efficace et une production augmentée des AGCC (96). De même, des différences de richesse bactérienne ont été observées en comparant des américains à des populations amérindiennes et africaines, illustrant les disparités géographiques et alimentaires. La richesse bactérienne est également associée aux profils alimentaires dans les populations européennes en surpoids ou obèses (93,97).

Le séquençage métagénomique et l'analyse métabolomique du microbiote pourraient permettre de mieux stratifier les patients dans le futur et également de proposer de nouvelles voies thérapeutiques dans les maladies cardiométaboliques. Les changements de mode de vie et d'alimentation étant difficiles à mettre en place mais surtout à maintenir sur le long terme, ces avancées pourraient permettre d'envisager de nouvelles stratégies capables de moduler le microbiote et ses métabolites pour induire des effets bénéfiques sur le métabolisme de l'hôte.

Le **syndrome métabolique** comprend l'obésité, les désordres de l'homéostasie glucidique (insulinorésistance, altération de la glycémie à jeun et diabète de type 2, les désordres de l'homéostasie lipidique (dyslipidémie), et d'autres facteurs de risque pour des maladies cardiovasculaires comme l'hypertension.

Le métabolisme et le système immunitaire sont intimement interconnectés et le bon fonctionnement de chacun de ces systèmes est dépendant de l'autre.

Plusieurs organes tels que le foie ou le tissu adipeux possèdent des cellules métaboliquement actives et caractérisant ces organes comme les **hépatocytes** et les **adipocytes** par exemple. Cependant, ces cellules sont très proches des cellules immunitaires et ont toutes un accès direct aux réseaux de vaisseaux sanguins. Depuis la découverte du lien entre une cytokine pro-inflammatoire, le *Tumor Necrosis Factor- α* (*TNF- α*) produite par les adipocytes, et l'insulinorésistance (98) ou bien la découverte d'une infiltration de macrophages dans le tissu

adipeux d'obèses (99), il est avéré que le **système immunitaire** joue un rôle clé dans les désordres métaboliques associés à l'obésité.

Une caractéristique majeure du syndrome métabolique et du diabète de type 2 est la présence d'un **état inflammatoire** particulier. De manière classique, la réponse inflammatoire **aiguë** est **bénéfique** pour l'organisme. Elle se caractérise par un œdème, de la rougeur, de la douleur et de la fièvre, elle met en jeu l'intégration de plusieurs éléments complexes dans des organes et cellules différents, et permet la **réparation tissulaire**.

L'inflammation qui accompagne les désordres métaboliques, bien qu'impliquant plusieurs molécules et voies de signalisation communes à l'inflammation « classique », est une inflammation **chronique**, de **faible intensité**, **persistante** et **insidieuse** mais souvent **délétère**. Elle est appelée **inflammation de bas grade** ou **inflammation métabolique**. Une surcharge nutritionnelle le plus souvent associée à l'ingestion de certains acides gras est un facteur clé dans la genèse de cette inflammation métabolique (100–102). Un lien de causalité est avéré entre l'inflammation métabolique et le développement des désordres métaboliques tels que la résistance à l'insuline et le diabète de type 2.

Un excès de nutriments tels que certains lipides et sucres induisent des dysfonctions métaboliques et déclenchent aussi simultanément une réponse inflammatoire qui va à son tour induire des désordres métaboliques conduisant à encore plus d'inflammation et de stress. Un cercle vicieux se met alors en place et constitue un mécanisme menant à davantage de détériorations métaboliques (103) (figure n°11).

Le microbiote intestinal pourrait avoir une part importante dans l'origine de l'inflammation métabolique. Les travaux de Cani et coll. ont montré que des lipopolysaccharides (LPS) composant la paroi des bactéries à Gram négatif jouent un rôle primordial dans le déclenchement de certains désordres caractéristiques du syndrome métabolique chez la souris (102). Cette augmentation des taux de LPS plasmatiques a été définie comme une « endotoxémie métabolique » car elle est relativement faible par rapport à ce que l'on observe lors d'un choc endotoxémique. Le rôle de l'endotoxémie métabolique dans le déclenchement de l'inflammation et de l'insulinorésistance associée à l'obésité et au diabète de type 2 a été confirmé chez l'homme par plusieurs études (104–107).

Par ailleurs, les cellules intestinales jouent un rôle clé dans la réponse systémique aux composants du microbiote intestinal (108). Le microbiote intestinal étant une source importante de molécules pro-inflammatoires, il est envisageable que lorsque l'homéostasie intestinale entre l'hôte et le microbiote est altérée, certains composés du microbiote vont alors passer la barrière

intestinale, entrer dans la circulation sanguine et induire une inflammation chez l'hôte (figure n°11).

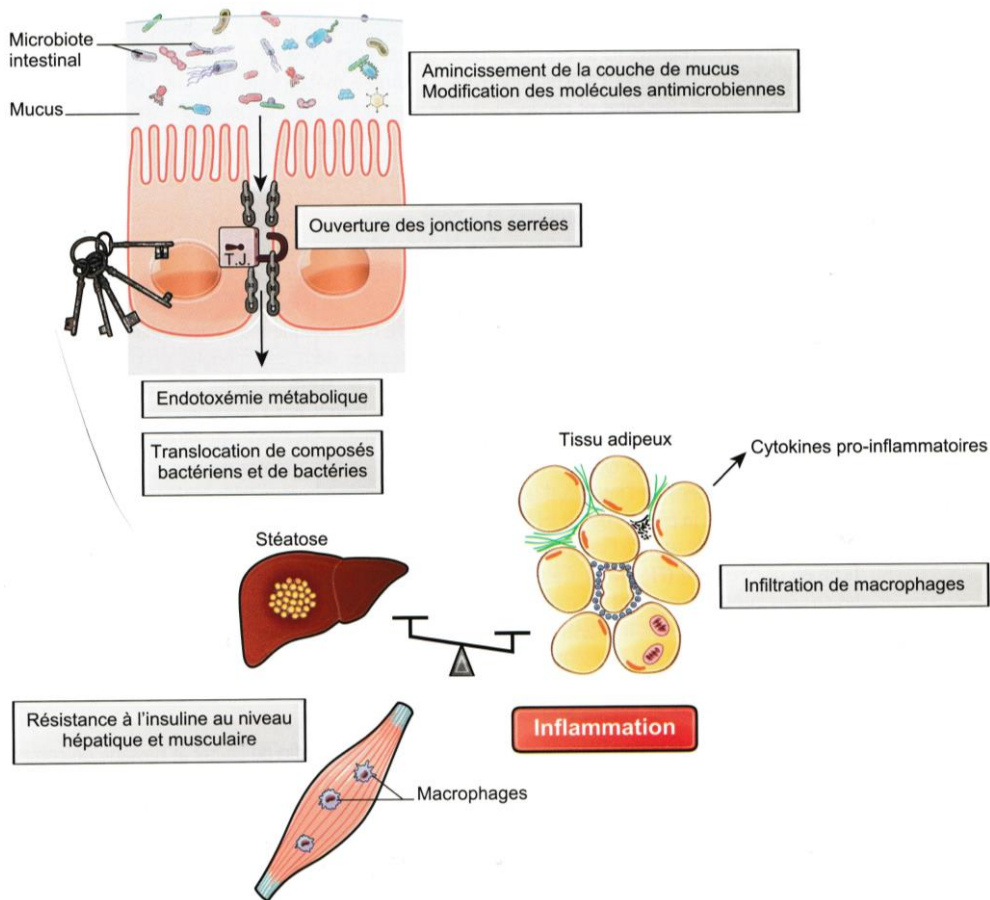


Figure n°11 : Implication de la barrière intestinale dans le déclenchement des désordres associés au syndrome métabolique

La fonction barrière de l'intestin est régulée par différents mécanismes dont le maintien des jonctions serrées, une couche de mucus adéquate, la production de molécules antimicrobiennes, le recrutement de cellules immunitaires. Le passage de composés bactériens et/ou de bactéries dans le sang et les organes de l'hôte entraîne une inflammation métabolique, une insulino-résistance et, finalement un diabète de type 2.

L'endotoxémie métabolique ainsi que l'augmentation d'autres composés bactériens dans la circulation sanguine au cours de désordres métaboliques ont pu être corrélées à des altérations de la fonction de barrière de l'intestin à différents niveaux (figure n°11). Une altération de la localisation des protéines de jonctions serrées avec une augmentation de la perméabilité paracellulaire a été mise en évidence dans différents modèles d'obésité et de désordres métaboliques (105,109,110). Les désordres métaboliques ont aussi été associés à une diminution de l'épaisseur ou à des modifications de la composition de la couche de mucus à la surface de l'épithélium intestinal entraînant une diminution de la ségrégation entre le

microbiote intestinal et l'épithélium intestinal et permettant une adhésion anormale des micro-organismes à la muqueuse intestinale (111) (figure n°11).

En plus des LPS, d'autres composés du microbiote intestinal sont impliqués dans le **déclenchement de l'inflammation**. Tous les composés du microbiote intestinal ne sont pas pro-inflammatoires et certains joueraient un **rôle protecteur** dans le contrôle de l'inflammation, de l'insulinorésistance et du diabète de type 2. C'est le cas, par exemple, des **peptidoglycanes** qui se lient aux récepteurs NOD-2 (*Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2*). L'inhibition de la voie de signalisation des peptidoglycanes *via* NOD-2 induit des changements dans le microbiote intestinal avec une augmentation des bactéries associées à la muqueuse intestinale qui peuvent contribuer de la sorte au déclenchement de l'inflammation et de l'insulinorésistance (112,113).

Les désordres métaboliques liés à l'obésité comme le diabète de type 2 sont clairement corrélés à des facteurs génétiques dépendant de l'hôte ainsi qu'à des facteurs environnementaux tels que l'alimentation et une diminution de l'activité physique. Au-delà de l'endotoxémie métabolique, et de l'augmentation de la translocation de facteurs pro-inflammatoires issus du microbiote intestinal, de nombreuses preuves scientifiques ont montré que le risque de développer un syndrome métabolique et/ou un diabète de type 2 peut être associé à une **composition particulière** du microbiote intestinal. En effet, des **perturbations** de la composition et de la fonction du microbiote intestinal sont présentes chez les patients souffrant de ces désordres métaboliques. Des études précliniques chez l'animal ont pu mettre en évidence un **rôle causal** de ces altérations du microbiote intestinal dans le développement de désordres métaboliques (87,88,102). Par ailleurs, certains facteurs de risque de développer un diabète de type 2, comme l'alimentation et l'âge, sont également associés à des altérations de la composition du microbiote intestinal (114).

Le microbiote intestinal pourrait donc être impliqué et pourrait **moduler** l'influence des facteurs de mode de vie responsables du déclenchement du diabète de type 2.

L'étude de Dao et coll. publiée dans *Gut* en 2016 montre que ce sont d'ailleurs les individus qui possèdent à la fois une richesse bactérienne importante et beaucoup d'*Akkermansia muciniphila* qui ont le meilleur statut métabolique sur les paramètres tels que la glycémie à jeun et les taux de triglycérides (115).

L'étude de Qin et coll. publiée dans *Nature* en 2012 illustre également des changements des fonctions métaboliques du microbiome intestinal chez les patients atteints de diabète de type 2.

Une augmentation des gènes impliqués dans le transport des acides aminés et des sucres ont été retrouvés, ainsi qu'une augmentation des gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques et des glucides, et une augmentation des enzymes réductrices de sulfate. A l'inverse, les gènes microbiens impliqués dans la motilité cellulaire, la synthèse du butyrate et dans le métabolisme des cofacteurs et des vitamines sont diminués chez les patients atteints, suggérant une augmentation des mécanismes de défense dans le microbiote intestinal, liée au diabète de type 2 (116).

Microbiote et maladies hépatiques métaboliques et nutritionnelles

Au sein de la population humaine, il existe des inégalités devant le risque de développer une maladie du foie. Ainsi, à consommation d'alcool équivalente en quantité et en durée, ou bien à surpoids équivalent, la majorité de la population ne développera que des lésions peu sévères, alors qu'une minorité évoluera vers une hépatite sévère, une fibrose, une cirrhose ou un carcinome hépatocellulaire (CHC). Cette inégalité témoigne de la **présence de cofacteurs** qui participent à l'initiation de la pathologie et à son évolutivité.

Les hépatopathies nutritionnelles regroupent principalement l'ensemble des lésions hépatiques observées au cours d'une consommation excessive d'alcool (maladie alcoolique du foie ou MAF) et du surpoids et de l'obésité (stéatopathie métabolique ou NAFLD : *Non-alcoholic Fatty Liver Disease*). Ce sont les principales causes de maladie hépatique dans les pays occidentaux. Les lésions hépatiques retrouvées au cours de l'obésité s'étendent de la stéatose isolée, réversible et bénigne, à l'inflammation hépatique ou stéato-hépatite (NASH : *Non-alcoholic SteatoHepatitis*), puis à la fibrose, la cirrhose et au CHC (117).

Le foie et le tractus gastro-intestinal sont intimement **liés** par les voies biliaires, la veine porte et les médiateurs systémiques (118). Irrigué à 75% par la veine porte, le foie est ainsi exposé aux nutriments, toxines, antigènes alimentaires, micro-organismes ou produits microbiens provenant du tube digestif. Ces produits influencent la composition du microbiote intestinal et l'intégrité de la barrière intestinale et peuvent être à l'origine de pathologies hépatiques (119). L'altération de la barrière intestinale constitue en effet une porte ouverte à la translocation de LPS, des constituants de la paroi des bactéries à Gram négatif à fort potentiel inflammatoire, voire de bactéries entières. Ces mécanismes pro-inflammatoires induits et les modifications du microbiote qu'elles entraînent, interviennent dans le développement de la fibrose, de la cirrhose

et du carcinome hépatocellulaire (118). Ils jouent un rôle déterminant dans l'axe intestin-foie (120,121).

L'altération de la barrière intestinale et l'existence de dysbioses associées à ces pathologies placent le microbiote intestinal comme l'un des facteurs essentiels influençant la susceptibilité au développement des pathologies hépatiques.

Il est en effet établi que la consommation d'alcool induit une altération de la barrière intestinale et participe à la survenue de la MAF (122–124). Une augmentation de la concentration d'alcool sanguin est en effet associée à une moindre expression des protéines impliquées dans les jonctions serrées intestinales (125). Les travaux de Rao ont ainsi montré qu'une consommation chronique d'alcool augmente la concentration de LPS portale et systémique (124), participant au développement de la MAF. L'alcool ne suffit pas à lui seul à induire une maladie alcoolique du foie, car chez des animaux dépourvus de microbiote intestinal, la perméabilité intestinale n'est pas augmentée avec la consommation d'alcool. Ferrier et coll. ont ainsi conclu que l'acétaldéhyde, métabolite formé à partir de l'éthanol, serait responsable de l'altération de la barrière intestinale (126).

Le microbiote pourrait donc jouer un **double rôle** dans le développement de la MAF, d'une part en participant à l'augmentation de la perméabilité intestinale *via* la production d'acétaldéhyde et, d'autre part, comme source de LPS ou d'autres composants bactériens capables d'induire une inflammation hépatique.

Chez l'homme, la composition du microbiote intestinal est altérée chez les patients alcooliques avec une diminution des *Bacteroidetes* et une augmentation des *Enterobacteriaceae* et des *Proteobacteria* (127). Afin de démontrer le rôle causal du microbiote dans la MAF, le microbiote intestinal de patients alcooliques a été **transféré** à des souris receveuses axéniques. Un groupe recevait le microbiote intestinal d'un patient alcoolique sans hépatite alcoolique et le second recevait celui d'un patient alcoolique ayant une hépatite alcoolique aiguë (HAA) sévère. Après alcoolisation, les souris ayant reçu le microbiote du patient ayant une HAA sévère développaient des lésions hépatiques plus sévères que les souris de l'autre groupe, prouvant que la composition bactérienne du microbiote intestinal participe directement à l'induction de la MAF (128).

Parallèlement, dans la stéatopathie métabolique, une étude sur des modèles murins démontre que le type de microbiote intestinal présent détermine le développement de la *NAFLD* en réponse à un régime hypercalorique.

Les mécanismes impliquant le microbiote intestinal dans l'inflammation stéato-hépatique sont similaires aux mécanismes entraînant un syndrome métabolique. Ce sont des mécanismes clairement identifiés comme étant inflammatoires, cependant la contribution d'espèces bactériennes particulières dans ces mécanismes reste à clarifier.

Les interactions entre le microbiote intestinal et les maladies hépatiques sont évidentes et le nombre de publications s'y rapportant est riche. Même si la majorité des travaux ne montre que des corrélations, les études permettent de montrer une relation causale entre microbiote intestinal et maladies du foie et sont convaincantes. L'identification de la nature des bactéries impliquées et des voies métaboliques qu'elles modulent permettront de développer la recherche translationnelle sur cette thématique. L'étude de la composition du microbiote pourrait ainsi constituer un outil diagnostique permettant d'identifier les individus à risque. Par ailleurs, la modification du microbiote par des **transplantations fécales** constitue une nouvelle voie de recherche clinique pour la prévention et le traitement des hépatopathies métaboliques et nutritionnelles.

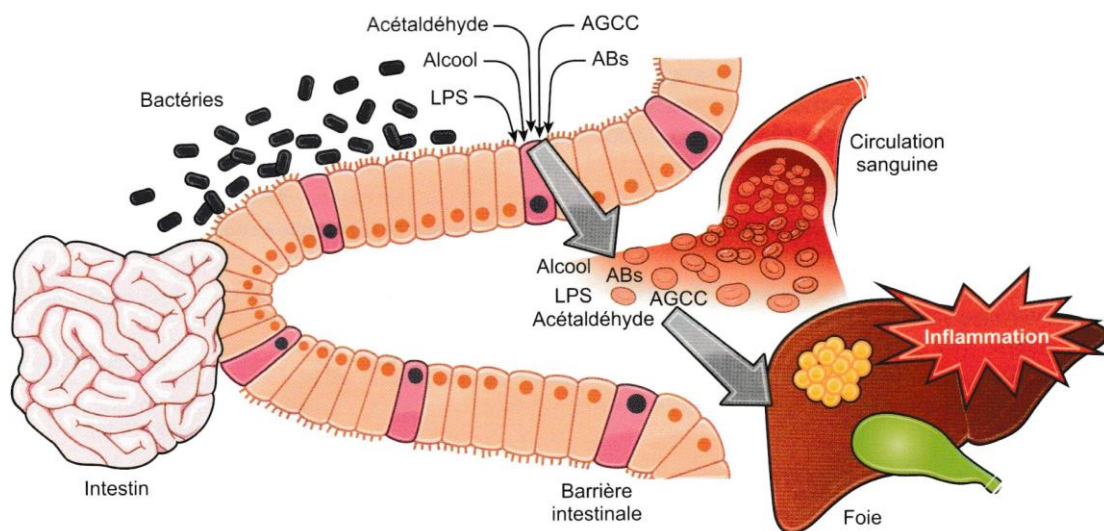


Figure n°12 : Les métabolites produits par le microbiote intestinal participent au développement des lésions hépatiques (8)

La dysbiose intestinale va entraîner des modifications des différents métabolites produits par le microbiote. L'acétaldéhyde, produit à partir de l'alcool, les AGCC, les endotoxines bactériennes telles que les LPS, ou les acides biliaires secondaires vont être modifiés, ce qui va participer, d'une part à l'altération de la barrière intestinale et, d'autre part, au développement de la stéatose et de l'inflammation hépatique.

1.2.3. Autres pathologies en lien avec une dysbiose

Microbiote et pathologies neurodégénératives et psychiatriques

Le concept selon lequel le microbiote intestinal participe au **dialogue intestin-cerveau** en conditions physiologiques n'a émergé que depuis cette dernière décennie chez l'homme (129).

Bien que les voies d'action soient encore loin d'être complètement élucidées, la découverte que le microbiote intestinal puisse communiquer avec le cerveau *via* des **molécules bactériennes endogènes** (molécules présentes dans les cellules, constituant l'enveloppe ou la capsule de la bactérie telles que des polysaccharides, lipopolysaccharides ou peptidoglycanes) ou *via* des **métabolites** qu'elles sécrètent (neurotransmetteurs, dérivés d'acides aminés, acides gras à chaîne courte) et par des multiples voies, conduit à penser que des dysbioses pourraient contribuer à la physiopathologie de maladies du système nerveux central (SNC) (129–131) (figure n°13).

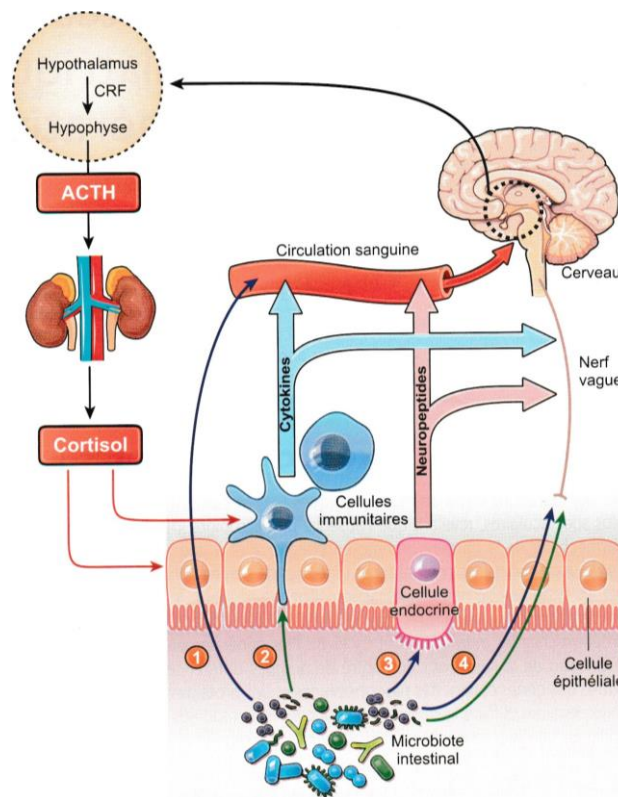


Figure n°13 - Les voies d'actions du microbiote intestinal sur le cerveau (8)

Pathologies psychiatriques

Chez le rongeur par exemple, il a été montré que **l'absence de microbiote intestinal** s'associait à une augmentation de la perméabilité de la **barrière hémato-encéphalique** et à une altération de la maturation de la microglie, appauvrissant les compétences immunes du cerveau (132,133). Bercik et coll. et d'autres auteurs ont mis en évidence des différences d'expression de gènes dans le cerveau de souris dépourvues de microbiote intestinal versus souris conventionnelles, touchant entre autres des gènes codant des neurotrophines et des protéines synaptiques (134–136).

D'autres études expérimentales chez le rongeur mettent en évidence un contrôle d'une réponse neuroendocrinienne au stress par le **microbiote intestinal** (137). Associées à des tests comportementaux destinés à évaluer le niveau d'anxiété des animaux placés en situation de stress, diverses études concluent à une influence sur les comportements de type anxieux et dépressif par le microbiote intestinal (135,138). Ces résultats permettent de conclure que le microbiote intestinal contribue à **réguler la neurotransmission cérébrale**.

Chez l'homme, trois études randomisées, en double aveugle contre placebo, menée en 2007, 2011, et 2015, montraient que le bras expérimental traité par une association de **probiotiques** améliorait chez le sujet sain, le pourcentage de réponses positives à des questionnaires destinés à évaluer l'auto-perception de leur humeur et de leur niveau d'anxiété (139–141).

L'étude de Messaoudi a démontré également que la consommation de probiotiques réduisait la concentration urinaire de cortisol, suggérant l'implication de l'axe hypothalamo-hypophysaire dans l'amélioration de l'humeur.

Enfin, l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal pourrait être impliqué dans la physiopathologie des troubles du spectre de l'autisme a été confirmé ces 5 dernières années par l'utilisation de méthodes moléculaires confirmant l'existence de **dysbioses** chez les enfants atteints d'autisme (142,143) et sur des modèles animaux reproduisant ces troubles (144).

En 2000, l'équipe de Sandler et coll. avait testé un **traitement par vancomycine** par voie orale chez une cohorte de patients enfants atteints d'autisme et souffrant de troubles gastro-intestinaux. Les résultats montraient une **amélioration des troubles comportementaux**, cependant réversible à l'arrêt du traitement (145).

Pathologies neurodégénératives

Concernant la maladie d'Alzheimer, une étude datant de 2015 a montré des similitudes immunogènes et structurales entre des peptides amyloïdes retrouvés dans le cerveau humain atteint de la pathologie et des peptides amyloïdes produits par des **bactéries intestinales**. Ces deux types de peptides sont reconnus par les mêmes récepteurs de type *Toll*. Cela laisse à penser l'hypothèse que le **microbiote intestinal** pourrait être lié à la genèse de la maladie (146).

Dans la maladie de Parkinson, une dysbiose du microbiote fécal est maintenant avérée par l'harmonisation des résultats des différentes études réalisées. Trois études cas-témoins, américaine (147), finlandaise (148) et japonaise (149), ont montré des différences entre le **microbiote fécal** de patients parkinsoniens et celui de sujets en bonne santé. L'équipe de Scheperjans et coll. démontre même une corrélation positive entre la présence des *Enterobacteriaceae* en nombre supérieur et la sévérité de problèmes d'équilibre et de difficulté à la marche des patients malades (148).

Cependant, ces études ne permettent pas de conclure quant au statut de cette dysbiose, à savoir si ce serait plutôt une cause ou comorbidité de la maladie de Parkinson (147).

Enfin, dans la sclérose en plaques, les **infections intestinales** provoqueraient un dérèglement du système immunitaire, amenant à la production d'auto-anticorps dirigés contre les cellules fabriquant la gaine de myéline.

Des résultats d'études chez la souris montrent un lien entre microbiote intestinal, immunité et sclérose en plaque (150–154).

Chez l'homme, parmi la très faible quantité de données disponibles, une étude japonaise de 2015 montre que des patients atteints de sclérose en plaques présentent une déplétion de certaines espèces spécifiques de *Clostridium* (155).

Ainsi l'existence avérée d'un **axe microbiote-intestins-cerveau** et la recherche de leurs mécanismes d'interactions suscite de nouvelles modalités thérapeutiques ainsi que de nouveaux concepts pour ces maladies.

Microbiote et pathologies rhumatismales : Polyarthrite rhumatoïde et spondylarthrite ankylosante

La polyarthrite rhumatoïde et les spondylarthropathies en général sont des pathologies rhumatologiques et dysimmunitaires, dont la multifactorialité implique des facteurs de susceptibilité génétique qui agissent avec l'environnement.

Des études sur des modèles animaux ont suggéré un rôle du microbiote intestinal dans ces pathologies (figure n°14), avec notamment :

- L'observation d'une dysbiose au cours de la polyarthrite rhumatoïde et des spondylarthropathies (156,157),
- L'influence du statut HLA sur le microbiote intestinal (158),
- L'apparition et la sévérité des arthrites étant influencées par le statut du microbiote intestinal (usuel, contrôlé, stérile) sur ces modèles animaux (159,160),
- L'observation d'effets immunomodulateurs ailleurs que dans les intestins par des micro-organismes du microbiote plus ou moins « arthrogéniques » (159,160).

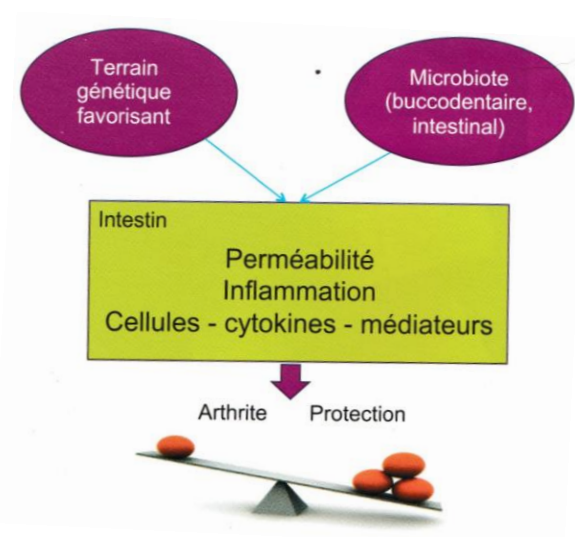


Figure n°14 - Hypothèse d'une modulation de la pathogénie des maladies articulaires et dysimmunitaires par le microbiote intestinal (8)

Déjà au début du XXème siècle, la suspicion d'une association entre le **microbiote oral** et la polyarthrite rhumatoïde conduisait à proposer des avulsions dentaires comme traitement, du fait d'une fréquence de chute de dents plus élevée chez les sujets malades que chez les sujets sains (159–165).

Cette association a été confirmée par les travaux de Zhang et coll., publiés dans *Nature Medicine* en 2015, et par des études dont les résultats retrouvent des espèces pathogènes du **microbiote buccal** dans le liquide synovial de sujets atteints de polyarthrite rhumatoïde.

Plus récemment, des travaux ont rapporté des éléments de dysbiose dans cette pathologie, avec l'observation d'une augmentation de concentrations de certains **lactobacilles** dans les selles des patients atteints (166). D'autres lactobacilles pourraient, au contraire, avoir des effets protecteurs (167,168).

Concernant l'exemple de la spondylarthrite ankylosante, pathologie associée au gène de susceptibilité HLA-B27, le travail de Stebbings et coll. publié dans la revue *Rheumatology* en 2002, montre la présence d'un **excès de bactéries réductrices des sulfates** dans des selles de patients atteints par la pathologie (169).

Plus récemment, l'étude de Schaefer et coll. publiée en 2013, montre que des **modulations du microbiote digestif** influence l'apparition ou la sévérité de cette pathologie sur des animaux transgéniques ayant des spondylarthropathies expérimentales (157).

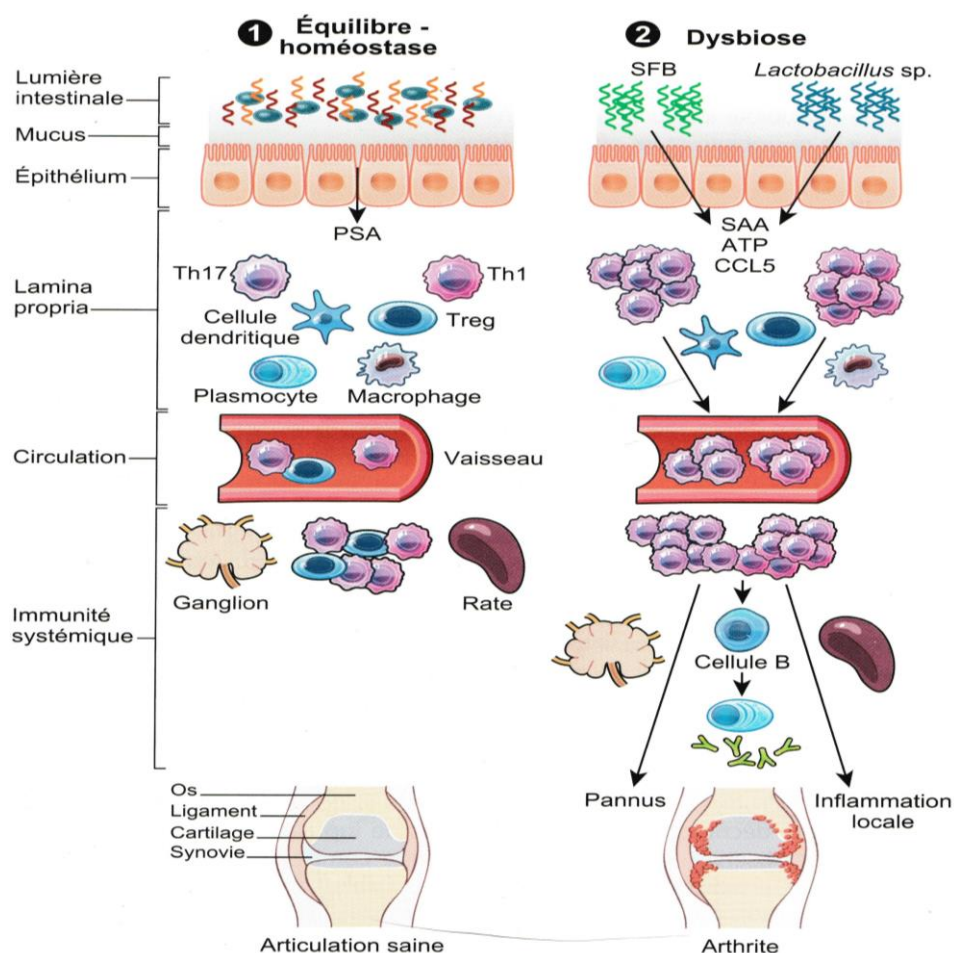


Figure n°15 - Mécanismes physiopathologiques dans l'inflammation articulaire en cas de dysbiose d'après Scher et coll. (170)

Microbiote et les réactions allergiques : dermatite atopique, asthme

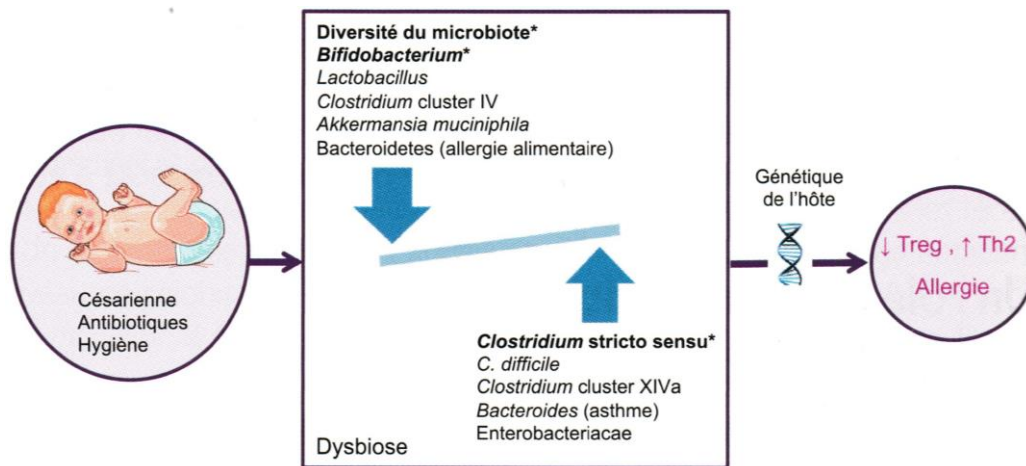
La multifactorialité des pathologies entrant dans le domaine de l'allergie résultent de la combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. L'origine du mécanisme allergique étant souvent le déficit de la réponse immunitaire, le **microbiote intestinal** pourrait jouer un rôle dans l'immunité des muqueuses et favoriser un terrain allergique. Plusieurs travaux démontrent des **modifications** du microbiote chez des sujets allergiques, et parfois même avant tout symptôme allergique.

À la naissance, les premiers antigènes rencontrés par l'enfant sont les bactéries commensales du microbiote intestinal et ceux de l'alimentation. Ils jouent un rôle crucial dans la stimulation de l'immunité et la modulation de l'équilibre immunologique (Lymphocytes T-*helper* CD4+) (171). La constitution du microbiote intestinal du nouveau-né est alors un événement primordial dans le développement du jeune enfant qui est soumis à une **immaturité** au niveau immunitaire et également **digestif**, et qui est exposé aux pathogènes provenant du tractus digestif et aux allergènes alimentaires. Une maturation inadéquate du tube digestif et du système immunitaire pourrait ainsi favoriser le développement de l'allergie. Les modifications de la cinétique de l'établissement du microbiote ont été mises en évidence par des études qui ont corrélé un risque accru d'allergie à des facteurs reconnus pour induire une modification de l'implantation du microbiote tels qu'une **grande immaturité** (172) ou une **antibiothérapie** de l'enfant ou de la mère pendant la grossesse (173).

Également, les enfants **nés par césarienne** présentent un retard dans la colonisation par les *Bacteroides* et une plus **faible diversité** de leur microbiote intestinal pendant les deux premières années de vie (174). L'essai clinique RESTORE mené par le Professeur Jacky Nizard, vise à rétablir le développement normal du microbiote intestinal du nouveau-né, en l'exposant aux sécrétions périnéales et vaginales maternelles après une naissance par césarienne.

Le microbiote serait également impliqué dans la régulation épigénétique (175), dont le bol alimentaire impacterait la production d'acides gras à chaîne courte par le microbiote intestinal, ayant un impact sur la cinétique des histones acétylases (176) et pouvant favoriser le développement des T-reg Foxp3+, lymphocytes qui limitent le développement de l'asthme allergique (177) (figure n°16).

La relation entre microbiote intestinal et allergie sous-entend qu'une modulation du microbiote pourrait **prévenir les allergies** et justifie la recherche utilisant des probiotiques ou des prébiotiques comme stratégie dans cette modulation.



*Modifications le plus souvent décrites ; Treg : cellules T régulatrices ; Th : *T-helper*

Figure n°16 : Relation microbiote-allergie avec indication des modifications du microbiote les plus prévalentes et leur conséquence (8)

La méta-analyse de Pelucchi et coll. publiée en 2012 montre par exemple, que l'administration de probiotiques à la femme enceinte semble prévenir de la dermatite atopique chez l'enfant (178). Par ailleurs, l'étude de Durack et coll. montre qu'une supplémentation en *lactobacillus* pourrait reprogrammer la composition et le métabolisme du microbiome intestinal en induisant une immunité tolérogène nécessaire pour prévenir l'atopie et l'asthme (179).

Après avoir décrit les déséquilibres observés lors de dysbioses du microbiote intestinal au cours de pathologies diverses, nous exposons à partir des connaissances actuelles, la pratique de transplantation de microbiote fécal, dont l'objectif est de rééquilibrer le microbiote intestinal du sujet malade.

1.3. La transplantation de microbiote fécal

1.3.1. Historique

La **transplantation de microbiote fécal** est réalisée depuis des années dans les médecines traditionnelles. Au IV^{ème} siècle déjà, l'administration de suspensions de selles humaines par voie orale pour le traitement d'**intoxications alimentaires** ou de **diarrhée sévère** en Chine était décrite (180).

Le premier enregistrement littéraire de l'application de la transplantation fécale a été rapporté dans le manuel chinois de médecine d'urgence « *Handy Therapy of Emergencies* ». Plus tard, au XVI^{ème} siècle, Li Shizhen a décrit l'utilisation de selles sous plusieurs formes (solutions fécales fermentées, suspensions fécales fraîches, selles sèches) pour le traitement de diarrhée sévère, de fièvre, vomissements ou constipation. Les docteurs en médecine alternative nommaient ces préparations « *Yellow dragon soup* » pour diminuer le rebut des patients. Puis au XVII^{ème} siècle, la transplantation fécale, également appelée « transfaunation » était utilisée en médecine vétérinaire, par voie orale et rectale, pour le **traitement des acidoses de la panse et de la diarrhée**, notamment chez le cheval (181). C'est en 1958, que Ben Eiseman, professeur en chirurgie américain, rapporte **l'efficacité de la TMF** pour le traitement de la colite pseudo-membraneuse chez 4 patients (182).

En 1983, un premier cas d'infection récidivante à *Clostridium difficile* documentée et traitée par TMF a été rapporté dans la revue *Lancet* (183). Depuis cette publication, des centaines de cas décrivant l'efficacité de la TMF pour le traitement des infections à *C. difficile* récidivantes ont été rapportées.

Les sociétés savantes européennes et américaines reconnaissent l'efficacité de la thérapeutique dans cette même indication en 2013, lors de la publication du 1^{er} essai randomisé contrôlé (3).

À côté de ces infections, l'intérêt de la TMF et le rôle du microbiote intestinal sont explorés dans d'autres pathologies humaines. Ces recherches laissent à penser que la restauration d'un microbiote sain par TMF pourrait avoir des effets favorables pour nombre de ces pathologies.

1.3.2. Définition et statut réglementaire

La transplantation de microbiote fécal consiste en l'introduction par les voies naturelles d'une préparation de selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un receveur afin de rééquilibrer la flore intestinale altérée.

En l'état actuel des connaissances, le Code de la Santé Publique (CSP) ne prévoit pas de statut particulier pour le microbiote fécal. Le microbiote transféré n'étant ni caractérisable ni évaluable, il ne peut pas relever de la catégorie des médicaments biologiques au sens du Code de la Santé Publique (L. 5121-1-14 CSP). Il rentre dans la définition d'un **médicament** et doit être considéré comme tel, conformément à l'article L. 5111-1 du CSP, qui définit un médicament comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines 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 ».

A ce jour, en l'absence de spécialité pharmaceutique disponible et adaptée mise à disposition dans le cadre d'une autorisation de mise sur le marché, le microbiote fécal peut être utilisé dans le cadre législatif et réglementaire applicable aux **préparations magistrales et hospitalières** définies dans le CSP (article L. 5121-1), ou aux **médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique** (article L. 5121-1-1). L'ANSM en assure la réglementation et la sécurité. Les préparations sont réalisées et délivrées sous la responsabilité d'un pharmacien et ne sont entreprises qu'après vérification par le pharmacien de leur conformité aux textes en vigueur (184).

Sur le plan international, il y a une certaine hétérogénéité sur le statut du microbiote fécal. Il est également considéré comme un médicament aux Etats-Unis, tandis que dans certains pays de l'Union Européenne (Royaume-Uni, Danemark, Pays-Bas), il est qualifié de tissu.

1.3.3. Mécanisme d'action

Les altérations de composition et de fonction du microbiote intestinal retrouvées lors d'infections récidivantes à *Clostridium difficile*, conduisent à un état de permissivité vis-à-vis du pathogène. La prise d'antibiotiques est l'élément perturbateur et déclencheur le plus fréquent. Chez les patients ayant des récurrences d'ICD, une réduction de la biodiversité du microbiote est observée et est généralement corrigée après TMF (185,186) (figure n°17).

Dans les ICD récidivantes, les mécanismes par lesquels la TMF est efficace ne sont pas complètement élucidés mais impliquent des **phénomènes de compétition des niches écologiques** et notamment pour les **nutriments** et les **sites d'adhésion libérés** après mise en place d'un traitement par vancomycine, qui empêcheraient *C. difficile* de recoloniser le côlon en entrant en compétition avec lui. D'autres mécanismes pourraient entrer en jeu, comme la capacité du microbiote transplanté à produire des **facteurs inhibant la croissance de *C. difficile*** ou l'effet direct des **acides biliaires secondaires** du donneur, présents dans les selles en abondance, sur l'inhibition de la germination de *C. difficile* (30,187). L'effet d'autres métabolites microbiens ou encore l'effet de phages, présents en très grande quantité dans le microbiote intestinal normal, pourraient moduler les populations bactériennes.

Les travaux de Buffie et coll. publiés dans *Nature* en 2015 montrent que certaines bactéries du microbiote intestinal, peuvent avoir à elles seules un effet contre *C. difficile* (188).

Chez l'homme, c'est l'équipe de Gerding qui a observé que l'administration de spores de *C. difficile* non toxigène durant une ICD avait un effet préventif sur la récurrence (28).

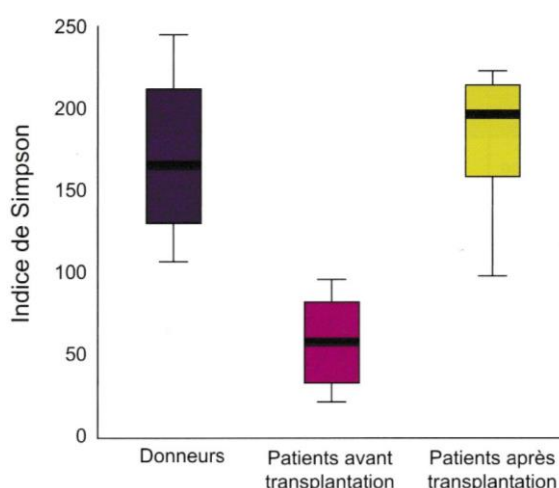


Figure n°17 : Diversité du microbiote avant et après transplantation de selles et comparée à celle des donneurs sains (8).

1.3.4. Indication et place dans la stratégie thérapeutique

L'infection récidivante à *C. difficile* est la seule indication de TMF reconnue aujourd'hui dans les recommandations américaines et européennes (4,5).

En accord avec les recommandations de l'*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)* de 2014 (5), le GFTF considère que la seule indication actuelle de la TMF sont les **infections à *Clostridium difficile* récidivantes chez l'adulte**, à partir de la **seconde récidive**, soit le 3^{ème} épisode, en prévention d'un épisode suivant (6). Le délai entre 2 épisodes doit être, de préférence, inférieur à 8 semaines. Envisagée dans ce cadre, la TMF ne doit être réalisée qu'après échec d'un traitement bien conduit par vancomycine ou fidaxomicine. Concernant la population pédiatrique, la TMF peut uniquement être réalisée après validation par un expert reconnu dans un centre de référence (189). La TMF est également une alternative à la chirurgie dans les formes compliquées, après concertation multidisciplinaire.

La **séquence thérapeutique** recommandée comporte trois étapes : une antibiothérapie d'au minimum 4 jours par vancomycine *per os* à la dose de 125 à 500 mg, 4 fois par jour. Puis une **préparation colique** par polyéthylène glycol et l'administration de la suspension fécale elle-même. Un délai de 24 à 72 heures entre la fin de l'antibiothérapie et la TMF est possible mais pas obligatoire (figure n°18).

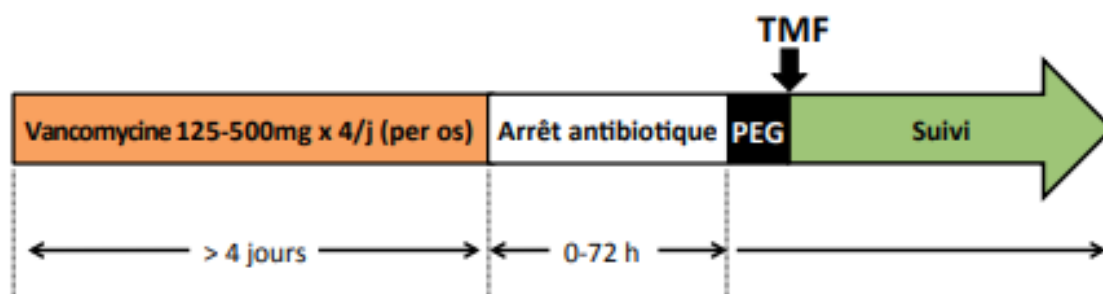


Figure n°18 : Transplantation de microbiote fécal : séquence thérapeutique pour le traitement des infections récidivantes à *C. difficile* (190)

Quatre **voies d'administration** sont possibles : par lavement, pendant une coloscopie, *via* une sonde nasoduodénale et au moyen de gélules *per os*.

D'autres indications pourraient voir le jour dans le futur, du fait du nombre croissant d'études menées (figure n°19).

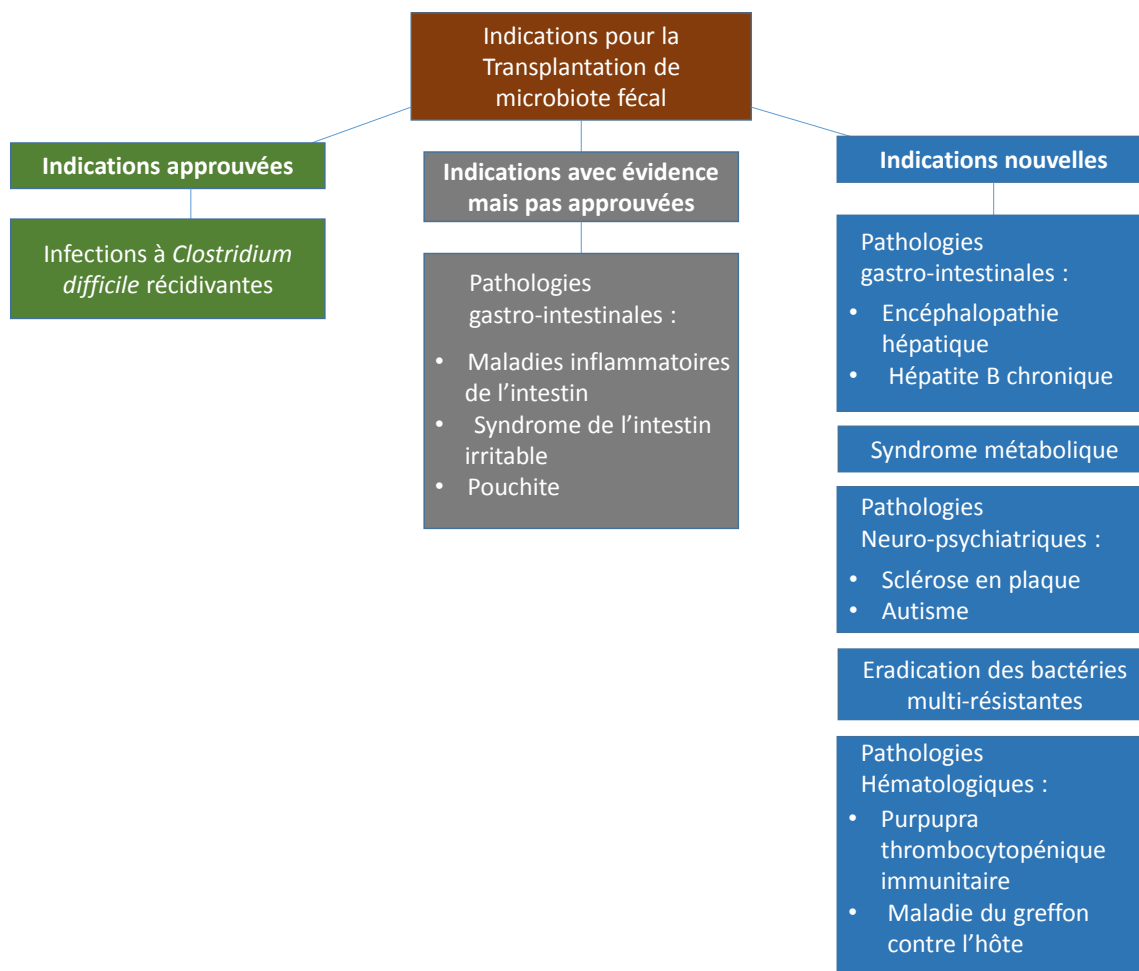


Figure n°19 : Indications validées et potentielles de la transplantation de microbiote fécal (191)

1.3.5. Essais cliniques et données de sécurité

Le nombre de maladies ayant un lien direct avec le microbiote intestinal et que ce dernier peut moduler est très large.

Des essais de transfert de flore fécale ont ouvert des voies de recherche dans les domaines des maladies intestinales, de l'obésité et du syndrome métabolique, mais aussi des désordres psychologiques, hépatiques et cutanés. Au 25 août 2018, 165 études sont recensées dans *Clinicaltrials.gov* avec les termes « *microbiota transplantation* ».

Tableau n°4 : Recensement par phase d'évaluation des essais cliniques de TMF à l'international

Phase d'évaluation clinique	Nombre d'essais
Phase 1	48
Phase 2	70
Phase 3	21
Phase 4	2

Des centaines de cas ont été publiés depuis les années 1980 suggérant une efficacité de l'ordre de 80 à 90% pour la TMF dans le cas des ICD récidivantes (192–194), quelle que soit la voie d'administration, avec une excellente tolérance.

La 1^{ère} étude contrôlée randomisée publiée par Van Nood en 2013 (3) comportait trois groupes de patients ayant une forme récidivante d'ICD. Un groupe recevait de la vancomycine seule (500mg x 4/j pendant 14 jours), un groupe recevait 4 jours de vancomycine puis la TMF par voie duodénale, et un groupe recevait 4 jours de vancomycine et une préparation colique de polyéthylène glycol. Dans le groupe antibiotique seul, l'efficacité, définie par la résolution de la diarrhée sans rechute à 10 semaines, était de 30,1% contre 81,3% dans le groupe TMF et 23,1% dans le groupe antibiotique et préparation colique. Dans le groupe TMF, la résolution de la diarrhée liée au germe a été obtenue chez 13 patients sur 16 après la 1^{ère} administration. Les 3 autres patients du groupe TMF, en échec après la 1^{ère} administration, ont reçu une seconde administration avec les selles d'un donneur différent. Ceci s'est soldé par une résolution des symptômes dans deux cas, portant l'efficacité globale de la TMF à 93,8%. La TMF était bien tolérée car seules une diarrhée et des douleurs abdominales modérées ont été enregistrées le jour de la TMF. Ces symptômes disparaissaient dans les 3 heures suivant l'administration. Aucun effet indésirable grave n'a été observé.

Dans une autre étude contrôlée, randomisée mais ouverte, publiée en 2015 par Cammarota et coll. (195), le groupe traité recevait 3 jours de vancomycine per os, puis une ou plusieurs TMF par voie basse, alors que le groupe contrôle recevait de la vancomycine pendant 10 jours puis une décroissance progressive sur 3 semaines. Leurs résultats sont en accord avec l'étude de Van Nood, avec une efficacité de 90% dans le groupe TMF contre 26% dans le groupe contrôle.

D'autres essais cliniques contrôlés randomisés sont disponibles pour d'autres pathologies (figure n°20).

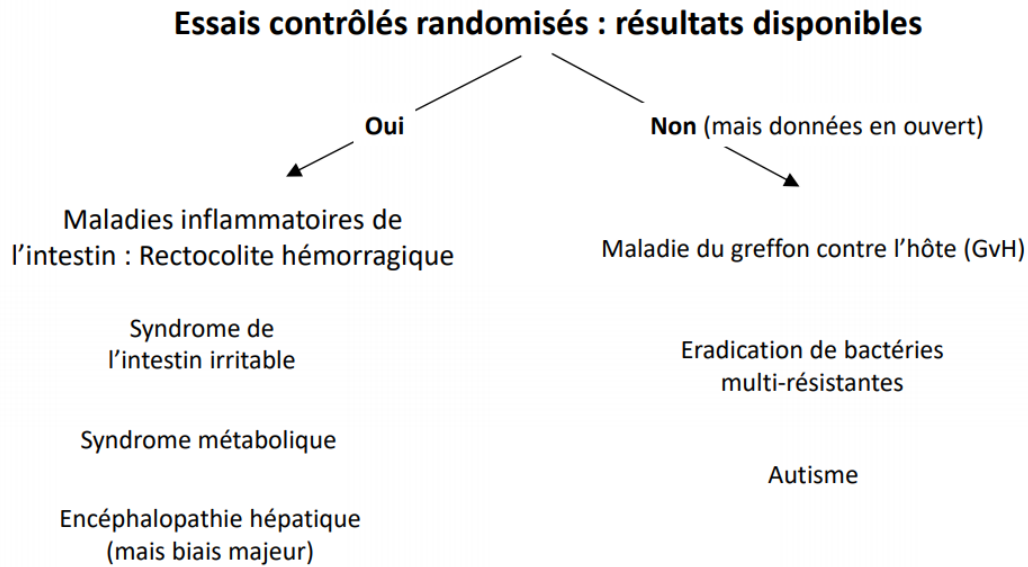


Figure n°20 : Pathologies ayant des résultats documentés dans l'utilisation de la TMF, d'après Sokol (196)

Le développement de la TMF à grande échelle étant relativement récent, des données concernant la sécurité de la pratique sont disponibles mais peu nombreuses. Bien que les données disponibles soient rassurantes (197,198), le faible recul des effets de la technique ne permet pas de disposer d'informations sur les éventuels effets secondaires à long terme.

C'est à court terme, dans les suites immédiates de l'administration de la TMF que les principaux effets secondaires sont décrits. Il s'agit principalement d'effets indésirables peu sévères tels que des troubles du transit gastro-intestinal, un inconfort abdominal, avec parfois des douleurs mineures, cédant en quelques heures, ou encore des borborygmes (3,82,199,200). L'apparition de pics fébriles a également été décrite sur 3 des 4 patients atteints de MICI réfractaire ayant bénéficié d'une TMF en période de poussée inflammatoire dans une étude belge évaluant la sécurité et l'efficacité de la pratique (201).

Les risques de transmission d'agents infectieux entériques existent mais les cas décrits sont rares, car un screening de dépistage systématique est réalisé chez les donneurs de selles.

De fait, deux cas d'infection à Norovirus diagnostiqués l'un à 2 jours, l'autre à 12 jours de l'administration de la TMF ont été rapportés, cependant le portage négatif des donneurs avant le don ne les imputait pas aux infections. Une possible transmission communautaire était

suspectée par les auteurs dans un cas, et une transmission par le personnel d'endoscopie dans l'autre (202).

Des complications plus sévères ont été décrites, telles qu'une péritonite apparue chez un patient dialysé péritonéal, ou des poussées de MICI, cependant le lien avec la TMF n'a pas été clairement établi. L'étude rétrospective multicentrique menée par Kelly et son équipe sur 99 patients atteints d'immunodépression et ayant bénéficié d'une TMF n'a identifié aucune complication infectieuse liée à la TMF dans ce cadre (203).

A plus long terme, des effets indésirables éventuels de la TMF n'ont jamais été décrits, et sont donc inconnus, seules des hypothèses sont avancées par les auteurs.

Notamment la transmission d'agents infectieux non identifiés et potentiellement pathogènes plusieurs années après la TMF est possible, comme cela a été le cas par le passé avec le virus de l'immunodéficience humaine ou le virus de l'hépatite C.

Une autre crainte pourrait être la transmission d'un risque accru de développer une maladie dans laquelle le microbiote intestinal joue un rôle. Le microbiote intestinal étant impliqué dans un très grand nombre de pathologies chroniques, transférer un microbiote altéré pourrait participer à transmettre ce risque.

2. MISE EN PLACE DE LA TMF AU CHU DE CAEN

2.1 Contexte

Le service d'hépatogastro-entérologie et de nutrition du CHU de Caen est regroupé en 3 unités d'hospitalisations, une unité de consultation externe et un plateau technique d'endoscopie digestive. Il a pour objectif la prise en charge de l'ensemble des patients atteints de maladies du tube digestif, du foie, du pancréas et des voies biliaires.

Ces 4 dernières années, 534 cas d'entérocologie à *Clostridium difficile* ont été diagnostiqués au CHU. Avec des consommations croissantes en fidaxomicine et en vancomycine, les cas de récurrences avec échecs thérapeutiques sont réels. La décision de monter une activité de transplantation fécale a été prise afin d'apporter une nouvelle solution thérapeutique.

2.1.1 La genèse du projet

La pratique a été initiée par un groupe pluridisciplinaire créé au sein de l'établissement, regroupant deux hépatogastro-entérologues, le pharmacien hospitalier responsable de la pharmacotechnie, un microbiologiste, un virologue/parasitologue, un hygiéniste et un ingénieur spécialisé dans les affaires réglementaires et la recherche clinique.

La direction des affaires financières, la direction du système d'information et la direction des services économiques et de l'équipement ont été associées au projet pour permettre une efficacité dans la communication interne et une acquisition des budgets nécessaires à l'achat du matériel nécessaire à la mise en place de la pratique.

2.1.2 Les autorisations

D'après le groupe de travail « Transfert de flore » du groupe « Projet Santé-environnement » adoptées par le conseil du 26 novembre 2014 de l'Académie Nationale de Pharmacie, les préparations effectuées en vue de transplantation de microbiote fécal relèvent au niveau national (article L. 5111-1 du Code de la Santé Publique), et en l'absence de spécialité disponible et adaptée, du cadre des préparations magistrales (article L. 5121-1-14 du Code de la Santé Publique) (204).

Le microbiote transféré n'est ni caractérisable ni évaluable, et ne peut donc relever de la catégorie de médicament biologique au sens du Code de la Santé Publique (L. 5121-1-14), la

transplantation de microbiote fécal relève de la qualification transitoire de médicament biologique « *sui generis* ».

Les pharmaciens hospitaliers exerçant au sein d'une pharmacie à usage intérieur sont tenus de réaliser les préparations sous réserve d'une autorisation par l'Agence Régionale de Santé, et conformément aux Bonnes Pratiques de Préparation établies par l'ANSM.

2.1 Matériels et méthode

Il s'agit d'une étude descriptive concernant la mise en place de la pratique de préparation de lavements pour transplantation de microbiote fécal au CHU de Caen. Cette pratique a été intégrée au fonctionnement du secteur de Pharmacotechnie de la PUI du CHU qui est composé d'un préparatoire et d'un laboratoire de contrôle.

Au sein de la pharmacie à usage intérieur, le préparatoire est le lieu de préparation des préparations non stériles et non toxiques et est en lien direct avec le laboratoire de contrôle des préparations hospitalières. L'équipe est constituée de 0,2 ETP pharmacien, 2 ETP interne, 1 ETP externe, 0,2 ETP préparateurs et 0,5 ETP aide de pharmacie.

L'organisation mise en place au regard des référentiels opposables dans les domaines de la préparation (BPP, BPPH) et les dispositions prises pour atteindre les objectifs fixés sont décrites dans le manuel qualité de Pharmacotechnie de l'établissement.

Le processus de préparation des secteurs du préparatoire est défini dans une procédure interne faisant partie du manuel qualité (figure n°21).

Le préparatoire non stérile fonctionne avec des supports d'enregistrements validés inclus dans la Gestion Electronique des Documents (GED) de l'établissement.

Les documents sont conçus pour la validation de la faisabilité des préparations selon les critères réglementaires, techniques et scientifiques et selon les spécificités liées à la préparation de médicaments expérimentaux.

Les enregistrements réalisés au cours de la préparation et du contrôle permettent de s'assurer de la conformité aux exigences spécifiées, de s'assurer de l'efficacité du fonctionnement du système de gestion de la qualité et d'assurer la constitution d'un dossier de lot et de permettre la traçabilité de la préparation.

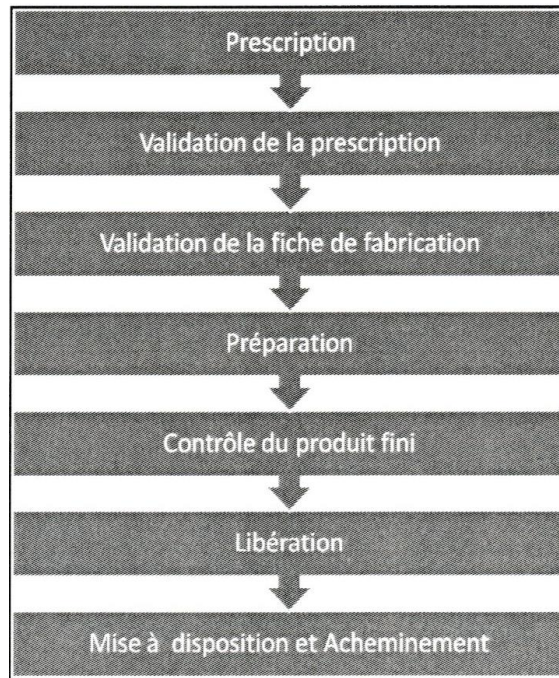


Figure n°21 : Circuit des préparations magistrales et hospitalières au CHU de CAEN.

Les enregistrements sont effectués à partir des données relatives aux matières premières, et des données toxicologiques et cliniques de la littérature, avec l'évaluation du rapport bénéfice/risque. La définition de l'utilisation de la préparation est effectuée avec le prescripteur et l'indication, le profil de patients, la posologie et la voie d'administration sont précisés. La traçabilité de la préparation, de la libération et de l'acheminement des préparations magistrales repose sur des documents opérationnels et supports d'enregistrement validés. Concernant le produit fini, chaque préparation fait l'objet d'un contrôle analytique chaque fois que cela est possible puis d'une libération pharmaceutique.

Des conventions de sous-traitance ont été établies entre des établissements de santé de l'ex région Basse Normandie et la pharmacie du CHU de Caen.

Pour mener à bien ce projet, un groupe de travail a été établi au sein de l'établissement avec tous les acteurs concernés.

De plus, afin de bien saisir l'état de la pratique, la visite d'un établissement de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (APHP) a été organisée entre le pharmacien référent de pharmacotechnie du CHU de Caen, et le pharmacien chef de service de l'hôpital parisien.

Le document de référence utilisé pour la mise en place et le développement de la pratique est le suivant : « Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium*

difficile récidivantes : recommandations pour la pratique clinique courante » publiées par Sokol et coll. (6).

Concernant le suivi des patients traités par transplantation de microbiote fécal, il s'agit d'un suivi prospectif observationnel à partir de la date d'administration (J0) du transplant, réalisé à partir des dossiers médicaux informatisés dans le logiciel Crossway® de l'établissement.

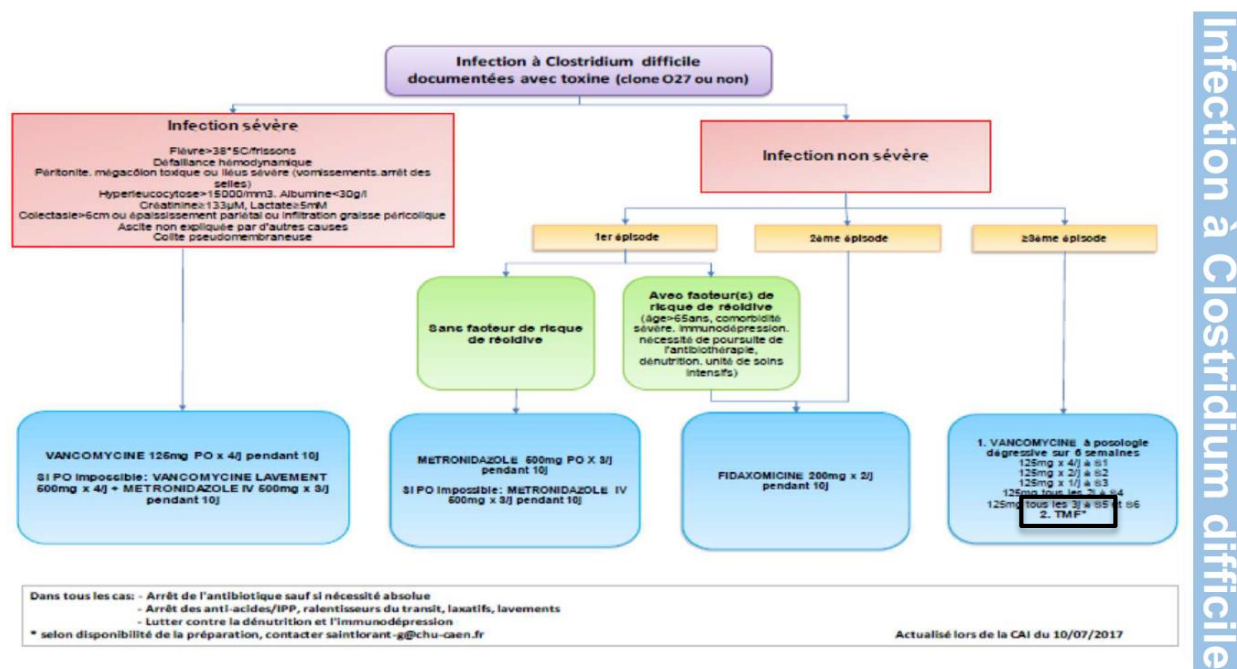


Figure n°22 : Algorithme décisionnel de la prise en charge des ICD au CHU de Caen

La décision d'intégrer la pratique de transplantation de microbiote fécal dans le protocole médical de prise en charge des infections à *Clostridium difficile* a été discutée et validée en commission des anti-infectieux (CAI) (figure n°22).

2.2 Résultats

2.2.1 Le don

Au CHU de Caen, le circuit autour du don de selles s'organise comme suit :

Le donneur volontaire, qu'il soit anonyme ou dirigé, se fait connaître auprès de l'équipe des professionnels de santé du service d'hépatogastroentérologie ou du personnel pharmaceutique du CHU.

L'hépto-gastro-entérologue organise alors une hospitalisation de jour durant laquelle il réalise l'information sur le don de selles, l'entretien médical associé à un questionnaire de sélection et d'aptitude au don d'après le modèle établi par le GFTF (6). L'examen clinique du donneur est également réalisé.

A l'issu de ces opérations, en l'absence de contre-indications, le médecin décide de l'inclusion du candidat pour effectuer le don et remet au donneur deux consentements écrits et éclairés qu'il doit accepter et signer pour pouvoir donner (Annexe 1). Ces consentements ont notamment été élaborés dans l'anticipation de la potentielle utilisation des transplants de selles dans des protocoles de recherche clinique. L'un concerne la conservation des prélèvements biologiques (sang, selles) à visée de recherche clinique non interventionnelle (Conservation dans la collection d'échantillons biologiques humains). L'autre concerne l'utilisation du microbiote fécal à visée thérapeutique (transplantation vers un receveur) ainsi qu'à la participation à la recherche biomédicale de produits de santé, contribuant à la recherche clinique interventionnelle

Notre travail sur les consentements a fait l'objet d'une présentation de poster scientifique aux 11èmes rencontres Convergences Santé Hôpital, à Avignon, en septembre 2016 (205).

Le médecin prescrit également sur un support de prescription interne, la réalisation des prélèvements sanguins et fécaux permettant le dépistage biologique requis (Annexe 2).

La liste des micro-organismes recherchés a été défini par l'ANSM et le GFTF (6).

Le personnel soignant, généralement un IDE, réalise alors les prélèvements sanguins par prise de sang. Ils sont identifiés conformément aux modalités de l'établissement (identité du donneur, numéro d'identification unique).

L'émission de selles se fait dans les toilettes du service de soins. Le recueil est fait par le donneur dans un sceau cylindrique blanc non stérile à usage unique de 3 litres, avec une cape en polypropylène. L'heure d'émission est mentionnée sur l'ordonnance du screening biologique, afin de permettre un traitement du don dans un délai défini inférieur à 6 heures. Le circuit d'acheminement des prélèvements jusqu'au laboratoire d'analyse est différent du circuit classique des prélèvements biologiques. En effet, tous les prélèvements sont regroupés dans un contenant « Protocole TMF » et sont rapatriés par le personnel pharmaceutique jusqu'au préparatoire après que l'IDE a prévenu de la bonne émission du don. Ils sont alors triés et dispatchés dans des sacs de transports prévus à cet effet, et identifiés à l'attention des différentes unités de prise en charge du laboratoire d'analyse. Les prélèvements de selles sont

préparés au préparatoire à partir de l'émission des selles fraîches du donneur. Ils sont ensuite également redistribués dans des sacs de transport à l'attention des unités du laboratoire d'analyse : bactériologie, virologie, parasitologie.

Dans le centre, 3 donneurs volontaires se sont présentés. Il s'agit de 3 hommes âgés de 24, 25 et 29 ans. Pour l'un des 3 donneurs, le screening biologique a révélé la présence d'un portage de bactéries multi-résistantes, ce qui a rendu impossible l'utilisation de ses selles. Sans examen complémentaire réalisé, et bien qu'un portage asymptomatique et transitoire ait été suspecté, le donneur est contre-indiqué au don de selles. Les 2 autres donneurs étaient aptes au don.

Pour chaque donneur, il a été établi un dossier pharmaceutique de traçabilité afin que soient archivés les consentements signés, les résultats des analyses du dépistage biologique et le dossier de lot de chaque préparation réalisée à partir du don.

2.2.2 La préparation à la PUI

Conformément aux recommandations élaborées par le Groupe Français de Transplantation Fécale en 2015, et au statut de la transplantation de microbiote fécal, la préparation est exécutée sous la responsabilité du pharmacien gérant de la pharmacie à usage intérieur de l'établissement. Les préparations magistrales sont réalisées au préparatoire de la PUI, sous la responsabilité du pharmacien responsable de la pharmacotechnie. La réalisation des préparations destinées à la transplantation de microbiote fécal est effectuée dans une zone dédiée et délimitée du préparatoire, à température ambiante. La préparation est effectuée sous une sorbonne (marque SIAB) dédiée et qualifiée périodiquement par le service du biomédical. D'une longueur de 150 cm, elle est composée de mélaminé hydrofuge blanc, double face. Le plan de travail est équipé d'un revêtement en émail.

L'habillage intérieur, le côté et le plafond ont un revêtement anti-acide, une protection aux agents chimiques et à la chaleur. La glace de façade est d'une épaisseur de 5 mm relevable. Les côtés sont fixes. La sorbonne est équipée d'un contrôleur de débit. La vitesse moyenne du flux d'air est de 0,48 m/s (vitesse minimale : 0,43 m/s – vitesse maximale : 0,53 m/s). Elle est nettoyée avant et après chaque manipulation selon une procédure standardisée.

Il est à disposition des opérateurs effectuant la préparation, du matériel de protection tel que casaques, charlottes, masques de protection à usage unique, lunettes de protection et gants à usage unique prévus spécifiquement à cet effet. La méthode de préparation est standardisée,

les modes opératoires décrivant la réalisation de la préparation, le nettoyage du matériel et l'habillement sont décrits, disponibles dans l'outil de gestion électronique des documents interne à l'établissement, et affichés à côté de la sorbonne. Ils ont été établis et validés par le pharmacien responsable de la Pharmacotechnie.

Le matériel de préparation des selles comprend un broyeur de laboratoire (Ultra-Turrax[®]) pouvant accueillir sur son socle un tube broyeur de 50mL contenant des billes en inox, avec couvercle à membrane perçable et à usage unique. Les billes sont également à usage unique. Le petit matériel comprend des béchers, tubes, éprouvettes, spatules, entonnoirs, flacons pour congélation, gazes, et poubelle. Tout ce matériel est à usage unique et est détruit dans un collecteur de déchets à risque infectieux après utilisation. Une balance (Mettler Toledo[®]) est installée à l'intérieur de la sorbonne, elle est dédiée à l'activité et permet de peser les selles.

La zone de préparation dispose également d'un réfrigérateur dédié, dont la température est contrôlée entre 2°C et 8°C, destiné à stocker une solution de NaCl à 0,9% et de glycérol pharmaceutique, préparée extemporanément selon le rapport 90%/10%. Y sont également stockées les préparations de selles congelées destinées à être décongelées en vue d'une administration par lavement.

Le manque de données de stabilité actuel impose une organisation minutieuse du personnel du service de pharmacotechnie pour que la prise en charge des selles fraîches et leur traitement avant congélation se fasse dans un délai défini inférieur à 6 heures. Pour cela, le don est planifié au préalable par l'hépatogastro-entérologue. L'équipe pharmaceutique ainsi que l'équipe de biologie médicale sont prévenues à l'avance.

Une fois le don émis par le donneur à la suite de la **consultation pré-don**, un(e) infirmier(e) diplômé(e) d'état (IDE) d'hépatogastro-entérologie prévient l'équipe de pharmacotechnie.

L'interne de pharmacie en poste sur le secteur, en communication étroite avec le pharmacien responsable de l'unité de pharmacotechnie se déplace au service de soin pour récupérer les prélèvements et assure l'acheminement du don du lieu d'émission des selles au préparatoire de la pharmacie.

Au préparatoire, c'est l'interne de pharmacotechnie qui, aidé des externes en pharmacie et du pharmacien référent de l'unité, prend en charge le don.

Il prélève à partir du don, les quantités de selles nécessaires à la réalisation des tests pour le screening biologique et les répartit dans des tubes à l'attention des services de biologie médicale (microbiologie, biochimie, virologie, parasitologie, etc). En parallèle, il identifie et répartit chaque tube de sang veineux dans des sachets spécifiques de transport accompagnés d'un bon de transport à l'attention du service prévu, selon le même mode que les prélèvements de selles, suivant le protocole interne à l'établissement. Un document technique a été élaboré afin de décrire les modalités du dépôt des prélèvements biologiques issus du donneur de selles (Annexe 3).

L'équipe pharmaceutique s'assure de la bonne livraison des différents tubes de prélèvements, sanguins et fécaux, aux unités de biologie médicale dans un délai le plus court possible.

Un échantillon des selles du donneur (1 à 2 grammes) est isolé puis identifié dans un tube à l'aide d'une étiquette, pour conservation dans la fécalothèque. Le reste des selles fraîches émises est préparé selon le support d'enregistrement interne, puis la préparation finale est conditionnée dans un flacon carré stérile Pharmatainer® de 500mL destinée à la congélation. Elle est identifiée par une étiquette contenant la date de préparation, la date de congélation, le numéro de lot, l'identification du donneur et les mentions obligatoires (Figure n°23).

<p>Pharmacie à usage intérieur CHU de CAEN Avenue de la Côte de Nacre 14033 Caen</p> <p>Microbiote fécal Suspension Flacon de 250 mL</p> <p>Lot : DLU : (1 an)</p> <p>Date préparation :</p> <p>Date congélation :</p> <p>Donneur : Nom : Prénom :</p> <p>Conserver à -80°C</p> <p>NE PAS DISPENSER</p>
--

Figure n°23 : Modèle d'étiquette « Préparation de microbiote fécal »

Un échantillon de la préparation fécale (1 à 5mL) est isolé pour conservation dans l'échantillothèque, avec identification par une étiquette contenant la date de préparation, le numéro de lot, l'identification du donneur et les mentions obligatoires (Figure n°24).

Pharmacie à usage intérieur CHU de CAEN Avenue de la Côte de Nacre 14033 Caen	
Microbiote fécal Suspension	
Echantillon de la préparation	
Date de la préparation :	Lot :
Donneur : Nom :	Prénom :
Conserver à -80°C	
NE PAS DISPENSER	

Figure n°24 : Modèle d'étiquette « échantillon de la préparation »

La date limite d'utilisation de la préparation de selles est fixée à un an. La durée de conservation des échantillons de la coprothèque est de 5 ans, et celle des échantillons de l'échantillothèque est de 3 ans.

Un **dossier de lot** est établi pour toutes les préparations de selles fabriquées à partir d'une émission de selles fraîches et destinées à la congélation. Il comprend un numéro d'ordonnancier, attribué et correspondant à un numéro de lot de la préparation précisant l'origine des selles (identification du donneur, jour et heure de l'émission) et le mélange d'excipients utilisé. Il comporte également tous les résultats des examens auxquels ont été soumis le donneur sélectionné, les consentements signés. Il comprend également les délais entre les différentes étapes et les étiquetages réalisés. Et l'identité du receveur et son consentement écrit seront ajoutés *a posteriori*, lors de la décision médicale de traitement.

La préparation fécale élaborée est alors placée en quarantaine, en attente des résultats biologiques qui permettront une libération pharmaceutique du lot, environ 2 semaines après l'émission, si ceux-ci s'avèrent conformes.

Un congélateur (Thermo Fischer Scientific, modèle Hera Freeze™ - HFU B SERIES) est à disposition au laboratoire de microbiologie, permettant le stockage des préparations en quarantaines et validées, de l'échantillothèque et de la coprothèque à une température de - 80°C. Une sonde de température est intégrée, permettant le suivi continu de la température. Le congélateur est qualifié périodiquement par le service du biomédical du CHU.

Les déchets générés au cours de la préparation sont jetés dans un contenant dédié aux déchets d'activités de soins à risque infectieux et assimilés (DASRI) puis suivent le circuit conventionnel des DASRI.

2.2.3 L'administration du transplant au receveur

La décision médicale est favorable au traitement par TMF lorsque le malade répond aux conditions suivantes :

- Il est atteint d'une infection récidivante à *Clostridium difficile*
- Il est en situation d'échec thérapeutique

La décision est alors discutée au cas par cas par l'équipe médicale et fonction du nombre de transplants disponibles à la pharmacie.

Une consultation est réalisée par un gastro-entérologue spécialisé afin d'expliquer la procédure dans son ensemble. Un consentement éclairé est obligatoirement recueilli auprès du receveur (Annexe 4).

Le patient peut être adressé par un gastro-entérologue extérieur à l'établissement ou par un médecin spécialisé dans les maladies infectieuses.

Une fois la décision médicale prise, le gastroentérologue informe dès que possible le pharmacien de la date souhaitée de transplantation du patient malade.

Le protocole de lavement par TMF a été paramétré dans le logiciel de prescription de l'établissement afin d'uniformiser le protocole de prescription, et d'assurer la traçabilité informatique de la prescription, et de l'administration (figure n°25).

Système Information Médicale M-CROSSWAY		Unité d'hébergement : 0918 HEPATO-GASTRO-ENTERC Génération faite le 03/05/2018 à 08:50:36		C.H.U DE CAEN	
Chambre : <input type="text"/>	Lit : P	Poids : <input type="text"/>	Surface : <input type="text"/>		
Patient : <input type="text"/>		Taille : <input type="text"/>	IMC : <input type="text"/>		
Né(e) le : <input type="text"/>	N° Dossier : <input type="text"/>				
Libellé		Début	Fin	Etat	
d) Lavement pour TMF 1/24h, à 12h, pendant 1 Jour La canule pré-lubrifiée est introduite le plus loin possible selon la tolérance du patient. L'administration est ensuite réalisée de manière habituelle pour un lavement par une IDE. Il doit être demandé au patient de garder ce lavement le plus longtemps possible (au minimum 2 heures). Pour faciliter les choses, le patient doit rester allongé après l'administration.	<input type="text"/>	03/05/2018 12:00	03/05/2018 12:00	Planifiée	

Figure n°25 : Exemple d'une prescription informatisée de TMF sur le logiciel *Crossway*®

La veille de l'administration du transplant, l'équipe pharmaceutique décongèle la préparation de selles, en la transférant du congélateur de stockage au réfrigérateur dédié à la TMF du préparatoire. La préparation est laissée 12 heures entre 2 et 8° C.

Le jour de l'administration, le personnel de la pharmacie réalise à nouveau une préparation à partir de la préparation décongelée, selon un support d'enregistrement interne, puis la préparation finale est conditionnée dans une poche à lavement de 500mL destinée à une administration par lavement. Elle est identifiée par une étiquette contenant le nouveau numéro de lot, l'identification du receveur, la date de péremption et les mentions obligatoires (Figure n°26).

Pharmacie à usage intérieur CHU de CAEN Avenue de la Côte de Nacre 14033 Caen	
Microbiote fécal Suspension	
Poche à lavement de 250 mL	
Lot :	Per :(6 heures)
Nom :	Prénom :
Conserver entre +2 et +8°C	
Uniquement sur ordonnance	
Administration par voie colique	

Figure n°26 : Modèle d'étiquette « Poche à lavement »

La poche préparée est ensuite placée dans un suremballage, contre-étiqueté (figure n°27).

VOIE COLIQUE ADMINISTRATION PAR LAVEMENT

Figure n°27 : Modèle de contre-étiquette à coller sur le sur conditionnement de la poche à lavement

Conformément aux recommandations (5,6), une antibiothérapie par vancomycine *per os* est prescrite pendant 4 jours avant la TMF, et un lavement par polyéthylène glycol est réalisé à J-1 de la TMF.

L'administration du transplant est réalisée uniquement par voie basse, généralement par lavement.

2.2.4 Financement et costing

S'agissant d'un élément du corps humain, et n'ayant pas le statut de tissu ni d'organe en France, le don de selles est régi par les grands principes de la loi de bioéthique, à savoir l'anonymat, la gratuité et le consentement (206). Les modalités de prise en charge des frais médicaux du donneur ne sont pas encore définies par l'agence de biomédecine du fait du caractère novateur de la pratique.

Cependant, l'établissement de santé a pour obligation de garantir sa neutralité financière, de sorte que l'ensemble de la démarche de don ainsi que le suivi médical qui en découle n'occasionnent aucune dépense à la charge du donneur.

Ainsi, les frais engendrés dans le cadre du don sont à la charge de l'établissement (consultation médicale, actes de prélèvement, analyses biologiques hors nomenclature, prise en charge du transplant, décrits dans le tableau n°5).

Tableau n°5 : Frais médicaux générés pour la gestion d'un don de transplantation de microbiote fécal

Frais à la charge de l'établissement	
Forfait examen clinique du donneur et consentements	60 €
Forfait examens de sang et examens de selles	1 040 €
Forfait de préparation pharmaceutique, transport et traçabilité	703 €

La prise en charge du receveur revient à l'assurance maladie du fait d'une hospitalisation conventionnelle ou hospitalisation de semaine. On note cependant une absence de codage de l'acte de TMF durant l'hospitalisation.

Dans le forfait pharmaceutique, une étude de coût a été réalisée, pour déterminer le coût de la préparation d'une poche de TMF. Ce coût a été estimé à 96,97 € (Tableau n°6).

Il a fallu tenir compte de l'investissement nécessaire pour l'obtention du matériel en plus des frais bruts de préparation. Le congélateur de stockage est gracieusement prêté par le service de microbiologie.

Tableau n°6 : Frais pharmaceutiques générés pour la préparation d'une poche de transplantation de microbiote fécal

Catégorie	Produit	Prix (HT)	Sous-total
Matières premières	NaCl 0,9% 2L	1,77 €	4,42 €
	Glycérine officinale (60mL)	2,65 €	
Matériel de préparation	Entonnoir UU 750mL	3,11 €	35,90 €
	Habillage + compresses	2,60 €	
	Bécher polypropylène 800mL	0,79 €	
	Flacon Pharmatainer 500mL	14,10 €	
	Tube agitateur Ultra-turrax®	5,70 €	
	Tube 50mL	0,70 €	
	Matériel habillage		
	Eprouvette 250mL	8,90 €	
Conditionnement primaire	Poche à lavement	1,35 €	1,35 €
Temps manipulateur	Temps préparateur (coef 260)	27,65 €	55,30 €
	Coefficient temps (h)	2	
Total pour 1 poche		96,97 €	
Investissement nécessaire	Ultra-turrax®	942 €	5 509 €
	Balance METTLER®	4 567 €	
	Congélateur de stockage	12 000 €	

Le guide de prise en charge financière des donneurs vivants d'éléments du corps humain définit les modalités de financement d'un établissement de santé en charge du prélèvement du don (206). Il prend à sa charge les frais médicaux et les non médicaux. Les actes médicaux et biologiques inscrits aux nomenclatures CCAM, NGAP et NABM, ainsi que l'hospitalisation pour le prélèvement (GHS) sont facturables à l'assurance maladie.

Dans le cadre du don de selles, aucune modalité de financement n'est établie par l'Agence de Biomédecine. Un interlocuteur de la direction de l'information médicale du CHU de Caen

avait sollicité l'assurance maladie pour discuter d'un possible remboursement concernant les frais générés par la pratique, mais en l'absence de codage CCAM, il n'y a pas eu de suite.

D'autre part, la part restant à la charge de l'établissement préleveur (frais médicaux, ticket modérateur, forfait journalier hospitalier) est généralement assurée par des moyens fléchés tels que des dotations MIG ou des forfaits annuels alloués aux établissements de santé.

Dans le cas du don de selles, aucun moyen fléché n'est encore proposé, le CHU de Caen s'auto-facture les frais générés.

2.2.5 Mise en place d'une convention de sous-traitance avec un autre centre hospitalier

Le CHU de Rouen, voisin normand, avait initialement sous-traité une activité de transplantation de microbiote fécal à l'hôpital de Cochin à Paris mais s'est par la suite tourné vers le CHU de Caen pour établir une convention de sous-traitance. Cette convention précise les conditions de délivrance par la PUI de l'établissement prestataire à la PUI de l'établissement donneur d'ordres, de préparations magistrales qualifiées de flores fécales dans l'indication validée par l'ANSM.

Cette convention a été établie à la suite d'un besoin de l'établissement donneur d'ordres. Elle précise, entre autres, les conditions de mise en forme pharmaceutique et l'assurance qualité, les modalités de commande, de livraison et de facturation.

Conjointement à l'établissement de cette convention de sous-traitance, les équipes de gastro-entérologie/nutrition et de la pharmacie du CHU de Rouen ont la perspective de participer à des projets de recherche clinique dans un futur proche, ce qui a amené à intégrer un amendement dans la convention de sous-traitance, précisant l'offre de prestation pour la préparation, les modalités de conditionnement et d'étiquetage des préparations de flore fécale destinées à la recherche institutionnelle. L'idée de développer des projets en commun entre les CHU de Caen et de Rouen est en réflexion.

2.2.6 Essais cliniques

En vue des perspectives actuelles et des résultats probants de la transplantation de microbiote fécal, le service des essais cliniques de la pharmacie à usage intérieur du CHU de Caen, en étroite collaboration avec le service de pharmacotechnie a été sollicité pour participer

à un projet hospitalier de recherche clinique (PHRC) sur la décolonisation digestive de bactéries résistantes par transplantation de microbiote fécal.

La faisabilité de ce programme étant envisageable, le secteur des essais cliniques pourrait ainsi être amené à créer un nouveau circuit de préparation de transplants de matières fécales en vue d'une utilisation lors d'essais cliniques.

Le circuit, bien que pouvant se calquer sur le circuit ayant été mis en place, sera alors à redéfinir en accord avec les modalités du PHRC, de la réception des selles à l'administration au receveur.

2.3 Retour d'expérience sur la cohorte de patients traités par TMF au CHU

2.3.1 Description de la cohorte

Ci-dessous, sont présentées les situations cliniques de 6 patients ayant bénéficiés d'une TMF au CHU dans un ordre chronologique d'administration du transplant. Les administrations ont eu lieu entre septembre 2016 et aout 2018.

CAS N° 1 :

Mme T âgée de 72 ans, est atteinte d'une leucémie lymphoïde chronique, d'un syndrome dépressif et présente des crises d'épilepsie généralisée et partielles motrices depuis l'âge de 12 ans. Son indice de masse corporelle (IMC) est de : 20,1 kg/m²

Cette patiente a été diagnostiquée de quatre épisodes de colite à *Clostridium difficile* avec alternance d'exonérations afécales glaireuses quotidiennes, incontinence et selles non glairo-sanglantes :

Le 1er épisode apparu en avril 2016 a été traité par métronidazole. Le 2ème épisode, en juin 2016 a été traité par fidaxomicine. Le 3ème, un mois plus tard, par vancomycine per os sur une période de 10 jours. En août 2016, un nouvel épisode a également été pris en charge par vancomycine per os en dose dégressive sur 6 semaines.

Une amélioration était constatée à chaque antibiothérapie, mais la diarrhée récidivait par la suite.

En octobre 2016, une transplantation de microbiote fécal est entreprise par l'équipe médicale, suite à la récurrence post-vancomycine *per os*.

Le greffon a été bien toléré. Aucun effet indésirable n'a été rapporté à court terme. Une nette amélioration clinique a été observée à un mois, associant un transit normalisé, un poids stable, et un appétit correct.

À 4 mois, la patiente était toujours parfaitement asymptomatique sur le plan digestif, avec un transit régulier sans diarrhée. Parallèlement, il y avait une amélioration de l'état moral.

Sur le plan neurologique, il a été rapporté une absence de récurrence de crises épileptiques généralisées depuis 1988 et une absence de crises épileptiques partielles depuis la transplantation, avec décision de diminution de posologie du traitement antiépileptique.

À 9 mois de la transplantation, il y a eu prise de poids de 10 kg, qui a permis à la patiente de retrouver un poids de forme de 60 kg.

CAS N°2 :

Mme B, 77 ans, présente comme antécédents de l'hypertension artérielle, une broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) post-tabagique avec emphysème et syndrome d'apnée du sommeil et une hypothyroïdie post-thyroïdectomie.

4 épisodes de colites à *Clostridium difficile* sont survenus. Le premier a été diagnostiqué à la suite d'une antibiothérapie pour le traitement d'une bronchite sur la BPCO. Il a été traité par vancomycine *per os*, le second par métronidazole et le 3ème à nouveau par vancomycine *per os*.

Au 4ème épisode, correspondant à la 3ème récurrence, survenue en octobre 2016 et ayant nécessité une hospitalisation, il est alors décidé de pratiquer une transplantation de microbiote fécal. La séquence thérapeutique pré-TMF est réalisée conformément aux recommandations.

Il n'y a pas de données sur le temps de contact du greffon chez la patiente. Cependant, elle rechute 3 jours après la transplantation. Un tableau avec selles glaireuses et épreintes avant chaque émission, allant jusqu'à 10 selles par jour est retrouvé. Il n'y a pas de rectorragie, pas de nausée, pas de vomissement, pas de fièvre. Une antibiothérapie par vancomycine *per os* est instaurée sans effets sur l'infection.

Il est alors décidé de réaliser une seconde TMF à 28 jours de la 1ère. Elle est bien tolérée.

Des troubles gastro-intestinaux à type de ballonnements sont retrouvés 4 à 5 jours après l'administration, et sont spontanément résolutifs. Une cystite simple à *E. Coli* survient également dans les suites de la transplantation, traitée par fosfomycine/trométanol.

A 17 jours de la seconde TMF, le transit est normalisé à une selle par jour en moyenne. La cystite est récidivante, et traitée par ofloxacine per os pendant 3 jours.

A 4 mois, le transit est toujours normal. Seul un épisode de constipation d'une durée de 4 jours a été constaté.

A 1an et 1 mois, un traitement par fidaxomicine est instauré pendant 10 jours, à tort devant la suspicion d'un nouvel épisode de colite à *C. diff*. La coproculture revient négative avec absence de toxines pathogènes.

Un traitement symptomatique par mésalazine est instauré sur un diagnostic de rectite aspécifique. Le traitement a permis une amélioration du transit.

CAS N°3 :

Mme V, 60 ans, est greffée du pancréas en 2004 sur un diabète de type I et greffée rénale la même année sur une insuffisance rénale terminale, conséquence d'une néphropathie diabétique. La greffe rénale s'est compliquée d'un rejet chronique puis d'une septicémie sur pyélonéphrite du greffon ce qui a nécessité une dialyse pendant trois ans puis une 2ème greffe rénale en 2015. Elle est traitée au long cours par tacrolimus, prednisolone, et inhibiteur de la pompe à protons (IPP).

Un antécédent de dilatation modérée des bronches avec infection pulmonaire à répétition à *Pseudomonas aeruginosa* est à noter.

La patiente présente également des antécédents de diarrhée récidivante dus à une infection à *Clostridium difficile* ; Un premier épisode d'ICD est apparu à la suite d'une infection urinaire traitée par céfixime. Un traitement par métronidazole a été instauré pendant 10 jours. Un mois après, une récurrence d'ICD est traitée par métronidazole pendant 14 jours. Elle provoque une hospitalisation en néphrologie sur une déshydratation conduisant à une poussée d'insuffisance rénale aigue. Un traitement par fidaxomicine est alors instauré pendant 10 jours.

Puis une deuxième récurrence est apparue 2 mois après l'hospitalisation, suite à une antibiothérapie per-opératoire par céfazoline pour la prise en charge d'une chirurgie d'un orteil. Un traitement par fidaxomicine pendant 10 jours est à nouveau instauré.

Une semaine plus tard, l'apparition d'une bronchite nécessite un traitement par amoxicilline/acide clavulanique *per os* pendant 15 jours, et devant l'apparition d'un nouvel épisode d'ICD, une antibiothérapie par vancomycine *per os* en décroissance progressive est instaurée pendant 5 semaines.

Trois mois plus tard, une 4ème récurrence d'ICD survient, l'équipe médicale décide d'instaurer une TMF.

La séquence thérapeutique pré-TMF a été réalisée conformément aux recommandations. Et le traitement par IPP au long cours a été arrêté.

La patiente a gardé le transplant pendant 1h30, sans complications au décours.

A un mois de la TMF, le transit est normal, la recherche de toxines de *Clostridium difficile* est négative. A 10 mois post-TMF, quelques épisodes d'accélération du transit sont observés, à raison d'environ une fois par semaine, et résolutive sous loperamide. La recherche de toxine de *Clostridium difficile* est toujours négative.

CAS N° 4 :

Mme L, 85 ans, présente des antécédents de syndrome dépressif, ACFA et d'insuffisance cardiaque.

Concernant l'histoire des infections à *Clostridium difficile*, la patiente a présenté des infections récidivantes depuis le début de l'année 2018.

La première infection a été traitée par métronidazole. La 1ère et 2ème récurrence par vancomycine *per os*.

L'indication de traitement par TMF a été posée au CHU de Rouen, mais la patiente a été orientée au CHU de Caen pour pouvoir bénéficier de la thérapeutique.

La séquence thérapeutique pré-TMF a été suivie conformément aux recommandations. Le lavement par TMF s'est déroulé sans complications immédiates. Le temps de contact du transplant a été d'une quinzaine de minutes.

A 20 jours de la TMF, une émission ponctuelle de selles glaireuses sans diarrhée a été observée. L'état général est bon, avec une tendance occasionnelle à la constipation.

CAS N°5 :

Mr L, 88 ans, aux antécédents d'arythmie complète par fibrillation auriculaire, asbestose et lymphome gastrique de type MALT traité par radiothérapie, a eu 4 infections à *Clostridium difficile* depuis mars 2018. La 1ère développée dans les suites d'une antibiothérapie pour une bronchite. Il a reçu un traitement par fidaxomicine pendant 10 jours. Le transit s'est normalisé pendant 2 semaines puis une récurrence de diarrhée est apparue. Le diagnostic de colite pseudomembraneuse à *Clostridium difficile* était à nouveau posé. Il a alors été traité par vancomycine per os à doses dégressives pendant 2 mois. Dans les suites, il a eu des selles normales pendant environ 10 jours puis une nouvelle récurrence est apparue nécessitant une hospitalisation. La coproculture réalisée révélait la présence de *Clostridium difficile* toxigène. Un traitement par vancomycine à doses dégressives a à nouveau été prescrit améliorant son transit à deux selles pâteuses par jour.

Devant une nouvelle récurrence, et après discussion avec le patient, il a été décidé de réaliser une transplantation de microbiote fécal en août 2018.

Le patient n'a pas présenté d'effets indésirables à court terme, le transplant a été bien toléré, cependant le temps de contact avec le tube digestif du patient a été de 5 minutes.

Le lendemain de la transplantation, devant un état clinique stable, le patient rentre à domicile. Une consultation de suivi a été programmée à 3 mois de la transplantation.

CAS N° 6 :

Mr H, 64 ans, a comme antécédents une leucémie aigüe myéloïde diagnostiquée en 2008, traitée par ruxolitinib 10mg. Il a bénéficié d'une allogreffe de cellules souches périphériques en juillet 2014, qui s'est compliquée d'une réaction du greffon contre l'hôte (*GvH* pour *Graft Versus Host Disease*) cutanée, digestive et hépatique, diagnostiquée en janvier 2015. Ce patient a présenté un tableau de diarrhée chronique apparu quelques mois après l'allogreffe, dont l'aspect histologique de colite superficielle non ulcérée diffuse à la biopsie évoquait la *GvH*.

Dans les suites, des bactéries multi-résistantes avaient été retrouvées dans les selles du patient sans identification parallèle de *Clostridium difficile* toxigène.

Le patient a reçu entre 2015 et 2017 un nombre important d'antibiothérapies (amoxicilline/acide clavulanique, pristinamycine, roxithromycine, ceftriaxone et amikacine) au cours de son histoire clinique du fait notamment d'une infection digestive à *Campylobacter jejuni* et *Klebsiella oxytoca* apparue en juin 2015 puis d'un érysipèle récidivant du membre inférieur gauche en décembre 2016.

Une diarrhée importante était retrouvée lors des périodes de traitement par antibiotiques cependant aucune trace de *Clostridium difficile* toxigène n'était détectée sur les prélèvements réalisés. Lors des cas de diarrhée, l'antibiotiques incriminé était arrêté, et a permis une nette diminution de ces dernières.

Par ailleurs, dans le cadre de la *GvH*, une supplémentation en immunoglobulines ainsi qu'un traitement par corticostéroïdes avait été instauré, permettant une diminution du nombre de selles. Cependant, le patient restait très invalidé par des selles liquides pluriquotidiennes.

En avril 2017, une transplantation de microbiote fécal a alors été décidée par l'équipe médicale, pour le traitement de la *GvH*. En effet, plusieurs articles relataient une efficacité de la TMF dans cette indication.

Il n'y a pas eu de séquence pré-thérapeutique par vancomycine devant l'absence de colonisation à *Clostridium difficile* toxigène. Le transplant a été gardé une quinzaine de minutes par le patient. Par la suite, il est rapidement noté une nette amélioration du transit intestinal.

A un mois de la transplantation, le transit était toujours normalisé, avec l'émission d'une selle normale par jour, une diminution de la fatigue et une reprise de 3 kilogrammes en 1 mois. Le patient est resté dans un état clinique stable durant 2,5 mois post-transplantation.

Une nouvelle antibiothérapie par amoxicilline prescrite en juin 2017 pendant 3 semaines dans le cadre de la récurrence de l'érysipèle a provoqué une rechute de la diarrhée, avec toutefois une recherche négative des toxines de *Clostridium difficile*, avec examen parasitologique des selles et coproculture également négative. Le diagnostic de rechute de *GvH* digestive a été retenu.

Une seconde TMF a été décidée par l'équipe médicale un mois après la rechute. Elle a été bien tolérée, sans notion du temps de contact.

A un an et 1 mois de la 2ème TMF, le transit est toujours normalisé.

AUTRE CAS :

Mr V, 79 ans, présente comme antécédents une fibrose pulmonaire idiopathique ayant provoqué des surinfections à répétition.

Un premier épisode de colite pseudo-membraneuse à *Clostridium difficile* est apparu en avril 2016 après un traitement par antibiothérapie pour une infection pulmonaire. L'ICD était toujours persistante 15 jours après fin de traitement par métronidazole.

L'instauration d'un traitement par vancomycine durant 14 jours s'en est suivie, mais la rechute a été notée à 8 jours de la fin du traitement. Une antibiothérapie par fidaxomycine a alors été prescrite durant 10 jours sans amélioration de l'état clinique.

Une TMF a été programmée par la suite, mais la poche préparée n'a finalement pas été administrée du fait d'une dégradation de l'état clinique du patient (hémorragie digestive sur ulcère bulbaire et transfusions) la veille de la TMF prévue.

Suite à l'amélioration de l'état du patient, la TMF est reprogrammée 10 jours après la sortie d'hospitalisation.

Le jour J, le patient ne s'est pas présenté au CHU. La préparation de la poche nécessitant une décongélation 12 heures avant la préparation, l'équipe pharmaceutique n'a pas pu prévoir la non-venue du patient. L'administration n'a à nouveau pas eu lieu, et la poche a été détruite.

2.3.2 Résultats d'efficacité de la cohorte

Dans le tableau n°7, sont résumées les caractéristiques de chaque patient, et les résultats d'efficacité post-TMF :

Tableau n°7 : Bilan des résultats de la cohorte de patients traités au CHU de Caen

	Sexe	Âge	Nbre récidives d'ICD avant TMF	Résultat 1ère TMF	Temps de contact TMF/Tube digestif	Résultat 2ème TMF	Temps de contact TMF/Tube digestif
Patient 1	Femme	72 ans	3	Réussite à J270	NR*		
Patient 2	Femme	77 ans	3	Echec à J3	NR*	Réussite à J390	NR*
Patient 3	Femme	60 ans	4	Réussite à J300	90 min		
Patient 4	Femme	85 ans	3	Réussite à J21	15 min		
Patient 5	Homme	88 ans	3	Réussite à J2	5 min		
Patient 6	Homme	64 ans	0	Echec à J75	15 min	Réussite à J390	NR*

*NR : Non renseigné

Sur ces patients âgés de 60 à 88 ans, nous notons une prédominance de femmes (67%). En terme de résultat d'efficacité, sur 6 patients, 5 ont été traités par TMF pour l'indication d'infection récidivante à *Clostridium difficile*. Dans cette cohorte, il y a 80% de réussite après la 1^{ère} TMF, et 100% de réussite après la 2^{ème} TMF. A noter que chez 2 patients, le suivi est inférieur à 8 semaines, car les transplants ont eu lieu récemment. Le patient 6 n'a pas été inclus dans les résultats d'efficacité car il a été traité pour une pathologie hors AMM, qui est la *GvHD*. Le temps de contact du transplant est en moyenne de 31 minutes [5 ; 90].

3. RECENSEMENT DES PRATIQUES LIEES AUX ASPECTS PHARMACOTECHNIQUES ET REGLEMENTAIRES DE LA TMF

3.1 Objectifs

L'émergence du transfert de microbiote fécal ces dernières années et l'engouement toujours croissant des professionnels de santé a engendré un développement extrêmement rapide de la pratique et de son évolution. En 2014, l'ANSM publiait une réflexion quant à l'encadrement de la pratique dans les essais cliniques. Début 2015, Batista et coll. abordait un cadre et des aspects pharmacotechniques sur la base des réflexions menées par l'Académie nationale de pharmacie (63). Cette même année a émergé des recommandations françaises pour la pratique clinique courante, élaborées par le Groupe Français de Transplantation Fécale (6) permettant aux centres hospitaliers de se baser sur un consensus national. Quelques mois plus tard, l'ANSM actualisait son rapport précisant que les ICD récidivantes représentaient l'indication de transplantation de microbiote fécal la mieux documentée en termes d'efficacité, et précisant des mesures de sécurité modifiées et renforcées. Mesures à nouveaux renforcées en 2016 (184). Puis l'année dernière, un groupe de professionnels spécialistes a établi une conférence de consensus européen (207) qui réitère la nécessité d'utiliser la TMF pour le traitement des ICD récidivantes, qui établit des directives pharmacotechniques et qui indique les exigences requises pour permettre l'organisation d'un modèle assurant le déroulement de la TMF dans des conditions de sécurités appropriées.

C'est également en 2017, lors du premier colloque organisé par le GFTF que celui-ci a dévoilé les résultats préliminaires d'une enquête menée auprès de 20 centres hospitaliers. L'enquête mettait en évidence une certaine hétérogénéité des modalités de réalisation de la TMF. Les résultats préliminaires sont disponibles dans le Bulletin national CPias n°8 (208). Cependant, cette enquête n'évoquait pas les modalités de financement de la pratique, ni certaines conditions de la prise en charge du don (lieu d'émission).

Après cette enquête menée par le GFTF, compte tenu de l'évolution permanente de la pratique encore aujourd'hui, (nouveaux essais cliniques, nouvelles formes galéniques), l'objectif de ce travail est de réaliser un bilan des pratiques pharmaceutiques vis-à-vis des recommandations établies et des données des centres hospitaliers, afin de dégager les différences de pratiques dans le but d'accroître leur homogénéité et d'en optimiser leur gestion, impactant sur l'efficacité à la sécurité de la TMF.

3.2 Méthodes

Une enquête nationale a été menée auprès de centres hospitaliers qui réalisent ou sous-traitent la transplantation de microbiote fécal entre juin et août 2018. Pour cela, un questionnaire de type *GoogleForm*[®] composé de 9 questions relatives au circuit pharmaceutique du transplant a été diffusé auprès de chaque pharmacien référent de l'activité par un sondage *via* les pharmaciens chefs de service des CHU de métropole, hors DOM-TOM. Les questions ciblaient différents aspects pharmaceutiques, notamment la prise en charge du don du lieu d'émission à sa préparation, les consentements pour le donneur et/ou le receveur, le mode de facturation de l'établissement et les démarches entreprises auprès des instances pour déclarer la mise en place de la pratique.

3.3 Résultats

Sur 28 centres interrogés, 16 centres ont indiqué avoir mis en place une activité de transplantation de microbiote fécal.

Sur les 16 centres concernés, 100% traitaient des patients pour l'indication des **infections récidivantes à *Clostridium difficile***. 37,5% (n=6) participaient en plus à des **protocoles de recherche cliniques**, comme l'étude POCA pour *the Prophylaxis of Recurrent Pouchitis After Fecal Microbiota Transplant in UC With Ileo-anal Anastomosis* – Identifiant RC17_0021 ; L'étude FEDEX pour *FEcal Transplant, a Hope to Eradicate Colonization of Patient Harboring eXtreme Drug Resistant Bacteria?* – n°EUDRACT 2014-003048-11 ; Et d'autres PHRC inter-régionaux notamment, en lien avec les *GvHD* et les MICI. Et 25% (n=4) ont déposé un (des) PHRC en attente de validation.

Concernant la **voie d'administration choisie**, 4 centres (27%) utilisent uniquement la voie haute, (sonde nasogastrique), 4 centres (27%) utilisent uniquement la voie basse (sans précision du mode d'administration), 5 centres (33%) utilisent les deux voies, un centre a utilisé la jéjunostomie pour le seul patient traité, et un centre utilise des préparations administrées *per os*. Un centre n'a pas répondu.

Concernant le **lieu de recueil du don**, sur les 16 centres, 31,25% (n=5) sous-traitent la préparation à un autre centre hospitalier.

Sur les 11 autres centres réalisant la fabrication, le lieu de recueil du don est le **domicile du patient** dans 45% des cas (n=5), la **salle de consultation** dans 36% des cas (n=4) et la **PUI** dans 18% des cas (n=2).

En découle que le mode de transit du don, de son émission jusqu'au lieu de préparation est réalisé par le donneur dans 100% des cas où le lieu est le domicile du donneur. Dans les autres cas, il s'agit d'un coursier ou d'un transporteur agréé.

Pour la suite des résultats, les centres donneurs d'ordre ayant une convention de sous-traitance ont été écartés (n=5), car n'étaient pas concernés par les critères. L'effectif de centres avec une activité de TMF s'élevait à 11, centres sous-traitants exclus.

Concernant le nombre de consultations réalisées par un gastro-entérologue avec un candidat donneur de selles, il en ressort que dans l'organisation de 6 centres (55%) sur 11, **une seule consultation pré don** est réalisée. 5 centres (45%) réalisent les **deux consultations préconisées par les recommandations**.

Concernant le **lieu de préparation du transplant**, sur les 11 centres, 8 centres (73%) préparent à la **pharmacie**, et 3 centres (27%) disposent d'un poste de sécurité microbiologique **au laboratoire de biologie médicale**.

Concernant le **mode de traitement du don**, dans 8 centres sur 11, il y a **congélation** des préparations à - 80°C. Dans les 3 autres centres, la préparation de **selles fraîches** est directement administrée, dans un délai variant de 6h (n=2) à 8h (n=1).

Sur les 8 centres qui utilisent la congélation, 7 mélangent les selles à une **solution de NaCl et glycérol**. Un centre utilise du glycérol seul, sans précisions sur sa quantité.

Concernant la **méthode de décongélation**, la méthode utilisant un réfrigérateur domine. Sur les 8 centres qui utilisent la congélation, 50% (n=4) décongèlent entre 2°C et 8°C durant 12 heures. 25% (n=2) décongèlent à température ambiante, et 25% décongèlent au bain-marie pendant quelques minutes.

Concernant l'établissement et l'utilisation de consentements dans chaque centre, hors centres sous-traitants, l'enquête révèle que pour le donneur, sur les 11 centres réalisant du transfert de flore, 7 centres ont un support de consentement éclairé à transmettre et à faire signer

au donneur. Sur ces 7 centres, deux ont utilisé le modèle de consentement proposé par l'ANSM, 4 utilisent un consentement élaboré par le centre, un centre utilise le modèle de don de sang adapté au don de selles et 4 centres n'utilisent pas de consentement éclairé pour le donneur.

Concernant le receveur, 15 centres (n=94%) sur les 16 centres sous-traitants inclus, utilisent un consentement écrit destiné à accepter la thérapeutique par transfert de flore. 11 centres utilisent un consentement élaboré par le centre et 4 centres utilisent le modèle de consentement du GFTF.

En terme de **facturation** des prestations générées par le transfert de flore, du donneur et du receveur, il en ressort que 9 établissements absorbent les dépenses générées par l'activité. 5 établissements, du fait de la convention de sous-traitance établie, n'ont pas de frais générés par le donneur. Ces établissements établissent un ordre de paiement au centre réalisant la sous-traitance. Un centre a un accord avec l'assurance maladie de la région pour l'obtention d'un remboursement sur la pratique (sans précision sur l'acte remboursé). Un centre ne répond pas à la question posée.

Enfin, concernant les démarches effectuées par les centres auprès des instances et tutelles pour informer de la mise en place de la pratique. Sur les 16 centres, 8 centres ont déclaré la pratique à l'ARS, dont deux également au Conseil national de l'ordre des pharmaciens. Sur ces 8 centres, trois centres délocalisent la réalisation de la préparation dans le laboratoire de biologie médicale de l'établissement et deux centres sous-traitent l'activité. Deux centres ont informé l'ANSM, dont un a également demandé un avis CPP dans le cadre d'un protocole de recherche. 6 centres n'ont informé aucune instance ou tutelle.

Le tableau n°8 résume les principales hétérogénéités relevées lors de l'enquête des pratiques sur les aspects pharmacotechniques et réglementaires de la TMF.

Tableau n°8 : Résumé des principales caractéristiques hétérogènes des centres interrogés

Lieu de recueil du don
Lieu de préparation du transplant
Méthode de décongélation du transplant
Elaboration de consentements écrits (donneur et/ou receveur)
Nombre de consultations pré-don

3.4 Discussion

L'enquête menée a permis d'avoir un retour sur la pratique de la TMF dans 16 centres, nous avons fait le choix de sonder uniquement les centres hospitaliers universitaires (hors DOM-TOM) qui sont au nombre de 29 sur le territoire français. L'enquête menée par le GFTF en 2017 concernait 20 centres.

Bien que la seule indication validée pour l'utilisation de la TMF soit les infections récidivantes à *Clostridium difficile*, nous avons observé que 37,5% des centres participent à des protocoles de recherche en parallèle, ce qui montre un engouement croissant de la pratique et de sa possible utilisation dans d'autres pathologies. Cela suit la tendance européenne et internationale.

Parmi les aspects pratiques de la TMF à discuter, il y a le nombre de consultations du donneur en vue de sa sélection. Avec plus de la moitié des centres qui n'effectuent qu'une seule consultation pré-don, au lieu des 2 recommandées dans les consensus, l'utilisation de selles congelées n'entraîne pas de risques supplémentaires car l'ensemble du processus de sélection du donneur est combiné en une seule consultation, incluant la quarantaine.

Concernant le lieu d'émission du don, une majorité de centres, excluant ceux qui soustraient, ne maîtrisent pas complètement le circuit du don. En effet, lorsque le lieu d'émission est le domicile du patient, aucune traçabilité ne peut être réalisée, notamment sur les conditions de transport du don (durée, température), sur le moment exact d'émission des selles, et finalement sur leurs origines. Tout repose sur la confiance dans le donneur.

Bien que la TMF ait le statut de médicament et plus précisément de préparation magistrale, nous observons que presque un tiers des centres ont délocalisé leur activité de préparation de selles au laboratoire de biologie médicale de l'établissement. Batista et coll. disait « *si un laboratoire de biologie médicale de l'établissement de santé dispose des moyens nécessaires [...] et que le biologiste soit en mesure d'effectuer la dilution de la matière première et sa présentation [...], il peut être sollicité par le pharmacien responsable de la PUI à cette fin, à la condition que ce dernier procède à la validation pharmaceutique, à la libération et à la dispensation de la préparation, [...] sous réserve de l'accord formalisé par l'Agence régionale de santé.* ». Parmi les 3 centres concernés, tous ont formalisé leur demande auprès de l'Agence Régionale de Santé (ARS). Cependant les laboratoires manipulent également des

selles pathologiques, ce lieu de préparation est donc plus à risque sur la gestion de la préparation. L'utilisation d'un poste de sécurité microbiologique s'avère être primordial, ainsi que l'utilisation de procédures de lavage et de décontamination.

Pour les autres centres qui effectuaient les préparations à la pharmacie, et pour les centres sous-traitants, 3 centres ont tout de même informé l'ARS de la réalisation de la pratique, dont un centre qui a également informé le Conseil National de l'Ordre des Pharmaciens. Deux centres ont informé l'ANSM, dont un a également demandé un avis du Comité de Protection des Personnes dans le cadre d'un protocole de recherche. 7 centres n'ont informé aucune instance ni tutelle.

Concernant le mode de traitement du don, l'enquête du GFTF mettait en évidence une provenance du transplant de 69,2% par des selles fraîches contre 30,8% de selles congelées lors de l'administration par voie colique. Dans notre étude, si l'on se base uniquement sur les centres non sous-traitant et utilisant la voie colique, 57% des centres utilisent des selles congelées contre 43% qui utilisent des selles fraîches. Il est difficile de comparer ces données car l'enquête du GFTF se basait sur l'étude de 133 TMF réalisées dans les centres, alors que notre étude se base uniquement sur les caractéristiques du centre, sans tenir compte de la spécificité de chaque TMF. De plus, nous ne différencions pas le lavement colique de la coloscopie pour l'administration de la TMF, ce qui peut biaiser les données. Cependant, cette différence de résultats observés pourrait toutefois s'expliquer par le fait qu'il y a eu un changement des pratiques entre les 2 études, mais cela semble peu probable.

Sur le plan des consentements, il y a une différence entre leur élaboration chez le donneur et chez le receveur. Grâce au support diffusé sur le site web du GFTF (<http://www.gftf.fr/>), seul un centre ne propose pas au receveur de consentement éclairé écrit. En revanche, pour le donneur, l'absence de modèle peut expliquer le nombre important (n=4) de centres n'en utilisant pas.

Concernant la forme galénique, nous avons observé qu'un centre préparait des gélules destinées à la voie orale. Il s'agit d'une forme galénique innovante qui a été présentée à la 1^{ère} journée du Groupe Français de Transplantation Fécale. Ce sont des capsules à double enveloppe et gastro-résistantes qui ont pour objectif de remplacer les méthodes de conditionnements actuelles afin de faciliter l'administration et le confort du patient. Ce conditionnement a été validé par l'essai européen R-Gnosis, permettant le développement de leur fabrication dans deux établissements pilote d'expérimentation clinique.

Enfin, en termes de facturation, sur les 16 centres, la facturation se fait par le centre qui réalise la transplantation, par la mise en place d'une convention de sous-traitance pour les 5 centres sous-traitant. 9 centres absorbent les dépenses générées, sans facturation à un organisme tiers. Et un centre n'a pas répondu à la question.

DISCUSSION GENERALE

Au CHU de Caen, pour faire face aux difficultés logistiques et pratiques de la procédure mentionnées par Sokol et coll. dans leurs recommandations (6), le circuit a été optimisé tout en assurant la sécurité de la pratique.

D'une part, concernant le **circuit du donneur**, il a été décidé de ne réaliser qu'une seule consultation médicale de sélection avant don (figure n°34), contrairement aux deux préconisées par le GFTF (6). Dans notre organisation, nous combinons l'entretien n°1 préconisé par le GFTF contenant le questionnaire de présélection, l'examen clinique du donneur et le bilan de dépistage, avec l'entretien n°2 contenant le questionnaire d'absence de contre-indication au don. Ainsi le don est émis dans les murs de l'établissement, permettant sa traçabilité complète, puis est traité et placé directement en quarantaine à -80°C dans l'attente de la conformité des résultats biologiques.

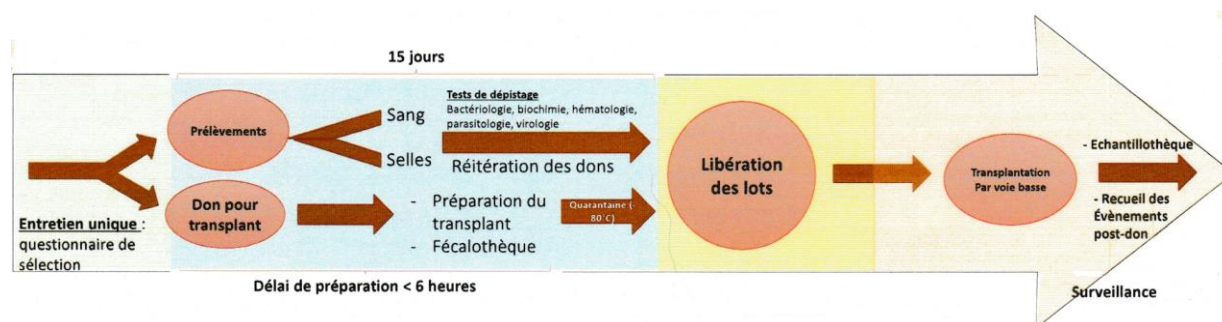


Figure n°34 : Processus de réalisation de la TMF au CHU de Caen

Concernant la fabrication du transplant, il a été décidé de suivre scrupuleusement le délai de 6 heures entre l'émission et la congélation, et afin de gommer les hétérogénéités des pratiques relevées par Galpérine et coll. dans son étude (209). Par ailleurs, il a été choisi de ne pas réaliser la fabrication en conditions anaérobies, du fait des résultats de la littérature qui ne montrent pas d'avantage significatif à la manipulation du prélèvement en anaérobiose (210,211), tant que le délai de 6 heures est bien respecté.

Enfin, le choix de la voie d'administration avait été décidé en réunion pluridisciplinaire, car les données de littérature ne concluaient à aucune supériorité significative d'une voie d'administration.

Une forme de capsule orale innovante est en cours de développement, ce qui permettrait une amélioration du service rendu au patient et probablement une facilité d'organisation pour l'administration. Les études scientifiques réalisées ne montrent pas de non-infériorité de cette

forme galénique (211,212). Une étude a même été menée sur des gélules à base de microbiote lyophilisé (213).

Lorsque l'équipe médicale donne son « feu vert » pour une prescription de TMF à un patient malade, l'équipe pharmaceutique se coordonne et anticipe la décongélation. Lors de la réalisation des 3 premières TMF, la décongélation avait lieu alors que l'équipe médicale donnait un seul « feu vert » quelques jours avant la programmation de la TMF, sans revalidation la veille de l'administration, au moment où il faut décongeler. Cela a eu pour conséquence la perte de 2 transplants : l'un, évitable, du fait de la dégradation de l'état clinique d'un patient la veille de l'administration. Pour ce patient, la décision de décaler la date d'administration avait été prise sans en informer l'équipe pharmaceutique (*cf.* AUTRE CAS, p.72). Il a alors été décidé de demander une confirmation à l'équipe médicale la veille de la date prévue pour la TMF. Ainsi la préparation n'est décongelée qu'après confirmation et le risque de perte du transplant en cas de détérioration clinique du patient receveur est évité. L'autre perte, non prévisible, dû à la non-venue d'un patient receveur le jour de son administration, a engendré la destruction de la poche le jour de l'administration. La mise en place d'un « feu vert » *via* la prescription informatisée, comme pour les logiciels de chimiothérapie, pourrait permettre de limiter le risque de perte de dons.

L'effectif de patients traités est relativement faible. Cela s'explique principalement par la faible quantité de transplants disponibles du fait du manque de donneurs de selles. Les principales difficultés rencontrées pour le recrutement de donneurs sont une méconnaissance de la pratique par la population générale. En effet, il y a peu d'information disponible pour être donneur de selles, et une faible visibilité des centres ayant mis en place la pratique. Une autre difficulté est la perception de la matière fécale par la population, évoquant le dégoût et un certain tabou.

Concernant les candidats donneurs de selles, la sélection déterminant l'aptitude à pouvoir donner s'avère également contraignante d'une part en raison d'une hygiène stricte à respecter (régime alimentaire, voyages, comorbidités), et d'autre part, du fait de la consultation médicale de sélection (examen clinique, questionnaire de santé, analyses biologiques).

Une campagne de communication est en cours avec le service communication du CHU de Caen, afin de sensibiliser le personnel hospitalier dans un premier temps, dans l'espoir de constituer un stock de préparations de microbiote fécal plus important.

A propos des **aspects financiers**, la mise en place de la TMF a nécessité une réorganisation des missions au sein du préparatoire de la PUI. En effet, les missions ont été réorganisées et le préparatoire a dû s'équiper de nouveau matériel.

L'établissement peut toutefois **facturer la préparation** sur des **prestations inter-hospitalières** dans le cadre de conventions de sous-traitance, et cela engendre une entrée d'argent qui pourrait compenser les frais médicaux liés aux examens biologiques hors nomenclature.

De plus, la sous-traitance permet aux établissements n'ayant pas les ressources nécessaires de bénéficier de la thérapeutique.

Bien qu'il n'existe pas de **codage** de l'acte médical d'administration d'un transplant de microbiote fécal, les hospitalisations dont bénéficie le receveur entrent dans le cadre de groupes homogènes de séjour (GHS) et sont facturés à l'assurance maladie.

Concernant le donneur, il n'existe pas encore de consensus sur les modalités de prise en charge des frais médicaux liés au don de selles par l'agence biomédecine (206). Cependant, s'agissant d'un don d'éléments du corps humain, la transparence financière vis-à-vis du donneur doit être assurée. Le donneur bénéficie d'une prise en charge à 100% qui l'exonère du ticket modérateur. Les frais médicaux peuvent être facturés à l'assurance maladie par l'établissement. En revanche, les examens biologiques hors nomenclature prescrits lors du screening biologique du donneur sont à la charge de l'établissement. Une dotation MIG (Mission d'Intérêt Général) type « Surcoût cliniques et biologiques de la TMF » pourrait être allouée aux établissements en fonction du nombre de don émis ou de patients traités, comme c'est le cas pour les établissements réalisant des dons de gamètes et d'embryons.

En termes d'éthique et de réglementation, la TMF requérant l'utilisation d'éléments du corps humain, la loi implique une vigilance quant aux différents consentements à obtenir de la part du donneur et du receveur. Pour le donneur, l'article L. 1211-2 du Code de la santé publique (CSP) précise « *le prélèvement d'éléments du corps humain et la collecte de ses produits ne peuvent être pratiqués sans le consentement préalable du donneur. [...] L'utilisation d'éléments et de produits du corps humain à une fin médicale ou scientifique [...] est possible, sauf opposition exprimée par la personne sur laquelle a été opéré ce prélèvement ou cette collecte, dûment informée au préalable de cette autre fin.* ». L'article L.1241-1 du CSP mentionne également la nécessité pour le donneur d'exprimer un consentement écrit pour l'utilisation du don à visée thérapeutique.

Au CHU de Caen, il est nécessaire d'obtenir 2 consentements éclairés pour être donneur de selles. L'objectif du premier est d'encadrer le don d'échantillons biologiques associé à la

non-opposition de la conservation des prélèvements biologiques. Cela nous permet d'être conforme en cas de recherche clinique non interventionnelle et de l'utilisation du don à des fins de recherches (article L.1221-8-1 du Code de la Santé Publique). L'autre consentement, visant à consentir de l'utilisation du microbiote fécal à visée thérapeutique chez un receveur malade. Pour le receveur, afin d'assurer la sécurité sanitaire et une traçabilité, la pratique de transplantation justifie l'obtention d'un consentement à autoriser les services compétents du CHU de Caen à la transplantation de microbiote fécal, sur sa personne et à visée thérapeutique, comme l'impose l'arrêté du 14 mai 2010 modifié, fixant le contenu des informations permettant d'utiliser des éléments et produits du corps humain à des fins thérapeutiques.

Concernant nos **résultats cliniques**, bien que l'effectif de patients traités par TMF au CHU de Caen soit faible et que le recul d'efficacité ne soit que de quelques jours pour deux d'entre eux, la **tendance** des résultats d'efficacité est similaire aux données de la littérature pour les patients traités dans le cadre d'une infection à *Clostridium difficile*.

Le temps de contact du transplant avec le receveur, en moyenne observé à 31,25 minutes [5 min ; 90 min] permet de penser qu'il peut y avoir une efficacité de la transplantation malgré des temps de contact très courts. Ces données restent toutefois à confirmer sur de plus grands effectifs.

Le cas du traitement par TMF chez l'un des patients pour l'indication de *GvHD* est intéressant, car le traitement s'est révélé être efficace malgré que ce soit une indication hors-AMM. Il s'agit d'une indication nouvelle déjà décrite dans la littérature, et qui pourrait devenir une indication officielle dans le futur, au vue des programmes de recherche qui sont en train de se monter et des données de la littérature.

CONCLUSION GENERALE

Le microbiote intestinal joue un rôle très important dans de nombreuses maladies. Son étude est récemment devenue centrale pour la recherche en santé. La transplantation de microbiote fécal, qui possède en France le statut de médicament, consiste en l'introduction par les voies naturelles d'une préparation de selles d'un donneur sain dans le tube digestif d'un receveur, pour rééquilibrer sa flore intestinale altérée.

La mise en place d'une activité de transplantation de microbiote fécal au CHU de Caen a pu voir le jour grâce à des pré-requis indispensables pour la faisabilité du projet. La constitution d'un groupe de travail a permis de définir la faisabilité logistique et pratique de la TMF. Une enquête menée par le Groupe Français de Transplantation Fécale (GFTF) a mis en évidence des hétérogénéités de pratiques dans les centres hospitaliers réalisant des TMF et cela a permis de dégager des réflexions quant à l'évolution de la pratique. Par exemple, au CHU de Caen, la suppression de l'une des deux consultations du donneur a permis d'alléger sa prise en charge. Les modalités de préparation du transplant ont scrupuleusement suivies les recommandations émises par le GFTF. Le choix de la congélation de la préparation a été fait pour alléger la logistique du circuit du don, et pour permettre d'avoir des préparations disponibles en avance. La rédaction de consentements pour le donneur et receveur de TMF permet de couvrir tout risque non anticipé et permet de cadrer l'utilisation des selles dans des protocoles de recherche. Il persiste toutefois des questions : Quelle méthode de décongélation est la plus efficace ? Quelle date limite d'utilisation du transplant est optimale ? Un mode de facturation uniforme érigé au plan national est-il possible ? Des réponses seront probablement apportées dans les années à venir, avec des données de recherche suffisantes et une pratique plus standardisée.

Le GFTF a créé un registre, intitulé COSMIC (Cohorte Sécurité de la transplantation de Microbiote fécal) dont l'objectif principal est de caractériser la sécurité de la TMF à court et moyen terme. Les objectifs secondaires de ce registre visent à identifier les facteurs influant sur l'efficacité de la TMF dans les ICD récidivantes, en fonction des caractéristiques cliniques des donneurs, des receveurs, et de la méthode de préparation et d'administration de la préparation fécale notamment. Ce registre, en plus, permettra également d'apporter des données de sécurité, d'évaluer l'effet de la TMF sur le transit et sur le poids à long terme.

La transplantation de microbiote fécal, pourrait n'être qu'une étape dans la recherche et le développement de traitements issus du microbiote. Elle se révèle pour l'instant très prometteuse comme le montre le nombre de publications sur le sujet, mais elle reste toutefois une pratique spécifique, au regard de la qualité, de l'efficacité et de la sécurité du don. La création de centres de références en France permettra une sécurisation de l'utilisation de selles.

BIBLIOGRAPHIE

1. Youngster I, Mahabamunuge J, Systrom HK, Sauk J, Khalili H, Levin J, et al. Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent *Clostridium difficile* infection. *BMC Med.* déc 2016;14(1).
2. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, Bibbò S, Dinoi G, Costamagna G, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther.* mai 2015;41(9):835-43.
3. Duodenal Infusion of Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 30 mai 2013;368(22):2143-5.
4. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis.* 19 mars 2018;66(7):e1-48.
5. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for *Clostridium difficile* Infection. *Clin Microbiol Infect.* mars 2014;20:1-26.
6. Sokol H, Galperine T, Kapel N, Bourlioux P, Seksik P, Barbut F, et al. Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes : recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépatogastro Oncol Dig.* 1 avr 2015;22(4):278-90.
7. Leclerc M, Juste C, Blottière H, Doré J. Microbiote intestinal : un univers méconnu. *Cah Nutr Diététique.* 1 avr 2007;42:22-7.
8. John Libbey Eurotext - Le microbiote intestinal - Un organe à part entière - Philippe Marteau, Joël Doré [Internet]. [cité 30 juin 2018]. Disponible sur: http://www.jle.com/fr/ouvrages/e-docs/le_microbiote_intestinal_308828/ouvrage.phtml
9. Freter R. Interactions between mechanisms controlling the intestinal microflora. *Am J Clin Nutr.* 1 déc 1974;27(12):1409-16.
10. Finegold S, Sutter V, Mathisen G. Normal indigenous intestinal flora. *Hum Intest Microflora Health Dis.* 31 mars 1983;541-68.
11. Eckburg PB. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science.* 10 juin 2005;308(5728):1635-8.
12. Tap J, Mondot S, Levenez F, Pelletier E, Caron C, Furet J-P, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ Microbiol.* oct 2009;11(10):2574-84.
13. Rajilić-Stojanović M, Smidt H, de Vos WM. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environ Microbiol.* sept 2007;9(9):2125-36.

14. Rigottier-Gois L, Bourhis A-G, Gramet G, Rochet V, Doré J. Fluorescent hybridisation combined with flow cytometry and hybridisation of total RNA to analyse the composition of microbial communities in human faeces using 16S rRNA probes. *FEMS Microbiol Ecol.* mars 2003;43(2):237-45.
15. Lay C, Rigottier-Gois L, Holmstrom K, Rajilic M, Vaughan EE, de Vos WM, et al. Colonic Microbiota Signatures across Five Northern European Countries. *Appl Environ Microbiol.* 1 juill 2005;71(7):4153-5.
16. Les fondamentaux de la pathologie digestive | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive [Internet]. 2014. Disponible sur: <https://www.snfge.org/content/les-fondamentaux-de-la-pathologie-digestive>
17. Adlerberth I, Wold A. Establishment of the gut microbiota in Western infants: Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr.* 12 janv 2009;98(2):229-38.
18. Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota — masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol.* avr 2013;11(4):227-38.
19. Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, Sutren M, Pochart P, Marteau P, et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut.* févr 2003;52(2):237-42.
20. Vanhoutte T, Huys G, Brandt E, Swings J. Temporal stability analysis of the microbiota in human feces by denaturing gradient gel electrophoresis using universal and group-specific 16S rRNA gene primers. *FEMS Microbiol Ecol.* 1 juin 2004;48(3):437-46.
21. Zoetendal EG, Akkermans AD, De Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol.* oct 1998;64(10):3854-9.
22. Jones RB, Zhu X, Moan E, Murff HJ, Ness RM, Seidner DL, et al. Inter-niche and inter-individual variation in gut microbial community assessment using stool, rectal swab, and mucosal samples. *Sci Rep [Internet].* déc 2018 [cité 25 août 2018];8(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-22408-4>
23. Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans ADL, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol.* juill 2002;68(7):3401-7.
24. De La Cochetière MF, Durand T, Lepage P, Bourreille A, Galmiche JP, Doré J. Resilience of the dominant human fecal microbiota upon short-course antibiotic challenge. *J Clin Microbiol.* nov 2005;43(11):5588-92.
25. Duncan HE, Edberg SC. Host-Microbe Interaction in the Gastrointestinal Tract. *Crit Rev Microbiol.* janv 1995;21(2):85-100.

26. Lee SM, Donaldson GP, Mikulski Z, Boyajian S, Ley K, Mazmanian SK. Bacterial colonization factors control specificity and stability of the gut microbiota. *Nature*. sept 2013;501(7467):426-9.
27. Raibaud P. [Bacterial ecology of the digestive tract]. - PubMed - NCBI. *Ann Gastroenterol Hepatol*. 1990;26(3):119-22.
28. Gerding DN, Meyer T, Lee C, Cohen SH, Murthy UK, Poirier A, et al. Administration of Spores of Nontoxigenic *Clostridium difficile* Strain M3 for Prevention of Recurrent *C difficile* Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 5 mai 2015;313(17):1719.
29. Dabard J, Bridonneau C, Phillippe C, Anglade P, Molle D, Nardi M, et al. Ruminococcin A, a New Lantibiotic Produced by a Ruminococcus gnavus Strain Isolated from Human Feces. *Appl Environ Microbiol*. 1 sept 2001;67(9):4111-8.
30. Sorg JA, Sonenshein AL. Bile Salts and Glycine as Cogerminants for *Clostridium difficile* Spores. *J Bacteriol*. 1 avr 2008;190(7):2505-12.
31. Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, Moughan PJ, Wells JM, Roy NC. Regulation of Tight Junction Permeability by Intestinal Bacteria and Dietary Components. *J Nutr*. 1 mai 2011;141(5):769-76.
32. Barcelo A, Claustre J, Moro F, Chayvialle JA, Cuber JC, Plaisancié P. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut*. févr 2000;46(2):218-24.
33. Kobayashi KS. Nod2-Dependent Regulation of Innate and Adaptive Immunity in the Intestinal Tract. *Science*. 4 févr 2005;307(5710):731-4.
34. Macpherson AJ GD. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. - PubMed - NCBI. *Science*. 23 juin 2000;288(5474):2222-6.
35. Biocodex Microbiota Institute : Expert du microbiote et de ses troubles [Internet]. [cité 30 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/>
36. Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat Rev Immunol*. oct 2014;14(10):667-85.
37. Bernalier-Donadille A. Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastroentérologie Clin Biol*. sept 2010;34:S16-22.
38. Dusko Ehrlich S. Metagenomics of the intestinal microbiota: potential applications. *Gastroentérologie Clin Biol*. sept 2010;34:S23-8.
39. Robert C, Bernalier-Donadille A. The cellulolytic microflora of the human colon: evidence of microcrystalline cellulose-degrading bacteria in methane-excreting subjects. *FEMS Microbiol Ecol*. oct 2003;46(1):81-9.
40. Chassard C, Goumy V, Leclerc M, Del'homme C, Bernalier-Donadille A. Characterization of the xylan-degrading microbial community from human faeces: Xylanolytic microbiota from human faeces. *FEMS Microbiol Ecol*. juill 2007;61(1):121-31.

41. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* oct 2012;9(10):577-89.
42. Ben David Y, Dassa B, Borovok I, Lamed R, Koropatkin NM, Martens EC, et al. Ruminococcal cellulosome systems from rumen to human: Human ruminococcal cellulosome. *Environ Microbiol.* sept 2015;17(9):3407-26.
43. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res.* mars 2013;69(1):52-60.
44. Chassard C, Scott KP, Marquet P, Martin JC, Del'homme C, Dapoigny M, et al. Assessment of metabolic diversity within the intestinal microbiota from healthy humans using combined molecular and cultural approaches: Metabolic diversity of gut microbiota from healthy humans. *FEMS Microbiol Ecol.* déc 2008;66(3):496-504.
45. Macfarlane GT, Gibson GR. Metabolic Activities of the Normal Colonic Flora. In: Gibson SAW, éditeur. *Human Health* [Internet]. London: Springer London; 1994 [cité 3 août 2018]. p. 17 - 52. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4471-3443-5_2
46. Phillips SF, Pemberton JH, Shorter RG, Talbot IC. The Large Intestine: Physiology, Pathophysiology and Disease. *Histopathology.* oct 1993;23(4):391-391.
47. al JK et. Bacterial lipases. - PubMed - NCBI. *FEMS Microbiol Rev.* sept 1994;15(1):29-63.
48. Rajilić-Stojanović M. Function of the microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* févr 2013;27(1):5-16.
49. Baron SF, Hylemon PB. Biotransformation of Bile Acids, Cholesterol, and Steroid Hormones. In: Mackie RI, White BA, éditeurs. *Gastrointestinal Microbiology* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 1997 [cité 3 août 2018]. p. 470 - 510. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4615-4111-0_13
50. Ridlon JM, Kang D-J, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res.* févr 2006;47(2):241-59.
51. Bernalier A RV, Leclerc M. Diversity of H₂/CO₂-utilizing acetogenic bacteria from feces of non-methane-producing humans. - PubMed - NCBI. *Curr Microbiol.* août 1996;33(2):94-9.
52. Currò D. The role of gut microbiota in the modulation of drug action: a focus on some clinically significant issues. *Expert Rev Clin Pharmacol.* févr 2018;11(2):171-83.
53. Cani PD. Gut microbiota — at the intersection of everything? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 26 avr 2017;14(6):321-2.
54. Jernberg C, Lofmark S. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. - PubMed - NCBI. *Microbiology.* nov 2010;156(11):3216-23.

55. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome. *PLOS ONE*. 24 mars 2010;5(3):e9836.
56. Paula H, Grover M, Halder SL. Non-enteric infections, antibiotic use, and risk of development of functional gastrointestinal disorders. - PubMed - NCBI. *Neurogastroenterol Motil*. nov 2015;27(11):1580-6.
57. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 13 sept 2012;489(7415):220.
58. Marsh A, Eslick E. Does a diet low in FODMAPs reduce symptoms associated with functional gastrointestinal disorders? A comprehensive systematic review and meta-analysis. - PubMed - NCBI. *Eur J Nutr*. avr 2016;55(3):897-906.
59. Beaugerie L, Metz M. *Klebsiella oxytoca* as an agent of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. - PubMed - NCBI. *Clin Gastroenterol Hepatol*. sept 2003;1(5):370-6.
60. Hempel S, Newberry S. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. - PubMed - NCBI. *JAMA*. 9 mai 2012;307(18):1959-69.
61. Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* Infection. Longo DL, éditeur. *N Engl J Med*. 16 avr 2015;372(16):1539-48.
62. Cornely OA, Nathwani D, Ivanescu C, Odufowora-Sita O, Retza P, Odeyemi IAO. Clinical efficacy of fidaxomicin compared with vancomycin and metronidazole in *Clostridium difficile* infections: a meta-analysis and indirect treatment comparison. *J Antimicrob Chemother*. 1 nov 2014;69(11):2892-900.
63. Batista R, Kapel N, Megerlin F, Chaumeil J-C, Barbut F, Bourlioux P, et al. Le transfert de microbiote fécal lors d'infections récidivantes à *Clostridium difficile*. Cadre et aspects pharmacotechniques. *Ann Pharm Fr*. sept 2015;73(5):323-31.
64. Abrégé d'Hépatogastro-entérologie 2012, chapitre 8, Item 118.pdf [Internet]. [cité 5 juill 2018]. Disponible sur: https://www.snfge.org/sites/default/files/SNFGE/Rubrique_Professionnels/abrege_hepatogastro/abrege_d_hge_2012_chap8-item118.pdf
65. Sokol H, Seksik P, Rigottier-Gois L, Lay C, Lepage P, Podglajen I, et al. Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease: *Inflamm Bowel Dis*. févr 2006;12(2):106-11.
66. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux J-J, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci*. 28 oct 2008;105(43):16731-6.
67. Quévrain E, Maubert MA, Michon C, Chain F, Marquant R, Tailhades J, et al. Identification of an anti-inflammatory protein from *Faecalibacterium prausnitzii*, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut*. mars 2016;65(3):415-25.

68. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, et al. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology*. juill 2015;149(1):102-109.e6.
69. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, van den Bogaerde J, Samuel D, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. mars 2017;389(10075):1218-28.
70. Camilleri M. Peripheral Mechanisms in Irritable Bowel Syndrome. *N Engl J Med*. 25 oct 2012;367(17):1626-35.
71. Hollister EB, Cain KC, Shulman RJ, Jarrett ME, Burr RL, Ko C, et al. Relationships of Microbiome Markers With Extraintestinal, Psychological Distress and Gastrointestinal Symptoms, and Quality of Life in Women With Irritable Bowel Syndrome: *J Clin Gastroenterol*. août 2018;1.
72. Krogius-Kurikka L, Lyra A, Malinen E, Aarnikunnas J, Tuimala J, Paulin L, et al. Microbial community analysis reveals high level phylogenetic alterations in the overall gastrointestinal microbiota of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome sufferers. *BMC Gastroenterol* [Internet]. déc 2009 [cité 1 sept 2018];9(1). Disponible sur: <http://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-230X-9-95>
73. Jalanka-Tuovinen J, Salojärvi J, Salonen A, Immonen O, Garsed K, Kelly FM, et al. Faecal microbiota composition and host-microbe cross-talk following gastroenteritis and in postinfectious irritable bowel syndrome. *Gut*. nov 2014;63(11):1737-45.
74. tana c., umesaki y., imaoka a., handa t., kanazawa m., fukudo s. Altered profiles of intestinal microbiota and organic acids may be the origin of symptoms in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* [Internet]. nov 2009 [cité 1 sept 2018]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2982.2009.01427.x>
75. Maccaferri S, Candela M, Turrone S, Centanni M, Severgnini M, Consolandi C, et al. IBS-associated phylogenetic unbalances of the intestinal microbiota are not reverted by probiotic supplementation. *Gut Microbes*. 20 sept 2012;3(5):406-13.
76. Malinen E, Rinttila T, Kajander K, Matto J, Kassinen A, Krogius L, et al. Analysis of the Fecal Microbiota of Irritable Bowel Syndrome Patients and Healthy Controls with Real-Time PCR. *Am J Gastroenterol*. févr 2005;100(2):373-82.
77. Ponnusamy K, Choi JN, Kim J, Lee S-Y, Lee CH. Microbial community and metabolomic comparison of irritable bowel syndrome faeces. *J Med Microbiol*. 1 juin 2011;60(6):817-27.
78. Chassard C, Dapoigny M, Scott KP, Crouzet L, Del'homme C, Marquet P, et al. Functional dysbiosis within the gut microbiota of patients with constipated-irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. avr 2012;35(7):828-38.
79. Ford AC, Spiegel BMR, Talley NJ, Moayyedi P. Small Intestinal Bacterial Overgrowth in Irritable Bowel Syndrome: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. déc 2009;7(12):1279-86.

80. Crouzet L, Gaultier E, Del'Homme C, Cartier C, Delmas E, Dapoigny M, et al. The hypersensitivity to colonic distension of IBS patients can be transferred to rats through their fecal microbiota. *Neurogastroenterol Motil.* avr 2013;25(4):e272-82.
81. Holvoet T, Joossens M, Wang J, Boelens J, Verhasselt B, Laukens D, et al. Assessment of faecal microbial transfer in irritable bowel syndrome with severe bloating. *Gut.* mai 2017;66(5):980-2.
82. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JHA, Duflou A, et al. Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology.* juill 2015;149(1):110-118.e4.
83. Doki N, Suyama M, Sasajima S, Ota J, Igarashi A, Mimura I, et al. Clinical impact of pre-transplant gut microbial diversity on outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol.* sept 2017;96(9):1517-23.
84. Yoshioka K, Kakihana K, Doki N, Ohashi K. Gut microbiota and acute graft-versus-host disease. *Pharmacol Res.* août 2017;122:90-5.
85. Kakihana K, Fujioka Y, Suda W, Najima Y, Kuwata G, Sasajima S, et al. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut. *Blood.* 20 oct 2016;128(16):2083-8.
86. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature.* avr 2000;404(6778):635-43.
87. Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci.* 2 nov 2004;101(44):15718-23.
88. Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. *Cell Host Microbe.* avr 2008;3(4):213-23.
89. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut Microbiota from Twins Discordant for Obesity Modulate Metabolism in Mice. *Science.* 6 sept 2013;341(6150):1241214-1241214.
90. Alang N, Kelly CR. Weight Gain After Fecal Microbiota Transplantation. *Open Forum Infect Dis.* 4 févr 2015;2(1):ofv004-ofv004.
91. Sonnenburg JL. Glycan Foraging in Vivo by an Intestine-Adapted Bacterial Symbiont. *Science.* 25 mars 2005;307(5717):1955-9.
92. Topping DL, Clifton PM. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. *Physiol Rev.* juill 2001;81(3):1031-64.
93. ANR MicroObes consortium, ANR MicroObes consortium members, Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature.* août 2013;500(7464):585-8.

94. MetaHIT consortium, Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. août 2013;500(7464):541-6.
95. Kim M-S, Hwang S-S, Park E-J, Bae J-W. Strict vegetarian diet improves the risk factors associated with metabolic diseases by modulating gut microbiota and reducing intestinal inflammation: Diet therapy, gut microbiota and metabolic diseases. *Environ Microbiol Rep*. août 2013;n/a-n/a.
96. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci*. 17 août 2010;107(33):14691-6.
97. Kong LC, Holmes BA, Cotillard A, Habi-Rachedi F, Brazeilles R, Gougis S, et al. Dietary Patterns Differently Associate with Inflammation and Gut Microbiota in Overweight and Obese Subjects. Brennan L, éditeur. *PLoS ONE*. 20 oct 2014;9(10):e109434.
98. Hotamisligil G, Shargill N, Spiegelman B. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*. 1 janv 1993;259(5091):87-91.
99. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 15 déc 2003;112(12):1796-808.
100. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. déc 2006;444(7121):860-7.
101. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest*. 1 nov 2006;116(11):3015-25.
102. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*. 1 juill 2007;56(7):1761-72.
103. Jin C, Henao-Mejia J, Flavell RA. Innate Immune Receptors: Key Regulators of Metabolic Disease Progression. *Cell Metab*. juin 2013;17(6):873-82.
104. Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr*. 1 mai 2008;87(5):1219-23.
105. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes*. 1 juin 2008;57(6):1470-81.
106. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia Is Associated With an Increased Risk of Incident Diabetes. *Diabetes Care*. 1 févr 2011;34(2):392-7.

107. Lassenius MI, Pietiläinen KH, Kaartinen K, Pussinen PJ, Syrjänen J, Forsblom C, et al. Bacterial Endotoxin Activity in Human Serum Is Associated With Dyslipidemia, Insulin Resistance, Obesity, and Chronic Inflammation. *Diabetes Care*. août 2011;34(8):1809-15.
108. Everard A, Geurts L, Caesar R, Van Hul M, Matamoros S, Duparc T, et al. Intestinal epithelial MyD88 is a sensor switching host metabolism towards obesity according to nutritional status. *Nat Commun [Internet]*. déc 2014 [cité 12 août 2018];5(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/ncomms6648>
109. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*. 1 août 2009;58(8):1091-103.
110. Brun P, Castagliuolo I, Leo VD, Buda A, Pinzani M, Palù G, et al. Increased intestinal permeability in obese mice: new evidence in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol*. févr 2007;292(2):G518-25.
111. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci*. 28 mai 2013;110(22):9066-71.
112. Rehman A, Sina C, Gavrilova O, Hasler R, Ott S, Baines JF, et al. Nod2 is essential for temporal development of intestinal microbial communities. *Gut*. 1 oct 2011;60(10):1354-62.
113. Denou E, Lolmede K, Garidou L, Pomie C, Chabo C, Lau TC, et al. Defective NOD2 peptidoglycan sensing promotes diet-induced inflammation, dysbiosis, and insulin resistance. *EMBO Mol Med*. 1 mars 2015;7(3):259-74.
114. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. août 2012;488(7410):178-84.
115. Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut*. mars 2016;65(3):426-36.
116. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 26 sept 2012;490(7418):55-60.
117. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. juin 2005;41(6):1313-21.
118. Tripathi A, Debelius J, Brenner DA, Karin M, Loomba R, Schnabl B, et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 1 juill 2018;15(7):397-411.
119. Szabo G. Gut-Liver Axis in Alcoholic Liver Disease. *Gastroenterology*. janv 2015;148(1):30-6.

120. Bieghs V, Trautwein C. Innate immune signaling and gut-liver interactions in non-alcoholic fatty liver disease. *HepatoBiliary Surg Nutr.* 2014;3(6):9.
121. Seki E, Schnabl B. Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut: Toll-like receptors, microbiota and liver fibrosis. *J Physiol.* 1 févr 2012;590(3):447-58.
122. Mathurin P. Exacerbation of Alcoholic Liver Injury by Enteral Endotoxin in Rats. *Hepatology.* nov 2000;32(5):1008-17.
123. Parlesak A, Schäfer C, Schütz T, Bode JC, Bode C. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *J Hepatol.* mai 2000;32(5):742-7.
124. Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease. *Hepatology.* août 2009;50(2):638-44.
125. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, et al. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* juin 2009;49(6):1877-87.
126. Ferrier L, Bérard F, Debrauwer L, Chabo C, Langella P, Buéno L, et al. Impairment of the Intestinal Barrier by Ethanol Involves Enteric Microflora and Mast Cell Activation in Rodents. *Am J Pathol.* avr 2006;168(4):1148-54.
127. Mutlu EA, Gillevet PM, Rangwala H, Sikaroodi M, Naqvi A, Engen PA, et al. Colonic microbiome is altered in alcoholism. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* mai 2012;302(9):G966-78.
128. Llopis M, Cassard AM, Wrzosek L, Bosch L, Bruneau A, Ferrere G, et al. Intestinal microbiota contributes to individual susceptibility to alcoholic liver disease. *Gut.* mai 2016;65(5):830-9.
129. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci.* oct 2012;13(10):701-12.
130. Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol.* nov 2012;10(11):735-42.
131. Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Brain?Gut?Microbe Communication in Health and Disease. *Front Physiol* [Internet]. 2011 [cité 8 août 2018];2. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2011.00094/abstract>
132. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Toth M, et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med.* 19 nov 2014;6(263):263ra158-263ra158.
133. Erny D, Hrabě de Angelis AL, Jaitin D, Wieghofer P, Staszewski O, David E, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci.* juill 2015;18(7):965-77.

134. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, et al. The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotropic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology*. août 2011;141(2):599-609.e3.
135. Heijtz RD, Wang S, Anuar F, Qian Y, Bjorkholm B, Samuelsson A, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci*. 15 févr 2011;108(7):3047-52.
136. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X-N, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice: Commensal microbiota and stress response. *J Physiol*. juill 2004;558(1):263-75.
137. Crumeyrolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, Vancassel S, Cardona A, Daugé V, et al. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*. avr 2014;42:207-17.
138. Nishino R, Mikami K, Takahashi H, Tomonaga S, Furuse M, Hiramoto T, et al. Commensal microbiota modulate murine behaviors in a strictly contamination-free environment confirmed by culture-based methods. *Neurogastroenterol Motil*. juin 2013;25(6):521-e371.
139. Benton D, Williams C, Brown A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr*. mars 2007;61(3):355-61.
140. Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, Javelot H, Desor D, Nejdi A, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr*. mars 2011;105(05):755-64.
141. Steenbergen L, Sellaro R, van Hemert S, Bosch JA, Colzato LS. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain Behav Immun*. août 2015;48:258-64.
142. Krajmalnik-Brown R, Lozupone C, Kang D-W, Adams JB. Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microb Ecol Health Dis* [Internet]. 12 mars 2015 [cité 8 août 2018];26(0). Disponible sur: <http://www.microbecolhealthdis.net/index.php/mehd/article/view/26914>
143. de Theije CGM, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol J, et al. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*. mars 2014;37:197-206.
144. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Cell*. déc 2013;155(7):1451-63.
145. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen M-L, et al. Short-Term Benefit From Oral Vancomycin Treatment of Regressive-Onset Autism. *J Child Neurol*. juill 2000;15(7):429-35.

146. Hill JM, Lukiw WJ. Microbial-generated amyloids and Alzheimer's disease (AD). *Front Aging Neurosci* [Internet]. 10 févr 2015 [cité 8 août 2018];7. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fnagi.2015.00009/abstract>
147. Keshavarzian A, Green SJ, Engen PA, Voigt RM, Naqib A, Forsyth CB, et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease: COLONIC MICROBIOTA IN PARKINSON'S DISEASE. *Mov Disord*. sept 2015;30(10):1351-60.
148. Scheperjans F, Aho V, Pereira PAB, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype: Gut Microbiota in Parkinson's Disease. *Mov Disord*. mars 2015;30(3):350-8.
149. Unger MM, Spiegel J, Dillmann K-U, Grundmann D, Philippeit H, Bürmann J, et al. Short chain fatty acids and gut microbiota differ between patients with Parkinson's disease and age-matched controls. *Parkinsonism Relat Disord*. nov 2016;32:66-72.
150. Lee YK, Menezes JS, Umesaki Y, Mazmanian SK. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci*. 15 mars 2011;108(Supplement_1):4615-22.
151. Ochoa-Reparaz J, Mielcarz DW, Ditrio LE, Burroughs AR, Foureau DM, Haque-Begum S, et al. Role of Gut Commensal Microflora in the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Immunol*. 15 nov 2009;183(10):6041-50.
152. Yokote H, Miyake S, Croxford JL, Oki S, Mizusawa H, Yamamura T. NKT Cell-Dependent Amelioration of a Mouse Model of Multiple Sclerosis by Altering Gut Flora. *Am J Pathol*. déc 2008;173(6):1714-23.
153. Berer K, Mues M, Koutrolos M, Rasbi ZA, Boziki M, Johner C, et al. Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Nature*. nov 2011;479(7374):538-41.
154. Takata K, Tomita T, Okuno T, Kinoshita M, Koda T, Honorat JA, et al. Dietary Yeasts Reduce Inflammation in Central Nerve System via Microflora. *Ann Clin Transl Neurol*. janv 2015;2(1):56-66.
155. Miyake S, Kim S, Suda W, Oshima K, Nakamura M, Matsuoka T, et al. Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *Wilson BA, éditeur. PLOS ONE*. 14 sept 2015;10(9):e0137429.
156. Zhang X, Zhang D, Jia H, Feng Q, Wang D, Liang D, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat Med*. août 2015;21(8):895-905.
157. Schaefferbeke T, Truchetet M-E, Richez C. Gut metagenome and spondyloarthritis. *Joint Bone Spine*. juill 2013;80(4):349-52.
158. Lin P, Bach M, Asquith M, Lee AY, Akileswaran L, Stauffer P, et al. HLA-B27 and Human β 2-Microglobulin Affect the Gut Microbiota of Transgenic Rats. *Bereswill S, éditeur. PLoS ONE*. 20 août 2014;9(8):e105684.

159. Taneja V. Arthritis susceptibility and the gut microbiome. *FEBS Lett.* 17 nov 2014;588(22):4244-9.
160. Yeoh N, Burton JP, Suppiah P, Reid G, Stebbings S. The Role of the Microbiome in Rheumatic Diseases. *Curr Rheumatol Rep* [Internet]. mars 2013 [cité 12 août 2018];15(3). Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s11926-012-0314-y>
161. Scher JU, Abramson SB. Periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis*, and rheumatoid arthritis: what triggers autoimmunity and clinical disease? *Arthritis Res Ther.* 2013;15(5):122.
162. Scher JU, Ubeda C, Equinda M, Khanin R, Buischi Y, Viale A, et al. Periodontal disease and the oral microbiota in new-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* oct 2012;64(10):3083-94.
163. Scher JU, Bretz WA, Abramson SB. Periodontal disease and subgingival microbiota as contributors for rheumatoid arthritis pathogenesis: modifiable risk factors? *Curr Opin Rheumatol.* juill 2014;26(4):424-9.
164. Wolff B, Berger T, Frese C, Max R, Blank N, Lorenz H-M, et al. Oral status in patients with early rheumatoid arthritis: a prospective, case-control study. *Rheumatology.* 1 mars 2014;53(3):526-31.
165. Toivanen P. Normal intestinal microbiota in the aetiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1 sept 2003;62(9):807-11.
166. Liu X, Zou Q, Zeng B, Fang Y, Wei H. Analysis of Fecal *Lactobacillus* Community Structure in Patients with Early Rheumatoid Arthritis. *Curr Microbiol.* août 2013;67(2):170-6.
167. Hatakka K, Martio J, Korpela M, Herranen M, Poussa T, Laasanen T, et al. Effects of probiotic therapy on the activity and activation of mild rheumatoid arthritis--a pilot study. *Scand J Rheumatol.* 2003;32(4):211-5.
168. Alipour B, Homayouni-Rad A, Vaghef-Mehrabany E, Sharif SK, Vaghef-Mehrabany L, Asghari-Jafarabadi M, et al. Effects of *Lactobacillus casei* supplementation on disease activity and inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis patients: a randomized double-blind clinical trial. *Int J Rheum Dis.* mars 2014;n/a-n/a.
169. Stebbings S, Munro K, Simon MA, Tannock G, Highton J, Harmsen H, et al. Comparison of the faecal microflora of patients with ankylosing spondylitis and controls using molecular methods of analysis. *Rheumatol Oxf Engl.* déc 2002;41(12):1395-401.
170. Scher JU, Abramson SB. The microbiome and rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* oct 2011;7(10):569-78.
171. Okada H, Kuhn C, Feillet H, Bach J-F. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update: The 'hygiene hypothesis': an update. *Clin Exp Immunol.* 11 mars 2010;160(1):1-9.

172. Agosti M, Vegni C, Gangi S, Benedetti V, Marini A. Allergic manifestations in very low-birthweight infants: a 6-year follow-up. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl. sept 2003;91(441):44-7.
173. McKeever TM, Lewis SA, Smith C, Collins J, Heatlie H, Frischer M, et al. Early exposure to infections and antibiotics and the incidence of allergic disease: a birth cohort study with the West Midlands General Practice Research Database. *J Allergy Clin Immunol.* janv 2002;109(1):43-50.
174. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut.* avr 2014;63(4):559-66.
175. Kumar H, Lund R, Laiho A, Lundelin K, Ley RE, Isolauri E, et al. Gut Microbiota as an Epigenetic Regulator: Pilot Study Based on Whole-Genome Methylation Analysis. *mBio* [Internet]. 31 déc 2014 [cité 12 août 2018];5(6). Disponible sur: <http://mbio.asm.org/lookup/doi/10.1128/mBio.02113-14>
176. Pégorier J-P, May CL, Girard J. Control of Gene Expression by Fatty Acids. *J Nutr.* 1 sept 2004;134(9):2444S-2449S.
177. Thorburn AN, McKenzie CI, Shen S, Stanley D, Macia L, Mason LJ, et al. Evidence that asthma is a developmental origin disease influenced by maternal diet and bacterial metabolites. *Nat Commun* [Internet]. déc 2015 [cité 12 août 2018];6(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/ncomms8320>
178. Pelucchi C, Chatenoud L, Turati F, Galeone C, Moja L, Bach J-F, et al. Probiotics Supplementation During Pregnancy or Infancy for the Prevention of Atopic Dermatitis: A Meta-analysis. *Epidemiology.* mai 2012;23(3):402-14.
179. Durack J, Kimes NE, Lin DL, Rauch M, McKean M, McCauley K, et al. Delayed gut microbiota development in high-risk for asthma infants is temporarily modifiable by *Lactobacillus* supplementation. *Nat Commun* [Internet]. déc 2018 [cité 25 août 2018];9(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41467-018-03157-4>
180. Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should We Standardize the 1,700-Year-Old Fecal Microbiota Transplantation? *Am J Gastroenterol.* nov 2012;107(11):1755-1755.
181. Sbahi H, Di Palma JA. Faecal microbiota transplantation: applications and limitations in treating gastrointestinal disorders. *BMJ Open Gastroenterol.* mai 2016;3(1):e000087.
182. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. - Abstract - Europe PMC [Internet]. [cité 4 juill 2018]. Disponible sur: <http://europepmc.org/abstract/MED/13592638>
183. Relapsing clostridium difficile enterocolitis cured by rectal infusion of homologous faeces. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 4 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6137662>
184. La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques - Point d'Information - ANSM: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cité 30 juin 2018]. Disponible sur: <http://ansm.sante.fr/S->

185. Chang JY, Antonopoulos DA, Kalra A, Tonelli A, Khalife WT, Schmidt TM, et al. Decreased Diversity of the Fecal Microbiome in Recurrent *Clostridium difficile* –Associated Diarrhea. J Infect Dis. févr 2008;197(3):435-8.
186. Khoruts A, Dicksved J, Jansson JK, Sadowsky MJ. Changes in the Composition of the Human Fecal Microbiome After Bacteriotherapy for Recurrent *Clostridium Difficile*-associated Diarrhea: J Clin Gastroenterol. déc 2009;1.
187. Weingarden AR, Chen C, Bobr A, Yao D, Lu Y, Nelson VM, et al. Microbiota transplantation restores normal fecal bile acid composition in recurrent *Clostridium difficile* infection. Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol. 15 févr 2014;306(4):G310-9.
188. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, McKenney PT, Ling L, Gobourne A, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. Nature. janv 2015;517(7533):205-8.
189. Trang C, Scanzi J, Galperine T, Mosca A, Batista R, Sokol H. Fecal microbiota transplantation for treatment of relapsing *Clostridium difficile* infection: guidelines actualisation for clinical practice. Hépatogastro Oncol Dig. 1 avr 2017;24(4):319-25.
190. Transplantation fécale - POST'U 2018 [Internet]. [cité 12 août 2018]. Disponible sur: http://www.fmcgastro.org/wp-content/uploads/2018/03/019_024_Sokol.pdf
191. Cohen NA, Maharshak N. Novel Indications for Fecal Microbial Transplantation: Update and Review of the Literature. Dig Dis Sci. mai 2017;62(5):1131-45.
192. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review. J Clin Gastroenterol. sept 2014;48(8):693-702.
193. Drekonja D, Reich J, Gezahegn S, Greer N, Shaukat A, MacDonald R, et al. Fecal Microbiota Transplantation for *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review. Ann Intern Med. 5 mai 2015;162(9):630.
194. Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, Laine L, Rubin D, Atreja A, et al. Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. Gastroenterology. juill 2015;149(1):223-37.
195. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, Bibbò S, Dinoi G, Costamagna G, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. Aliment Pharmacol Ther. mai 2015;41(9):835-43.
196. Transplantation fécale - Harry Sokol - JFHOD 2018.pdf [Internet]. [cité 12 sept 2018]. Disponible sur: <http://www.fmcgastro.org/wp-content/uploads/2018/03/2-sokol-2018.pdf>
197. Fischer M, Kao D, Kelly C, Kuchipudi A, Jafri S-M, Blumenkehl M, et al. Fecal Microbiota Transplantation is Safe and Efficacious for Recurrent or Refractory

Clostridium difficile Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease: Inflamm Bowel Dis. oct 2016;22(10):2402-9.

198. Agrawal M, Aroniadis OC, Brandt LJ, Kelly C, Freeman S, Surawicz C, et al. The Long-term Efficacy and Safety of Fecal Microbiota Transplant for Recurrent, Severe, and Complicated Clostridium difficile Infection in 146 Elderly Individuals: J Clin Gastroenterol. août 2015;1.

199. Angelberger S, Reinisch W, Makristathis A, Lichtenberger C, Dejaco C, Papay P, et al. Temporal Bacterial Community Dynamics Vary Among Ulcerative Colitis Patients After Fecal Microbiota Transplantation. Am J Gastroenterol. oct 2013;108(10):1620-30.

200. Kump PK, Gröchenig H-P, Lackner S, Trajanoski S, Reicht G, Hoffmann KM, et al. Alteration of Intestinal Dysbiosis by Fecal Microbiota Transplantation Does not Induce Remission in Patients with Chronic Active Ulcerative Colitis: Inflamm Bowel Dis. sept 2013;19(10):2155-65.

201. Vermeire S, Joossens M, Verbeke K, Hildebrand F, Machiels K, Van den Broeck K, et al. Sa1922 Pilot Study on the Safety and Efficacy of Faecal Microbiota Transplantation in Refractory Crohn's Disease. Gastroenterology. mai 2012;142(5):S-360.

202. Schwartz S, Vergoulidou M, Schreier E, Loddenkemper C, Reinwald M, Schmidt-Hieber M, et al. Norovirus gastroenteritis causes severe and lethal complications after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. Blood. 2 juin 2011;117(22):5850-6.

203. Kelly CR, Ihunnah C, Fischer M, Khoruts A, Surawicz C, Afzali A, et al. Fecal Microbiota Transplant for Treatment of Clostridium difficile Infection in Immunocompromised Patients. Am J Gastroenterol. juill 2014;109(7):1065-71.

204.

Recommandations relatives au traitement des infections récidivantes_Nouvelle _version_VF_2014-11-27.pdf [Internet]. [cité 27 juin 2018]. Disponible sur: http://www.omedit-idf.fr/wp-content/uploads/2015/07/Recommandations_relatives_au_traitement_des_infections_récidivantes_Nouvelle_version_VF_2014-11-27.pdf

205. MARTEL B, LINDENBERG F, ISNARD C, VIENNOT S, GOUARIN S, CHAILLOT F, et al. TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FECAL : QUELS CONSENTEMENTS ECRITS POUR LE DONNEUR ET LE RECEVEUR.

206. Guide de prise en charge financière des donneurs vivants d'éléments du corps humain - Agence de biomédecine [Internet]. [cité 16 août 2018]. Disponible sur: https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/tarification_dons_vivant.pdf


207. 48. Cammarota G, Ianiro G. Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of Clostridium difficile Infection: A Systematic Review. Rev J Clin Gastroenterol. 48 2014;

208. Savey A, Auvergne-Rhône-Alpes Cp. Infections récidivantes à Clostridium difficile : transplantation fécale efficace à 90%. 2017;2.

209. Galpérine T, Sokol H, Guery B. Fecal Microbiota Transplantation: Do We Need Harmonization? *Clin Infect Dis.* 1 mai 2017;64(9):1292-1292.
210. van Nood E, Speelman P, Nieuwdorp M, Keller J. Fecal microbiota transplantation: facts and controversies. *Curr Opin Gastroenterol.* janv 2014;30(1):34-9.
211. Youngster I, Sauk J, Pindar C, Wilson RG, Kaplan JL, Smith MB, et al. Fecal Microbiota Transplant for Relapsing *Clostridium difficile* Infection Using a Frozen Inoculum From Unrelated Donors: A Randomized, Open-Label, Controlled Pilot Study. *Clin Infect Dis.* 1 juin 2014;58(11):1515-22.
212. Kao D, Roach B, Silva M, Beck P, Rioux K, Kaplan GG, et al. Effect of Oral Capsule- vs Colonoscopy-Delivered Fecal Microbiota Transplantation on Recurrent *Clostridium difficile* Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 28 nov 2017;318(20):1985.
213. Staley C, Hamilton MJ, Vaughn BP, Graiziger CT, Newman KM, Kabage AJ, et al. Successful Resolution of Recurrent *Clostridium difficile* Infection using Freeze-Dried, Encapsulated Fecal Microbiota; Pragmatic Cohort Study. *Am J Gastroenterol.* juin 2017;112(6):940-7.

ANNEXES

Annexe 1 :

	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	Phar-SE-077
	TMF : CONSENTEMENT ECLAIRE DU DONNEUR	Version 01 du 01/07/2016
		page 1/3
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE/Pharmacie		

Consentement du donneur à la conservation des prélèvements biologiques (sang, selles) à visée de recherche clinique non interventionnelle
(Conservation dans la collection d'échantillons biologiques humains)

Dans le cadre de votre prise en charge au sein de notre établissement, des prélèvements de sang et de selles vont être effectués.

Dans le cas où des prélèvements n'auraient pas été utilisés en totalité, nous conservons les échantillons restants au sein d'une échantillothèque située au laboratoire du CHU de Caen conformément à la réglementation en vigueur.

Ces échantillons de prélèvements pourront, sauf opposition de votre part, être utilisés à des fins de recherche médicale ou scientifique.

Afin de respecter la plus stricte confidentialité, dans le cadre des prélèvements utilisés à des fins de recherche, l'ensemble des données vous concernant seront systématiquement anonymisées.

Merci de nous indiquer votre décision en complétant et signant ce document qui sera joint à votre dossier médical.

Je soussigné :

Le donneur: Mme Mlle M

NOM de famille : _____ Prénom : _____

Né(e) le : _____ à (lieu de naissance) _____

Déclare

- Avoir été informé et avoir compris le but et les modalités du recueil d'échantillons biologiques disponibles au décours de ma prise en charge, ainsi que des données associées anonymisées me concernant, afin qu'ils soient conservés et utilisés par le laboratoire de biologie du CHU de Caen à des fins de recherche scientifique ou médicale, qui m'ont été expliqués par le Dr _____

- Avoir compris que je suis libre de m'opposer à faire don de mes échantillons biologiques, et que ma décision n'aura aucun effet sur la suite du don auquel j'ai entrepris de participer.

Je consens à faire don de mes échantillons biologiques disponibles, et je ne m'oppose pas à ce qu'ils soient conservés avec les données associées anonymisées à des fins de recherche scientifiques.

Je ne consens pas à faire don de mes échantillons.

Je souhaite que mes échantillons ainsi donnés puissent faire l'objet d'une exploitation plus large. A cette fin :

Je ne m'oppose pas à ce que mes échantillons biologiques, ainsi que l'ensemble des données associées anonymisées soient cédés, dans le respect de la réglementation, à une ou des équipes de recherche en France ou à l'étranger
(cocher la/les case(s) correspondant à votre choix)

	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	Phar-SE-077
	TMF : CONSENTEMENT ECLAIRE DU DONNEUR	Version 01 du 01/07/2016
		page 2/3
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE/Pharmacie		

Je suis libre de revenir sur toute ou une partie de ma décision à tout moment, en le signifiant au secrétariat du laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire de Caen.

Date :

Signature du donneur

Cachet et Signature du médecin

« Les données médicales associées au prélèvement seront réunies sur un fichier informatisé permettant leur traitement automatisé dans le cadre des recherches. Vous disposez à leur égard d'un droit d'accès, de rectification et d'opposition » (loi « informatique, fichiers et libertés » du 6 janvier 1978).

« Ce prélèvement ne pourra pas être cédé à titre commercial ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice (art. 16-1 et 16-6 du code civil). Il pourra être utilisé pour des recherches effectuées en partenariat avec un ou plusieurs organismes publics ou privés ».

Consentement du donneur à l'utilisation du microbiote fécal à visée thérapeutique (transplantation vers un receveur) ainsi qu'à la participation à la recherche biomédicale de produits de santé, contribuant à la recherche clinique interventionnelle

Je soussigné (e)

- Autorise les services compétents du Centre Hospitalier Universitaire de Caen à utiliser mon microbiote fécal dans le cadre de la transplantation de celui-ci chez un receveur, dans un but thérapeutique.
- Accepte de participer à une étude, dont les objectifs et les modalités me seront clairement expliqués lorsqu'elle aura lieu.

J'accepte ainsi que les documents de mon dossier médical qui se rapportent à l'étude puissent être accessibles aux responsables de l'étude et éventuellement aux autorités de santé. A l'exception de ces personnes, qui traiteront les informations dans le plus strict respect du secret médical, mon anonymat sera préservé.

J'accepte que les données nominatives me concernant recueillies à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement automatisé par les organisateurs de la recherche. Je pourrai exercer mon droit d'accès et de rectification auprès du Dr :

J'ai bien compris que ma participation à une étude future est volontaire.

Je suis libre d'accepter ou de refuser de participer, et je suis libre d'arrêter à tout moment ma participation en cours d'étude.

Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de cette étude de leurs responsabilités. Je conserve tous mes droits garantis par la loi.

Après en avoir discuté et avoir obtenu la réponse à toutes mes questions, j'accepte librement et volontairement de participer à la recherche qui me sera proposée.

Après le don, un échantillon de vos selles sera congelé et conservé dans les locaux du Centre Hospitalier Universitaire de Caen pour une durée indéterminée, temps permettant de satisfaire des études complémentaires épidémiologiques ainsi que sur le microbiote lui-même.

Les équipes médicales du Centre Hospitalier Universitaire de Caen associées à cette pratique seront informées du don et des résultats par informatique.

Il est important de nous signaler tout événement médical notable susceptible de survenir après le don.

	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	Phar-SE-077
	TMF : CONSENTEMENT ECLAIRE DU DONNEUR	Version 01 du 01/07/2016
		page 3/3
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE/Pharmacie		

Si vous avez des questions, n'hésitez pas à contacter le médecin qui vous a examiné.

Dans le cadre de cette procédure, une analyse des données recueillies sera réalisée. Un traitement informatique des données nominatives sera effectué en conformité avec les dispositions de la loi 78-17 "Informatique et Liberté" du 06 janvier 1978 modifiée par la loi 2004-801 du 06 aout 2004. Conformément aux dispositions de cette loi, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette étude et d'être traitées. Vous pouvez également accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L. 1111-7 du Code de la sante' publique. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous suit dans le cadre de la recherche et qui connaît votre identité.

Signature du donneur :

A le

Signature du médecin :

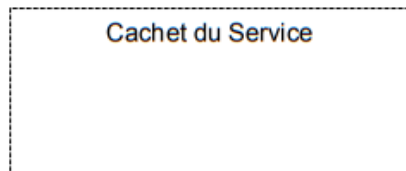
Je soussigné, Docteur reconnais avoir expliqué à M. l'utilisation du don de microbiote fécal à laquelle nous envisageons de procéder et le donneur m'a indiqué qu'il avait compris l'ensemble des informations que je lui avais communiquées.

A. le

CYCLE DE VALIDATION		
Rédaction	Vérification	Approbation
<i>Nom(s), Fonction(s), Date(s), Visa(s):</i> <Camille CASTEL> <Interne - CHU\POLE BIOLOGIE - PHARMACIE> <30/06/2016 00:31:54>	<i>Nom(s), Fonction(s), Date(s), Visa(s):</i> <Guillaume SAINT LORANT, Stephanie VIENNOT> <Pharmacien - CHU\POLE BIOLOGIE - PHARMACIE, Médecin - CHU\POLE MEDECINE D'ORGANES ET CANCEROLOGIE/Hépatogastro-entérologie-nutrition> <30/06/2016 00:35:21, 30/06/2016 14:40:34>	<i>Nom(s), Fonction(s), Date(s), Visa(s):</i> <Brigitte COURTOIS (by Marie LEGLAIVE)> <Directeur - CHU\DIRECTION QUALITE ET DROITS DES PATIENTS> <30/06/2016 15:15:45>

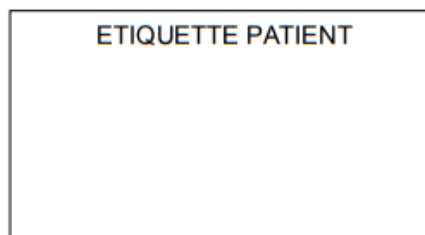
Annexe 2 :

CHUCaen	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	Phar-SE-075
	TMF : ORDONNANCE SCREENING	Version 01 du 04/07/2016
		page 1/2
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE\Pharmacie		



CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE CAEN

ORDONNANCE



Prélèvements en vue du screening biologique TMF

- **7 tubes secs, bouchon JAUNE :**
 - o Créatinine pl., CRP, bilan hépatique (ASAT, ALAT, PAL, GGT, bilirubine)
 - o Sérologie Syphilis
 - o Sérologies virales (VIH, HTLV, HAV, HBV, HCV, HEV, CMV, EBV)
 - o Sérologies parasitaires (Anguillulose, amibiase, trichinose, toxoplasmose)
- **5 tubes EDTA, bouchon VIOLET :**
 - o NFS
 - o Sérologies virales (VIH, HTLV, HAV, HBV, HCV, HEV, CMV, EBV)
- **1 tube fluoré, bouchon GRIS :** Glycémie à jeun
- **1 tube citraté, bouchon BLEU :** INR, TP/TCA


- Selles (don), sceau blanc avec couvercle.
(1 pot virologie, 1 pot bactériologie, 2 pots remplis parasitologie)

HEURE D'EMISSION DES SELLES : _____

- Joindre une planche complète d'étiquettes patient

Prévenir l'interne en pharmacie sans délai pour prise en charge des prélèvements : poste 68.04

Annexe 3 :

	FICHE TECHNIQUE	Phar-FT-062
	TMF : DEPOTS DES PRELEVEMENTS DU DONNEUR SAIN	Version 01 du 01/07/2016
		page 1/2
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE\Pharmacie		

1) OBJET

Description du dépôt des prélèvements biologiques issus du patient donneur, nécessaires à la réalisation d'une TMF.

2) MATERIEL

A la réception des échantillons, vérifier la présence de :

- 7 tubes secs, bouchon JAUNE
- 5 tubes EDTA, bouchon VIOLET
- 1 tube fluoré, bouchon GRIS
- 1 tube citraté, bouchon BLEU
- 4 Etiquettes patient
- 4 Pots transparents à bouchon rouge
- 4 Photocopies de l'ordonnance patiente + originale
- 4 Sacs biohazard blancs pour le transport des échantillons
- 4 Feuilles vierge de prescription d'examen biologiques
 - o Microbiologie (Vert) + Biochimie (Bleu) + Virologie (Noir) + Hématologie (Rose)


3) PROCEDURE

- Prélever environ 5g de selles (1 noisette) et le déposer dans un pot transparent à bouchon rouge. Répéter l'opération pour un second pot.
- Prélever environ 15g de selles (3 noisettes) et le déposer dans un pot transparent à bouchon rouge. Répéter l'opération pour un second pot.
- Identifier 1 sac biohazard blanc pour chaque laboratoire comme ceci :
 - o « Laboratoire de (Mettre le laboratoire) / Protocole TMF »
- Remplir les sacs biohazard comme ceci:

Microbiologie	Virologie	Biochimie	Hématologie
2 Pots transparents 15g 1 Pot transparent 5g 2 Tubes Orange	1 Pot transparent 5g 4 Tubes Violet 1 Tube Orange	1 Tube Gris 1 Tube Jaune	1 Tube Bleu 1 Tube Violet
Y associer une photocopie de l'ordonnance agrafée au bon de laboratoire correspondant Sur chaque bon, il faut indiquer dans les cases correspondantes en haut à gauche : <ul style="list-style-type: none">- Identité patient (Etiquette patient)- UF pharmacie 0600			

- Déposer les sacs blancs biohazard au bureau des réceptions de chaque laboratoire en prévenant les agents d'accueil.
Les prélèvements de Virologie sont à déposer au laboratoire de Microbiologie dans une glacière bleue.
- Signer pour chaque dépôt le registre de chaque laboratoire.
- Signaler au labo de biochimie et par un mail à Frédérique Grandhomme et Sabine Fradin le dépôt d'un prélèvement pour une TMF.

Annexe 4 :

	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	Phar-SE-076
	TMF : CONSENTEMENT ECLAIRE DU RECEVEUR	Version 01 du 01/07/2016
		page 1/3
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE\Pharmacie		

Consentement éclairé pour être receveur d'une transplantation de microbiote fécal

(Annexe 1)

Je soussigné (e)

Après que mes médecins m'aient expliqué que je souffre d'une pathologie dont les traitements de références actuels ne sont plus efficaces.

Autorise les services compétents du Centre Hospitalier Universitaire de Caen à effectuer sur ma personne une **transplantation de microbiote fécal (TMF)**, c'est-à-dire l'administration d'une préparation pharmaceutique à base de selles.

Je comprends :

1. que tout retard à cette transplantation de microbiote fécal est de nature à compromettre mes chances de guérison.
2. qu'aucun praticien ne procédera à des soins qu'il considérerait comme outrepassant ses capacités et ses compétences.
3. que cette transplantation de microbiote fécal consiste à m'administrer une préparation au moyen d'un lavement par voie rectale, d'une coloscopie ou d'une sonde naso-duodénale.
4. que les médecins ne peuvent pas garantir la réussite absolue de cette tentative de traitement, mais je sais qu'en cas d'échec d'autres tentatives thérapeutiques peuvent être effectuées, soit au moyen d'une autre transplantation de microbiote fécal, soit au moyen des traitements conventionnels.
5. qu'il me sera demandé de revenir en consultation dans le centre hospitalier Universitaire de Caen afin de vérifier à des temps réguliers que mon état de santé s'est amélioré ou qu'il ne s'est pas amélioré.

Le donneur

On m'a informé :

- que ce donneur n'est pas porteur des signes cliniques et biologiques contre-indiquant le don au moment du don des selles
- que cette préparation est constituée de selles sur lesquelles sont pratiquées des analyses biologiques permettant d'éliminer le risque de transmission :

- des virus entériques (rotavirus et norovirus). Une analyse sanguine permettra d'éliminer le risque de transmission des virus VIH1, VIH2, HTLV1, HTLV2, Hépatite A, Hépatite B, Hépatite C, Hépatite E, CMV
- des bactéries suivantes : Treponema pallidum, Clostridium difficile, Bactéries entéropathogènes, en particulier Shigella, Campylobacter, Yersinia, Salmonella
- des parasites suivants : Strongyloïdes stercoralis, Entamoeba histolytica, Cyclospora, Isospora, Cryptosporidium, microsporidies, Giardia intestinalis.

Je connais le donneur des selles qui feront l'objet de cette préparation et j'approuve ce choix

Je ne connais pas le donneur de selles, mais je consens à ce que cette TMF soit effectuée avec un donneur anonyme dès lors que toutes les précautions à l'égard du risque de transmission de maladies infectieuses ont été prises.

	SUPPORT D'ENREGISTREMENT	Phar-SE-076
	TMF : CONSENTEMENT ECLAIRE DU RECEVEUR	Version 01 du 01/07/2016
		page 2/3
Entité émettrice : POLE BIOLOGIE - PHARMACIE\Pharmacie		

Risques liés à la technique

Cette procédure de transplantation de microbiote fécal est réalisée au plan international depuis plusieurs années et, si actuellement elle est considérée comme incapable de transmettre certaines maladies, ce risque ne peut être totalement exclu, qu'il s'agisse d'une maladie infectieuse ou d'une autre maladie.

En ce sens, si les données scientifiques entourant les TMF, sont, dans l'état actuel de nos connaissances, parfaitement rassurantes, il n'est pas possible d'exclure un risque de complication infectieuse ou immunitaire.

En signant le présent document ci-dessous, je certifie être majeur et avoir compris le projet thérapeutique de transplantation de microbiote fécal et je consens à ce qu'il soit effectué sur ma personne.

Je reconnais qu'il m'a été possible de poser toutes les questions sur ce sujet.

Dans le cadre de cette procédure, une analyse des données recueillies sera réalisée. Un traitement informatique des données nominatives sera effectué en conformité avec les dispositions de la loi 78-17 "Informatique et Liberté" du 06 janvier 1978 modifiée par la loi 2004-801 du 06 août 2004. Conformément aux dispositions de cette loi, vous disposez d'un droit d'accès et de rectification. Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette étude et d'être traitées. Vous pouvez également accéder directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L. 1111-7 du Code de la santé publique. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous suit dans le cadre de la recherche et qui connaît votre identité.

Signature du patient :

A. le

Signature du médecin :

Je soussigné, Docteur
reconnais avoir expliqué à M. l'organisation du traitement qui lui était proposé et en particulier la TMF à laquelle nous envisageons de procéder. J'en ai expliqué les risques potentiels, les complications éventuelles y compris en cas d'absence de traitement et le patient m'a indiqué qu'il avait compris l'ensemble des informations que je lui avais communiquées.

Signature

A. le

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

TITRE

MISE EN PLACE D'UNE ACTIVITÉ DE TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL DANS UN CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE ET SUIVI DES PATIENTS TRAITÉS

Résumé

Le microbiote intestinal correspond à l'ensemble des micro-organismes qui peuple le tractus digestif et est en étroite relation avec les cellules de notre organisme et les aliments que nous ingérons. De nombreuses fonctions lui sont attribuées et son déséquilibre, dénommé dysbiose, est observé lors d'états pathologiques divers, tels que notamment des pathologies infectieuses, digestives et métaboliques. Le principe de la transplantation de microbiote fécal (TMF), qui possède le statut de médicament en France, consiste à remplacer la flore déséquilibrée d'un sujet malade par une flore qualifiée de saine d'un donneur de selles volontaire. Actuellement, la seule indication validée de la TMF est l'infection digestive récidivante à *Clostridium difficile*, mais de nombreuses études démontrent son intérêt dans d'autres pathologies. Ce travail vise à décrire la mise en place de l'activité de TMF au CHU de Caen et la cohorte de patients traités. Parmi les actions d'amélioration dégagées par le Groupe Français de Transplantation Fécale, le choix de congeler le transplant a permis d'alléger les contraintes logistiques liées à son circuit. La rédaction de consentements adaptés au donneur et au receveur de TMF a également été élaborée. Ce travail a fait aussi l'objet d'un complément de l'enquête menée par le GFTF en 2017, auprès des CHU réalisant la TMF. Elle révèle notamment une certaine hétérogénéité des pratiques : lieu d'émission du don, lieu de préparation, mode de traitement par exemple. Cela pourrait engendrer des différences de qualité et de sécurité du transplant. Compte tenu de l'hétérogénéité observée lors de l'enquête, le projet COSMIC, piloté par le GFTF vise à harmoniser et sécuriser la TMF.

TITLE

IMPLEMENTATION OF A FECAL MICROBIOTA TRANSPLANTATION ACTIVITY IN A UNIVERSITY HOSPITAL AND FOLLOW-UP OF TREATED PATIENTS

Summary

The gut microbiota represent all the microorganisms that inhabit the intestinal tract, and it is connected with human cells and the food we eat. Many functions are attributed to it and its imbalance, named dysbiosis, is observed in various diseased conditions, such as particular infectious, digestive and metabolic diseases. The principle of Fecal Microbiota Transplantation (FMT) consists in directly change the recipient's gut microbial by the administration of a solution of fecal matter from a voluntary donor. Currently, FMT is only recommended for recurrent *Clostridium difficile* infection, but many studies show its interest on other diseases. This report aim at describe the implementation of FMT at the Caen University Hospital Center (UHC) and cohort of treated patients. Among the improvement actions identified by le Groupe Français de Transplantation Fécale (GFTF), the choice to deep-freeze the transplant has eased the logistical constraints of its circuit. The drafting of suitable consents for the donor and recipient of FMT have also been developed. This work was also the subject of a survey conducted among the UHCs performing FMT. It reveals a certain heterogeneity of practices: place of emission of the donation, place of preparation, the processing method. This could lead to differences in the quality and safety of the transplant. Given the heterogeneity observed during the survey, The COSMIC project, led by GFTF under the aegis of the National Academy of Pharmacy, aims to harmonize and secure FMT.

Mots-clés Médicament, Transplantation de microbiote fécal, Infection à *Clostridium difficile*, Transfert de flore

Batiste MARTEL

CHU de Caen – Avenue de la Côte de Nacre – 14033 Caen