



**HAL**  
open science

# La transplantation de microbiote fécal : état des connaissances et pratiques

Maxime Lassiaz

► **To cite this version:**

Maxime Lassiaz. La transplantation de microbiote fécal : état des connaissances et pratiques. Sciences pharmaceutiques. 2023. dumas-04266552

**HAL Id: dumas-04266552**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04266552v1>**

Submitted on 31 Oct 2023

**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.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

Année : 2023

**LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL :  
ÉTAT DES CONNAISSANCES ET PRATIQUES**

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
SPÉCIALITÉ : PHARMACIE HOSPITALIÈRE GÉNÉRALE

SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Le 20/10/2023

Par M. Maxime LASSIAZ

*[Données à caractère personnel]*

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury :

M. le Pr Michel SÈVE

Membres :

M. le Dr Julien LEENHARDT (directeur de thèse)

M. le Dr Mathieu WASIAK

M. le Dr Yvan CASPAR

*L'UFR de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

## ENSEIGNANTS - CHERCHEURS Année 2023 / 2024

Doyen de la Faculté - Pr Michel SÈVE  
Vice-Doyen Pédagogie - Dr Pierre CAVAILLÈS  
Vice-Doyen Recherche – Pr Walid RACHIDI

STATUT	NOM	PRÉNOM	LABORATOIRE	HDR
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx	Oui
PU-PH	ALLENET	BENOÎT	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS	Oui
AHU	AMEN	AXELLE		
Professeur Emérite	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCF	BARDET	JEAN-DIDIER	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS	
MCF	BATANDIER	CÉCILE	GIN-U1216 INSERM	
PU-PH	BEDOUCH	PIERRICK	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheMAS	Oui
MAST	BELLET	BÉATRICE	-	
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM - UMR 5063 CNRS	
PU	BOUMENDJEL	AHCÈNE	LRB -INSERM U 1039	Oui
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA	Oui
MCF	BRIANÇON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042	Oui
PU	BURMEISTER	WILHEM	UVHCI- UMI 3265 EMBL CNRS	Oui
PU-PH	BUSSER	BENOÎT	IAB-UMR 5309 CNRS- INSERM U1209	Oui
Professeur Emérite	CALOP	JEAN		
MCF	CAVAILLÈS	PIERRE	IAB-UMR 5309 CNRS- INSERM U1209	
MCU-PH	CHANOINE	SÉBASTIEN	CR UGA - INSERM U1209 - CNRS 5309	
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCU-PH	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS	
MAST	COMBE	JÉRÔME	-	
PU-PH	CORNET	MURIEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx	Oui
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-	
Professeur Emérite	DECOUT	JEAN-LUC	DPM – UMR 5063 CNRS	
MCF Emérite	DELÉTRAZ-DELPORTE	MARTINE	LPSS – EAM 4129 LYON	
PR	DEMEILLIERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
ATER	DETRAIT	MAXIMIN		
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI EA7408	Oui
PU	DROUET	EMMANUEL	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	Oui
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	Oui

STATUT	NOM	PRÉNOM	LABORATOIRE	HDR
CDD	DURVILLE	SABINE		
PU-PH	FAURE	PATRICE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2 – INSERM U1042	Oui
PRCE	FITE	ANDRÉE	-	
MCU-PH	GARNAUD	CÉCILE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	
PRAG	GAUCHARD	PIERRE-ALEXIS	-	
PU-PH	GERMI	RAPHAËLE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale	Oui
MCF	GÈZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF Émérite	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	GONINDARD	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553	Oui
MCF	GRENIE	MATTHIAS	LECA – UMR CNRS 5553	
Professeure Émérite	GRILLOT	RENÉE	-	
MCF	GUIEU	VALÉRIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCU-PH	HENNEBIQUE	AURÉLIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	
MCF	HININGER-FAVIER	ISABELLE	LBFA – INSERM U1055	Oui
AHU	IHL	CORDELIA		
MCF	KHALEF	NAWEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	
MCF	KOTZKI	SYLVAIN	HP2 – UMR 51042	
MCF	KRIVOBOK	SERGE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PHU	LEENHARDT	JULIEN	INSERM – U1039	
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	Oui
AHU	LEO	CAROLINE		
MAST	LOGEROT	SOPHIE		
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-	
MCU-PH	MINOVÉS	MÉLANIE	HP2 – INSERM U1042	
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	LBFA - INSERM U1055	Oui
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	IAB – INSERM U1209	Oui
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR 5553 CNRS	Oui
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
AHU	PERRIER	QUENTIN		
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui

STATUT	NOM	PRÉNOM	LABORATOIRE	HDR
ATER	PEYRONNEL	CÉLIAN		
PU	RACHIDI	WALID	BGE/BIOMICS/ CEA	Oui
PU	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042	Oui
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	-	Oui
PU-PH	SÈVE	MICHEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	
AHU	TRUFFOT	AURÉLIE		
MCF	VANHAVERBEKE	CÉCILE	DPM – UMR 5063 CNRS	
AHU	VITALE	ELISA		
MCF	WARTHER	DAVID	DPM – UMR 5063 CNRS	
Professeur Emérite	WOUESSIDJEWÉ	DENIS	DPM – UMR 5063 CNRS	

**AHU** : Assistant Hospitalo-Universitaire

**ATER** : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches

**BCI** : Biologie du Cancer et de l'Infection

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CIB** : Centre d'Innovation en Biologie

**CRI** : Centre de Recherche INSERM

**CNRS** : Centre National de Recherche Scientifique

**DCE** : Doctorants Contractuels Enseignement

**DPM** : Département de Pharmacochimie Moléculaire

**HP2** : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire

**IAB** : Institute for Advanced Biosciences

**IBS** : Institut de Biologie Structurale

**LAPM** : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes

**LBFA** : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

**LCBM** : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux

**LCIB** : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie

**LECA** : Laboratoire d'Ecologie Alpine

**LPSS** : Laboratoire Parcours Santé Systémique

**LR** : Laboratoire des Radio pharmaceutiques

**MAST** : Maître de Conférences Associé à Temps Partiel

**MCF** : Maître de Conférences des Universités

**MCU-PH** : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers

**PAST** : Professeur Associé à Temps Partiel

**PRAG** : Professeur Agrégé

**PRCE** : Professeur certifié affecté dans l'enseignement

**PU** : Professeur des Universités

**PU-PH** : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers

**SyMMES** : Systèmes Moléculaires et nanoMatériaux pour l'Energie et la Santé

**TIMC-IMAG** : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation

**UMR** : Unité Mixte de Recherche

**UVHCI** : Unit of Virus Host Cell Interactions

## REMERCIEMENTS

**Aux membres du jury,**

**À Monsieur le Professeur Michel Sève,** de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.

**À Monsieur le Docteur Julien Leenhardt, mon directeur de thèse,** merci d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail. Merci pour ta bienveillance, tes conseils et ta disponibilité. J'ai énormément apprécié travailler à tes côtés lors de mon semestre en médecine nucléaire.

**À Monsieur le Docteur Mathieu Wasiak,** je vous remercie de me faire l'honneur de participer au jury de cette thèse et de commenter ce travail.

**À Monsieur le Docteur Yvan Caspar,** je vous remercie de me faire l'honneur de participer au jury de cette thèse.

**À ma famille, mes amis et collègues,**

**À mon père et ma sœur** qui m'ont toujours accompagné au cours de ces longues années d'études supérieures. Merci pour votre présence, votre soutien et votre expérience. Vous avez été une source d'inspiration pour moi.

**À Emilie**, qui partage ma vie. Merci pour ton soutien tout au long de ce parcours (merci aussi de me supporter au quotidien !).

**À Pierre et Jordan**, merci d'être toujours là malgré le temps qui passe et les différents chemins que nous avons pris.

**Aux collègues et surtout amis de Paris sud désormais Paris Saclay.** Une pensée particulière à Jimmy ainsi qu'à Valentin. A nos grands moments en TP et nos nombreuses discussions sans fins dans le RER B sur les trajets interminables de la fac. A l'amphi 2 et ses sièges délabrés de cette bonne vieille fac de Châtenay qui a fermé ses portes. Je pense aussi à Estelle, Chloé, Anne-Elisabeth, Alexandre et Claire.

**Aux pompiers de Basse Tarentaise**, ma seconde famille, avec qui je grandis depuis presque 10 ans. Merci pour tous ces moments mémorables en interventions, formation, à la caserne ou ailleurs.

**Aux pharmaciens** avec qui j'ai eu le plaisir de travailler sur mes différents semestres. Une pensée particulière pour Camille, Anne, Élise, Clémentine, Hélène, Arnaud, Aude, Isabelle, Pierre, Marie-Do et Julien.



**Aux internes de Grenoble**, à nos différentes teams du midi qui se sont succédées. Merci à Jérémie, Thomas, Romane, Fiona, Hugo, Agathe, Juliette, Lucas, Reuben, Raphaël, Florian, Renan, Rita, Camille, Estelle et Hocine.

**Aux équipes préparateurs** de Chambéry, puis Grenoble avec qui j'ai énormément apprécié travailler au fil des semestres.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>TABLE DES TABLEAUX</b> .....	<b>10</b>
<b>TABLE DES FIGURES</b> .....	<b>11</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>13</b>
<b>TABLE DES ABREVIATIONS</b> .....	<b>14</b>
<b>1. Introduction : le microbiote intestinal</b> .....	<b>16</b>
<b>1.1. Définition</b> .....	<b>16</b>
<b>1.2. Composition</b> .....	<b>17</b>
<b>1.3. Rôle physiologique</b> .....	<b>19</b>
1.3.1. Rôle métabolique .....	20
1.3.2. Métabolisme des xénobiotiques.....	23
1.3.3. Rôle protecteur.....	25
1.3.4. Rôle immunitaire .....	26
1.3.5. L'axe microbiote-intestin-cerveau.....	26
<b>1.4. Notion de dysbiose et pathologies impliquées</b> .....	<b>27</b>
<b>2. La Transplantation de Microbiote Fécal (TMF) : un moyen efficace de traiter la dysbiose</b> .....	<b>32</b>
<b>2.1. Généralités</b> .....	<b>32</b>
2.1.1. Principe .....	32
2.1.2. Histoire de la transplantation fécale .....	33
2.1.3. Les effets indésirables.....	34
<b>2.2. Statut réglementaire</b> .....	<b>35</b>
<b>2.3. Les indications</b> .....	<b>38</b>
2.3.1. Validées dans le soin courant .....	38
2.3.2. Compassionnelles .....	40
2.3.3. Recherche .....	40
<b>2.4. Le don de selles</b> .....	<b>43</b>
2.4.1. Donneurs de selles .....	43
2.4.2. Le screening du donneur : les recommandations.....	43
2.4.3. Des « super donneurs ».....	50

<b>2.5.</b>	<b>La préparation .....</b>	<b>52</b>
2.5.1.	Principe .....	52
2.5.2.	Formulation.....	53
2.5.3.	Traçabilité & contrôle.....	55
<b>2.6.</b>	<b>Protocole thérapeutique et voies d'administrations.....</b>	<b>56</b>
2.6.1.	Protocole .....	56
2.6.2.	Voies d'administration actuelles.....	57
2.6.3.	Voie d'administration en développement.....	59
<b>3.</b>	<b><i>Une pratique hétérogène en France.....</i></b>	<b>61</b>
<b>3.1.</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>61</b>
<b>3.2.</b>	<b>Matériel et méthode.....</b>	<b>61</b>
<b>3.3.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>62</b>
<b>3.4.</b>	<b>Discussion .....</b>	<b>67</b>
<b>4.</b>	<b><i>La TMF en pratique au CHU de Grenoble.....</i></b>	<b>72</b>
<b>4.1.</b>	<b>Organisation.....</b>	<b>72</b>
4.1.1.	Recrutement de donneurs .....	72
4.1.2.	La préparation au CHU de Grenoble.....	73
<b>4.2.</b>	<b>Retour sur la cohorte grenobloise .....</b>	<b>75</b>
4.2.1.	Types de patients et leurs caractéristiques.....	75
4.2.2.	Efficacité et tolérance .....	77
<b>4.3.</b>	<b>Gélules de TMF lyophilisées, faisabilité de la préparation.....</b>	<b>79</b>
4.3.1.	Protocole .....	79
4.3.2.	Matériel & coût.....	83
4.3.3.	Stabilité.....	83
<b>5.</b>	<b><i>Vers une industrialisation de la TMF.....</i></b>	<b>85</b>
<b>5.1.</b>	<b>Le « scale up » appliqué à la TMF .....</b>	<b>85</b>
<b>5.2.</b>	<b>Aspect réglementaire de ces nouveaux produits.....</b>	<b>87</b>
<b>6.</b>	<b><i>Conclusion.....</i></b>	<b>89</b>
<b>7.</b>	<b><i>Bibliographie.....</i></b>	<b>92</b>

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Information sur les centres sollicités et indications de la TMF .....	62
Tableau 2 : Voies d'administrations utilisées pour la TMF .....	63
Tableau 3 : Résultats du questionnaire relatif aux donneurs de selles.....	64
Tableau 4 : Nombre de TMF par an en fonction du nombre de centre.....	67
Tableau 5 : Cohorte de patients grenoblois.....	77
Tableau 6 : Voie d'administration et résultats de la procédure .....	78
Tableau 7 : Résumé des articles détaillant un protocole pour réaliser des gélules lyophilisées de TMF .....	81
Tableau 8 : Médicaments dérivés de la TMF sur le marché américain en avril 2023 .....	86

## TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Facteurs influençant le microbiote intestinal (8).....	17
Figure 2 : Synthèse des fonctions du microbiote envers son hôte (14) .....	19
Figure 3 : Chaîne trophique de fermentation des polysides dans le colon humain (15).....	21
Figure 4 : Métabolisme microbien des protéines dans le colon humain (15) .....	22
Figure 5 : Facteurs impliqués dans l'inflammation chronique associée au microbiote : en situation d'homéostasie versus pathologique (39).....	28
Figure 6 : Dysbiose et prolifération de bactéries anaérobies facultatives (40) .....	29
Figure 7 : Pathologies rattachées à la dysbiose, d'après Rakotonirina et al. (50) .....	30
Figure 8 : Diversité microbienne chez des patients avant et après administration de TMF comparée à la diversité microbienne du donneur (52).....	32
Figure 9 : Graphique représentant le nombre de résultats PubMed pour le terme "fecal microbiota transplantation" par année .....	34
Figure 10 : Algorithme de traitement d'une infection à C. difficile selon l'ESCMID (69).....	39
Figure 11 : Les bénéfices potentiels de la TMF par pathologies d'après Wang et al. (72).....	42
Figure 12 : Liste des critères de non inclusion absolus et relatifs spécifiques au don de selles d'après le GFTF (61) .....	44
Figure 13 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur de selles d'après le GFTF (61) .....	45
Figure 14 : Illustration des différentes possibilités de formulations d'un transplant de microbiote d'après Rakotonirina et al. (50).....	60
Figure 15 : Représentation de la quantité de selles natives utilisée par transplant en fonction des centres .....	66

Figure 16 : Représentation du nombre de TMF par an en fonction des centres ..... 67

Figure 17 : Schéma du parcours d'un donneur au CHUGA..... 73

Figure 18 : Illustration des différentes étapes de préparation d'un transplant de microbiote fécal  
..... 74

Figure 19 : Lieux d'administration des TMF au CHUGA ..... 75

## LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur de selles d'après l'ANSM

Annexe 2 : Questionnaire : La transplantation de microbiote fécal, des pratiques hétérogènes en France ?

Annexe 3 : Affiche recherche de donneur de microbiote digestif

## TABLE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNr : Acide Désoxyribonucléique ribosomique

AGCC : Acide Gras à Chaîne Courte

ALAT : Alanine Aminotransférase

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

AP-HP : Assistance Publique des Hôpitaux de Paris

ARN : Acide Ribonucléique

ARS : Agence Régionale de Santé

ASAT : Aspartate Aminotransférase

BPP : Bonnes Pratiques de Préparation

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CFU/g : Colonie Formant Unité par grammes

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CHUGA : Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes

COVID-19 : Coronavirus disease 2019

CSP : Code de Santé Publique

CST : Comité Scientifique spécialisé Temporaire

ECDC : European Center of Disease Control

EDQM : European Directorate for the quality of Medicines & Healthcare

EHPAD : Établissement Hébergant des Personnes Agées Dépendantes

ESCMID : European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease

FDA : Food and Drug Administration

GABA : Acide Gamma-Aminobutyrique

GALT : Gut Associated Lymphoïde Tissue

GammaGT : Gamma-Glutamyltranspeptidase

GDH : Glutamate Déshydrogénase

GFTF : Groupe Français de Transplantation Féciale

GMbc : Global Microbiome Conservancy

GvHD : Graft versus Host Disease



HDJ : Hôpital De Jour  
IMC : Indice de Masse Corporel  
INRA : Institut National de Recherche Agronomique  
INRAE : Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'alimentation et l'Environnement  
IPP : Inhibiteur de la Pompe à Proton  
LAM : Leucémie Aigüe Myéloblastique  
LBP : Live Biotherapeutics Product  
MALDI-TOF : Matrix Associated Laser Desorption Ionisation-Time of Flight  
MetaHIT : Metagenomic of the Human Intestinal Tract  
MGP : Métagénopolis  
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin  
MMHP : Million Microbiome of Human Project  
NaCl : Chlorure de sodium  
NFS : Numération Formule Sanguine  
PAL : Phosphatase Alcaline  
PCR : Polymérase Chain Reaction  
PUI : Pharmacie à Usage Intérieur  
RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire  
SARM : *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méricilline  
SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise  
SNG : Sonde Naso-Gastrique  
SoC : Standard of Care  
STP : Suivi Thérapeutique et Pharmacologique  
TCA : Temps de Céphaline Activé  
TMF : Transplant de Microbiote Fécal  
TP : Taux de Prothrombine  
VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine

# 1. Introduction : le microbiote intestinal

## 1.1. Définition

Le microbiote désigne l'ensemble des micro-organismes qui colonisent un milieu particulier. L'Homme en comporte plusieurs : au niveau intestinal, cutané, pulmonaire ou génital par exemple. Le microbiote intestinal est le plus important. Il comporte plus de  $10^{13}$  micro-organismes dont des procaryotes (bactéries), champignons, protozoaires et virus pour un poids de l'ordre de 1,5 kg (1).

L'acquisition du microbiote a fait l'objet de plusieurs hypothèses. Un des dogmes remis en question par l'évolution des méthodes de détection bactérienne est que le placenta est un milieu stérile et que l'acquisition du microbiote commence à la naissance. Ce modèle est appuyé par le fait que la présence de bactéries dans le liquide amniotique est associée à un contexte infectieux à l'origine d'une chorioamniotite pouvant engendrer des naissances prématurées. Le placenta ne comporte pas ou presque pas de micro-organismes hors contexte infectieux (2). De nouvelles hypothèses discutées existent, en effet la présence d'ADN bactérien *in utero* hors situation pathologique laisse entrevoir une colonisation du fœtus. Cependant, la présence de matériel génétique bactérien ne permet pas d'affirmer l'existence d'un microbiote spécifique et viable (3).

Un élément bien décrit et reconnu scientifiquement est l'acquisition du microbiote pendant l'accouchement. Lors du passage au travers de la sphère génitale maternelle, le nouveau-né acquiert une partie de la flore vaginale. Puis, pendant l'allaitement, le contact avec la flore cutanée maternelle va participer à son tour au développement d'un microbiote. Ce dernier va ensuite se diversifier via l'alimentation liquide puis solide pour se stabiliser autour de 3 ans et s'approcher de la composition d'un microbiote adulte tout en gardant une certaine plasticité (4)(5)(6).

Le microbiote sera par conséquent influencé par le type de naissance. Un enfant né par césarienne n'aura pas le même microbiote qu'un enfant né par voie basse (7). Bien d'autres facteurs influencent la composition du microbiote tels que le type d'alimentation à la naissance (allaitement ou lait maternisé) ou encore la prise d'antibiotiques (6). Ce dernier sera influencé au cours de la vie de son hôte par les changements physiologiques (puberté, vieillissement), l'environnement (localisation géographique) ou encore le mode de vie (usage de drogues/médicaments, l'alimentation). Les principaux facteurs influençant les changements du microbiote sont illustrés dans la figure 1 (8).

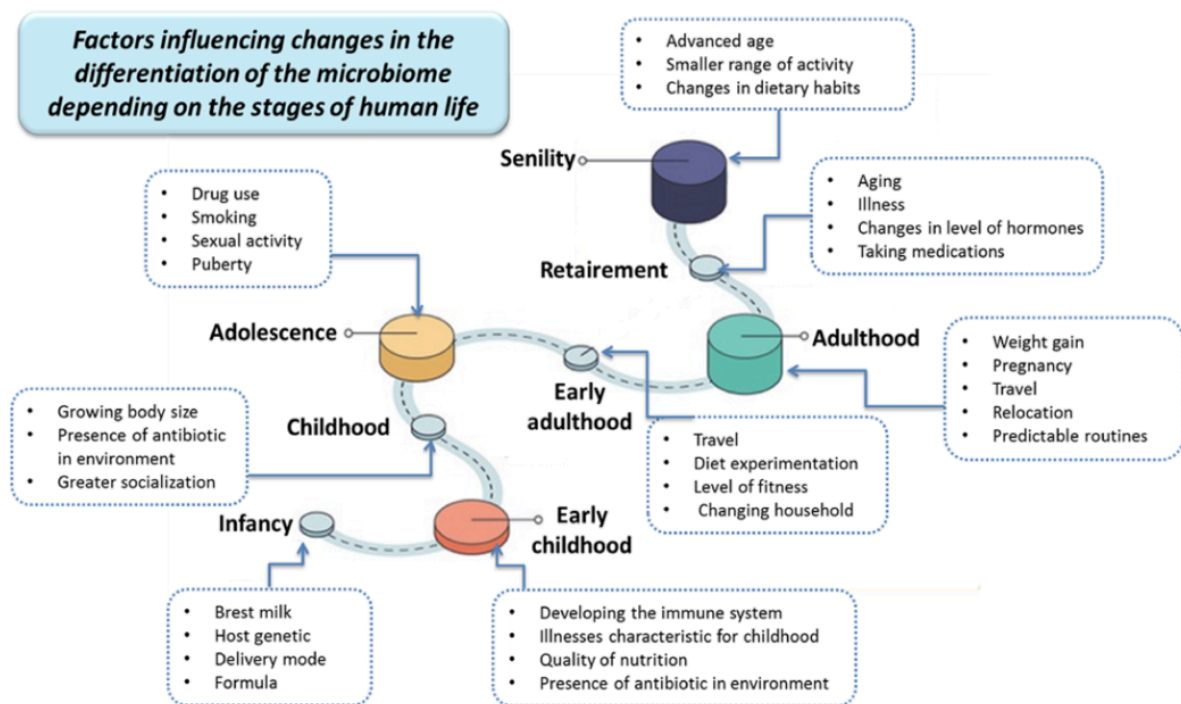


Figure 1 : Facteurs influençant le microbiote intestinal (8)

## 1.2.Composition

La quête de la composition du microbiote a représenté un véritable challenge pour les chercheurs. Jusqu'à la fin du XXème siècle, sa composition était étudiée uniquement par des méthodes de culture dite « classiques » sur différents milieux gélosés dans des atmosphères

variées. Cette technique a été enrichie par le couplage de la culture à l'identification des colonies par spectrométrie de masse MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight*). Cette approche dite « culturomique » a permis d'identifier de nombreuses espèces bactériennes dont 90 n'avaient jamais été décrites. Puis, l'approche génomique a permis aux chercheurs de lever une partie supplémentaire du voile. En effet, les procédés de biologie moléculaire permettent de détecter et séquencer un ensemble de génomes présents dans un milieu donné (un échantillon de selles par exemple). Cela apporte alors la possibilité de déceler des bactéries non cultivables, par amplification de l'ADNr (acide désoxyribonucléique ribosomique) 16S en PCR (*Polymerase Chain Reaction*). L'ADN 16S est porté par un gène conservé du génome procaryote avec des régions hypervariables spécifiques à chaque espèce bactérienne. Cette technique dite de « 16S profiling » a été supplantée par la « métagénomique » qui consiste à séquencer directement l'ensemble de l'ADN présent dans l'échantillon (9)(10).

En 2008 un projet européen : *Metagenomic of The Human Intestinal Tract* (MetaHIT), porté par l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) a eu pour objectif d'augmenter les connaissances sur le métagénome humain, c'est à dire l'ensemble des génomes des micro-organismes associés à l'homme. Un catalogue de gènes du microbiote intestinal humain a pu être dressé regroupant 3,3 millions de gènes non redondants séquencés à partir d'échantillons de selles de 124 individus européens (85 Danois et 39 Espagnols). Ce qui représente environ 150 fois le génome humain. 99% des gènes étaient bactériens, l'ensemble des participants regroupant entre 1000 et 1500 espèces bactériennes. Sachant que chaque individu abrite au moins 160 espèces largement partagées (11).

Un autre article issu de ce consortium, en couplant les données de séquençage (22 métagénomes de 4 pays européens) avec des microbiomes déjà publiés (américains et japonais), a permis de

décrire 3 entérotypes non spécifiques d'une nation, d'un continent, du genre, de l'indice de masse corporel (IMC) ou encore de l'âge. Ils se distinguent par une composition différente des 3 espèces bactériennes suivantes : Bacteroides, Prevotella et Ruminococcus. Mais l'analyse fonctionnelle met en évidence que les fonctions moléculaires abondantes ne sont pas nécessairement assurées par des espèces abondantes de la communauté microbienne (12).

Chaque individu possède un microbiote qui lui est propre, au point de comparer ce dernier à une empreinte digitale. Cependant, l'analyse en groupe phylogénétique fait ressortir trois phyla bactériens : Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria (13).

### 1.3. Rôle physiologique

Une véritable symbiose découle de la cohabitation entre l'individu et l'importante masse bactérienne tapissant la surface de son appareil digestif. Les différentes fonctions rattachées au microbiote sont décrites dans cette partie et résumées dans la figure 2 ci-dessous.

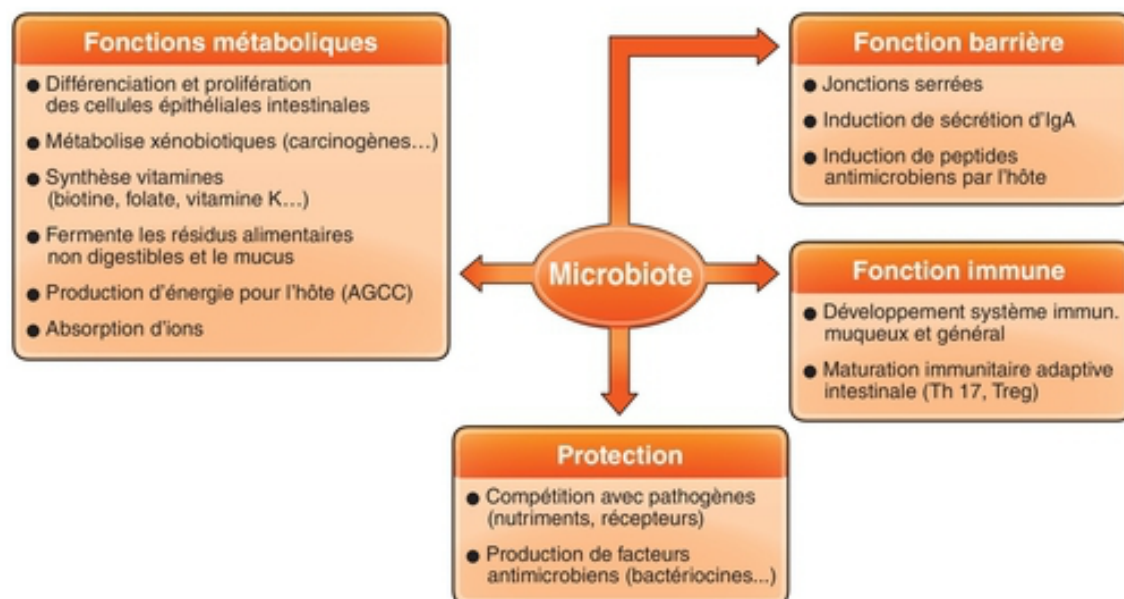


Figure 2 : Synthèse des fonctions du microbiote envers son hôte (14)

### 1.3.1. Rôle métabolique

Le microbiote participe au métabolisme alimentaire, principalement au niveau du colon. En effet, c'est à cet endroit que l'on retrouve la plus grande quantité de bactéries. On constate un véritable gradient de concentration allant de l'estomac, qui comporte un pH acide avec  $10^3$  CFU/g (Colonie Formant Unité par grammes), jusqu'à  $10^8$  CFU/g dans le colon (14).

L'implication du microbiote dans le métabolisme des glucides, des lipides, des gaz et des protéines est décrite ci-après.

Les glucides complexes des fibres alimentaires tels que les polysides composant la paroi des végétaux (cellulose, pectine) ne sont pas dégradés par les enzymes des cellules eucaryotes humaines. Ils arrivent donc via le bol alimentaire jusqu'au colon avant d'être pris en charge par diverses enzymes bactériennes. Ces dernières vont former une chaîne trophique permettant la dégradation, puis la fermentation de ces composées en produits intermédiaires et finaux qui seront utilisés par diverses bactéries ou assimilés par l'organisme. Ainsi, les polysides sont transformés en oses par la flore fibrinolytique puis ils sont fermentés en acide gras à chaîne courte (AGCC) : acétate, propionate, butyrate et en gaz (gaz carbonique et hydrogène) qui seront transformés ou absorbés à des fins énergétiques (figure 3). Un certain nombre d'espèces produisent des métabolites intermédiaires (lactate, succinate) qui ne s'accumulent pas dans le colon mais qui sont métabolisés par d'autres espèces bactériennes, participant à la diversité bactérienne du colon (15).

Les AGCC ont des propriétés spécifiques. Par exemple le butyrate, principal nutriment des colonocytes, à des effets trophiques coliques et immunomodulateurs, tandis que le propionate absorbé module la production hépatique de cholestérol. L'acétate quant à lui, est distribué aux tissus périphériques (14)(15). Le butyrate peut induire l'acétylation des histones et l'expression de gènes pro-apoptotiques tels que Fas ou des régulateurs du cycle cellulaire comme P21 ou

P27 pour stimuler l'apoptose ou inhiber la prolifération des lignées cellulaires du cancer colorectal (16).

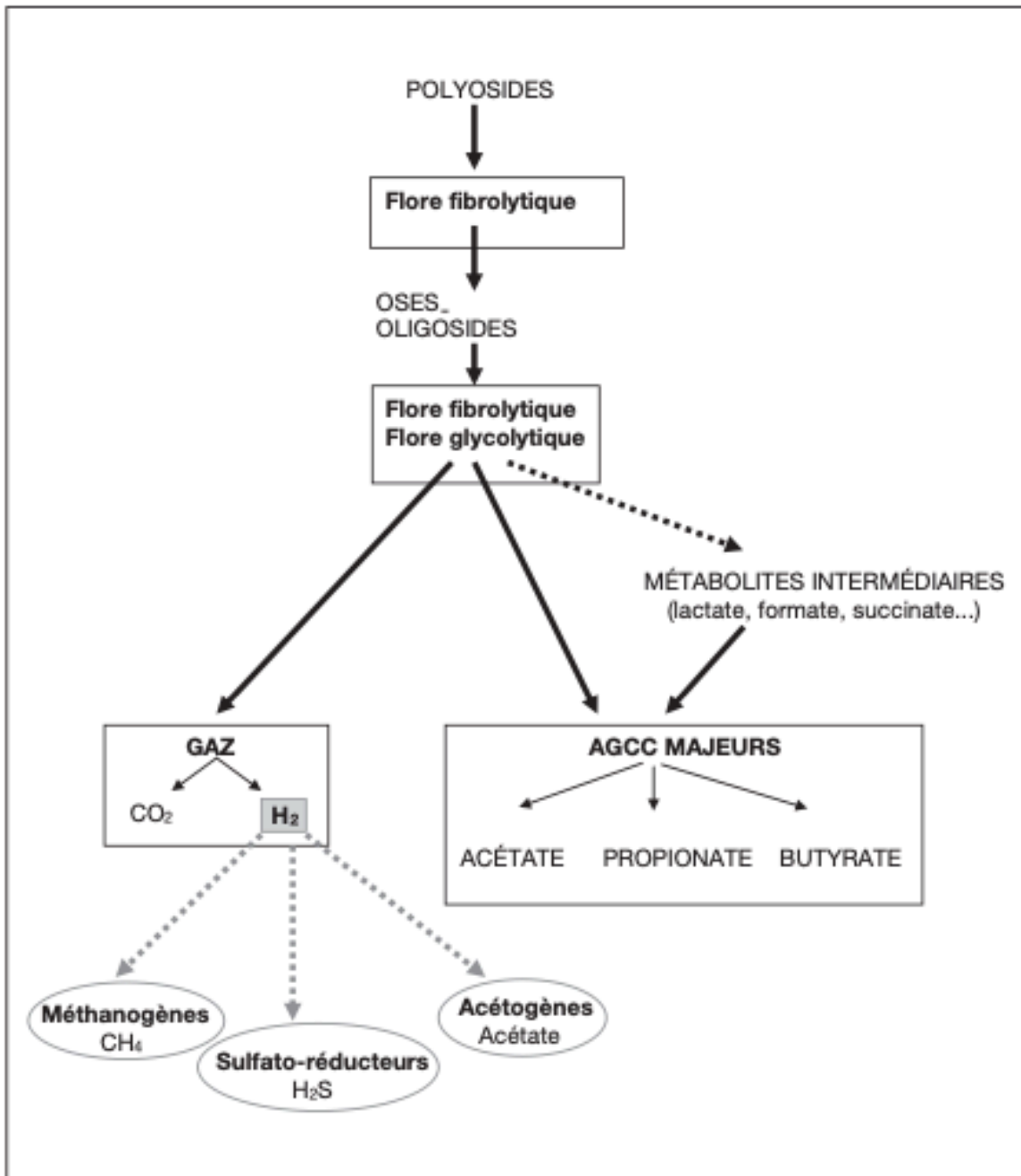


Figure 3 : Chaîne trophique de fermentation des polyosides dans le colon humain (15)

Concernant le métabolisme des protéines, beaucoup de bactéries coliques possèdent une activité protéasique qui permet l'hydrolyse des protéines en peptides puis acides aminés. La

fermentation des acides aminés conduit à leur désamination qui libère des acides gras à chaînes courtes et de l'ammoniaque. A l'inverse des glucides, leur dégradation produit des métabolites potentiellement toxiques pour l'hôte (ammoniaque, phénols). Ces derniers sont absorbés par l'épithélium avant d'être pris en charge par les cellules coliques pour les dérivés phénoliques ou bien par le foie pour l'ammoniaque afin d'être détoxifiés. La protéolyse s'accompagne d'une protéosynthèse bactérienne. Ce procédé permet de diminuer l'ammoniaque disponible au sein du colon (figure 4) (15).

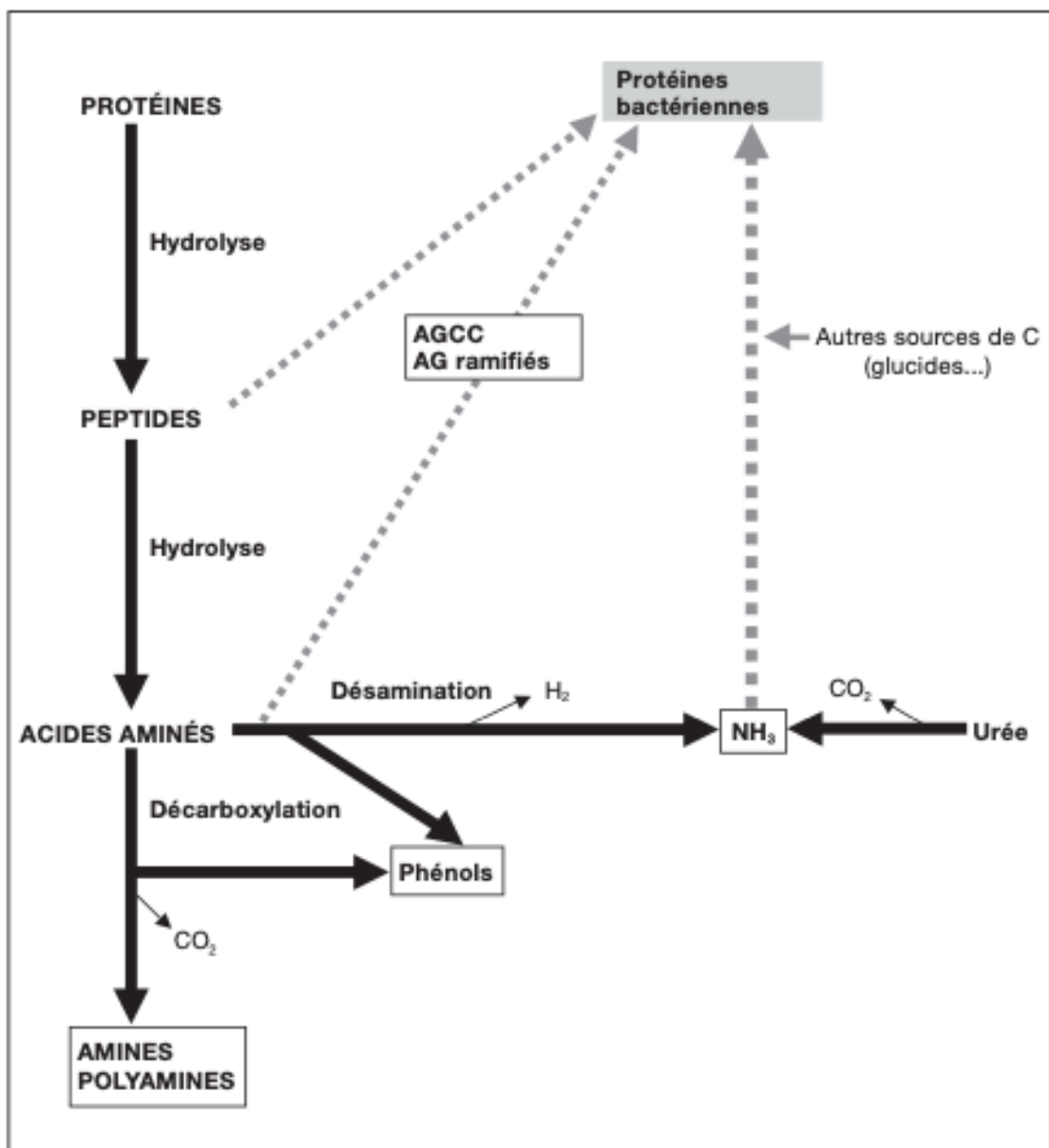


Figure 4 : Métabolisme microbien des protéines dans le colon humain (15)



Les lipides pris en charge par le microbiote ont trois origines : ceux issus de l'alimentation, de la desquamation des cellules épithéliales coliques et les lipides bactériens. Ils subissent sous l'action du microbiote, différentes transformations (hydrolyse, oxydation, réduction et hydroxylation) (15).

Les acides biliaires sont, quant à eux, produits par le foie en transformant le cholestérol. Ils sont réabsorbés à 95% par l'iléon terminal grâce à des transporteurs actifs spécifiques avant de retourner au foie via le système porte (cycle entéro-hépatique). Pour les 5% parvenant au colon, ils sont pris en charge par le microbiote et métabolisés (par déconjugaison, oxydation et épimérisation) en acides biliaires dit secondaires (15).

Le microbiote est également une source de plusieurs vitamines essentielles hydrosolubles, particulièrement du groupe B et K. La vitamine K1 provient d'un apport alimentaire tandis que la vitamine K2 est produite par le microbiote de l'hôte (du genre *bacteroides* et *enterobacter*). Des études ont montré que la prise d'antibiotiques à large spectre diminuait significativement les concentrations de vitamine K dans le foie (17) (18).

Arumugam et al. ont montré que les trois entérotypes possèdent des voies de synthèse de vitamines. Cependant, l'entérotipe 1 est enrichi de la voie de biosynthèse de la riboflavine, de la biotine, de l'ascorbate tandis que l'entérotipe 2 est enrichi de la voie de biosynthèse de thiamine et d'acide folique (12).

### 1.3.2. Métabolisme des xénobiotiques

La présence de bactéries dans le tractus digestif en fait un des premiers sites en contact avec des xénobiotiques tels que des principes actifs par exemple. L'activité enzymatique des bactéries peut avoir différents effets et influencer la pharmacocinétique des médicaments de

diverses manières. Elles peuvent activer, désactiver ou réactiver (via le cycle entéro-hépatique) différents principes actifs (19). Ce potentiel laisse penser que le microbiote participerait à la variabilité inter-individuelle de l'effet d'un médicament via le métabolisme de ce dernier.

C'est le cas par exemple du tacrolimus, un immunosuppresseur indiqué dans la greffe d'organes solides (rein, poumon, foie et cœur). Chez des patients greffés rénaux nécessitant une augmentation des doses *per os* au cours de la première semaine post greffe, il a été constaté une plus grande proportion de bactéries nommées *Faecalibacterium prausnitzii* comparé aux patients chez qui les concentrations étaient stables au cours du temps. L'abondance de cette bactérie a été retrouvée à 11,8% chez les patients ayant eu une escalade de dose contre 0,8% dans l'autre groupe (20).

D'autre part, Guo et al. (21) ont identifié deux métabolites du tacrolimus (M1 et M2) produit par *Faecalibacterium prausnitzii* ainsi que leurs structures moléculaires. Les tests d'activité pharmacologique effectués sur des cellules mononucléaires du sang périphérique humain ont montré que le métabolite M1 est 15 fois moins puissant que le tacrolimus en tant qu'immunosuppresseur.

Ces données expliquent en partie les différences de concentration pouvant être constatées lors des variations intra-individuelles de principes actifs en suivi thérapeutique et pharmacologique (STP) de molécule à marge thérapeutique étroite. Il faut noter que, non seulement, chaque individu possède une abondance d'espèce bactérienne différente, mais également au sein d'une même souche bactérienne, toutes ne possèdent pas le même niveau d'expression de gènes codant pour des enzymes métabolisant les principes actifs. Ce qui rend encore plus complexe la réalisation de modèles prédictifs de variabilité de concentration. Toutefois, les approches basées sur la connaissance du métabolisme microbien se développent. En couplant les données d'expériences *in vitro*, *in vivo* sur des animaux et d'essais cliniques, il est possible de créer des

bases de données sur lesquelles s'appuyer en clinique pour détecter les médicaments ayant un impact sur le microbiote (22)(23). Inversement, nous entrevoyons la possibilité future d'identifier les interactions métaboliques du microbiote d'un patient sur ses traitements médicamenteux, qui pourrait participer au développement d'une médecine personnalisée permettant d'optimiser les concentrations plasmatiques de principes (24).

### 1.3.3. Rôle protecteur

Le microbiote est un acteur de la protection du tube digestif contre les pathogènes. En colonisant la surface mucineuse des entérocytes, il permet de prévenir l'invasion de pathogènes. En effet, *in vitro* les bactéries sont en compétition pour atteindre les sites d'attachement de la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales. La présence de bactérie non pathogène (*Lactobacillus acidophilus*) peut empêcher l'adhésion et l'entrée des bactéries pathogènes dans les cellules épithéliales (*Escherichia coli* entéropathogène et *Salmonella typhimurium*) (25).

Les bactéries rivalisent pour la disponibilité des nutriments au sein de la niche que représente l'intestin. Par exemple, il a été montré que chez la souris gnotobiotique (c'est à dire exempte de pathogènes) mono-colonisée par *Bacteroides thetaiotaomicron* l'hôte fournit à la bactérie les nutriments nécessaires et la bactérie indique à l'hôte la quantité dont elle a besoin (26). Cette relation symbiotique permet de limiter la quantité de substrat disponible pouvant favoriser la prolifération de pathogènes.

Les bactéries commensales du tube digestif sont également capables de produire des substances antibactériennes appelées bactériocine (27), telles que certaines souches de *Bifidobacterium* retrouvées dans la flore d'enfants qui sont capables d'exercer *in vitro* une activité antimicrobienne sur des souches *Salmonella typhimurium*. Le microbiote joue donc un rôle actif afin de préserver la niche qu'il occupe (28).

#### 1.3.4. Rôle immunitaire

L'implication du microbiote intestinal dans le développement du système immunitaire a été mise en évidence via des études animales. L'observation de souris dépourvues de microbiote dites axéniques comparée à d'autres normalement colonisées, a permis de constater de notables différences telles qu'un élargissement du *caecum* (due à une accumulation de mucus) et une réduction de la motilité. Une aberration de la morphologie des cellules épithéliales intestinales a également été constatée avec des villosités plus longues et des cryptes plus courtes. Des anomalies ont également été détectées dans le système lymphoïde associé à l'intestin : les « *Gut Associated Lymphoïde Tissue* » : GALT) telles que de plus petites plaques de Peyer, ganglions mésentériques ou une diminution de la sécrétion d'immunoglobuline A. D'autres organes lymphoïdes secondaires à distance de l'intestin sont impactés, comme le développement de la rate ou du thymus, soulignant l'importance du rôle de ce dernier dans le développement immunitaire (14)(29).

Gensollen et al. (29) ont mis en évidence que la période post-natale représente une fenêtre au cours de laquelle le microbiote module la morphologie et le fonctionnement du système immunitaire. C'est au cours de cette période que les cellules épithéliales vont développer une tolérance envers le microbiote qui va avoir une influence sur le développement immunitaire. Passé cette fenêtre, l'introduction d'un microbiote « standard » semble ne pas pouvoir permettre d'acquérir une fonction immunitaire normale, propice à l'apparition de pathologies inflammatoires.

#### 1.3.5. L'axe microbiote-intestin-cerveau

Depuis quelques années, de nombreuses publications abordent le sujet d'une communication entre le microbiote et le cerveau. Cette dernière s'établit par différents moyens. Parmi ceux prouvés scientifiquement en préclinique à ce jour nous retrouvons, d'une part, le nerf vague et

d'autre part, les métabolites issus de microorganismes absorbés par l'intestin qui agissent de manière endocrine (30). L'implication du nerf vague dans cette communication a été établie chez le rat ayant subi une vagotomie. Chez ce dernier, lors d'une incubation dans l'estomac de *Salmonella typhimurium*, la réponse immunologique centrale est diminuée (31). A contrario, nous constatons une activation du nerf vague envoyant des signaux afférents de l'intestin vers le cerveau lors d'une infection à *Citrobacter rodentium* (32).

Il a également été démontré que le microbiote est producteur de différents neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine, la sérotonine ou encore l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) dont l'influence sur le nerf vague pourrait conduire à des effets centraux (30). Les précurseurs de ces neuromédiateurs synthétisés par le microbiote, quant à eux, peuvent franchir la barrière hémato-encéphalique et potentiellement avoir un effet central. C'est le cas, par exemple, de la voie dite de la kynurénine, identifiée comme une voie catabolique du tryptophane, ce dernier est transformé en kynurénine puis en acide kynurénique et quinoliniques par le microbiote. Ces métabolites (la kynurénine notamment) auraient une action centrale bénéfique. Un déséquilibre de cette voie métabolique serait constaté dans des pathologies telle que la dépression. (30)(33)(34).

D'autres articles suggèrent une communication bidirectionnelle entre le système nerveux centrale et le microbiote. Cependant, les connaissances actuelles ne permettent pas de mettre en évidence les mécanismes impliqués de manière certaine (35)(36).

#### 1.4. Notion de dysbiose et pathologies impliquées

La dysbiose se définit comme une modification du microbiote intestinal aboutissant à un déséquilibre des espèces qui le composent. Elle se caractérise par une diminution plus ou moins importante de la biodiversité microbienne (37). La diminution de cette diversité crée une rupture de tolérance entre le microbiote et le système immunitaire de l'hôte, favorisant le

développement d'espèces non commensales du tube digestif. Cette prolifération va induire une réponse pro-inflammatoire protectrice qui, en l'absence de régulation sous l'effet de la multiplication bactérienne, aboutira à un état pathologique, impactant les fonctions du microbiote envers son hôte (figure 5) (38).

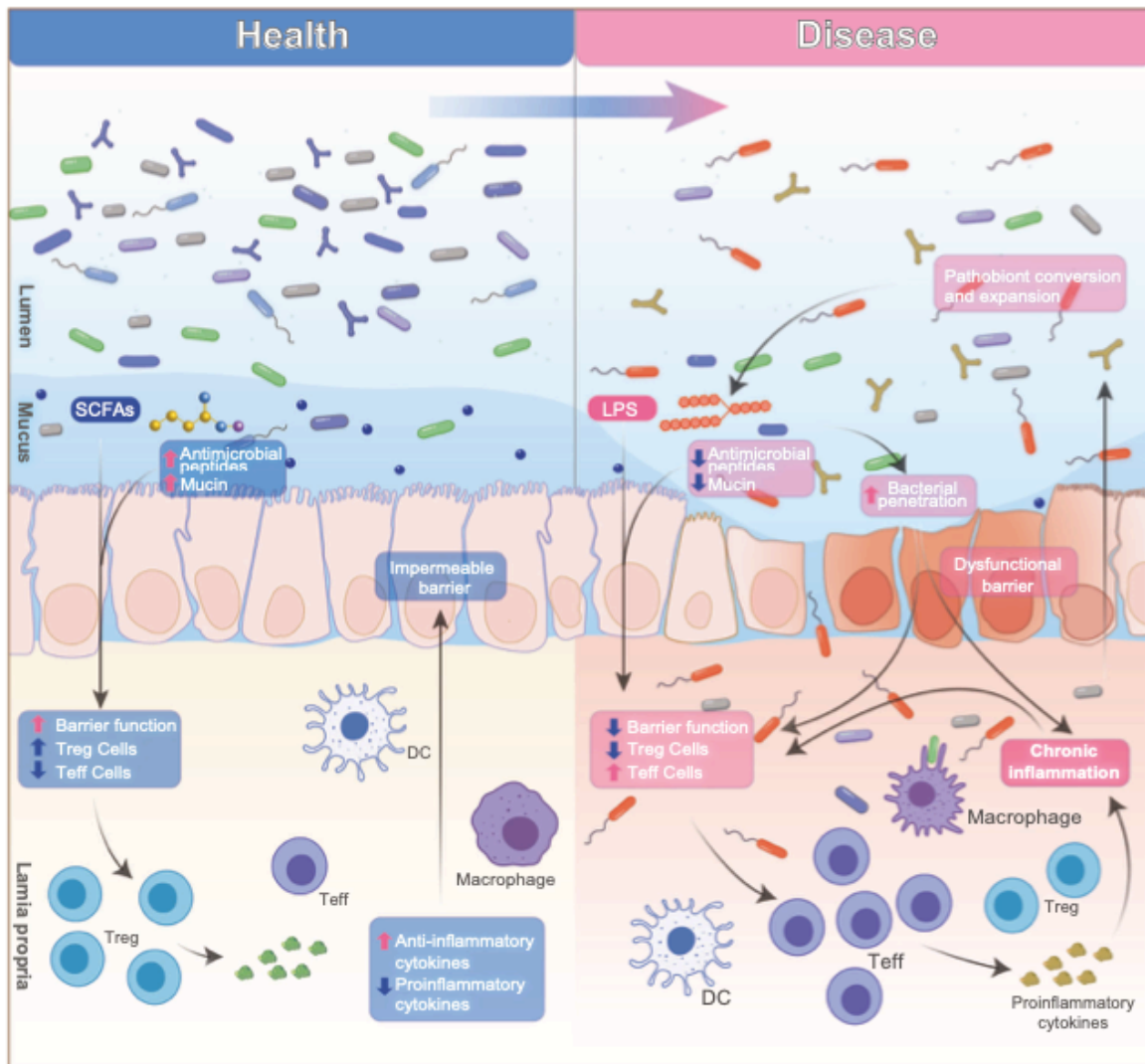
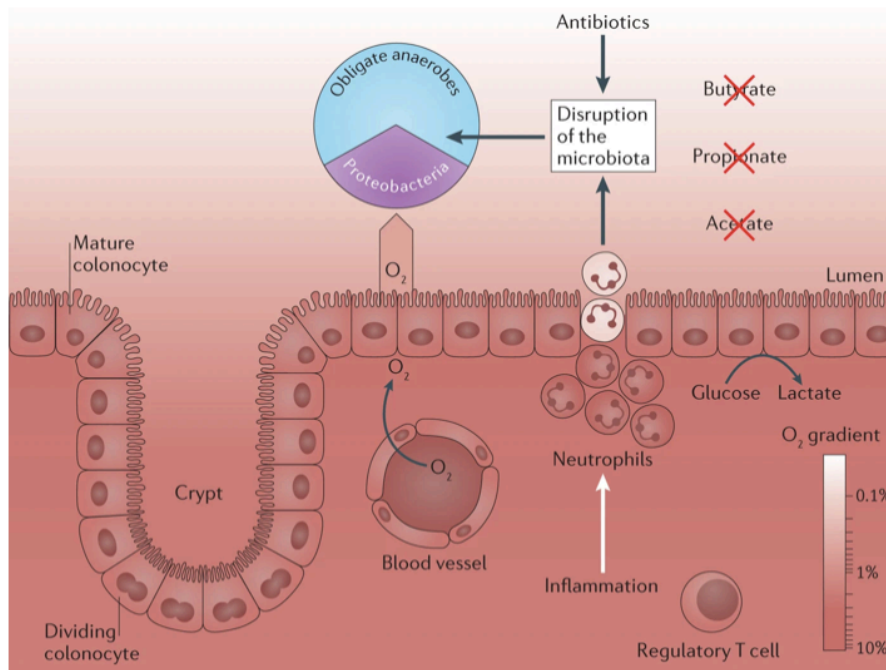


Figure 5 : Facteurs impliqués dans l'inflammation chronique associée au microbiote : en situation d'homéostasie versus pathologique (39)

L'inflammation locale va induire une migration des neutrophiles qui vont perturber le microbiote et donc diminuer la production d'AGCC. Cela va induire une modification du métabolisme des colonocytes, privés de leur source énergétique principale, ils vont passer de la

$\beta$ -oxydation à la glycolyse anaérobie. Ceci a donc pour effet d'augmenter les concentrations intraluminales d'oxygène dans le colon. Cette rupture des conditions anaérobiques intestinales induit la possibilité aux bactéries anaérobies facultatives, telles que les protéobactéries pathogènes, de proliférer entretenant ainsi l'inflammation (figure 6) (40)(41).

From: [The germ-organ theory of non-communicable diseases](#)



Nature Reviews | Microbiology

Figure 6 : Dysbiose et prolifération de bactéries anaérobies facultatives (40)

De multiple facteurs jouant sur la composition du microbiote ont été identifiés comme des éléments pourvoyeurs de dysbiose. Parmi eux, des facteurs extrinsèques comme l'alimentation, les médicaments (les antibiotiques à large spectre par exemple), mais également des facteurs intrinsèques comme le statut immunitaire du patient (immunodéprimé pour différentes causes), ou l'état de la muqueuse intestinale. Il faut noter qu'un seul de ses facteurs est rarement suffisant pour induire une dysbiose. C'est l'association de plusieurs facteurs qui peut créer une « fenêtre » propice au déséquilibre de l'homéostasie intestinale (27).

On retrouve dans différentes pathologies une altération franche du microbiote digestif. Parmi elles, les infections récidivantes à *Clostridioides difficile* (*C. difficile*), ou encore les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) (42). Cependant, à ce jour il n'existe pas de définition exacte pour un « microbiote idéal » en terme qualitatif et quantitatif. Une altération moins franche du microbiote semble être impliquée dans des pathologies digestives tels que l'obésité (43) ou le diabète (44), mais également extra-digestives, rattachées au système cardiovasculaire (45), la maladie d'Alzheimer (46)(47), de Parkinson ou des troubles psychiatriques (48). Cause ou conséquence, de plus amples recherches précliniques et cliniques sont nécessaires afin de comprendre cette physiopathologie présumée (figure 7) (49).

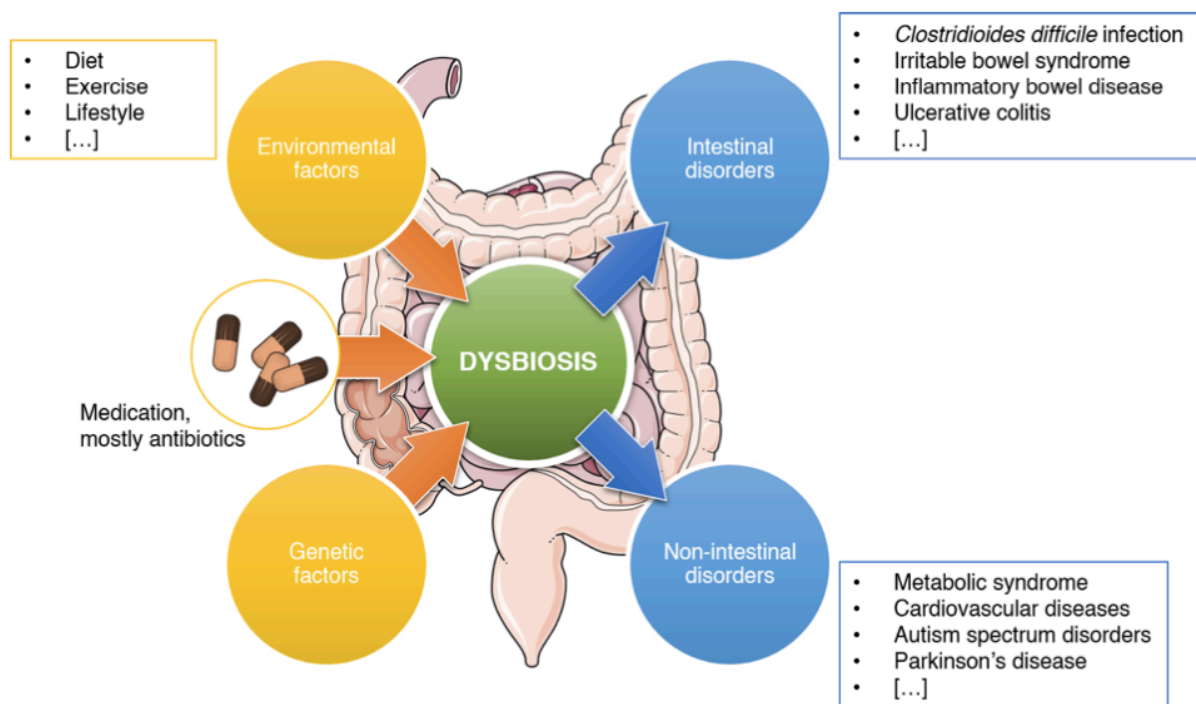


Figure 7 : Pathologies rattachées à la dysbiose, d'après Rakotonirina et al. (50)

C'est dans cet optique que l'INRAE, avec son unité MétaGénoPolis (MGP) experte en science du microbiote appliquée à la nutrition et à la santé, développe des projets afin de faire avancer cette dernière. Par exemple, nous pouvons citer « Le *French gut* », un projet qui a pour objectif



« de cartographier et mieux comprendre le microbiote sains français, les facteurs et mode de vie les impactant, ainsi que leurs déviations dans les maladies chroniques (cancers, Alzheimer, Parkinson, trouble du spectre autistique, diabète, obésité, maladie de Crohn,...) ». Ce projet s'inscrit dans un projet international : *Million Microbiome of Human Project* (MMHP) qui a été lancé en octobre 2019 lors de la 14<sup>ème</sup> conférence internationale sur la génomique. Dans les applications pharmaceutiques de ce projet nous distinguons entre autre : l'identification de biomarqueurs bactériens associés à la dysbiose, la stratification des individus pour une médecine personnalisée (répondeurs versus non répondeurs, effets secondaires des médicaments), l'identification de nouvelles espèces ayant une fonction d'intérêt (probiotiques) ou encore l'identification de gènes et métabolites microbiens capables d'interagir avec les cellules humaines (51).

## 2. La Transplantation de Microbiote Fécocal (TMF) : un moyen efficace de traiter la dysbiose

### 2.1. Généralités

#### 2.1.1. Principe

Le principe est simple, il consiste à introduire des selles d'un donneur sain dans l'appareil digestif d'un receveur afin de rééquilibrer le microbiote altéré de l'hôte et restaurer l'homéostasie digestive dans le but de traiter une pathologie.

Cela a très bien été illustré dans la publication de Van Nood & al. via l'index réciproque de Simpson permettant de mesurer la richesse taxonomique dans un échantillon de selles. Cet index a été mesuré chez le donneur sain et chez neuf patients avant, puis 14 jours après l'administration de TFM. Un index moyen faible à  $57 \pm 26$  a été calculé avant TMF, puis augmenté 2 semaines après TMF à  $179 \pm 42$  ( $P < 0.001$ ). Ce dernier devenant alors indiscernable par rapport à la diversité microbienne du donneur  $172 \pm 54$  (figure 8) (52).

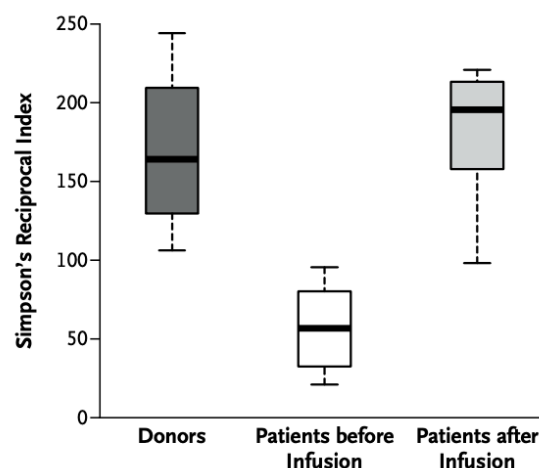


Figure 8 : Diversité microbienne chez des patients avant et après administration de TMF comparée à la diversité microbienne du donneur (52)

### 2.1.2. Histoire de la transplantation fécale

Concernant l'histoire de la TMF, les traces d'utilisation de matières fécales à visée thérapeutique les plus anciennes remontent au 4<sup>ème</sup> siècle en médecine traditionnelle chinoise. Ces derniers décrivent l'utilisation d'une suspension de matière fécale par voie orale pour traiter des empoisonnements ou des diarrhées sévères. Cette utilisation fut reportée dans le premier livre de médecine d'urgence chinoise : « *Zhou Hou Bei Ji Fang* ». Plus tard, sous le règne de la dynastie Ming, nous trouvons des traces d'utilisation de selles fraîches ou séchées pour traiter des affections gastro-intestinales, dont des diarrhées sévères. Il est intéressant de noter que l'utilisation de matière fécale n'était pas nommée explicitement mais sous le terme de « soupe jaune » dans les écrits (53). Plus récemment en 1958, un chirurgien du nom de Eisman avait utilisé la transplantation fécale pour traiter, avec succès, quatre patients atteints de colite pseudo-membraneuse avant même l'identification du pathogène responsable (*Clostridioides difficile*) (54). Par la suite, cette pratique, alors d'usage anecdotique, a commencé à gagner en intérêt. En effet, Gough et al. ont publié en 2011 une revue de la littérature dénombrant 317 cas sur les 50 dernières années (55). Puis, c'est en 2013 que l'engouement pour cette pratique s'enflamme, suite à une publication du *New England Journal of Medicine* d'un essai clinique randomisé comparant l'usage de la transplantation fécale à une antibiothérapie dans le traitement d'infections récurrentes à *Clostridioides difficile* (52). Par la suite, de nombreux autres articles ont fait l'objet de cette pratique, en témoigne ci-dessous l'accroissement exponentiel du nombre de publication dans la base de données PubMed® contenant le mot clé « *fecal microbiota transplantation* » (figure 9).

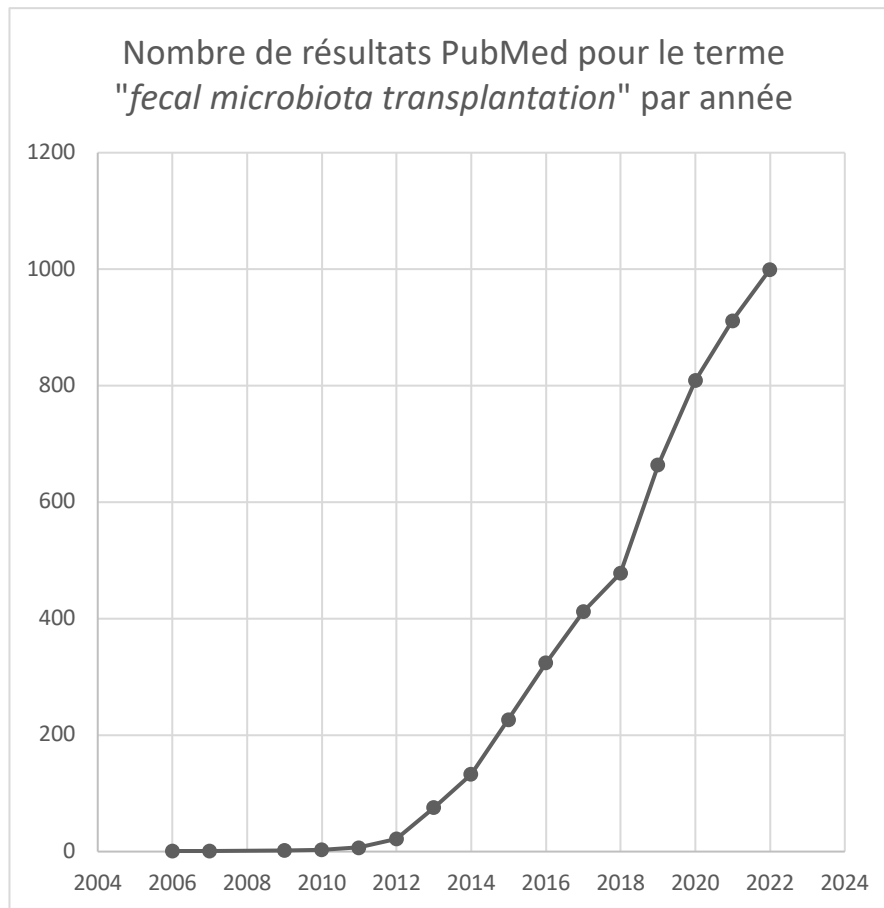


Figure 9 : Graphique représentant le nombre de résultats PubMed pour le terme "fecal microbiota transplantation" par année

### 2.1.3. Les effets indésirables

En ce qui concerne les effets indésirables associés à cette technique, une revue systématique publiée en 2020 dévoilait l'incidence des effets indésirables rattachés à la TMF sur une période de 2000 à 2020, en incluant à partir de 4 bases de données (EMBASE, MEDLINE, Cochrane library, CNKI et Wanfang) 129 articles abordant ce sujet pour un total de 4241 patients traités. L'incidence des effets indésirables était de 19% dont le plus fréquent était la diarrhée (10%) et des douleurs abdominales (7%). Pour les effets indésirables graves, l'incidence était de 1,4% chez des patients ayant reçu une TMF dont 0,99% imputable à cette dernière. Les effets indésirables graves incluent des infections et le décès. 4 des 5 patients dont le décès est

imputable à la TMF l'ont reçu par voie haute. Les 5 patients décédés avaient des lésions de la muqueuse intestinale (56).

Lorsque l'on interroge la base mondiale de pharmacovigilance Vigilyze® avec la dénomination « *fecal microbiota* » en France, seul les déclarations liées aux produits issus de laboratoires pharmaceutiques apparaissent. Ce qui laisse à penser qu'il existe une sous déclaration des effets indésirables liés à cette pratique à l'hôpital en France.

Si nous regardons de plus près, ce sont 27 cas d'événements indésirables déclarés que l'on retrouve dans la base de données. Nous constatons que la nature des événements déclarés probablement imputables à la TMF est infectieuse dans 52% des cas (n=14) et à type de sepsis dans 41% des cas (n=11). En ce qui concerne le délai de survenue de l'événement indésirable, la médiane est de 8 jours. Il faut cependant souligner que l'interprétation de ces données doit être rattachée à l'état clinique des patients chez qui ce médicament est utilisé. L'indication rattachée à ces événements est dans 81% des cas, la maladie intestinale du greffon contre l'hôte. Cette pathologie survient chez des patients d'oncohématologie ayant subi une greffe de cellule souche hématopoïétique. Elle est associée avec une augmentation de la perméabilité digestive (57), qui est une situation favorisant la translocation bactérienne.

## 2.2. Statut réglementaire

C'est donc à partir de 2013, lorsque l'efficacité de la TMF a été scientifiquement prouvée et qu'elle a commencé à se placer dans la stratégie thérapeutique européenne et mondiale, que l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) a publié un document afin d'encadrer cette pratique. Dans son document de 2014 (dernière mise à jour en 2016), elle ne prévoit pas de statut particulier pour le microbiote fécal. Mais, son utilisation à visée curative à l'égard de maladies humaines amène à le considérer comme un médicament au regard de l'article L. 5111-1 du Code de Santé Publique (CSP) qui définit un médicament

comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard de maladies humaines ou animales, ainsi que toutes substances ou compositions pouvant être utilisées chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique. [...] » (58).

Ce produit est utilisé dans le cadre législatif et réglementaire applicable aux préparations magistrales et hospitalières (article L. 5121-1 du CSP), ou aux médicaments expérimentaux destinés à un essai clinique (article L. 5121-1-1 du CSP). En effet, l'article L. 5121-1 définit une préparation magistrale comme : « tout médicament préparé selon une prescription médicale destinée à un malade déterminé lorsqu'il n'existe pas de spécialité pharmaceutique adaptée ou disponible, y compris du fait de l'absence de commercialisation effective, disposant d'une autorisation de mise sur le marché (...) soit extemporanément en pharmacie, soit dans les conditions prévues à l'article L. 5125-1 ou l'article L.5126-6 » (59).

Au niveau national, le statut réglementaire est donc tranché, contrairement au niveau européen et mondial. En effet, il n'y a pas d'approche commune sur la législation de la TMF à ce jour. Pour certains pays, comme la Belgique et l'Italie, c'est un produit couvert par la législation des tissus et cellules. Alors qu'en Finlande, il s'agit d'une intervention thérapeutique. A titre de comparaison, au Canada et aux Etats-Unis, la TMF est qualifiée de médicament, tandis qu'au Danemark l'appréciation varie selon l'indication et le degré de transformation/manipulation de la matière première. Ainsi, pour traiter la dysbiose conditionnée en poche, elle est assimilée à un tissu, alors que lorsqu'une indication est revendiquée avec une forme capsule, nous parlerons de médicament. Cette disparité de statut représente un frein majeur à la rédaction de *guidelines*

communes permettant d'assurer la qualité, sécurité et l'efficacité de la TMF puisque les différents statuts dans lesquels sont classés la TMF n'ont pas les mêmes réglementations (60).

Mais cela n'a pas empêché l'organisation d'un groupe d'experts au niveau national. En octobre 2014, un Groupe Français de Transplantation Fécale (GFTF) a été créé afin de regrouper les professionnels de santé (médecins et pharmaciens) activement impliqués dans la pratique et/ou la recherche sur la TMF. Avec trois objectifs principaux :

- Harmoniser et sécuriser la TMF dans la pratique clinique et les indications déjà reconnues.
- Informer les professionnels de santé et le grand public sur la TMF.
- Favoriser la recherche afin d'évaluer l'intérêt potentiel de la TMF dans d'autres pathologies.

La première action du GFTF a été de publier en 2015, puis actualiser en 2017, des recommandations pour l'utilisation de la TMF dans le traitement des infections récidivantes à *C. difficile* en pratique courante (61)(62).

En 2020, l'ANSM a créé un Comité Scientifique spécialisé Temporaire (CST) avec pour objectif de mettre à jour ses recommandations (63). Le travail autour de cette mise à jour est toujours en cours. Puis, en juillet 2023, deux décrets sont parus relatifs à l'encadrement de l'activité de collecte de selles et de l'importation de selles ou de préparations de microbiote fécal (N°2023-672 et N°2023-673) (64)(65). Ils précisent que « l'activité de collecte de selles d'une part, et de l'autorisation d'importation de selles ou de préparations de microbiote fécal d'autre part » sont soumis à autorisation par le directeur général de l'ANSM. Ils précisent que cette activité se fait à la demande et sous la responsabilité d'une personne morale compétente depuis au moins deux ans titulaire d'un doctorat dans une discipline médicale (médecin ou

pharmacien) ou ayant un diplôme universitaire dans le domaine des sciences de la vie et de la santé. Par conséquent, à compter de 6 mois après la publication de ces deux décrets il ne sera plus possible de réaliser cette activité sans en avoir eu l'autorisation.

Le statut de cette préparation implique par conséquent une obligation en termes de pharmacovigilance. En effet, comme le stipule l'article L5121-25 du code de la santé publique « Les médecins, chirurgiens-dentistes, sages-femmes et pharmaciens déclarent tout effet indésirable suspecté d'être dû à un médicament ou produit mentionnés à l'article L. 5121-1 dont ils ont connaissance » (66). Or, concernant les effets indésirables autour de cette pratique, comme vu dans la partie relative, on constate un probable sous déclaration des effets indésirables rattachés. Les décrets récents (N°2023-672 et N°2023-673) permettront probablement une meilleure remontée d'informations de ce type aux instances.

## 2.3. Les indications

### 2.3.1. Validées dans le soin courant

A l'heure actuelle, une seule indication officielle est retenue pour l'usage de la TMF. Elle concerne les infections récidivantes à *Clostridioides difficile*, un bacille à Gram positif sporulé producteur de toxines (67). C'est l'infection associée aux soins la plus commune dans le monde. L'incidence et la sévérité des infections ont augmenté ces dernières années avec un impact majeur en termes de morbidité, mortalité et coût (68).

L'usage de la TMF est retenu à partir de la seconde récurrence, soit le troisième épisode. Une récurrence de l'infection est définie par la réapparition d'une infection moins de 8 semaines après l'épisode précédent. Cette indication est intégrée dans l'algorithme du « *Standard of Care* » (SoC) de l'*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease* (ESCMID) de 2014, actualisé en 2021 (69).



Une revue systématique canadienne attribuait une résolution de l'infection dans 92% des cas grâce à la TMF. Cependant, la solidité des données se heurte à une pratique hétérogène en termes de protocole (nombre d'administration, voies utilisées, prémédication par antibiotique ou pas, manque de données sur la quantité de selles utilisées, etc...) (55). Une autre méta-analyse plus récente, confirme une augmentation du taux de guérison de l'infection à *C. difficile* avec plusieurs infusions de TMF. Cette étude rendait un taux d'efficacité de 76% pour une seule administration et jusqu'à 93% de guérisons pour de multiples administrations, toujours avec une hétérogénéité entre les études (70).

A ce jour, le mécanisme d'action exacte de la TMF pour cette indication n'est pas connu.

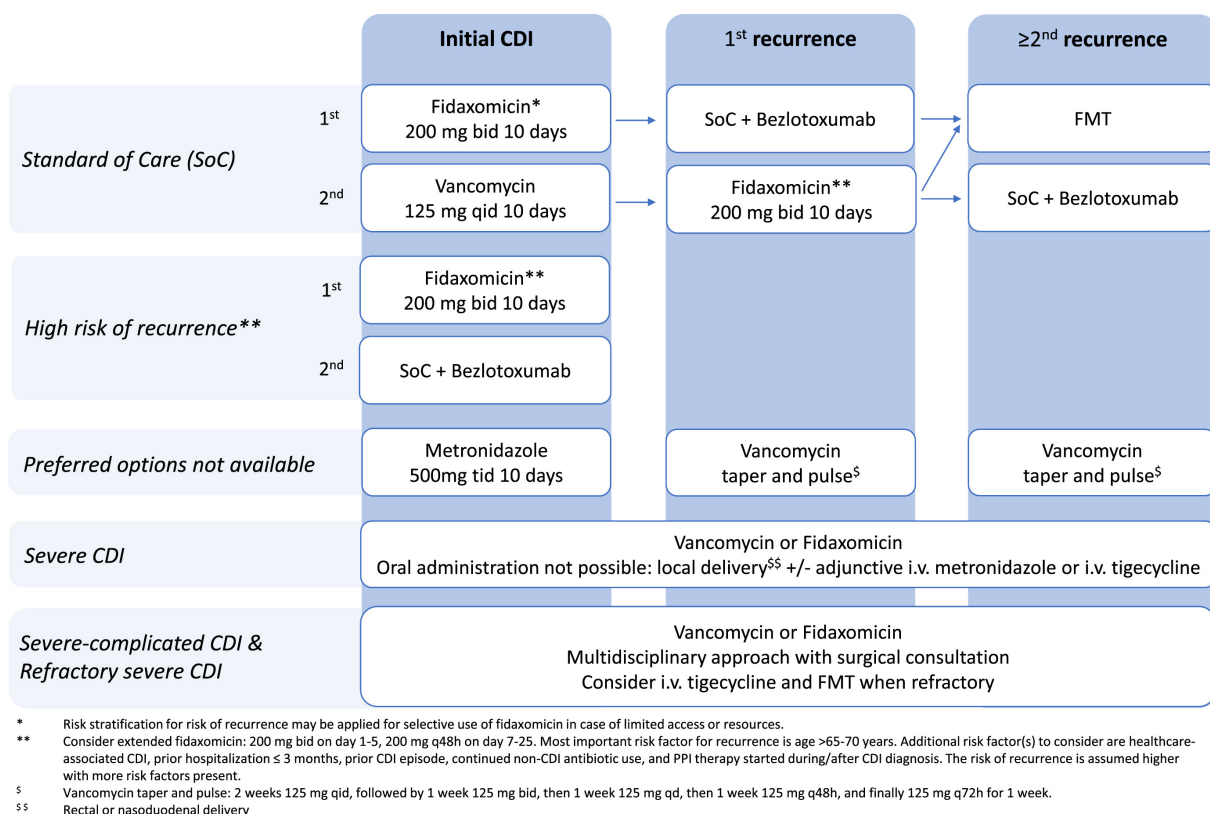


Figure 10 : Algorithme de traitement d'une infection à *C. difficile* selon l'ESCMID (69)

En dehors de cette indication, des demandes compassionnelles peuvent être validées en réunion de concertations pluridisciplinaires (RCP) d'infectiologie/gastro-entérologie et avis du groupe d'experts du GFTF.

### 2.3.2. Compassionnelles

Une spécialité de TMF est disponible en accès compassionnel depuis 2021. Elle concerne le médicament MAAT013. Ce traitement est une suspension de microbiote fécal produite à partir du « *pooling* » de selles collectées sur des donneurs sains rigoureusement sélectionnés selon les recommandations de l'ANSM pour traiter les maladies du Greffon contre l'Hôte (*Graft versus Host Disease* - GvHD). Cette suspension est destinée à la voie rectale uniquement et se déroule en 3 administrations (J0, J7±2 et J14±2) avec un suivi sur 12 mois. Seuls les spécialistes en hématologie ou les médecins compétents en maladie du sang peuvent prescrire ce dernier sur avis favorable d'une réunion de concertation pluridisciplinaire. La demande doit être réalisée sur la plateforme e-Saturne de l'ANSM (71).

### 2.3.3. Recherche

La recherche concernant la TMF est intense. Nous recensons plus de 455 essais cliniques référencés sur le site [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) dont 146 sont actifs ou en cours de recrutement, avec le mot clé « FMT » pour « *fecal microbiota transplantation* » en juin 2023.

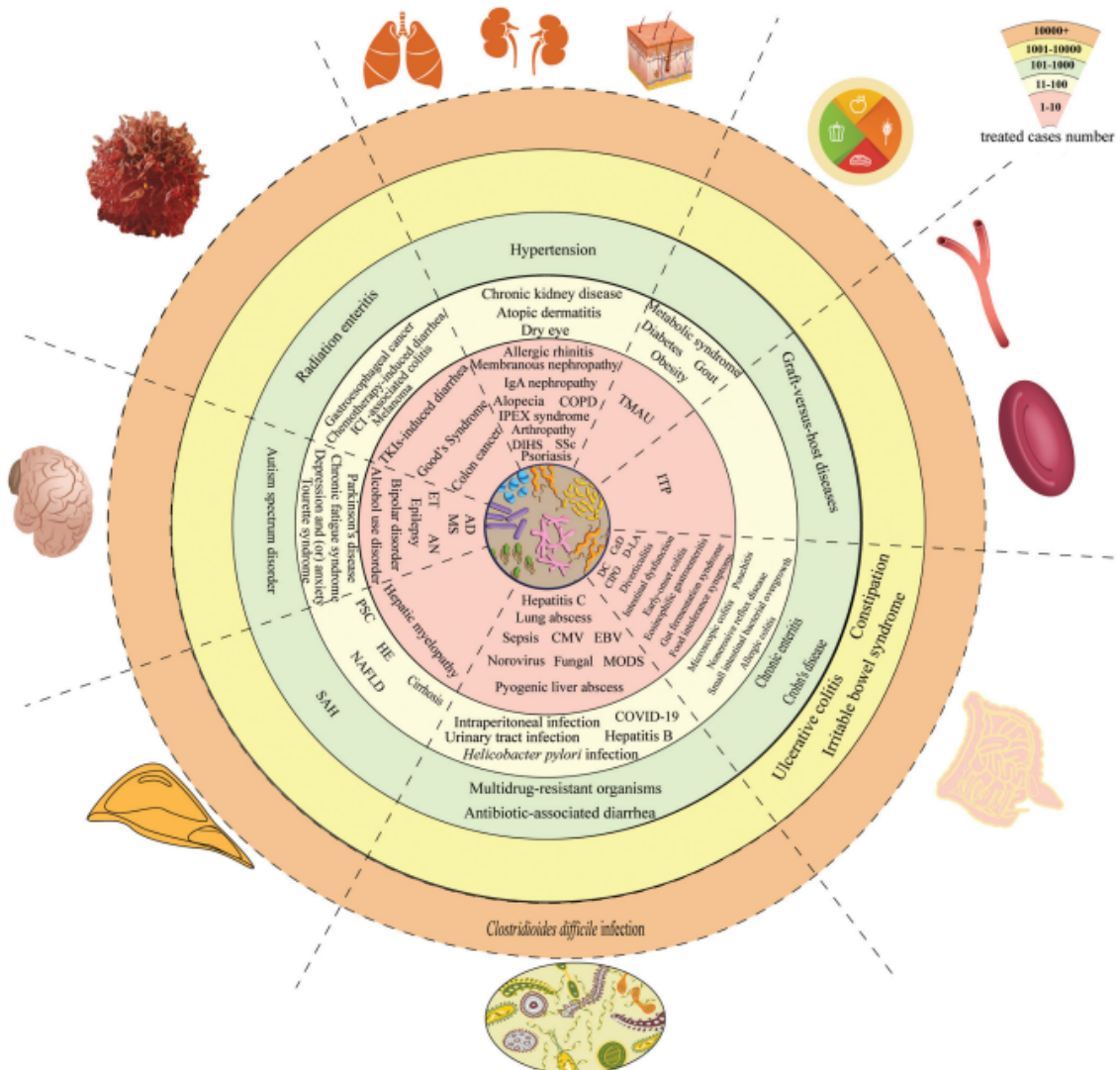
Les principales indications de recherches pour la TMF sont aussi nombreuses que variées balayant les spécialités suivantes : l'oncologie, l'hématologie, l'infectiologie, la gastro-entérologie, etc... Un article de revue chinois a identifié et sélectionné plus de 782 études de recherche à propos de TMF montrant un bénéfice pour traiter l'Homme sans limitation d'âge ou de genre. Il a ensuite classé les études en 8 catégories divisées par la suite en pathologies spécifiques. Enfin, le nombre de cas traités par TMF pour chaque maladie a été réparti par

classe allant de 1-10, 11-100, 101-1000, 1001-10000 et plus de 10000 cas. Le bénéfice de la TMF a été identifié dans 85 pathologies. La figure 11 schématise les résultats de cette étude (72).

Cet article ne peut que donner un aperçu du potentiel que pourrait apporter la TMF dans les pathologies rattachées à la dysbiose. De plus amples investigations cliniques avec des échantillons plus grands (effectifs limités pour certaines publications) et des essais cliniques randomisés sont nécessaires afin de confirmer les propos des publications citées dans cette revue systématique. Il est intéressant de distinguer les trois « types d'inflammation » au regard des pathologies associées à la dysbiose mis en avant dans cet article. Tout d'abord, nous distinguons l'inflammation aiguë (infection à *C. Difficile*), de l'inflammation chronique (colite ulcéreuse, maladie de Crohn) et enfin, l'inflammation chronique à bas bruit (diabète, obésité).

Deux essais cliniques de phase 1 ont rapporté un bénéfice de l'usage de la TMF chez des patients atteints d'un mélanome métastatique réfractaire aux *anti-Programmed cell Death-protein-1* (anti-PD-1). Ces publications ont apportés une preuve de concept sur la capacité de la TMF à affecter la réponse à l'immunothérapie chez des patients atteint d'un cancer (73) (74). Toujours en oncologie, une étude récente sur des souris tend à démontrer l'efficacité de la TMF pour lutter contre le cancer colo-rectal. Cette dernière réduirait l'inflammation et renforcerait la réponse immunitaire intestinale, limitant sa progression (75).

La TMF intéresse également dans le but de décoloniser ou traiter les patients porteurs ou symptomatiques de bactéries multi-résistantes (BMR) aux antibiotiques. Dans le but de réduire l'usage des antibiotiques de réserve ainsi que la morbidité et mortalité des patients. Cette option est à considérer, mais des données supplémentaires d'essais cliniques randomisés multi-centres sont nécessaires afin de trancher la question (76).



**Figure 2:** Benefits from human FMT. AD: Alzheimer's disease; AN: Anorexia nervosa; CeD: Celiac disease; CPO: Chronic intestinal pseudo-obstruction; CMV: Cytomegalovirus; COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; COVID-19: Coronavirus disease 2019; DC: Diversion colitis; Ig A: Immunoglobulin A; DIHS: Drug-induced hypersensitivity syndrome; D-LA: D-lactic acidosis; EBV: Epstein-Barr virus; ET: Essential tremor; FMT: Fecal microbiota transplantation; HE: Hepatic encephalopathy; ICI: Immune checkpoint inhibitor; IPEX syndrome: Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome; ITP: Immune thrombocytopenia; MODS: Multiple organ dysfunction syndrome; MS: Multiple sclerosis; NAFLD: Non-alcoholic fatty liver disease; PSC: Primary sclerosing cholangitis; SAH: Severe alcoholic hepatitis; SSC: Systemic sclerosis; TKI: Tyrosine kinase inhibitor; TMAU: Trimethylaminuria.

Figure 11 : Les bénéfices potentiels de la TMF par pathologies d'après Wang et al. (72)

## 2.4. Le don de selles

### 2.4.1. Donneurs de selles

Le don de selles est par définition gratuit. Il s'agit d'un acte désintéressé, basé sur le volontariat, par lequel une personne donne ses selles sans espérer de rémunération en retour. Nous pouvons identifier deux types de dons : le don dirigé issu de l'entourage du malade (avec lien de parenté ou non) et le don anonyme.

Bien que ni l'ANSM, ni le GFTF n'excluent pas le don dirigé, cette première précise que les principes généraux régissant les dons s'appliquent aux dons de selles. Ainsi, le don de selles relevant de l'utilisation d'éléments et produits du corps humain se conforme à l'article 16 et suivants du code civil et à l'article L. 1211-5 du CSP (77), au même titre que le don de sang. La nécessité de l'anonymat s'impose donc, pour des raisons de sécurité médicale et d'éthique.

Toutefois, en matière de TMF, la nécessité thérapeutique pour le traitement permet de déroger à ce principe. Il est également rappelé par l'ANSM que bien qu'étant potentiellement plus facile à accepter pour le patient de choisir son donneur, il faut prendre en compte l'éventuelle difficulté que représente l'annonce de l'exclusion d'un des proches et ses conséquences. La sécurisation du don dirigé repose sur l'honnêteté des réponses fournies par le donneur lors de l'entretien médical, ce qui en fait un don à risque pour le patient. Il peut être préférable de s'orienter davantage vers des dons anonymes (77) (61).

### 2.4.2. Le screening du donneur : les recommandations

Le processus de recrutement d'un donneur s'inscrit dans un parcours codifié. Le décret de juillet 2023 précise qu'un médecin doit être nommé responsable de la sélection du donneur dans l'établissement (65). Tout d'abord, un questionnaire de présélection est soumis au patient. Ensuite, sous critère d'éligibilité, ce dernier est suivi par un entretien médical qui permettra ou

non la poursuite du processus. Tous deux ont pour but d'identifier et de diminuer le risque de transmission d'agent(s) pathogène(s) en mettant en lumière une situation à risque ou des comorbidités rendant incompatible le don. La liste des critères spécifiques au don de selles à renseigner est détaillée dans le tableau ci-dessous. L'ANSM et le GFTF recommandent d'utiliser, en complément, un questionnaire similaire à celui préalable au don de sang (77)(61).

Informations	Critères d'exclusion au don	Critères de sélection avec appréciation individuelle
Co-morbidités	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Troubles digestifs (diarrhée aiguë ou chronique) dans les 3 mois précédant le don</li> <li>■ <b>Pathologie chronique connue</b></li> <li>■ <b>Antécédent de fièvre typhoïde</b></li> </ul>	Donneurs avec antécédents familiaux : <ul style="list-style-type: none"> <li>– MICI (lien de parenté)</li> <li>– maladies auto-immunes (lien de parenté)</li> <li>– cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)</li> </ul> Donneurs avec antécédents personnels d'hypertension artérielle ou hypercholestérolémie non compliquée
Traitement médicamenteux	Donneur suivant un <b>traitement au long cours</b> <sup>1</sup> Prises d'antibiotiques dans les 3 mois <sup>1</sup>	Traitement de l'hypertension artérielle ou de l'hypercholestérolémie non compliquée
Voyages	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Séjour en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don</li> <li>■ Résidence de plusieurs années en zone intertropicale</li> <li>■ <b>Hospitalisations à l'étranger</b> de plus de 24 h dans les 12 derniers mois (y compris membres de l'entourage du donneur)<sup>2</sup></li> </ul>	Consommation de gibier (doit faire rechercher une trichinose dans le bilan de dépistage)
Âge	Donneur mineur <sup>3</sup>	Donneur âgé (> 65 ans) <sup>4</sup>
Statut pondéral	Non limitant	Donneur avec IMC > 30 <sup>5</sup>

<sup>1</sup> Pour des raisons d'efficacité : le microbiote pouvant être altéré.

<sup>2</sup> Afin d'éviter le portage de bactéries multirésistantes – cf. *Recommandations pour la prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe)*, Haut Conseil de Santé Publique, Juillet 2013.

<sup>3</sup> En l'absence d'arguments scientifiques, il convient de ne pas inclure les mineurs, en application des principes généraux régissant le don et l'utilisation des éléments et produits du corps humain (art. L. 1241-2 du CSP) et de l'art. L. 1121-7 du CSP applicable dans le cadre des recherches biomédicales.

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

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

Figure 12 : Liste des critères de non inclusion absolus et relatifs spécifiques au don de selles d'après le GFTF (61)

Il faut préciser que la consultation médicale comportera un nouveau questionnaire allégé suivi d'un examen clinique. Le questionnaire sera réalisé avant chaque don. L'examen médical comportera la recherche de lésions au niveau de la marge anale notamment pour éviter la transmission du papillomavirus humain et du virus de l'herpès.

Il permettra la réalisation de prélèvements sanguins en vue d'analyses biologiques et microbiologiques nécessaires détaillées ci-dessous. Plusieurs échantillons de selles sur des dons

distincts sont également requis. Leur aspect macroscopique sera analysé. Elles devront être moulées et exemptes d'urine et de sang. Un bilan biologique standard est effectué comportant une glycémie à jeun, créatinine, bilan hépatique (ASAT, ALAT, Gamma GT, PAL, Bilirubine), C-réactive protéine, NFS, TP et TCA. Cette consultation sera également l'occasion de sensibiliser le donneur sur des situations à risque de contamination et d'exclusion (voyages, habitudes alimentaires, prises d'antibiotiques, etc...) (61).

	Sang (sérologies)	Selles
Bactéries	<i>Treponema pallidum</i> (TPHA, VDRL)	<i>Clostridium difficile</i> Coproculture standard : <i>Salmonelle</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Shigelle</i> , <i>Campylobacter</i> Bactéries multirésistantes aux antibiotiques <sup>1</sup>
Virus <sup>1</sup>	Virus de l'immunodéficience humaine (HIV) Virus T-lymphotropique humain (HTLV) Virus des hépatites A, B, C et E (HVA HVB HVC HVE) Cytomégalovirus (CMV) <sup>3</sup>	Norovirus <sup>2</sup> Rotavirus <sup>2</sup> (uniquement si le donneur est un enfant < 8 ans)
Parasites	<i>Strongyloides stercoralis</i> <sup>4</sup> <i>Amibiase</i> <sup>4</sup> <i>Trichinella</i> sp. <sup>5</sup>	<i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Cryptosporidium</i> sp. (Si patient immunodéprimé) <sup>6</sup> <i>Cyclospora</i> sp. <sup>6</sup> <i>Entamoeba histolytica</i> <sup>6,7</sup> <i>Giardia intestinalis</i> <sup>6</sup> <i>Isospora</i> sp. <sup>6</sup> <i>Microsporidies</i> <sup>6</sup>

<sup>1</sup>Écouvillon sur prélèvements de selles, recherche d'Enterocoques résistants aux glycopeptides (ERG), Enterobacteries productrices de bêta-lactamases a spectre étendu (EBLSE) et Enterobacteries productrices de carbapenemases (EPC).

<sup>2</sup>Les virus sont recherchés dans les selles à l'aide de tests de biologie moléculaire par PCR.

<sup>3</sup>Uniquement pour vérifier l'absence de séro-discordance avec le receveur.

<sup>4</sup>Sérologie si séjour en zone à risque.

<sup>5</sup>En cas de consommation de gibier uniquement.

<sup>6</sup>Examen parasitologique des selles sur trois prélèvements différents.

<sup>7</sup>En cas de séjour en zone d'endémie ambiante, un PCR *E. histolytica* est recommandée.

Figure 13 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur de selles d'après le GFTF (61)

Il est important de noter que cette liste diffère de celle publiée par l'ANSM (annexe 1). En effet, cette dernière recommande la recherche d'agents infectieux dont le dépistage n'est bien souvent pas pratiqué dans les laboratoires des hôpitaux, voir, qui ne l'est que dans les Centres Nationaux de Référence (CNR) avec des délais importants (7 jours ou plus). D'autre part, la complexité de mise en œuvre du dépistage de l'ensemble des pathogènes listés par l'ANSM s'ajoute au fait qu'il n'y ait pas de distinction entre risques avérés et potentiels théoriques pour le receveur du transplant (61).

Ces éléments rendent complexe l'organisation logistique pour la réalisation de TMF et diminuent grandement le nombre de donneurs potentiels. De plus, comme souligné par le GFTF la liste des pathogènes à rechercher varie d'un pays à l'autre. Tous ces éléments justifient en pratique courante de retirer la recherche dans les selles *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, les virus entériques à l'exception du Norovirus pour l'adulte et du Rotavirus pour l'enfant afin de traiter les infections récidivantes à *C. difficile* hors protocole de recherche et patient immunodéprimé (61).

Depuis, deux consensus ont été publiés concernant cette pratique. Le premier, publié en 2017, est un consensus européen axé sur la pratique clinique (67). Tandis que le second, publié en 2019, est un consensus international décrivant les différents aspects à prendre en compte afin d'établir une banque de selles en vue de TMF (78). Une dernière publication pousse vers la standardisation des banques de selles congelées permettant la sécurisation et optimisant l'accès à la TMF. En effet, cette sécurisation passe par l'uniformisation des critères d'accès au don de selles, notamment avec la systématisation de recueil de paramètres supplémentaires nécessaires pour la transplantation chez le sujet immunodéprimé. Cette pratique permet, ainsi, de garantir un risque infectieux le plus réduit possible pour les patients concernés (79).

Les consensus cités précédemment précisent la recherche de *Blastocystis hominis* en routine. La présence du parasite est considérée également comme un critère d'exclusion pour l'ANSM alors que le GFTF ne le considère pas. Dans la littérature, son pouvoir pathogène est débattu. En effet, une publication rapporte l'administration de 31 suspensions fécales contenant *Blastocystis* par des selles. Sur 16 des 31 patients ayant des échantillons de selles disponibles avant et après TMF, 50% ont développé une colonisation intestinale de *Blastocystis*. Aucun d'entre eux, portage démontré ou pas suite au transplant contenant le parasite, n'ont développé



de symptômes gastro-intestinaux (80). Dans ce sens, un autre consensus d'expert, publié en 2020, mentionne ce parasite mais ne considère pas sa présence comme un critère d'exclusion du donneur. Il recommande de surveiller les effets de sa transmission (79).

L'évolution des recommandations du dépistage en vue d'un don est intimement liée au contexte sanitaire. Nous observons deux événements marquants donnant lieu à la publication d'actualisation des conditions d'accès au don de selles par l'ANSM sur avis d'experts. La première, suite à la pandémie due au coronavirus en 2020 (81) et la seconde lors de l'épidémie de variole du singe (virus *monkeypox*) en 2022 (82). Ces mises à jour renforcent l'interrogatoire clinique avec l'ajout au questionnaire d'items spécifiques au coronavirus afin de déceler un antécédant d'infection, de contact dans les 28 jours ou des symptômes qui seront recherchés à l'examen médical. Des analyses biologiques spécifiques au coronavirus seront également réalisées en début, tout au long et à la fin de la période de don.

Les techniques de dépistages ont également évolué. Dans les premières recommandations de l'ANSM, on note que la culture est couramment conseillée comme technique de référence. Toutefois, les groupes d'experts s'associent pour mettre en avant dans les consensus plus récents l'usage de la PCR, plus sensible (79). C'est le cas pour la recherche de *C. difficile* dont la méthode de culture est longue et complexe. Elle a été remplacée par une technique de PCR ou du test à la glutamate déshydrogénase (GDH) qui lui est spécifique (83). La culture reste cependant utilisée pour déceler les résistances bactériennes aux antibiotiques.

De nouvelles méthodes de PCR multiplex permettant de rechercher différents pathogènes (bactéries, virus et parasites) sur un même prélèvement ont été validées en routine. Elles permettent de réaliser la recherche de nombreux pathogènes gastro-intestinaux nécessaire à la validation du donneur. Néanmoins, l'utilisation de ces techniques induit probablement

l'exclusion, à tort, de donneurs potentiels car elles recherchent le matériel génétique des pathogènes et non des micro-organismes viables (84). En outre, Hitchcock & al. ont mis en évidence un manque de reproductibilité de la PCR *FilmArray Gastro Intestinal Panel* (BioFire Diagnostics, Salt Lake City, UT) pour des pathogènes (*Y. enterocolitica* et *V. cholerae*). La répétition du test permet d'éliminer une partie des faux positifs. Ce constat mettait en valeur l'importance d'interpréter un résultat positif dans le contexte clinique du patient (85). Dans le cadre de la TMF, le donneur étant forcément asymptomatique pour pouvoir réaliser un don, l'utilisation de ce type de PCR peut potentiellement engendrer l'exclusion à tort d'un donneur. Ce type de PCR est donc un outil pertinent pour le dépistage des donneurs, mais un résultat positif sur des pathogènes peu fréquents chez une personne asymptomatique représente un coût supplémentaire si un second test doit être effectué. De plus, la décision d'exclure ou non le donneur potentiel à l'issue du second test doit être discutée entre les biologistes et cliniciens référents de l'activité.

En cas de compatibilité des résultats, le donneur signera un consentement relatif au don, mettant en évidence l'importance de la véracité des réponses fournies aux différents questionnaires lui étant soumis ainsi que les risques infectieux encourus par le receveur. Le consentement sera révocable à tout moment. Deux séquences temporelles se dessinent. Nous distinguons une séquence en vue d'un usage des selles immédiat, et une autre destinée à un usage ultérieur des selles qui seront congelées à -80°C. Pour ses deux situations, les délais réglementaires entre le dépistage et le don sont décrits ci-après :

- Cas des selles fraîches : Le délai entre les contrôles biologiques, bactériologiques, parasitologiques et le don effectif ne doit pas excéder 14 jours. En soin courant, le GFTF précisait que ce délai pouvait être allongé à 21 jours. L'actualisation par le CST mandaté

par l'ANSM en 2021 précise que dans les recommandations futures ce délai de 14 jours sera conservé (83).

- Cas des selles congelées : Ce sont des campagnes de don qui sont récoltées, chacune encadrées par deux séries complètes de dépistage d'agents pathogènes et un questionnaire excluant un risque de contamination avant chaque don. Le délai maximum d'une campagne est fixé à 8 semaines. Bien que toutes les selles ne soient pas contrôlées, cette pratique sécurise le don en conservant des aliquotes de selles permettant un nouveau contrôle *a posteriori* en cas de crises sanitaires. Nous remarquons que le CST a sélectionné la plus petite fenêtre temporelle de campagne. D'autres consensus proposent un délai allant de 8 à 12 semaines pour encadrer deux séries de tests (67)(78)(79).

Il est important de souligner que l'usage « immédiat » des selles, c'est à dire, du don dans les 6 heures après son émission n'est presque plus réalisé. En pratique, les différentes unités chargées du recueil, de la transformation et de l'administration sont parfois sur des sites différents, rendant complexe et chronophage la logistique. De plus, le délai de 14 jours pour valider l'ensemble des tests est contraignant. Néanmoins, comme souligné par le CST, l'utilisation immédiate reste une technique de recours, si les stocks de dons congelés s'avèrent insuffisants (83). La validation du procédé de conservation par congélation a permis de créer des « banques de selles », favorisant la standardisation des protocoles de TMF, mais permettant également un accès rapide et sécurisé en s'affranchissant du délai de dépistage microbiologique du donneur grâce au stockage de la préparation (67)(86).

### 2.4.3. Des « super donneurs »

La transplantation de microbiote fécal semble ne pas se réduire seulement en l'apport d'un microbiote exempt de pathogène. En effet, de plus en plus d'articles mettent en évidence une occurrence plus élevée de réussite de procédures avec les selles de certains donneurs. Lors du séquençage des espèces microbiennes chez ces derniers, nous notons une diversité microbienne plus importante. Cela laisse sous-entendre que la diversité bactérienne, notamment, est un facteur clé du succès de la procédure. Ces donneurs sont qualifiés de « super donneurs » (87)(88).

Ce propos a été mis en évidence autour de la disparité des résultats de TMF dans l'indication des maladies inflammatoires chroniques. Les résultats, bien qu'encourageant pour cette indication, restent nuancés. À la suite de ce constat, une signature spécifique de bactéries a été mise en corrélation avec la réussite à court puis à long terme de la transplantation lorsqu'elle contient des espèces appartenant à la grappe des *Clostridium IV* telles que la famille des *Ruminococcaceae* et des *Lachnospiraceae*. Nous constatons une augmentation en abondance relative de ces espèces chez le receveur. Si l'on regarde au niveau métabolique, ces bactéries apportent notamment une production accrue d'AGCC (tel que le butyrate) qui possède un rôle immunomodulateur (87).

L'identification des espèces bactériennes clés, associées au succès de la TMF dans la vaste gamme de pathologies où l'on retrouve une dysbiose, est capitale. C'est le point de départ qui va permettre de comprendre les processus physiologiques puis physiopathologiques impliqués ouvrant la porte à de nouvelles stratégies thérapeutiques (en termes de sélection du donneur de TMF jusqu'au développement de probiotiques ciblés sur les espèces manquantes (89)).

Mais la relation complexe entre l'hôte et son microbiote amène également à s'interroger sur la compatibilité transplant/receveur. La génétique et le système immunitaire du patient est une piste intéressante pour exploiter cette dernière (88). Nous estimons que 5 à 10% de variabilité des taxons bactériens observés entre individus ont une origine génétique. Parmi les taxons héréditaires, la majorité est rattachée à des gènes impliqués dans l'immunité. A partir de ce constat, le microbiote et le système immunitaire étant étroitement intriqués, il paraît possible que les échecs de transplantation puissent être dus à une réaction immunitaire locale dans le tube digestif du receveur. C'est ce qu'ont essayé de mettre en évidence Ponce-Alonso et al. (90) dans une étude visant à évaluer la TMF dans la rectocolite hémorragique. Afin d'éviter le rejet par le système immunitaire du patient, une biopsie rectale était réalisée afin d'isoler la population de cellules lymphoïdes de ce dernier. Cet isolat est ensuite incubé avec trois échantillons de microbiote issus de trois donneurs différents validant les critères de sélection relatif au don de selles. Ensuite, le donneur de TMF est sélectionné sur la base du microbiote induisant la plus faible production de cytokines pro-inflammatoires au contact des cellules lymphoïdes du receveur. La TMF chez ce patient fut un succès au niveau clinique mais également au niveau de la diversité microbienne digestive qui est devenue indiscernable entre le donneur et le receveur.

Dans une autre publication plus récente, le même auteur teste un protocole similaire sur 4 patients atteints de rectocolite hémorragique ne montrant cette fois pas d'intérêt d'un test de compatibilité immunologique (91).

Si nous élargissons nos recherches aux maladies métaboliques telle que l'obésité, de nombreuses données manquent également. Mais le constat semble identique lors de TMF chez l'homme. Dans ce contexte, certaines études indiquent qu'il n'y a pas d'effet de la TMF sur le poids des patients, mais en plus, que l'effet de cette dernière sur le métabolisme est transitoire.

Nous constatons une amélioration de la sensibilité à l'insuline 6 semaines post TMF mais pas après 18 semaines. De manière concomitante, on observe à l'échelon du microbiote une modification significative à 6 semaines avant un retour à la diversité initiale à 12 semaines (92). Ce phénomène de retour à la diversité microbienne est connu et décrit des scientifiques sous le terme de résilience digestive (93). Plus d'investigation sur les mécanismes de la TMF impliqués dans ces pathologies sont nécessaires afin de comprendre l'implication du donneur sur cette hétérogénéité comparée au succès de la TMF dans les infections récidivantes à *C. difficile*.

Afin de standardiser les méthodes d'extraction d'ADN fécal il a été proposé à la communauté scientifique un protocole standardisé (le protocole Q) disponible en ligne dans le but de faciliter les comparaisons d'études en s'affranchissant des variations liées à la technique et potentiellement de mettre en évidence de nouvelles propriétés sur le microbiome (94)(95).

## 2.5. La préparation

### 2.5.1. Principe

Le microbiote ayant un statut de médicament, la réglementation impose une préparation sous la responsabilité d'un pharmacien dans des locaux adaptés et rattachés à la pharmacie à usage intérieur (PUI) d'un établissement de santé (77). Ce dernier peut réaliser une convention de sous-traitance avec une autre PUI si il ne dispose pas de locaux adaptés. A défaut, le laboratoire de biologie médicale de l'établissement de santé pourra accueillir l'équipe pharmaceutique en charge de la préparation si il dispose de moyens adaptés au traitement des selles (61).

La formulation consiste à mettre en forme la matière première brut afin de permettre sa conservation à -80°C en vue d'un usage ultérieur ou non si son administration est immédiate.

Ainsi, les selles fraîchement émises sont prises en charge afin d'être transformées. La durée de validité d'un don est de 6 heures (83). En ce qui concerne le lieu du don, le décret de juillet

2023 précise que ce dernier doit être réalisé dans l'établissement, mais peut être par dérogation effectué au domicile du donneur à condition que ce dernier signe un document écrit l'engageant à respecter des conditions de prélèvement et de conservation telles que définies par les bonnes pratiques (65).

Le mélange de selles de plusieurs donneurs en réalisant un mélange ou « *pooling* » de selles n'est pas recommandé dans la pratique actuelle. Cela complexifie la traçabilité de la préparation par rapport au donneur individuel. De plus, il n'y a pas de données en faveur de cette pratique dans la littérature (61)(79).

### 2.5.2. Formulation

Le don est réalisé dans un contenant à usage unique fermant hermétiquement et conservé à 4°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ). La préparation sera effectuée dans un local dédié, avec un équipement permettant d'éviter la contamination croisée et garantissant la sécurité du personnel, tel qu'un poste de sécurité microbiologique ou une sorbonne. Les opérateurs doivent revêtir des équipements de protection individuelle tels qu'un masque de protection, des lunettes de protection, des gants à usage unique, une charlotte et une casaque (61). La préparation se déroule à température ambiante comme décrit ci-après :

Tout d'abord, la matière première est pesée avec une balance de précision. Il est recommandé 50g de selles par transplant, sachant que l'on peut utiliser jusqu'à 200g de selles (61). La matière première étant rare, d'autres études ont montré une efficacité de la TMF avec 30g à 25g de selles seulement (67)(78). Une revue de la littérature suggère moins d'échecs après la première administration pour une dose supérieure ou égale à 50g de selles dans l'indication standard (70). Néanmoins, l'absence d'études comparatives et la variation des voies d'administrations utilisées ne permet pas d'affirmer solidement ce propos. Il est intéressant de noter que la masse

de selles ne représente pas qualitativement et quantitativement le microbiote qu' elle contient, ce qui met en valeur le coté empirique du choix de la quantité de selles native par transplant (50).

Une fois la pesée effectuée, les selles sont diluées avec du chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% stérile avant d'être homogénéisées avec un mélangeur ou un mixeur réutilisable (après désinfection et stérilisation) ou à usage unique. Le volume final peut varier de 200mL à 500mL. Les experts mettent en garde contre des volumes importants qui augmentent le risque de régurgitations et de pneumopathies d'inhalation si administrés par voie haute (61). Pour le cas des suspensions destinées à être congelées, la dilution se fera avec une solution de NaCl 0,9% contenant 10% de glycérol jouant le rôle de cryoprotecteur (67)(78). La préparation est ensuite filtrée dans un contenant stérile, à l'aide d'une gaze stérile posée sur un entonnoir à usage unique. Cette étape permet de retirer de la préparation les débris alimentaires non digérés qui pourraient boucher le dispositif d'administration (61). Finalement, la suspension est répartie dans le(s) dispositif(s) d'administration, puis, il est étiqueté conformément à la réglementation relative aux Bonnes Pratiques de Préparation (BPP). Une fois de plus, pour les solutions congelées, la suspension sera conditionnée en flacons de 500mL avant d'être étiquetée puis congelée à -80°C avec une durée de conservation fixée à 1 an (78)(86).

Concernant l'étape de décongélation, cette dernière peut se faire en plaçant le transplant dans un bain marie à 37°C jusqu'à obtention d'une suspension sans glaçon. Il est également possible de laisser la suspension au réfrigérateur (environs 12 heures). Sa validité décongelée est de 6 heures, elle ne devra en aucun cas être recongelée (67)(78)(86).

Avant dispensation, la préparation pourra être placée dans un sac en polyéthylène et transportée entre 2°C et 8°C jusqu'à l'unité de soins.



### 2.5.3. Traçabilité & contrôle

Le statut de la TMF en France implique une traçabilité stricte. Ainsi, des prélèvements biologiques issus du donneur doivent être conservés dans une coprothèque et une échantillothèque. Un échantillon contiendra environ 2g des selles émises au moment du don, tandis qu'un second sera rempli avec 5mL de la suspension finale prête à être administrée. Tous deux seront placés dans des tubes en polypropylène et conservé à -80°C pour une durée respective de 5 et 3 ans (61).

Le dossier de lot comporte les éléments suivants :

- Les documents attestant du consentement, de la validation des prélèvements sanguins et de selles relatifs au donneur,
- Les questionnaires initiaux et des jours relatifs au don remplis par le donneur,
- Le consentement éclairé et signé par le patient receveur,
- Les données issues de la formulation (dossier de fabrication).

On précise également qu'à l'heure actuelle il n'existe pas de contrôle spécifique validé pour la préparation de microbiote fécal. C'est le respect du protocole qui assure la qualité de la préparation (96). L'état actuel des connaissances sur le microbiote ne permet pas de définir des critères en termes de richesse d'espèce bactérienne. De plus, le dénombrement des bactéries présente dans la préparation finale n'est pas représentatif de l'entière diversité du transplant en fonction de la technique de détection utilisée. Certaines bactéries sont sous formes de spores pour survivre dans le milieu extérieur et faciliter la transmission à un nouvel hôte. Ces dernières germinent uniquement en condition anaérobie, tel que dans le colon. La complexité du produit final, dont la composition de départ tant pour la matrice que la diversité biologique est inconnue, peut difficilement reposer sur un dénombrement quantitatif des bactéries présentes (97). Mais

ce contrôle des préparations bien que complexe à mettre en œuvre sur cette préparation magistrale ou hospitalière, offre l'accès à des informations qualitatives et quantitatives sur les transplants qui permettra de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans le succès de la TMF (espèces bactériennes, métabolites, etc...). Une publication décrit l'utilisation du protocole Q pour évaluer la qualité du microbiote du transplant dans une banque de selles (98).

L'établissement, qui héberge le stockage des selles congelées, doit également mettre en place un suivi de la température des congélateurs au moyen de sondes calibrées. Ce dispositif est nécessaire afin d'être alerté ou d'identifier une défaillance permettant ainsi de prendre des mesures correctives immédiates ou bien de détruire des préparations ayant subies des variations trop importantes de température.

## 2.6. Protocole thérapeutique et voies d'administrations

### 2.6.1. Protocole

L'administration de la TMF s'insère dans un protocole défini. Le patient doit recevoir 4 jours d'antibiotique *per os* ciblant *Clostridioides difficile* (vancomycine ou fidaxomicine). Cette étape permet de réduire l'abondance du pathogène. Ensuite, une fenêtre variant de 12 heures à 48 heures peut être réalisée mais sans obligation. La veille de l'administration une préparation colique est administrée à base de 4 litres de polyéthylène glycol 4000 associée à des électrolytes (2 litres la veille puis 2 litres le matin de la transplantation). Enfin, l'administration de la TMF sera réalisée (67).

### 2.6.2. Voies d'administration actuelles

Deux voies sont possibles pour la TMF recouvrant de nombreux modes d'administrations. On distingue les administrations par voie haute et par voie basse. La procédure d'administration pour chaque voie est décrite ci-dessous.

- Voie haute :
  - Sonde naso-duodénale : Une sonde est placée dans le duodénum sous contrôle radiologique. Ensuite, un inhibiteur de la pompe à proton (IPP) est administré *per os*. Puis, le lendemain (jour de la transplantation), le patient sera à jeun. Une nouvelle prise d'IPP sera réalisée 2 à 3 heures avant l'administration. Le patient sera placé en position demie-assise et la TMF formulée dans des seringues en polypropylène sera administrée à la vitesse de 25mL/min avec un volume max de 500mL. Il est conseillé d'utiliser des seringues à « gavage » de 50 mL afin d'éviter le colmatage du dispositif. Pour les volumes importants (au-delà de 250mL), il est recommandé de réaliser une pause de 10 minutes à la moitié du volume administré. La fin de l'administration est suivie d'un rinçage à l'eau. Le retrait de la sonde pourra être effectué 30 minutes plus tard et le patient restera à 45° pendant 4 heures pour prévenir un risque d'inhalation (61)(86).
  - Sonde naso-gastriques (SNG) : La procédure est similaire à la voie citée ci-dessus. L'unique différence est la position de l'extrémité distale de la sonde qui loge dans l'estomac. Elle est plus facile à mettre en œuvre mais expose au risque d'inhalation pouvant se compliquer du décès (99). Par conséquent, cette voie n'est pas recommandée chez les sujets avec antécédents d'inhalation ou de reflux gastro-œsophagien. De plus, cette voie expose le transplant à l'acidité gastrique, mais il n'y a pas d'étude montrant une diminution de l'efficacité par cette voie (86).

- Gélules : La matière fécale est mise en suspension et concentrée par centrifugation puis, répartie dans une trentaine de gélules d'hypromellose doubles encapsulées qui seront administrées en 2 fois (15 gélules J1 et 15 gélules J2) (100). Cette forme galénique est intéressante car elle est moins invasive pour le patient. Elle ne figure pas dans les recommandations du GFTF car antérieure à son développement. Cependant, aujourd'hui elle est disponible en France auprès du centre de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP).
- Voie basse :
  - Lavement : la préparation sera placée dans une poche à lavement (pour un volume allant jusqu'à 500mL). Une canule pré-lubrifiée est introduite le plus loin possible par une infirmière diplômée d'état qui, par la suite, réalisera l'administration. Le lavement devra être gardé le plus longtemps possible (minimum 2 heures). Afin de faciliter le processus, il est conseillé au patient de rester alité (86).
  - Coloscopies : La préparation sera dispensée en seringues, pour un volume d'environ 300mL. Elle sera administrée par un médecin via un canal du coloscope. On note que l'anesthésie est un frein à l'utilisation de cette voie chez des sujets fragiles. Il persiste également un faible risque de perforation colique inhérent à l'acte (< 1/1000) (86).

On remarque que, dans les recommandations, aucune voie d'administration n'est à préférer sur un critère d'efficacité. C'est principalement l'état de santé du patient qui peut orienter vers un type d'administration plutôt qu'un autre. Chez les personnes âgées, immunodéprimées ou les patients gravement malades, une administration par lavement doit être préférée face aux conséquences d'une administration par voie haute (nausées et vomissements pouvant engendrer

une pneumopathie) et la contre-indication à une anesthésie limitant l'administration par coloscopie. La mise en forme par gélules est intéressante car potentiellement plus acceptable pour le patient, mais reste contraignante à cause du volume important de celle-ci.

### 2.6.3. Voie d'administration en développement

- Gélules lyophilisées :

Actuellement, un nombre croissant de publications évoquent l'utilisation de gélules à base de lyophilisat de microbiote. C'est à dire de suspensions de selles congelées desquelles l'eau a été sublimée afin d'obtenir une poudre sèche. Tout l'intérêt de ce procédé est l'importante réduction du volume, réduisant le nombre de gélules par cures de 30 à seulement 2 à 5 gélules (101)(102)(103). Mais les méthodes ne sont pas standardisées, aussi bien l'aspect formulation (vitesse et mode de centrifugation, excipients dont cryo-conservateurs notamment) que le procédé en lui-même (paramètres de durée et températures du lyophilisateur) (50). Certains utilisent des gélules gastro résistantes, d'autres une double encapsulation. Il en est de même pour la conservation des gélules lyophilisées, un stockage au long court à -80°C, -20°C ou 4°C pour le court terme. Mais l'avantage de cette forme est la possibilité de stockage à température ambiante, laissant entrevoir plus de flexibilité dans l'usage de la TMF à l'avenir (104).

Malgré l'hétérogénéité des protocoles, les premières données cliniques sur l'efficacité de cette formulation montre des résultats plus qu'encourageant dans le traitement des infections récidivantes à *C. difficile* (105)(106).

De manière synthétique, les selles d'un donneur ont donc actuellement trois formulations possibles : frais, congelées ou lyophilisées. La figure 14 résume ces préparations.

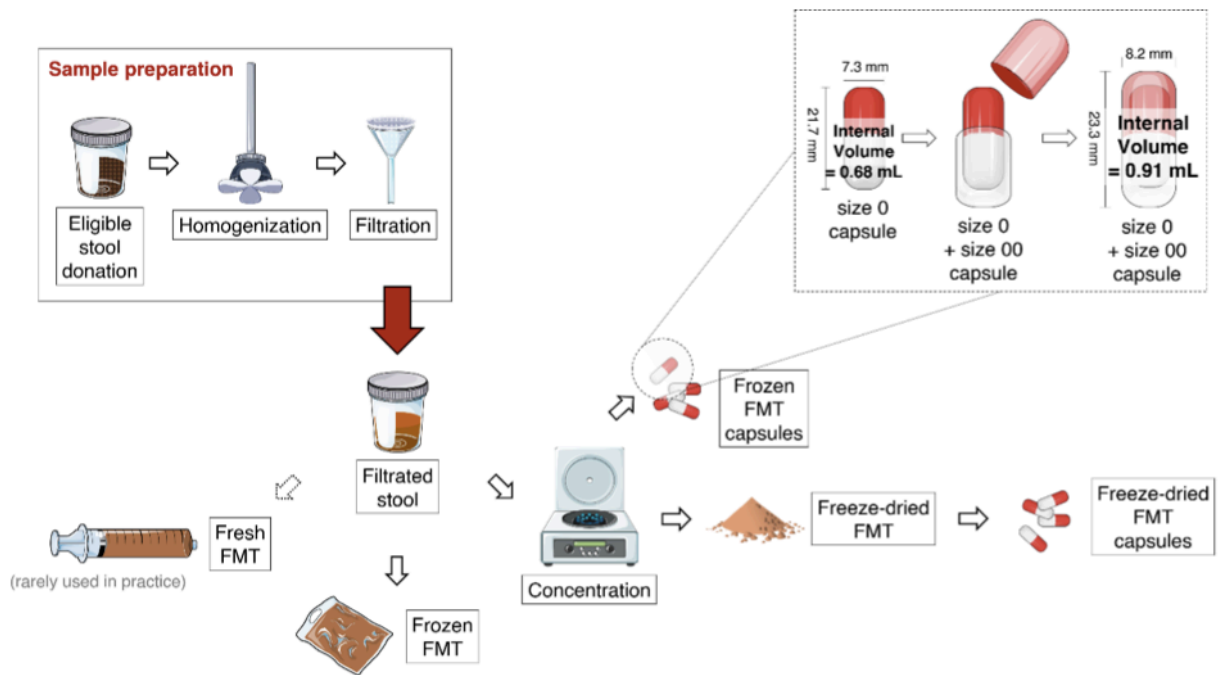


Figure 14 : Illustration des différentes possibilités de formulations d'un transplant de microbiote d'après Rakotonirina et al. (50)

### 3. Une pratique hétérogène en France

#### 3.1. Introduction

À la suite de l'exclusion de notre donneur usuel lors du screening, la problématique du manque de don de selles couplée à des échecs répétés d'inclusion de donneurs sur notre établissement, nous a amené à nous interroger sur notre pratique ainsi qu'à celles des autres établissements réalisant des TMF en France. En effet, les recommandations de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) date de 2016. Or depuis de nouvelles techniques analytiques ont fait leur apparition pour le diagnostic des agents infectieux (PCR, dont la PRC multiplex notamment). La révision des recommandations de l'ANSM est en cours, des consensus ont été publiés (Européen en 2017 et international en 2019). Ces derniers, résultant d'avis d'experts, poussent en faveur de l'homogénéisation de la pratique en termes de critères d'inclusion du donneur afin de sécuriser et limiter le risque infectieux, via la création de banques de selles.

L'objectif de ce travail est de faire un état des lieux sur certains points de la pratique à l'échelon national en 2023.

#### 3.2. Matériel et méthode

Pour ce faire, un questionnaire a été réalisé à l'aide de l'outil Google Forms® (en annexe 2) afin d'être envoyé à 28 pharmaciens de différents Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de France. Ce questionnaire regroupe plusieurs parties, visant à récolter des informations sur la recherche du donneur et sa validation, le circuit de préparation du transplant de microbiote fécal ainsi que le nombre des préparations réalisées. Les pharmaciens des différents hôpitaux ont été contactés par courriel sur une période s'étendant de septembre 2022 à février 2023. Ce questionnaire a été établi en fonction de l'expérience du centre de Grenoble, guidé par les difficultés rencontrées et face aux différentes possibilités envisageables lors de la mise en

pratique des recommandations. Tout cela, afin de voir quel en était la mise en œuvre sur le terrain.

### 3.3. Résultats

#### - Informations globales et indications :

Sur les 28 CHU sollicités, 78% (n=22) de réponses nous sont parvenues. Le tableau 1 résume les informations globales sur les centres ainsi que les indications dans lesquelles la TMF est utilisée. 57% des centres ont répondu avoir une activité de transplantation de microbiote fécale. 28% d'entre eux possèdent une banque de selles interne à l'établissement, tandis que 28% sous-traitent la préparation du transplant. 21% des établissements n'ont pas répondu au questionnaire.

En ce qui concerne les indications de la TMF, les centres utilisent cette pratique principalement en soins courants dans le cadre « infections récidivantes à *C. difficile* » (94%), hors indications pour 25%, en compassionnel dans le traitement de la maladie du greffon contre l'hôte (13%) et enfin, dans des protocoles de recherche clinique (31%).

Tableau 1 : Information sur les centres sollicités et indications de la TMF

<b>Informations sur les centres interrogés :</b>	Nombre de réponses	Effectif, n	%
Etablissements réalisant des TMF	28	16	57%
<i>Dont, PUI ayant sa propre banque de selles</i>	28	8	
<i>Dont, PUI sous-traitant la préparation du transplant</i>	28	8	
Etablissement n'ayant pas rendu de réponse	28	6	21%
Etablissements ne réalisant pas de TMF	28	6	21%
<b>Indications relevées :</b>			
Infections récidivantes à <i>Clostridioides difficile</i>	16	15	94%
Accès compassionnel (GvH)	16	2	13%
Hors indications (MICI, RCH etc...)	16	4	25%
Recherche clinique	16	5	31%



- Voies d'administrations :

Nous constatons que 50% des centres utilisent au moins une voie d'administration haute et basse tandis que si l'on s'intéresse uniquement aux établissements possédant leur propre banque de selles ce pourcentage s'élève à 75%.

On distingue pour la voie basse 63% des centres utilisant la TMF par lavement contre 31% pour la coloscopie. En ce qui concerne l'administration par voie haute, 31% des centres décrivent utiliser une sonde naso-gastrique, 44% font usage d'une sonde naso-duodénale et 38% l'usage de gélules.

44% des centres font usage d'une unique voie d'administration. Parmi eux, 31% ne disposent pas d'une banque de selles dans leur établissement et sous-traitent la préparation du transplant.

*Tableau 2 : Voies d'administrations utilisées pour la TMF*

<b>Voies d'administration :</b>	Nombre de réponses	Effectif, n	%
<i>Voie haute :</i>			
Sonde naso-gastrique	16	5	31%
Sonde naso-duodénale	16	7	44%
Gélules <i>per os</i>	16	6	38%
<i>Voie basse :</i>			
Coloscopie	16	5	31%
Lavement	16	10	63%

- Donneurs de selles :

Si nous nous attachons aux moyens mis en œuvre par les centres possédant une banque de selles permettant de trouver des donneurs : 88% ont mis en place une communication interne à l'établissement (via des mails, affiches, bouche-à-oreille, etc...), 12% déclarent avoir mis en place des actions de communication externe à l'établissement (via internet ou les réseaux sociaux). Enfin, 25% ont répondu avoir recours à des dons dirigés.

Au sujet de la recherche de pathogènes dans les selles du donneur, le parasite *Blastocystis hominis* n'est pas recherché dans 75% centres possédant une banque de selles. 13% des centres, le recherche par examen direct. A propos de *Dientamoeba fragilis*, il est recherché par une technique de PCR dans 25% des établissements et dans 25% des autres, par examen direct. Au total seul 50% des centres recherchent ce parasite en routine.

*Listeria monocytogenes* est recherché dans 38% centres. *Helicobacter pylori* dans 13% des centres. 25% des centres pratiquent la recherche de *Staphylococcus Aureus* Résistant à la Méricilline (SARM). 63% des centres recherchent *Vibrio Cholerae*.

Tableau 3 : Résultats du questionnaire relatif aux donneurs de selles

Donneur de selles :	Nombre de réponses	Effectif, n	%
<i>Processus pour recruter des donneurs :</i>			
Communication interne	8	7	88%
Communication externe	8	1	13%
Entourage patient (don dirigé)	8	2	25%
<i>Validation microbiologique des selles du donneur (hors essais clinique) :</i>			
<i>Recherche de Blastocystis hominis :</i>			
Par PCR	8	0	
Par examen direct	8	1	13%
Non	8	6	75%
Protocole de recherche uniquement	8	1	13%
<i>Recherche de Dientamoeba fragilis :</i>			
Par PCR	8	2	25%
Par examen direct	8	2	25%
Non	8	3	38%
Protocole de recherche uniquement	8	1	13%
Recherche de <i>Listeria monocytogenes</i>	8	3	38%
Recherche de <i>Helicobacter pylori</i>	8	1	13%
Recherche de SARM	8	2	25%
Recherche de <i>Vibrio cholerae</i>	8	5	63%

- Locaux :

A propos des locaux où se déroule la préparation, elle est majoritairement réalisée dans des locaux associés à la PUI (88%), dans un local rattaché au préparatoire de pharmacotechnie (38%) ou dans le laboratoire de biologie médicale de l'établissement (13%).

- Préparation :

Pour la préparation c'est majoritairement une hotte à flux d'air laminaire qui est utilisée (50%). Pour 37% des établissements c'est une sorbonne, tandis que pour les 13% restant c'est une boîte à gants de laboratoire.

Le matériel utilisé pour homogénéiser la préparation est un blender à usage unique dans 38% des centres, un blender dont le bol est désinfecté et stérilisé dans 25% des centres, un mélangeur à pales dans 13% ou bien un malaxeur avec sachet usage unique pour 13% des autres. 13% des centres réalisent cette étape manuellement.

La quantité de selles utilisée pour la mise en forme d'un transplant est majoritairement 50g, c'est le cas pour 50% des centres. Tandis que 12% utilisent 25g, 12% utilisent 30g et 25% choisissent 25 ou 50g.

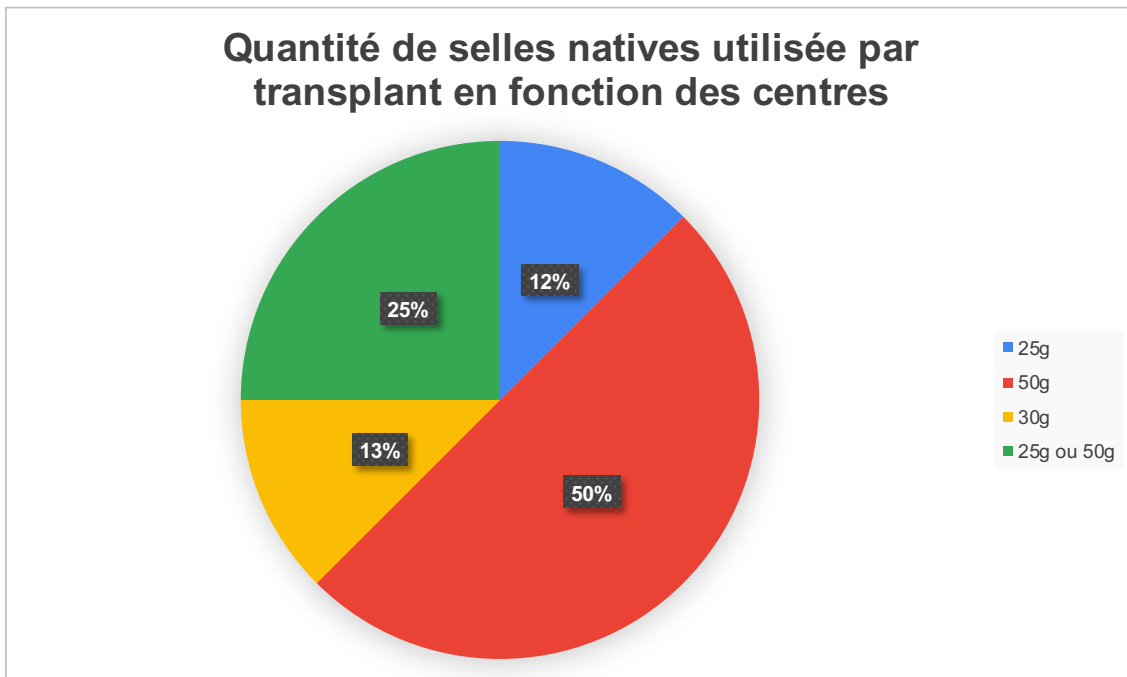


Figure 15 : Représentation de la quantité de selles natives utilisée par transplant en fonction des centres

La conservation du transplant se fait par congélation à  $-80^{\circ}\text{C}$  pour 87% des centres réalisant des transplants. Seul 12% des centres continuent d'administrer les selles après leurs préparations et ne conservent pas de dons congelés prêt à l'emploi.

Aucun des centres ne réalise un « pool » des selles. Un don issu d'un unique donneur représente un lot.

Le volume final du transplant varie également en fonction du centre. Il est compris entre 100 et 250ml pour 75% centres et de 500mL pour 25% des centres lorsqu'il est administré en lavement. Enfin, pour 12% le volume dépend de la masse initiale de selles.

- Quantification de l'activité :

Le nombre de TMF a été réparti en 3 tranches allant de moins de 10 TMF/an, entre 10 et 50 TMF/an et plus de 50 TMF/an. Les résultats se trouvent dans le tableau ci-après :

Tableau 4 : Nombre de TMF par an en fonction du nombre de centre

Nombre de TMF par an :	Nombre de réponses	Effectif, n	%
Moins de 10 TMF	16	9	56%
Entre 10 et 50 TMF	16	6	38%
Plus de 50 TMF	16	1	6%

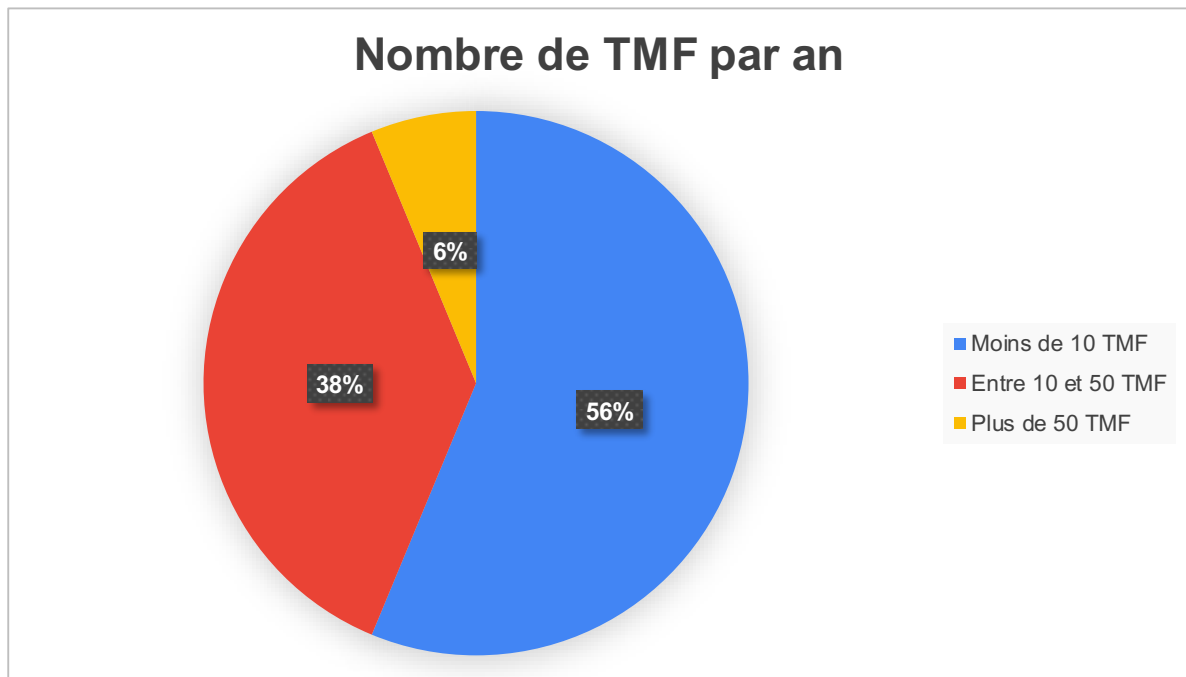


Figure 16 : Représentation du nombre de TMF par an en fonction des centres

### 3.4. Discussion

A ce jour en France, nous constatons que la TMF reste une pratique dont l'accès est restreint. D'une part dans ses indications, malgré le potentiel évoqué dans la première partie, une seule est validée en pratique courante. D'autre part, la complexité de mise en œuvre du circuit entremêlé à une hétérogénéité des pratiques de dépistage du donneur et de préparation notamment sur la formulation pour lequel aucun contrôle standardisé n'est mis en place, ne facilite pas son développement. Mais cette dernière n'est pas nouvelle. En effet, en 2019 déjà

une publication similaire à ce travail effectuée par le CHU de Caen révélait une hétérogénéité dans la pratique des différents centres réalisant des TMF en France (107).

En 2019 toujours, une seconde publication à l'échelon européen cette fois a documenté l'utilisation globale de cette pratique au-delà du territoire national avec plus de 1874 TMF réalisées dans des structures hospitalières au cours de l'année 2019. Mis en regard avec une prévalence d'infections à *C. difficile* estimée à environ 124000 infections annuelles par l'*European Center of Disease Control* (ECDC) en 2016 (108) et un pourcentage de récurrence autour de 10%, la TMF pourrait être employée 10 fois plus qu'actuellement dans l'indication recommandée. Ces propos soulignent l'utilisation en dernier recours de cette ligne thérapeutique, malgré son intégration au *Standard of Care* des sociétés savantes (109). Néanmoins ces chiffres restent indicatifs car ils sont basés sur des déclarations récoltées aux moyens de sondages.

Il est important de prendre en compte les principales limitations de ce travail. Tout d'abord, les données reposent sur des éléments déclaratifs. Ensuite, ce questionnaire a été envoyé aux pharmaciens des centres hospitaliers universitaires de métropole par courriel. Il donne donc une idée de la mise en pratique des différentes recommandations publiées autour de cette thématique, mais il ne peut résumer cette dernière. Enfin, il aborde principalement la question du donneur de selles, son dépistage, sa validation, ainsi que la préparation pharmaceutique.

La recherche autour de cette pratique reste importante. Cinq centres déclarent être impliqués dans de la recherche clinique. De plus, nous constatons que certains centres réalisant des TMF sous-traitent pour d'autres n'ayant pas la ressource (en termes de locaux ou de fréquence). Ces derniers sont peu nombreux, mais ils permettent de favoriser l'accès et la démocratisation de la TMF. En effet, la moitié des centres réalisant des TMF décrivent faire appel à une convention avec un autre centre.

Conformément à la littérature, il n'y a pas de voie préférée pour l'administration de la TMF puisque 56% des centres utilisent au moins deux voies d'administration et toujours avec une voie haute et une voie basse. Ce qui confirme que le choix du mode d'administration est intimement lié au patient plutôt qu'à un taux de réussite envers une voie en particulier.

Au sujet du recrutement de donneurs de selles, cette pratique étant encore peu connue du grand public, nous constatons que la majorité des centres abritant une banque de selles (88%) recrutent par des moyens de communication interne à leurs établissements. Le nombre important de personnes à l'hôpital en fait un vivier important mais permet également de récolter facilement des selles en minimisant les contraintes pour le donneur, qu'il dépose lui-même le don selon des modalités définies qu'il s'engage à respecter ou le réalise au sein du centre. On constate qu'en pratique le recours à un donneur anonyme est préféré conformément aux recommandations.

Nous notons une importante hétérogénéité concernant le dépistage de certains pathogènes chez les donneurs potentiels entre les différents centres. Les différences sur les techniques utilisées (examen direct ou dépistage par biologie moléculaire) n'est pas surprenant, car les différents consensus approuvent toutes méthodes de détection validées.

Mais il est intéressant de discuter la forte disparité entre les centres sur le dépistage ou non des pathogènes listés dans le tableau 3. Contrairement au référentiel du GFTF pour la pratique clinique (61), le consensus plus récent destiné à la standardisation des banques de selles encourage à dépister plus de pathogènes potentiels (tels que *D. fragilis*, *B. hominis*) (79).

Le dépistage des pathogènes fait donc l'objet d'une analyse fine des différents consensus publiés repris par un groupe d'experts multidisciplinaires (clinicien, biologiste et pharmaciens) au sein de chaque établissement souhaitant mettre en place cette activité.

La décision d'inclure ou non la recherche de certains pathogènes est prise en fonction de l'épidémiologie du pathogène (probabilité d'infection en France métropolitaine) mais également de son potentiel infectieux modulé par l'existence de techniques utilisées en routine permettant leurs dépistages en laboratoire. L'état clinique du patient à qui va être administré la préparation compte également. On constate une augmentation des pathogènes à rechercher dans le sang et les selles pour les patients immunodéprimés dans le derniers consensus publié (79). Les quelques données disponibles sur l'utilisation de la TMF chez cette population se veulent rassurantes (110)(111).

A ce jour, il n'existe toujours pas de recommandation émanant de l'ANSM relative à la TMF en pratique courante. La publication de nouvelles recommandations de l'ANSM ainsi que la nouvelle réglementation mise en place suite au décret de juillet 2023 sont deux leviers qui vont permettre de standardiser les pratiques ainsi que la remonté d'informations concernant son utilisation sur le territoire français. La majorité des centres (56%) réalisent moins de 10 TMF par an. Un encadrement plus clair de la pratique hors essais clinique ouvre la possibilité à un usage plus courant.

Dans 88% des cas la préparation est réalisée dans des locaux PUI. Pour ce qui est relatif à l'homogénéisation des selles, un certain nombre de techniques peuvent-être employées. On relève que seul 38% des centres utilisent du matériel à usage non unique type blender ou autre avec protocole de désinfection et stérilisation ou matériel réutilisable avec consommable à usage unique. Cela s'explique entre autres par le cout moins important du matériel à usage



unique par rapport à la fréquence d'utilisation et face à l'amortissement que représente l'usage de matériel réutilisable.

## 4. La TMF en pratique au CHU de Grenoble

### 4.1. Organisation

C'est en 2019, face à la demande des cliniciens que l'activité de transplantation fécale a émergé. Dans un premier temps, une convention avec la PUI du CHU de Toulouse a été effectuée, permettant de répondre à la demande des cliniciens. Par la suite, il a été décidé institutionnellement de lancer un groupe de travail sur cette thématique. Après avoir pris avis contact avec l'Agence Régionale de Santé (ARS) Auvergne-Rhône-Alpes et sur avis favorable d'un pharmacien inspecteur de cette dernière, cette pratique est alors venue compléter le panel des activités de la PUI.

#### 4.1.1. Recrutement de donneurs

Les potentiels donneurs sont adressés au clinicien référent de la TMF au sein du service d'infectiologie. Il est en charge de la consultation et des prescriptions en vue du dépistage microbiologique sur le sang et les selles.

Passé cette première phase de screening dit « d'entrée » si aucun pathogène ne ressort positif sur les différentes analyses, le donneur va alors pouvoir effectuer une série de dons qui seront pris en charge par l'équipe pharmaceutique afin de préparer le transplant.

Le patient pourra alors déposer des dons sur une période de 8 semaines maximum avec un contrôle de la COVID-19 dans les selles tous les 7 jours et par PCR nasopharyngée tous les 15 jours. Ensuite, passé la période de dons un screening de « sortie » est réalisé, les transplants produits et congelés à -80°C sont alors placés en quarantaine. Après validation du screening de sortie les lots sont libérés pour utilisation. La figure 16 schématise le processus de recrutement et validation du donneur ainsi que ses dons. L'ensemble de ces étapes nécessite une bonne coordination entre cliniciens, biologistes et pharmaciens afin d'organiser le screening, suivre et

valider les résultats et être informé de toute évolution concernant la clinique du donneur ou de ses résultats microbiologiques.

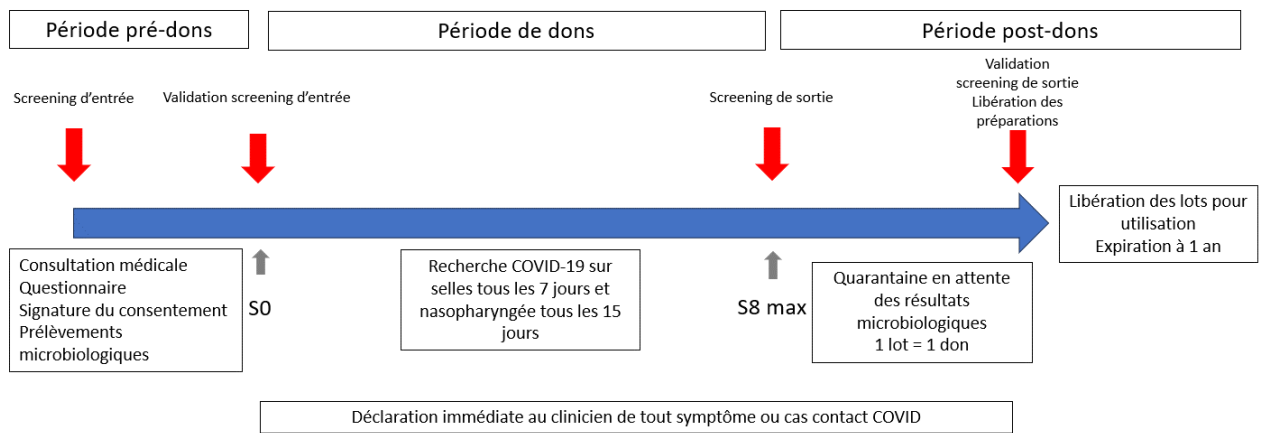


Figure 17 : Schéma du parcours d'un donneur au CHUGA

Au cours de l'année 2022, nous avons rencontré des difficultés de recrutement de donneurs de selles. Il a été décidé de mener plusieurs actions de communication sur le CHU, via différents moyens. Des affiches ont été diffusées dans l'hôpital dans un premier temps, sans réel succès. Puis une communication via la newsletter du CHU reçue par le personnel avec sa fiche de paye a été diffusée, ainsi qu'un flash info sur l'intranet (annexe 3). Cette dernière a permis de retrouver des potentiels candidats et de relancer la production de transplant alors à l'arrêt tandis que la demande des cliniciens était toujours bien présente.

#### 4.1.2. La préparation au CHU de Grenoble

Lors de la réception du transplant par la pharmacie, il est acheminé dans des locaux dédiés à la TMF. Une hotte à flux d'air laminaire est utilisée pour la préparation. La matière première est pesée sur une balance de précision, puis homogénéisée avec du NaCl 0,9% glycérolé (10%) à l'aide d'un blender à usage unique. Ensuite la préparation est filtrée et transférée dans des flacons nalgène avant congélation. Un poids de 50g de selles natives est utilisé pour un volume

final de la préparation à 250mL. Les différentes étapes de la préparation sont illustrées ci-dessous. Cette dernière est ensuite congelée à -80°C avec une durée de conservation fixée à 1 an.

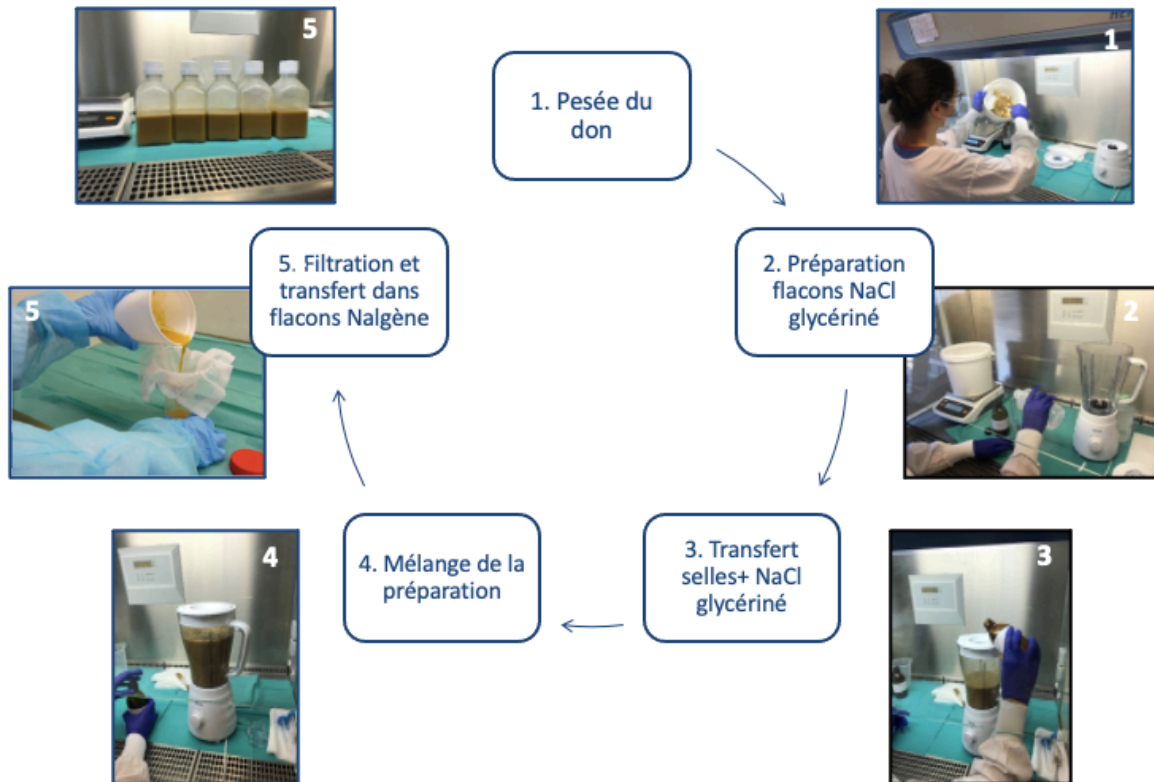


Figure 18 : Illustration des différentes étapes de préparation d'un transplant de microbiote fécal

La décongélation s'effectue le jour de l'utilisation, dans un bain marie d'eau stérile à 37°C pendant une vingtaine de minutes puis la suspension est dispatchée dans des seringues de « gavage » de 50mL pour une administration par SNG.

## 4.2. Retour sur la cohorte grenobloise

### 4.2.1. Types de patients et leurs caractéristiques

Depuis la mise en place de cette activité, ce sont 15 patients qui ont bénéficié de TMF sur l'établissement. La majorité des administrations ont été réalisées dans le service d'hôpital de jour (HDJ) d'infectiologie (79%). La figure 18 ci-dessous illustre la répartition des services ayant accueilli ces patients.

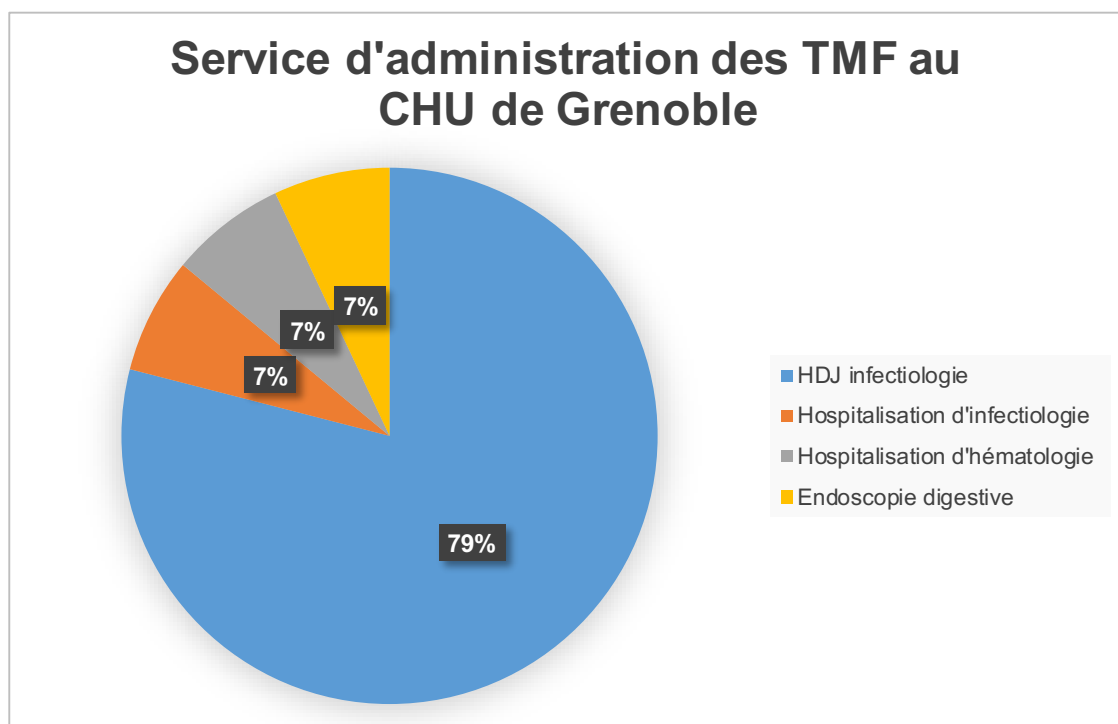


Figure 19 : Lieux d'administration des TMF au CHUGA

Si l'on s'intéresse aux caractéristiques des patients traités, l'âge médian est de 70 ans. La majorité des indications avait pour objectif le traitement d'infections récurrentes à *C. difficile* (80%). La TMF a également été proposée à un patient présentant des infections récurrentes à *C. difficile* sur une maladie du greffon contre l'hôte digestive, dans les suites d'une allo-greffe de cellules souches hématopoïétiques sur un terrain de leucémie aiguë myéloblastique (LAM). L'objectif pour ce patient était donc double, traiter l'infection ainsi que la maladie du greffon

contre l'hôte. La seconde indication non standard mais validée par le GFTF et en RCP d'infectiologie est une colite récidivante à *Cyclospora bella* chez un patient atteint du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) stade SIDA, qui sous traitement antirétroviral, malgré une remontée de ses lymphocytes continue à récidiver. Les caractéristiques des patients sont résumées dans le tableau 5. On retrouve dans la seconde colonne les comorbidités des patients.

Au regard du nombre de récurrences avant l'utilisation de la TMF chez les patients ci-dessus, nous constatons qu'elle est envisagée en dernier recours, lorsque les différentes options d'antibiotiques ciblant *C. Difficile* ont été épuisées. On note également à la lecture des comptes-rendus pré-TMF l'anxiété des patients envers la possibilité d'échec du traitement. Nous retrouvons dans la littérature des articles décrivant au travers d'enquêtes observationnelles non seulement l'impact sur la qualité de vie, mais au-delà, l'impact psychique de l'infection qui augmente avec le nombre de récurrences (112)(113).

Tableau 5 : Cohorte de patients grenoblois

N° patient	Comorbidités	Sexe	Âge	Indication	Nombre de récidives avant TMF
1	Cirrhose éthylique en attente de transplantation cardiopathie ischémique stenté diabète insulino-requérant	Homme	53	Infection récidivante à <i>Clostridioides difficile</i>	3
2	Hypertension, hypothyroïdie, fibrillation auriculaire sous amiodarone, asthme	Femme	70		4
3	Vie en EHPAD	Femme	75		3
4	-	Homme	49		3
5	Patient avec un by-pass	Femme	76		2
6	Transplanté rénal	Homme	70		3
7	Fibrillation auriculaire, hypertension, carcinome épidermoïde de l'oropharynx, insuffisance rénale chronique	Femme	78		3
7			79		4
8	Cardiopathie stentée	Femme	79		5
9	Pace maker double chambre	Homme	42		2
10	Rectocolite hémorragique	Femme	76	3	
11	LAM allo-greffé	Homme	69	Colites à <i>C. difficile</i> à répétition sur un terrain de LAM allo-greffée compliquée d'une GVH digestive	2
12	Hypertension, greffe rénale sur insuffisance rénale chronique	Femme	43	Infection récidivante à <i>Clostridioides difficile</i>	2
13	Patient VIH stade SIDA	Homme	42	Colite récidivante a <i>Cystoisospora bella</i>	2

#### 4.2.2. Efficacité et tolérance

L'administration de la TMF a été réalisée majoritairement par voie haute, plus particulièrement par SNG pour 85% des patients et par voie orale via des gélules pour 8%. Enfin, 8% ont reçu la TMF par voie basse (coloscopie), car la voie orale était contre-indiquée (patient avec un by-pass).

Si l'on s'attache maintenant à l'efficacité de la TMF chez les patients présentés ci-dessus toutes indications confondues on arrive à 79% de réussite. Nous notons que la patiente numéro 7 n'a pas réussi à être traitée par TMF malgré deux administrations.

La principale limite de ce résultat repose sur le fait que l'information de l'échec ou du succès repose sur l'utilisation rétrospective des comptes rendus de suivi post-TMF. Ainsi de nombreux patients non suivis sur la structure ont été perdus de vue. Le succès ainsi que le délai entre la transplantation et le dernier compte rendu sans rechute ou le cas échéant est résumé dans le tableau 6.

Les effets indésirables observés à un mois de la procédure d'administration rapportent des ballonnements ainsi que des météorismes (21%). Aucun effet indésirable grave n'a été observé chez les patients traités.

*Tableau 6 : Voie d'administration et résultats de la procédure*

<b>N° patient</b>	<b>Voie d'administration</b>	<b>Sexe</b>	<b>Âge</b>	<b>Résultat de la TMF</b>
1	SNG	Homme	53	Succès à M10
2	SNG	Femme	70	Succès à M6
3	SNG	Femme	75	Succès à M1
4	SNG	Homme	49	Succès à M1
5	Coloscopie	Femme	76	Succès à M1
6	SNG	Homme	70	Succès à M1
7	SNG	Femme	78	Échec à M4
7	SNG	Femme	79	Échec à M3
8	SNG	Femme	79	Succès à M18
9	SNG	Homme	42	Succès à M7
10	SNG	Femme	76	Succès à M2
11	SNG	Homme	69	Succès à M10
12	Gélules	Femme	43	Succès à M12
13	SNG	Homme	42	Échec à M6



### 4.3. Gélules de TMF lyophilisées, faisabilité de la préparation

Comme vu précédemment, les intérêts d'une forme gélule contenant un lyophilisat de microbiote fécal sont multiples (réduction du nombre de gélules à administrer, facilité de stockage et facilité de mise en œuvre car administration non invasive). Cependant, cette forme ne peut se suffire, car elle nécessite que le patient puisse déglutir.

Dans la partie qui suit, nous nous attachons à estimer la faisabilité de gélules sous forme lyophilisat. Notamment sur la partie bibliographique ainsi que sur la faisabilité de la mise en place de cette dernière sur le CHUGA.

#### 4.3.1. Protocole

Lors des recherches bibliographiques afin d'estimer la faisabilité de cette préparation, nous retrouvons plusieurs formulations différentes : sans ajouts d'excipients, en passant par l'ajout de cryo-conservateurs, à des formes plus complexes de microbiote encapsulé dans des particules d'alginate lyophilisées (50)(114). Cependant cette dernière formulation n'a pas été testée en clinique appliquée au microbiote fécal, mais elle apporte la possibilité d'utiliser le lyophilisat sans gélules dispersé dans un liquide ou de la nourriture. Cette dernière pourrait s'avérer utile en pédiatrie notamment si son développement aboutit.

Le résultat de cette recherche est résumé dans le tableau 7 ci-après dans lequel 3 études sur 5 ont montré une efficacité en clinique. Nous constatons que le début du processus est inchangé. S'ajoute ensuite une étape (simple ou double) de concentration du microbiote avant l'ajout ou non d'un agent stabilisateur puis lyophilisation et répartition en gélules. Nous notons une hétérogénéité dans les vitesses et durées de centrifugation ainsi que dans les excipients utilisés, bien que le tréhalose semble être l'agent de lyophilisation le plus prisé.

Il est nécessaire de réaliser différents essais de préparations ainsi que la mise en place d'un contrôle qualité en collaboration avec les biologistes afin d'estimer la diversité bactérienne et quantifier la quantité de bactéries présentes dans le don de selles native et le transplant avant congélation. Ce dernier pourra être réalisé à l'aide du protocole Q, dont le mode opératoire est disponible sur le site de l'INRA (115).

Tableau 7 : Résumé des articles détaillant un protocole pour réaliser des gélules lyophilisées de TMF

Formulation	Protocole après homogénéisation et filtration des selles	Gélules utilisés	Poids en selles native	Dose	Stockage	Référence
Lyophilisat de microbiote, Excipients : Trehalose 5% (cryoprotecteur), 150mL de chlorure de sodium stérile 0,9%	Centrifugation 400xg 10min, puis prélever le surnageant, 3000xg 25min (microorganismes dans le culot). Prélever le culot et ajouter 5% trehalose avant lyophilisation	Gélules orange opaques gastro-résistantes taille zéro (DRcaps®, Capsugel)	80g	5 gélules (1,6g) mono-dose	-80°C en l'absence de données de stabilité à température 4-8°C	(103)
Lyophilisat de microbiote, Excipients : Trehalose (cryoprotecteur), Chlorure de sodium stérile 0,9%	Centrifugation 200xg 10min, puis prélever le surnageant, 4600xg 15min (microorganismes dans le culot). Prélever le culot et re-suspendre dans du NaCl + trehalose avant lyophilisation	Gélules hypromellose taille 0/00, Caspugel	50g	4 à 5 gélules en mono-dose	4°C	(116)
Lyophilisat de microbiote, Excipients : Trehalose 5% (cryoprotecteur), Chlorure de sodium stérile, 250mL	Centrifugation 6 000xg 15min, puis re-suspendre dans la moitié du volume original avec du NaCl avant d'ajouter 5% de trehalose et lyophiliser	Double encapsulation, gélules taille 0 dans des gélules de taille 00 d'hypromellose (Drcaps®, Capsugel)	50g	2-3 gélules en mono-dose (2,1 – 2,5x10 <sup>11</sup> bactéries par capsules)	-80°C	(102)
Lyophilisat de microbiote	Centrifugation à 4°C 400xg 20min, puis prélever le surnageant, Centrifugation à 4°C 10 000xg 30min. Prélever le culot et lyophiliser	Gélules résistant à l'acide taille 00 Capsugel	50g	3-4 gélules mono-dose	4°C	(117)
Lyophilisat de microbiote, Excipients : Vivapur-101 (absorbant d'eau), stéarate de magnésium (augmente les propriétés d'écoulement dans les gélules) proportion 50:1	Centrifugation à 4°C 400xg 20min, puis prélever le surnageant, Centrifugation à 4°C 10 000xg 30min. Prélever le culot, mélanger au mortier avec de la cellulose microcristaline Vivapur-101 et stéarate de magnésium (50 : 1). Une nuit à 4°C avant lyophilisation	Gélules gastro-résistantes taille 00	50g	Entre 14 – 20 gélules	4°C	

Tableau 7 : Suite

Formulation	Protocole après homogénéisation et filtration des selles	Gélules utilisés	Poids en selles native	Dose	Stockage	Référence
Encapsulation du microbiote dans des billes d'alginate sèche	<p>Centrifugation 4 000 rpm à 4°C, 20min. Le culot est remis en suspension dans 4mL de trehalose 10%.</p> <p>Cette suspension est diluée 4 fois dans du trehalose 10% puis 20mL de cette dernière est mélangée à de l'alginate 1,5% et du pyruvate de sodium à 5mM.</p> <p>Transfert dans une seringue de 5mL avant d'extruder à 5mL/h via une aiguille de 21G dans 150mL de chlorure de calcium 0,10 M sous agitation magnétique 350 rpm.</p> <p>Les particules sont laissées à durcir 20min dans la solution de réticulation avant d'être filtrées et rincées avec de l'eau ultrapure 2 fois (pour retirer l'excès de chlorure de clacium).</p> <p>Répartition du filtrat dans des flacons verres à fond plat contenant 2mL de trehalose 10% avant congélation et lyophilisation</p> <div data-bbox="456 948 1008 1340" style="border: 1px dashed black; padding: 5px;"> </div>	Non applicable	100g	Non applicable	Non applicable	(114)

#### 4.3.2. Matériel & coût

La réalisation de cette préparation sous forme de lyophilisat nécessite du matériel spécifique.

Dans cette partie nous identifions le matériel à acheter afin de pouvoir réaliser la préparation.

- Un lyophilisateur
- Gélules gastro-résistantes
- Un agent de lyophilisation qualifié matière première usage pharmaceutique (trehalose)

L'achat du matériel représente un investissement important, bien supérieur à celui des préparations de suspensions congelées à -80°C. Un lyophilisateur de paillasse coûte entre 15 000 euros et 60 000 euros en fonction du modèle et sa capacité. Ajouté à cela une activité faible (le CHUGA traite une dizaine de patients par an) ce modèle peut difficilement être rentabilisé à l'échelle de l'établissement. Si nous raisonnons à plus grande échelle, la pharmacie pourrait vendre via une convention avec d'autres hôpitaux les transplants sous cette forme prête à l'emploi. Cela permettrait alors d'assurer l'amortissement du matériel plus rapidement.

#### 4.3.3. Stabilité

La réalisation de lyophilisat de microbiote fécal implique cependant des études de stabilité. Dans la littérature nous ne retrouvons pas de données sur la conservation du microbiote fécal sous cette forme à température ambiante (qui est pourtant l'avantage premier de cette dernière) et peu de données concernant le stockage du lyophilisat à 4°C. Une publication de Reygner et al. a mis en évidence une conservation sur 12 mois à 4°C de microbiote lyophilisé avec comme excipient de la maltodextine et du trehalose. A 12 mois l'échantillon montrait une composition

et une production de métabolites après remise en suspension similaire comparé à un stockage à -80°C avec du glycérol (118).

La synthèse de l'analyse bibliographique disponible indique que la réalisation de cette formulation est possible et efficace cliniquement. Mais à l'heure actuelle, le manque de données publiées ainsi que leurs hétérogénéités imposent la réalisation d'un contrôle et d'études de stabilité sur le site de production avant de pouvoir exploiter en clinique cette dernière. Étant donné l'investissement matériel et face à un volume d'activité limité, la faisabilité semble mise en cause. D'autre part, il faut souligner que les frais médicaux associés aux examens biologiques effectués sur le don de selles, sont complètement à la charge de l'établissement. Il n'existe pas de modalité de prise en charge par l'agence de la biomédecine contrairement à d'autres types de dons (don de cellules souches hématopoïétiques par exemple) (119). L'un des seuls moyens actuels afin d'amortir les coûts liés à cette préparation est l'établissement d'une convention de sous-traitance afin de facturer cette prestation à d'autres centres.

## 5. Vers une industrialisation de la TMF

### 5.1. Le « *scale up* » appliqué à la TMF

Avec l'autorisation d'accès en compassionnel du Maat013 produit par le laboratoire MaaT Pharma, on entrevoit un pas en France vers la montée en échelle et l'industrialisation de la TMF. En septembre 2023, une nouvelle étape de l'industrialisation de la TMF a été franchie par MaaT Pharma lors de l'inauguration d'une nouvelle usine dans la région lyonnaise (Saint-Quentin-Fallavier) construite en partenariat avec le groupe Skyepharma (société spécialisée dans la formulation et la fabrication de médicaments complexes à libération contrôlée). Cette usine d'une superficie de 1600 m<sup>2</sup> respecte les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) et est entièrement dédiée aux médicaments à base de microbiote. Dans le but de produire son produit en étude de phase 3 le Maat013, mais également le Maat033, un produit en essai de phase 1 de microbiote « *poolé* » et lyophilisé sous forme de gélules *per os* (120)(121).

D'autres laboratoires français s'intéressent de près à la recherche ainsi qu'au développement des produits dérivés du microbiote. Nous pouvons par exemple citer le laboratoire Biocodex.

De l'autre côté de l'atlantique, aux Etats-Unis les scientifiques et laboratoires s'intéressent également au développement à grande échelle de médicaments issus du microbiote fécal. Nous pouvons citer OpenBiome, une entreprise indépendante à but non lucratif créée en 2013 dont le but est d'augmenter l'accès à la TMF expérimentale en endossant le rôle de banque de selles et de catalyser la recherche sur le microbiome. En 2021 elle a livré sa 60 000<sup>ème</sup> TMF (122). Cette dernière est également à l'origine d'un projet « *the Global Microbiome Conservancy* (GMbc) » afin de conserver et promouvoir la compréhension autour du microbiome à des fins de santé publique (123).

Entre novembre 2022 et avril 2023, deux nouveaux médicaments issus du microbiote fécal ont été mis sur le marché américain. Un nouveau cap dans le développement industriel de produits

dérivés de la TMF a donc été franchis. Le premier se nomme Reybiota et le second Vowst. Leurs caractéristiques sont décrites dans le tableau ci-après : (124)(125)

Tableau 8 : Médicaments dérivés de la TMF sur le marché américain en avril 2023

	<b>Reybiota®</b>	<b>Vowst®</b>
Laboratoire	Ferring Pharmaceuticals Inc.	Seres Therapeutics Inc.
Date de commercialisation	Novembre 2022	Avril 2023
Indication	Prévention d'une récurrence d'une infection à <i>C. difficile</i> , après une antibiothérapie, chez le sujet adulte de 18 ans et plus	
Formulation – posologie	Suspension rectale (150mL) en dose unique de selles d'un unique donneur sain	Capsules, 4 par jour pendant 3 jours consécutifs contenant des spores purifiés de Firmicutes provenant d'un seul donneur sain
Conservation	-80°C	Entre 2°C et 25°C

Pour la première fois, un mécanisme d'action hypothétique est proposé dans la publication des résultats de l'essai clinique du traitement Vowst®. Les bactéries sporulées de l'embranchement des Firmicutes modulent et augmentent la production d'acides biliaires secondaires. Lorsque les concentrations d'acides biliaires secondaires excèdent celles des acides biliaires primaires, alors la germination des spores et la croissance végétative de *C. difficile* est inhibée (126).



## 5.2. Aspect réglementaire de ces nouveaux produits

En 2012 dans un guide de la FDA à destination des industriels pour les essais cliniques apparaît la notion de Produit Biothérapeutique Vivants (« LBP : *Live Biotherapeutics Products* ») qui se définit comme un produit biologique qui : 1) contient des micro-organismes vivants tel que des bactéries ; 2) est applicable à la prévention, au traitement et à la guérison d'une maladie ou d'une affection et 3) n'est pas un vaccin (127). Cette nouvelle classe de produit pharmaceutique a par la suite été intégrée en 2018 dans une monographie générale de la Pharmacopée Européenne publiée par l'*European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare* (EDQM). Elle définit cette classe comme des médicaments contenant des micro-organismes vivants, tels que des bactéries ou des levures, qui ont une influence positive sur la santé et la physiologie du patient (128). Cette monographie contient deux chapitres généraux dont un relatif au dénombrement des contaminants microbiens et un second dédié à la recherche de micro-organismes spécifiques.

Nous notons tout de même un retard de l'Europe face à l'arrivée de cette nouvelle classe thérapeutique que représente les LBP. C'est 6 ans après la création de cette nouvelle catégorie de médicament en Amérique qu'une monographie européenne fut créée. Cette situation est probablement due à l'hétérogénéité de réglementation autour de ce produit dans les différents pays la composant.

Cette nouvelle classe impose de nouveaux défis pour accéder à la commercialisation du produit. En effet, il est compliqué de réaliser des études pharmacocinétiques sur des produits aussi complexes que la TMF par exemple. De plus, le mécanisme d'action exacte n'est souvent pas connu. L'ensemble des exigences relatives aux LBP n'étant pas encore spécifiquement définies, les entreprises doivent discuter les étapes critiques avec les autorités au cours de développement de leurs produits (129).

Les trois produits disponibles actuellement (le Maat013, Reybiota® et Vowst®) sont les prémices d'une nouvelle ère pour la TMF. Dix ans après la première publication de l'essai clinique randomisé et contrôlé qui propulsait cette pratique sous les projecteurs des cliniciens, les industriels ont réussi à mettre sur le marché américain des produits dont la place reste encore à faire dans le protocole de prise en charge des patients atteints d'infections récidivantes à *C. difficile*. Néanmoins, ces médicaments apportent la possibilité d'utiliser à plus grande échelle la TMF qui était jusque-là réservée aux centres dits « experts ». C'est aussi un premier pas vers l'identification et peut-être un jour la culture des espèces bactériennes impliquées dans le succès de la TMF qui a été franchi. Il permettra de s'affranchir du risque infectieux associé à l'utilisation de selles humaines. Ce dernier ouvre également la porte à une potentielle réduction de l'usage des antibiotiques.

## 6. Conclusion

A la frontière entre le milieu extérieur et l'humain, le microbiote intestinal tapissant la muqueuse digestive est impliqué dans de nombreux processus physiologiques. Il interagit de manière symbiotique avec ce dernier. L'ensemble des espèces le constituant est à l'heure actuelle inconnu et sa composition propre à chaque individu, tel une empreinte digitale. La recherche au cours de ces dernières années s'est intensifiée afin de mettre en évidence son implication dans diverses pathologies ainsi que les mécanismes en découlant.

Dix ans après la publication du premier essai clinique randomisé et contrôlé de TMF, cette dernière, efficace, a acquis une place dans les recommandations de la prise en charge des infections récidivantes à *C. difficile*, qui représentent un réel problème de santé publique à travers le monde. L'élargissement du champ d'application de cette pratique reste encore à prouver malgré des résultats encourageants dans d'autres pathologies tels que les MICI. La mise en évidence des bactéries et métabolites clés du succès de la transplantation fécale représente un enjeu majeur dans les années à venir. Leur identification permettra de se détacher du don de selles, intimement lié au risque infectieux, pour une production maîtrisée *in vitro* des bactéries impliquées ou de leurs métabolites.

Au niveau national nous constatons une hétérogénéité autour de cette pratique hospitalière, sans recommandations récentes pour la pratique courante. Cette hétérogénéité se retrouve également à l'échelon européen qui peine à harmoniser les pratiques à cause des réglementations différentes dont dépend la matière première des transplants. La révision des recommandations de l'ANSM en cours et les décrets récents soumettant cette activité à autorisation sont des leviers, qui permettront d'harmoniser les pratiques au sein du territoire ainsi que la collecte de données fiables.

La formulation de ce médicament vivant dans sa matrice complexe évolue également, avec initialement une utilisation immédiate imposée, puis différée grâce à la congélation à -80°C,

des modes d'administration très variés avec la mise à disposition de formes orales moins invasives. Nous entrevoyons dans le futur, des transplants détachés de leurs volumineuses matrices grâce à des techniques de concentration puis lyophilisation qui permettront un stockage et un volume d'administration moins contraignant.

Face au potentiel encore en partie masqué du microbiote, la production hospitalière de TMF possède un avenir certain. Mais les industriels commencent à se positionner, des médicaments ont récemment été mis sur le marché américain. D'autres candidats de médicaments en essais cliniques devraient faire leurs apparitions sur le marché dans les années à venir.

**THÈSE SOUTENUE PAR :** Maxime Lassiaz

**TITRE :**

**LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL ÉTAT DES CONNAISSANCES ET PRATIQUES**

**CONCLUSION :**

A la frontière entre le milieu extérieur et l'humain, le microbiote intestinal tapissant la muqueuse digestive est impliqué dans de nombreux processus physiologiques. Il interagit de manière symbiotique avec ce dernier. L'ensemble des espèces le constituant est à l'heure actuelle inconnu et sa composition propre à chaque individu, tel une empreinte digitale. La recherche au cours de ses dernières années s'est intensifiée afin de mettre en évidence son implication dans diverses pathologies ainsi que les mécanismes qui en découlent.

Dix ans après la publication du premier essai clinique randomisé et contrôlé de TMF, cette dernière, efficace, a acquis une place dans les recommandations de la prise en charge des infections récidivantes à *C. difficile*, qui représentent un réel problème de santé publique à travers le monde. L'élargissement du champ d'application de cette pratique reste encore à prouver malgré des résultats encourageants dans d'autres pathologies tels que les MICI. La mise en évidence des bactéries et métabolites clés du succès de la transplantation fécale représente un enjeu majeur dans les années à venir. Leur identification permettra de se détacher du don de selles, intimement lié au risque infectieux, pour une production maîtrisée in vitro des bactéries impliquées ou de leurs métabolites.

Au niveau national on constate une hétérogénéité autour de cette pratique hospitalière, sans recommandations récentes pour la pratique courante. Cette hétérogénéité se retrouve également à l'échelon européen qui peine à harmoniser les pratiques à cause des réglementations différentes dont dépend la matière première des transplants. La révision des recommandations de l'ANSM en cours et les décrets récents soumettant cette activité à autorisation sont des leviers, qui permettront d'harmoniser les pratiques au sein du territoire ainsi que la collecte de données fiables.

La formulation de ce médicament vivant dans sa matrice complexe évolue également, avec initialement une utilisation immédiate imposée, puis différée grâce à la congélation à -80°C, des modes d'administration très variés avec la mise à disposition de formes orales moins invasives. On entrevoit dans le futur, des transplants détachés de leurs volumineuse matrice grâce à des techniques de concentration puis lyophilisation qui permettront un stockage et un volume d'administration moins contraignant.

Face au potentiel encore en partie masqué du microbiote, la production hospitalière de TMF possède un avenir certain. Mais les industriels commencent à se positionner, des médicaments ont récemment été mis sur le marché américain. D'autres candidats de médicaments en essais cliniques devraient faire leurs apparitions sur le marché dans les années à venir.

**VU ET PERMIS D'IMPRIMER**

Grenoble, le : 9/10/23

**LE DOYEN DE LA  
FACULTÉ DE PHARMACIE**

**LE DIRECTEUR / LA DIRECTRICE DE THÈSE**



**Pr Michel SÈVE**

**Dr Julien LEENHARDT**

Pour la Présidente  
et par délégation  
Le Doyen de Pharmacie  
Pr. Michel SEVE

## 7. Bibliographie

1. Microbiote — acadpharm [Internet]. [cité 11 mars 2023]. Disponible sur: <https://dictionnaire.acadpharm.org/w/Microbiote>
2. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens | Nature [Internet]. [cité 11 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41586-019-1451-5>
3. Selma-Royo M, Tarrazó M, García-Mantrana I, Gómez-Gallego C, Salminen S, Collado MC. Shaping Microbiota During the First 1000 Days of Life. In: Guandalini S, Indrio F, éditeurs. Probiotics and Child Gastrointestinal Health: Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health Volume 10 [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019 [cité 12 juin 2023]. p. 3-24. (Advances in Experimental Medicine and Biology). Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/5584\\_2018\\_312](https://doi.org/10.1007/5584_2018_312)
4. Derrien M, Alvarez AS, Vos WM de. The Gut Microbiota in the First Decade of Life. *Trends in Microbiology*. 1 déc 2019;27(12):997-1010.
5. Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 9 mai 2012;486(7402):222-7.
6. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host & Microbe*. 13 mai 2015;17(5):690-703.
7. Wampach L, Heintz-Buschart A, Fritz JV, Ramiro-Garcia J, Habier J, Herold M, et al. Birth mode is associated with earliest strain-conferred gut microbiome functions and immunostimulatory potential. *Nat Commun*. 30 nov 2018;9:5091.
8. Mertowska P, Mertowski S, Wojnicka J, Korona-Główniak I, Grywalska E, Błażewicz A, et al. A Link between Chronic Kidney Disease and Gut Microbiota in Immunological and

Nutritional Aspects. *Nutrients*. oct 2021;13(10):3637.

9. Patel JB. 16S rRNA gene sequencing for bacterial pathogen identification in the clinical laboratory. *Mol Diagn*. déc 2001;6(4):313-21.
10. Grall N, Andremont A, Ruppé E. Microbiote intestinal. *Biologie médicale*. 1 janv 2017;12(2):1-9.
11. Metagenomics of the Human Intestinal Tract | METAHIT Project | Fact Sheet | FP7 | CORDIS | European Commission [Internet]. [cité 14 mars 2023]. Disponible sur: <https://cordis.europa.eu/project/id/201052>
12. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. mai 2011;473(7346):174-80.
13. Microbiote et immunité intestinale. In: *Les fondamentaux de la pathologie digestive* [Internet]. 2014. p. 189-99. Disponible sur: <https://www.clinicalkey.com/student/content/book/3-s2.0-B9782294731181000138>
14. Laurent B, Sokol H. *Les fondamentaux de la pathologie digestive* [Internet]. [cité 6 avr 2023]. Disponible sur: [https://clinicalkeymeded.elsevier.com/reader/books/9782294731297/epubcfi/6/2\[%3Bvnd.vst.idref%3Dcover\]!/4/2\[cover\]/2%4050:44](https://clinicalkeymeded.elsevier.com/reader/books/9782294731297/epubcfi/6/2[%3Bvnd.vst.idref%3Dcover]!/4/2[cover]/2%4050:44)
15. Philippe Gérard ABD. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2007;837(10002):3-92.
16. Donohoe DR, Holley D, Collins LB, Montgomery SA, Whitmore AC, Hillhouse A, et al. A Gnotobiotic Mouse Model Demonstrates That Dietary Fiber Protects against Colorectal Tumorigenesis in a Microbiota- and Butyrate-Dependent Manner. *Cancer Discovery*. 3 déc 2014;4(12):1387-97.
17. Hill MJ. Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis. *European Journal of Cancer Prevention*. mars 1997;6(2):S43.

18. Conly J, Stein K. Reduction of vitamin K2 concentrations in human liver associated with the use of broad spectrum antimicrobials. *Clin Invest Med.* déc 1994;17(6):531-9.
19. Collins SL, Patterson AD. The gut microbiome: an orchestrator of xenobiotic metabolism. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 1 janv 2020;10(1):19-32.
20. Lee JR, Muthukumar T, Dadhania D, Taur Y, Jenq RR, Toussaint NC, et al. Gut Microbiota and Tacrolimus Dosing in Kidney Transplantation. *PLOS ONE.* 27 mars 2015;10(3):e0122399.
21. Guo Y, Crnkovic CM, Won KJ, Yang X, Lee JR, Orjala J, et al. Commensal Gut Bacteria Convert the Immunosuppressant Tacrolimus to Less Potent Metabolites. *Drug Metab Dispos.* 1 mars 2019;47(3):194-202.
22. Algavi YM, Borenstein E. A data-driven approach for predicting the impact of drugs on the human microbiome. *Nat Commun.* 17 juin 2023;14(1):3614.
23. Zimmermann M, Zimmermann-Kogadeeva M, Wegmann R, Goodman AL. Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. *Nature.* juin 2019;570(7762):462-7.
24. Mousa S, Sarfraz M, Mousa WK. The Interplay between Gut Microbiota and Oral Medications and Its Impact on Advancing Precision Medicine. *Metabolites.* mai 2023;13(5):674.
25. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut.* 1 avr 1994;35(4):483-9.
26. Hooper LV, Xu J, Falk PG, Midtvedt T, Gordon JI. A molecular sensor that allows a gut commensal to control its nutrient foundation in a competitive ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 17 août 1999;96(17):9833-8.
27. Weiss GA, Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol*



Life Sci. 1 août 2017;74(16):2959-77.

28. Liévin V, Peiffer I, Hudault S, Rochat F, Brassart D, Neeser JR, et al. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut*. nov 2000;47(5):646-52.
29. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 29 avr 2016;352(6285):539-44.
30. Javelot H, Michel B. L'axe « microbiote-intestin-cerveau » : vers de nouvelles approches thérapeutiques en psychiatrie ? *Médecine thérapeutique*. 1 mai 2018;24(3):176-82.
31. Wang X, Wang BR, Zhang XJ, Xu Z, Ding YQ, Ju G. Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. *World Journal of Gastroenterology*. 15 juin 2002;8(3):540-5.
32. Lyte M, Li W, Opitz N, Gaykema RPA, Goehler LE. Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*. *Physiol Behav*. 30 oct 2006;89(3):350-7.
33. Krautkramer KA, Fan J, Bäckhed F. Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates. *Nat Rev Microbiol*. févr 2021;19(2):77-94.
34. Cervenka I, Agudelo LZ, Ruas JL. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science*. 28 juill 2017;357(6349):eaaf9794.
35. Chakrabarti A, Geurts L, Hoyles L, Iozzo P, Kraneveld AD, La Fata G, et al. The microbiota–gut–brain axis: pathways to better brain health. Perspectives on what we know, what we need to investigate and how to put knowledge into practice. *Cell Mol Life Sci*. 19 janv 2022;79(2):80.
36. Rusch JA, Layden BT, Dugas LR. Signalling cognition: the gut microbiota and hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Frontiers in Endocrinology* [Internet]. 2023 [cité 12 août 2023];14. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2023.1130689>

37. Dysbiose intestinale — acadpharm [Internet]. [cité 20 juin 2023]. Disponible sur: [https://dictionnaire.acadpharm.org/w/Dysbiose\\_intestinale](https://dictionnaire.acadpharm.org/w/Dysbiose_intestinale)
38. Kolopp-Sarda MN. Système immunitaire muqueux et microbiote intestinal : Histoire d'une symbiose. *Revue Francophone des Laboratoires*. 1 juill 2016;2016(484):39-47.
39. Hou K, Wu ZX, Chen XY, Wang JQ, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. *Sig Transduct Target Ther*. 23 avr 2022;7(1):1-28.
40. Byndloss MX, Bäumlér AJ. The germ-organ theory of non-communicable diseases. *Nat Rev Microbiol*. févr 2018;16(2):103-10.
41. Shelton CD, Byndloss MX. Gut Epithelial Metabolism as a Key Driver of Intestinal Dysbiosis Associated with Noncommunicable Diseases. *Infection and Immunity*. 22 juin 2020;88(7):10.1128/iai.00939-19.
42. Franzosa EA, Sirota-Madi A, Avila-Pacheco J, Fornelos N, Haiser HJ, Reinker S, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease. *Nat Microbiol*. févr 2019;4(2):293-305.
43. Cox AJ, West NP, Cripps AW. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 1 mars 2015;3(3):207-15.
44. Scheithauer TPM, Rampanelli E, Nieuwdorp M, Vallance BA, Verchere CB, van Raalte DH, et al. Gut Microbiota as a Trigger for Metabolic Inflammation in Obesity and Type 2 Diabetes. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2020 [cité 21 août 2023];11. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.571731>
45. Biedermann L, Rogler G. The intestinal microbiota: its role in health and disease. *Eur J Pediatr*. 1 févr 2015;174(2):151-67.
46. Liu S, Gao J, Zhu M, Liu K, Zhang HL. Gut Microbiota and Dysbiosis in Alzheimer's Disease: Implications for Pathogenesis and Treatment. *Mol Neurobiol*. 1 déc 2020;57(12):5026-43.

47. Janeiro MH, Ramírez MJ, Solas M. Dysbiosis and Alzheimer's Disease: Cause or Treatment Opportunity? *Cell Mol Neurobiol*. 1 mars 2022;42(2):377-87.
48. Socała K, Doboszevska U, Szopa A, Serefko A, Włodarczyk M, Zielińska A, et al. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacological Research*. 1 oct 2021;172:105840.
49. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*. 10 janv 2019;7(1):14.
50. Rakotonirina A, Galperine T, Allémann E. Fecal microbiota transplantation: a review on current formulations in *Clostridioides difficile* infection and future outlooks. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 3 juill 2022;22(7):929-44.
51. MetaGenoPolis (MGP) unité INRAE experte en science du microbiote appliquée à la nutrition et à la santé [Internet]. MetaGenoPolis. [cité 9 août 2023]. Disponible sur: <https://mgps.eu/about/who-we-are/>
52. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 31 janv 2013;368(5):407-15.
53. Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should We Standardize the 1,700-Year-Old Fecal Microbiota Transplantation? *The American journal of gastroenterology*. 1 nov 2012;107:1755.
54. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*. nov 1958;44(5):854-9.
55. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 15 nov 2011;53(10):994-1002.
56. Marcella C, Cui B, Kelly CR, Ianaro G, Cammarota G, Zhang F. Systematic review: the

global incidence of faecal microbiota transplantation-related adverse events from 2000 to 2020.

Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 2021;53(1):33-42.

57. Horowitz A, Chanez-Paredes SD, Haest X, Turner JR. Paracellular permeability and tight junction regulation in gut health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. juill 2023;20(7):417-32.

58. Code de la santé publique. Article L5111-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000045404922](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000045404922)

59. Code de la santé publique. Article L5121-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000044628485](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000044628485)

60. European Medicines Agency. Faecal Microbiota Transplantation - EU-IN Horizon Scanning Report.

61. 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 & Oncologie Digestive*. 1 avr 2015;22(4):278-90.

62. Trang C, Scanzi J, Galperine T, Mosca A, Batista R, Sokol H. Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes : actualisation des recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépatogastro & Oncologie Digestive*. 1 avr 2017;24(4):319-25.

63. Actualité - Décision n° 2020 - 09 du 29/01/2020 - Création du CST « Transplantation de microbiote fécal – mise à jour des recommandations » à l'ANSM [Internet]. [cité 29 avr 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/decision-ndeg-2020-09-du-29-01-2020-creation-du-cst-transplantation-de-microbiote-fecal-mise-a-jour-des-recommandations-a->

lansm

64. Décret n° 2023-672 du 27 juillet 2023 relatif à l'autorisation de l'activité de collecte de selles et de l'importation de selles ou de préparations de microbiote fécal. 2023-672 juill 27, 2023.
65. Décret n° 2023-673 du 27 juillet 2023 relatif à l'encadrement de l'activité de collecte de selles et de l'importation de selles ou de préparations de microbiote fécal. 2023-673 juill 27, 2023.
66. Code de la santé publique. Article L5121-25 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000025086413](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000025086413)
67. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. Gut. 1 avr 2017;66(4):569-80.
68. Czepiel J, Krutova M, Mizrahi A, Khanafer N, Enoch DA, Patyi M, et al. Mortality Following Clostridioides difficile Infection in Europe: A Retrospective Multicenter Case-Control Study. Antibiotics. mars 2021;10(3):299.
69. Van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, Guery B, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for Clostridioides difficile infection in adults. Clinical Microbiology and Infection. déc 2021;27:S1-21.
70. Ianiro G, Maida M, Burisch J, Simonelli C, Hold G, Ventimiglia M, et al. Efficacy of different faecal microbiota transplantation protocols for Clostridium difficile infection: A systematic review and meta-analysis. United European Gastroenterology Journal. 2018;6(8):1232-44.
71. ANSM [Internet]. [cité 13 juin 2023]. ATU/RTU - MaaT013. Disponible sur:

<https://ansm.sante.fr/tableau-acces-derogatoire/maat013>

72. Wang Y, Zhang S, Borody TJ, Zhang F. Encyclopedia of fecal microbiota transplantation: a review of effectiveness in the treatment of 85 diseases. *Chinese Medical Journal*. 20 août 2022;135(16):1927.
73. Davar D, Dzutsev AK, McCulloch JA, Rodrigues RR, Chauvin JM, Morrison RM, et al. Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science*. 5 févr 2021;371(6529):595-602.
74. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, Ortenberg R, Lahat A, Katz L, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science*. 5 févr 2021;371(6529):602-9.
75. Yu H, Li XX, Han X, Chen BX, Zhang XH, Gao S, et al. Fecal microbiota transplantation inhibits colorectal cancer progression: Reversing intestinal microbial dysbiosis to enhance anti-cancer immune responses. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2023 [cité 7 oct 2023];14. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1126808>
76. Merrick B, Sergaki C, Edwards L, Moyes DL, Kertanegara M, Prossomariti D, et al. Modulation of the Gut Microbiota to Control Antimicrobial Resistance (AMR)—A Narrative Review with a Focus on Faecal Microbiota Transplantation (FMT). *Infectious Disease Reports*. juin 2023;15(3):238-54.
77. ANSM, La transplantation du microbiote fecal et son encadrement dans les essais cliniques.
78. Cammarota G, Ianiro G, Kelly CR, Mullish BH, Allegretti JR, Kassam Z, et al. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 1 déc 2019;68(12):2111-21.
79. Keller JJ, Ooijselaar RE, Hvas CL, Terveer EM, Lieberknecht SC, Högenauer C, et al.

A standardised model for stool banking for faecal microbiota transplantation: a consensus report from a multidisciplinary UEG working group. *United European Gastroenterology Journal*. 2021;9(2):229-47.

80. Terveer EM, van Gool T, Ooijevaar RE, Sanders IMJG, Boeije-Koppenol E, Keller JJ, et al. Human Transmission of Blastocystis by Fecal Microbiota Transplantation Without Development of Gastrointestinal Symptoms in Recipients. *Clinical Infectious Diseases*. 15 nov 2020;71(10):2630-6.

81. ANSM [Internet]. [cité 17 juill 2023]. Actualité - L'ANSM fixe de nouvelles conditions pour sécuriser les dons de selles dans le contexte de la COVID-19. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/lansm-fixe-de-nouvelles-conditions-pour-securiser-les-dons-de-selles-dans-le-contexte-de-la-covid-19>

82. ANSM [Internet]. [cité 8 oct 2023]. Actualité - Virus de la variole du singe : recommandations pour sécuriser les dons de selles dans le cadre de la transplantation de microbiote fécal (TMF). Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/virus-de-la-variole-du-singe-recommandations-pour-securiser-les-dons-de-selles-dans-le-cadre-de-la-transplantation-de-microbiote-fecal-tmf>

83. ANSM. Comité scientifique temporaire « transplantation de microbiote fécal » – mise à jour des recommandations [Internet]. [cité 17 juill 2023]. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/evenements/comite-transplantation-de-microbiote-fecal-mise-a-jour-des-recommandations>

84. Zboromyrska Y, Vila J. Advanced PCR-based molecular diagnosis of gastrointestinal infections: challenges and opportunities. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2 juin 2016;16(6):631-40.

85. Hitchcock MM, Hogan CA, Budvytiene I, Banaei N. Reproducibility of positive results for rare pathogens on the FilmArray GI Panel. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.

1 sept 2019;95(1):10-4.

86. Trang C, Scanzi J, Galperine T, Mosca A, Batista R, Sokol H. Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes : actualisation des recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépatogastro- & Oncologie Digestive*. 1 avr 2017;24(4):319-25.

87. Wilson BC, Vatanen T, Cutfield WS, O'Sullivan JM. The Super-Donor Phenomenon in Fecal Microbiota Transplantation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2019 [cité 9 sept 2023];9. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2019.00002>

88. Danne C, Rolhion N, Sokol H. Recipient factors in faecal microbiota transplantation: one stool does not fit all. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. juill 2021;18(7):503-13.

89. Xiao Y, Angulo MT, Lao S, Weiss ST, Liu YY. An ecological framework to understand the efficacy of fecal microbiota transplantation. *Nat Commun*. 3 juill 2020;11(1):3329.

90. Ponce-Alonso M, Garcia-Fernandez S, Aguilera L, Rodriguez-de-Santiago E, Foruny JR, Roy G, et al. P782 A new compatibility test for donor selection for faecal microbiota transplantation in ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*. 1 févr 2017;11(suppl\_1):S480-1.

91. Ponce-Alonso M, García-Hoz C, Halperin A, Nuño J, Nicolás P, Martínez-Pérez A, et al. An Immunologic Compatibility Testing Was Not Useful for Donor Selection in Fecal Microbiota Transplantation for Ulcerative Colitis. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2021 [cité 9 sept 2023];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.683387>

92. Le Roy T, Aron-Wisnewsky J, Clément K. Le transfert de microbiote fécal : quel potentiel thérapeutique dans le traitement des maladies métaboliques ? *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 1 mai 2020;34(2):108-15.



93. 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. *Journal of Clinical Microbiology*. nov 2005;43(11):5588-92.
94. Costea PI, Zeller G, Sunagawa S, Pelletier E, Alberti A, Levenez F, et al. Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies. *Nat Biotechnol*. nov 2017;35(11):1069-76.
95. Yang F, Sun J, Luo H, Ren H, Zhou H, Lin Y, et al. Assessment of fecal DNA extraction protocols for metagenomic studies. *GigaScience*. 1 juill 2020;9(7):giaa071.
96. Batista R, Kapel N, Megerlin F, Chaumeil JC, Barbut F, Bourlioux P, et al. Le transfert de microbiote fécal lors d'infections récidivantes à *Clostridium difficile*. Cadre et aspects pharmacotechniques. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 1 sept 2015;73(5):323-31.
97. Quraishi MN, McNally A, Schaik W van. Do we really understand how faecal microbiota transplantation works? *eBioMedicine*. 1 avr 2019;42:39.
98. Nicco C, Paule A, Konturek P, Edeas M. From Donor to Patient: Collection, Preparation and Cryopreservation of Fecal Samples for Fecal Microbiota Transplantation. *Diseases*. juin 2020;8(2):9.
99. Michailidis L, Currier AC, Le M, Flomenhoft DR. Adverse events of fecal microbiota transplantation: a meta-analysis of high-quality studies. *Annals of Gastroenterology*. déc 2021;34(6):802.
100. 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 Medicine*. 9 sept 2016;14(1):134.
101. Youngster I, Gerding DN. Editorial: Making Fecal Microbiota Transplantation Easier to Swallow: Freeze-Dried Preparation for Recurrent *Clostridium difficile* Infections. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*. juin 2017;112(6):948.

102. 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. Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG. juin 2017;112(6):940.
103. Zain NMM, ter Linden D, Lilley AK, Royall PG, Tsoka S, Bruce KD, et al. Design and manufacture of a lyophilised faecal microbiota capsule formulation to GMP standards. Journal of Controlled Release. 1 oct 2022;350:324-31.
104. Halaweish HF, Boatman S, Staley C. Encapsulated Fecal Microbiota Transplantation: Development, Efficacy, and Clinical Application. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [Internet]. 2022 [cité 20 juill 2023];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.826114>
105. Gangwani MK, Aziz M, Aziz A, Priyanka F, Weissman S, Phan K, et al. Fresh Versus Frozen Versus Lyophilized Fecal Microbiota Transplant for Recurrent *Clostridium Difficile* Infection: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *Journal of Clinical Gastroenterology*. mars 2023;57(3):239.
106. 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. Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG. juin 2017;112(6):940.
107. Martel B, Saint-Lorant G. Circuit pharmaceutique, transplantation de microbiote fécal : Des pratiques hétérogènes. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 1 sept 2019;77(5):435-42.
108. Smits WK, Lyras D, Lacy DB, Wilcox MH, Kuijper EJ. *Clostridium difficile* infection. *Nat Rev Dis Primers*. 7 avr 2016;2(1):1-20.
109. Baunwall SMD, Terveer EM, Dahlerup JF, Erikstrup C, Arkkila P, Vehreschild MJ, et al. The use of Faecal Microbiota Transplantation (FMT) in Europe: A Europe-wide survey. *The*

Lancet Regional Health - Europe. 1 oct 2021;9:100181.

110. Tariq R, Furqan F, Jamshed S, Khanna S. Efficacy of Fecal Microbiota Transplant in Hematological Cancers Patients with Recurrent Clostridioides Difficile Infection: A Systemic Review and Meta-Analysis. Blood. 13 nov 2019;134(Supplement\_1):5870.

111. Suchman K, Luo Y, Grinspan A. Fecal Microbiota Transplant for Clostridioides Difficile Infection Is Safe and Efficacious in an Immunocompromised Cohort. Dig Dis Sci. 1 oct 2022;67(10):4866-73.

112. Lurienne L, Bandinelli PA, Galvain T, Coursel CA, Oneto C, Feuerstadt P. Perception of quality of life in people experiencing or having experienced a Clostridioides difficile infection: a US population survey. Journal of Patient-Reported Outcomes. 19 févr 2020;4(1):14.

113. Han Z, Lapin B, Garey KW, Donskey CJ, Deshpande A. Impact of Clostridioides difficile infection on patient-reported quality of life. Infection Control & Hospital Epidemiology. oct 2022;43(10):1339-44.

114. Rakotonirina A, Galperine T, Audry M, Kroemer M, Baliff A, Carrez L, et al. Dry alginate beads for fecal microbiota transplantation: From model strains to fecal samples. International Journal of Pharmaceutics. 25 mai 2023;639:122961.

115. MetaGenoPolis [Internet]. [cité 3 oct 2023]. Protocole d'opération standard pour l'extraction ADN des échantillons fécaux - Protocol Q - MGP SOP 001 V1. Disponible sur: <https://mgps.eu/sops/mgp-sop-001-v1/>

116. Reigadas E, Bouza E, Olmedo M, Vázquez-Cuesta S, Villar-Gómara L, Alcalá L, et al. Faecal microbiota transplantation for recurrent Clostridioides difficile infection: experience with lyophilized oral capsules. Journal of Hospital Infection. 1 juin 2020;105(2):319-24.

117. Aira A, Rubio E, Ruiz A, Vergara A, Casals-Pascual C, Rico V, et al. New Procedure to Maintain Fecal Microbiota in a Dry Matrix Ready to Encapsulate. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology [Internet]. 2022 [cité 26 sept 2023];12. Disponible sur:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.899257>

118. Reygner J, Charrueau C, Delannoy J, Mayeur C, Robert V, Cuiat C, et al. Freeze-dried fecal samples are biologically active after long-lasting storage and suited to fecal microbiota transplantation in a preclinical murine model of *Clostridioides difficile* infection. *Gut Microbes*. 2 sept 2020;11(5):1405-22.

119. Guide de prise en charge financière des donneurs vivants d'éléments du corps humain - Agence de biomédecine [Internet]. [cité 3 oct 2023]. Disponible sur: [https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/tarification\\_dons\\_vivant.pdf](https://www.agence-biomedecine.fr/IMG/pdf/tarification_dons_vivant.pdf)

120. 12 septembre 2023 : MaaT Pharma et Skyepharma achèvent la construction de la plus grande usine de production européenne de médicaments à base de microbiote à écosystème complet. MaaT Pharma [Internet]. 12 sept 2023 [cité 20 sept 2023]; Disponible sur: <https://www.maatpharma.com/fr/12-septembre-2023-maat-pharma-et-skyepharma-achevent-la-construction-de-la-plus-grande-usine-de-production-europeenne-de-medicaments-a-base-de-microbiote-a-ecosysteme-complet/>

121. MaaT Pharma. Safety Phase I Evaluation of MaaT033, a Lyophilized Full-ecosystem Gut Microbiota Delayed-release Capsule, In HeMatOlogy Malignant Patients Under iNtensive Chemotherapy (CIMON) [Internet]. [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov); 2022 avr [cité 1 janv 2023]. Report No.: NCT04150393. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04150393>

122. Jain N, Umar TP, Fahner AF, Gibietis V. Advancing therapeutics for recurrent *clostridioides difficile* infections: an overview of vovst's FDA approval and implications. *Gut Microbes*. 31 déc 2023;15(1):2232137.

123. OpenBiome: Accelerating Discoveries in Microbiome Science [Internet]. [cité 20 sept 2023]. Disponible sur: <https://openbiome.org/>

124. REBYOTA product information. FDA. FDA; 2022 [cité 22 sept 2023]. REBYOTA. Disponible sur: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vaccines/rebyota>

125. VOWST product information. FDA. FDA; 2023 [cité 22 sept 2023]. VOWST. Disponible sur: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/vowst>
126. Feuerstadt P, Louie TJ, Lashner B, Wang EEL, Diao L, Bryant JA, et al. SER-109, an Oral Microbiome Therapy for Recurrent Clostridioides difficile Infection. New England Journal of Medicine. 20 janv 2022;386(3):220-9.
127. Center for Biologics Evaluation and Research F. Early Clinical Trials with Live Biotherapeutic Products: Chemistry, Manufacturing, and Control Information; Guidance for Industry. 2012.
128. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare [Internet]. [cité 21 sept 2023]. Live Biotherapeutic Products (LBPs): unprecedented quality requirements by the Ph. Eur. Commission - European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare - EDQM. Disponible sur: <https://www.edqm.eu/en/-/live-biotherapeutic-products-lbps-unprecedented-quality-requirements-by-the-ph.-eur.-commission-1>
129. Cordaillat-Simmons M, Rouanet A, Pot B. Live biotherapeutic products: the importance of a defined regulatory framework. Exp Mol Med. sept 2020;52(9):1397-406.

Annexes 1 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur de selles d'après l'ANSM

Toute dérogation à cette liste devra impérativement être justifiée.

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

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

<sup>2</sup>Charge virale (PCR) en plus de la sérologie

<sup>3</sup>Uniquement pour vérifier l'absence de séro-discordance avec le receveur

Annexe 2 : Questionnaire : La transplantation de microbiote fécal, des pratiques hétérogènes en France ?

**Questionnaire : La transplantation de microbiote fécal (TMF), une pratique toujours hétérogène en France ?**

I. Section commune :

2. Dans quel hôpital exercez-vous ? (Nom, Ville)

- .....

2. Réalisez-vous des TMF dans votre établissement ?

- Oui  
 Non

II. Section relative aux établissements réalisant des TMF :

1. Dans quel contexte êtes-vous amené à réaliser des TMF ? (si recherche clinique préciser les indications dans la rubrique « autre »)

- Soins courants : infection récidivante à *C. Difficile*  
 Recherche clinique  
 Autre : .....

3. Par quelle voie sont administrés les transplants dans votre établissement ?

- Voie orale : gélules  
 Sonde naso-gastrique  
 Sonde naso-duodénale  
 Voie rectale : coloscopie

- Voie rectale : lavement

4. Vos transplants sont :

- Congelés à -80°C
- Administrés directement après préparation
- Les deux

5. D'où proviennent vos transplants ?

- Banque de don interne à l'établissement
- Achat / Convention avec un autre établissement ou groupement

6. Combien de TMF réalisez-vous par an ? (si vous connaissez précisément le nombre, n'hésitez pas à le renseigner dans « autre »)

- Moins de 10 TMF par an
- Entre 10 et 50 TMF par an
- Plus de 50 TMF par an
- Autre :

.....  
.....

III. Section pour les établissements possédant une banque de don de selles :

**Donneur et validation de ce dernier :**

1. Par quels moyens trouvez-vous des donneurs ?

- Communication interne à l'établissement (affichage, mail, bouche-à-oreille, etc...)
- Communication externe à l'établissement (internet, réseaux sociaux, etc...)
- Entourage du patient (Don dirigé)
- Autre.....  
.....



2. Quelles recommandations appliquez-vous pour le screening des donneurs ?

- ANSM, La transplantation du microbiote fecal et son encadrement dans les essais cliniques.
- 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. Hépato-Gastro & Oncologie Digestive. 1 avr 2015;22(4):278-90
- Cammarota G, Ianiro G, Kelly CR, Mullish BH, Allegretti JR, Kassam Z, et al. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice. Gut. 1 déc 2019;68(12):2111-21
- Van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, Guery B, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for Clostridioides difficile infection in adults. Clinical Microbiology and Infection. déc 2021;27:S1-21
- Autre :  
.....  
.....

3. Utilisez-vous la PCR FilmArray Gastro Intestinale en routine comme technique de recherche d'agents pathogènes sur les selles ?

- Oui
- Non
- Autre :  
.....  
.....

4. Recherchez-vous *Listeria monocytogenes* dans les selles ?

- Oui
- Non
- Uniquement pour les protocoles de recherche
- Autre :  
.....  
.....

5. Recherchez-vous *Helicobacter pylori* dans les selles ?

- Oui
- Non
- Uniquement pour les protocoles de recherche
- Autre :  
.....  
.....

6. Recherchez-vous le portage de SARM dans les selles ?

- Oui
- Non
- Uniquement pour les protocoles de recherche
- Autre :

.....  
.....

7. Recherchez-vous *Blastocystis hominis* dans les selles ?

- Oui
- Non
- Uniquement pour les protocoles de recherche
- Autre :

.....  
.....

8. Recherchez-vous *Dientamoeba fragilis* dans les selles ?

- Oui
- Non
- Uniquement pour les protocoles de recherche
- Autre :

.....  
.....

**Préparation du transplant :**

1. Dans quels locaux réalisez-vous la préparation du transplant ?

- Préparatoire de pharmacotechnie
- Dans une zone à atmosphère contrôlée
- Local PUI dédié à la TMF
- Laboratoire de biologie médicale de l'établissement
- Dans le service clinique
- Autre :

.....  
.....

2. Dans quel environnement réalisez-vous la préparation ?

- Sous hotte à flux d'air laminaire dédiée
- Dans une boîte à gants de laboratoire
- Autre :

.....  
.....

3. Quel type de matériel utilisez-vous pour la préparation ?

- Blender usage unique
- Blender avec bol réutilisable désinfecté et stérilisé entre deux préparations
- Blender avec bol réutilisable désinfecté uniquement
- Autre :

.....  
.....

4. Quelle quantité de matière première (selles natives) utilisez vous pour un transplant ? (en grammes  $\pm$  10%)

- 25g
- 50g
- Autre :

.....  
.....

5. Réalisez-vous des transplants « poolé » avec les selles de plusieurs donneurs ?

- Oui
- Non

6. Si vous réalisez des suspensions, quel est le volume final de votre préparation ? (en mL  $\pm$ 10%)

- 125mL
- 250mL
- 500mL

- Autre :  
.....  
.....

IV. Question pour les établissements ne réalisant pas de screening et conditionnement de transplants :

1. Après de quel établissement vous fournissez-vous en transplant ?

- .....  
.....

V. Question pour les établissements de ne réalisant pas de TMF :

1. Pour quelles raisons ne réalisez-vous pas de TMF :

- .....  
.....

## Annexe 3 : Affiche recherche de donneur de microbiote digestif



### RECHERCHE DE DONNEUR DE MICROBIOTE DIGESTIF

Le service d'infectiologie en collaboration avec la pharmacie du CHU Grenoble Alpes est à la recherche de donneurs de microbiote digestif.

#### **Pourquoi donner ?**

**Vos selles ont le pouvoir de sauver des vies.**

La transplantation de microbiote digestif est le traitement de première intention lors d'une récurrence d'infection digestive à *Clostridioides difficile* (ancien *Clostridium difficile*). Cette bactérie, notamment favorisée par les antibiotiques et les hospitalisations prolongées et répétées, occasionne des colites avec un haut potentiel de gravité. Outre la gravité initiale, la colite à CD altère significativement la qualité de vie de nos patients.

**Les réserves du CHU Grenoble Alpes sont actuellement vides et nous ne sommes plus en mesure de traiter ces patients fragiles.**

#### **Comment donner ?**

Pour s'inscrire comme donneur, il suffit de répondre aux critères ci-dessous :

- Être majeur
- Absence de pathologie chronique gastro-intestinal
- Absence de traitement au long cours
- Pas de diarrhées dans les 3 mois précédents ni **prise d'antibiotiques**
- Absence de séjour en zone intertropicale dans les 3 mois précédents
- Pas d'hospitalisation à l'étranger dans l'année précédente
- Absence d'antécédents de fièvre typhoïde

En cas de réponse favorable à ces critères, une **consultation** est organisée, avec réalisation dans les suites d'un bilan sanguin et d'analyses de selles.

Après réception d'un bilan satisfaisant, le don est autorisé dans les 3 semaines du bilan. Les contenants seront remis au donneur qui les transmettra à la pharmacie pour leur préparation et conservation en attendant l'administration.

**Les dons sont anonymes et non rémunérés.**

Vous avez entre 18 et 60 ans ?

Vous répondez aux critères précédents ?

Sauvez des vies et contactez le service de Maladies infectieuses :

Accueil du service de Maladie infectieuse : 04 76 76 [REDACTED]

Dr [REDACTED] Maladies infectieuses : [REDACTED]@chu-grenoble.fr



*Faculté de Pharmacie,  
Université Grenoble Alpes*



## **Serment de Galien**



« En présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples, je jure :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

**Maxime LASSIAZ**

**LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL :  
ÉTAT DES CONNAISSANCES ET PRATIQUES**

**RÉSUMÉ :**

Le microbiote intestinal est impliqué dans de nombreux processus physiologiques. Il interagit de manière symbiotique avec ce dernier. L'ensemble des espèces le constituant est à l'heure actuelle inconnu et sa composition propre à chaque individu. La recherche au cours de ces dernières années s'est intensifiée afin de mettre en évidence son implication dans diverses pathologies ainsi que les mécanismes en découlant. Dix ans après la publication du premier essai clinique randomisé et contrôlé de TMF, cette dernière, efficace, a acquis une place dans les recommandations de la prise en charge des infections récidivantes à *C. difficile*, qui représentent un réel problème de santé publique à travers le monde. L'élargissement du champ d'application de cette pratique reste encore à prouver malgré des résultats encourageants dans d'autres pathologies tels que les MICI. La mise en évidence des bactéries et métabolites clés du succès de la transplantation fécale représente un enjeu majeur dans les années à venir. Leur identification permettra de se détacher du don de selles, intimement lié au risque infectieux. Au niveau national nous constatons une hétérogénéité autour de cette pratique hospitalière, sans recommandations récentes pour la pratique courante. Cette hétérogénéité se retrouve également à l'échelon européen qui peine à harmoniser les pratiques à cause des réglementations différentes dont dépend la matière première des transplants. La révision des recommandations de l'ANSM en cours et les décrets récents soumettant cette activité à autorisation sont des leviers, qui permettront d'harmoniser les pratiques au sein du territoire ainsi que la collecte de données fiables. La formulation de ce médicament vivant dans sa matrice complexe évolue également, avec initialement une utilisation immédiate imposée, puis différée grâce à la congélation à -80°C, des modes d'administration très variés avec la mise à disposition de formes orales moins invasives. Nous entrevoyons dans le futur, des transplants détachés de leurs volumineuses matrices grâce à des techniques de concentration puis lyophilisation qui permettront un stockage et un volume d'administration moins contraignant. Face au potentiel encore en partie masqué du microbiote, la production hospitalière de TMF possède un avenir certain. Mais les industriels commencent à se positionner, des médicaments ont récemment été mis sur le marché américain. D'autres candidats de médicaments en essais cliniques devraient faire leurs apparitions sur le marché dans les années à venir.

**MOTS CLÉS :** microbiote, médicament, préparation

**SPÉCIALITÉ :** Pharmacie Hospitalière