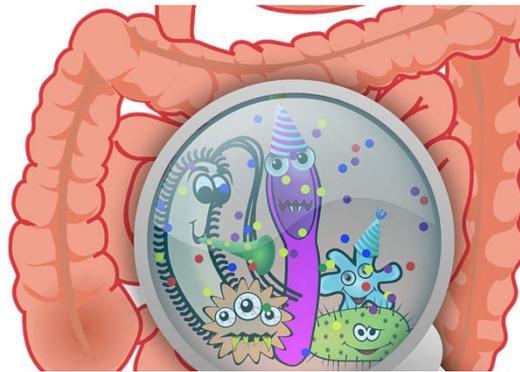


L'innovation: une source d'inspiration

Microbiote : ami ou ennemi?



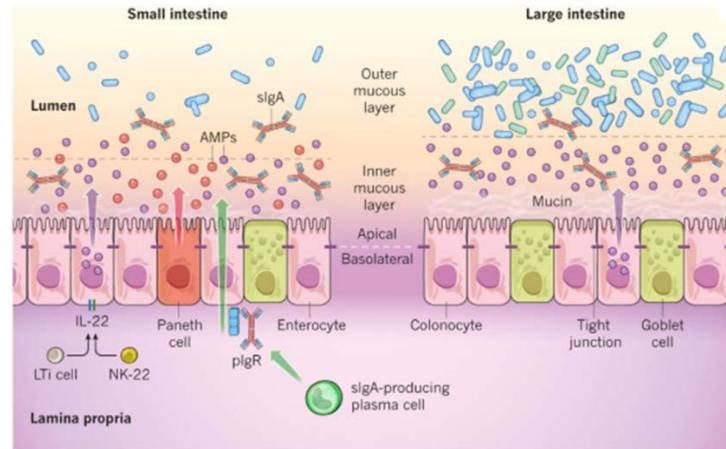
Dr Muriel PAUL

PH, CS, MCUa

Hôpitaux Universitaires Henri Mondor

Microbiote : c'est où?

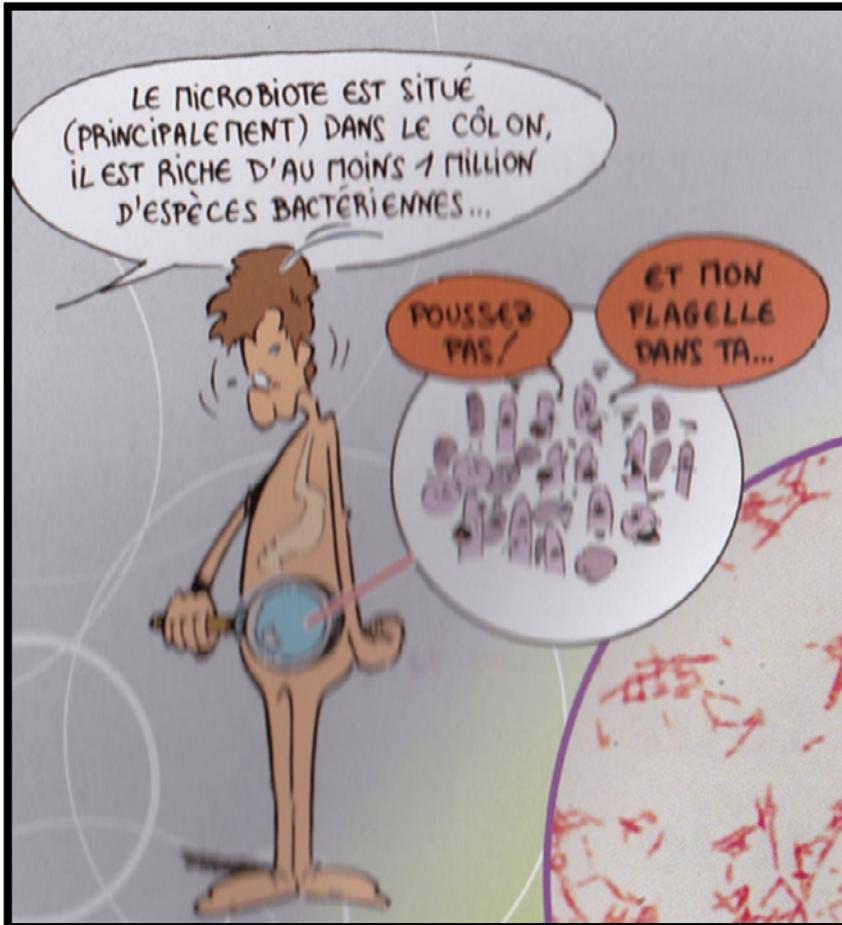
- ▶ Grêle et colon
- ▶ Réparti entre la lumière du tube digestif et le biofilm protecteur que forme le mucus intestinal sur sa paroi intérieure (l'épithélium intestinal).



- ▶ Rôle du mucus :
 - produit par des cellules épithéliales spécialisées en continu. Elle constitue une barrière physique entre le tissu sous-jacent et les micro-organismes et les toxines qu'ils produisent
 - Erosion de la couche de mucus du côté de la lumière sous l'action d'enzymes et au frottement des matières en cours de digestion
 - Sécrétions en provenance de la muqueuse pour garantir l'intégrité de la barrière.
- ▶ Composition : Mucines :
 - glycoprotéines hautement glycosylées :
 - noyau central peptidique entouré d'une série d'oligosaccharides disposés en forme d'écouvillon (galactose, de fucose, de N-acétylgalactosamine, de N-acétylglucosamine et d'acide sialique).
 - 80-85% du poids de la mucine

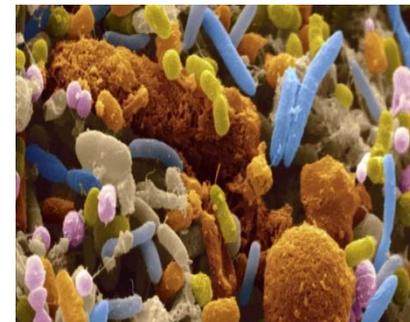


Microbiote : c'est quoi ?



= Flore intestinale

- 10^{14} bactéries
- 10 à 100 fois plus de cellules que celles formant l'ensemble de notre organisme
- Gradient de concentration
- + de 1000 espèces différentes : **diversité**

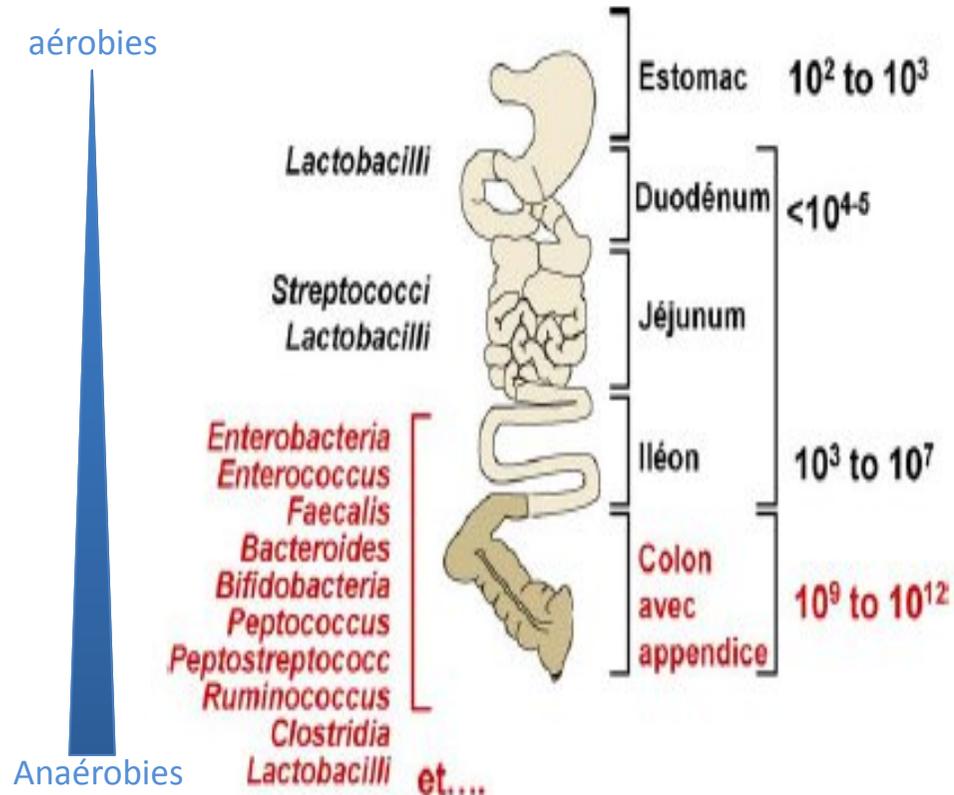
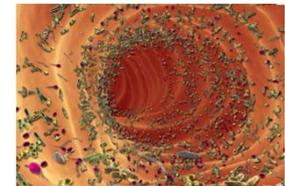


Microbiote : c'est quoi ? (2)

Ecosystème considéré comme un organe à part entière, fonctionnant en étroite symbiose avec notre organisme

► Composition quantitative et qualitative variable :

- Localisation
- Individu
- Âge
- Les périodes de la vie



Microbiote : signature bactérienne



Naissance



3ans

➤ Pas inné

➤ **Acquisition** au cours des trois premières années de la vie
- Dans le ventre de la mère, le tube digestif du fœtus est stérile.

- A l'accouchement, à la rupture des membranes → les bactéries de la **flore vaginale** colonisent le colon du nouveau-né. **Attention : la flore vaginale de la mère est très dépendante de la flore intestinale**

- La flore cutanée joue également un rôle

- L'alimentation

➤ 72 heures après la naissance, le TD du nouveau-né contient déjà 10^9 bactéries et levures !



Microbiote : signature bactérienne pour la vie

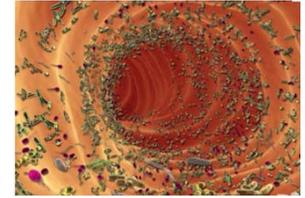


Comme l'empreinte digitale, le microbiote est universel et unique.

Cet ensemble nous est aussi personnel que nos empreintes digitales.



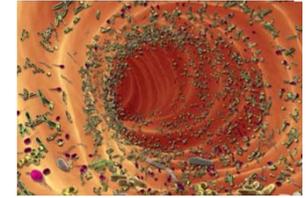
Microbiote : c'est quoi? (3)



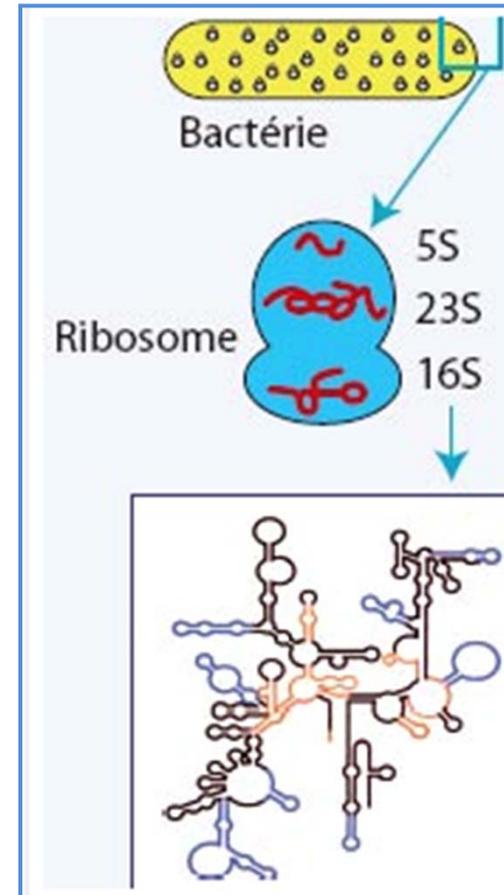
- Un ensemble de bactéries, de levures et de virus
- Poids de 1.5 à 2 kgs
- 20 à 30% bactéries cultivables
- Un métagénome >>>> celui de l'homme
 - 7 millions de gènes
 - 350 fois le génome humain
- Une composition qualitative représentative de plusieurs phyla
- Plusieurs espèces dominantes
- ***Nos microbiotes se ressemblent mais ne sont pas identiques***



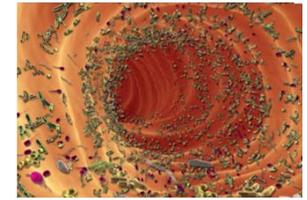
Microbiote : c'est quoi? (4)



- ▶ Le séquençage des gènes codant pour l'ARNr 16S ont permis d'établir des profils phylogéniques microbiens et de rapporter sur des cohortes de populations, la structure taxonomique du microbiote avec une précision pouvant aller jusqu'au genre.



Microbiote : c'est quoi? (5)



- ▶ 3 à 4 Phyla majeurs
 - Bacteroidetes
 - Firmicutes
 - Actinobacteria
 - Proteobacteria

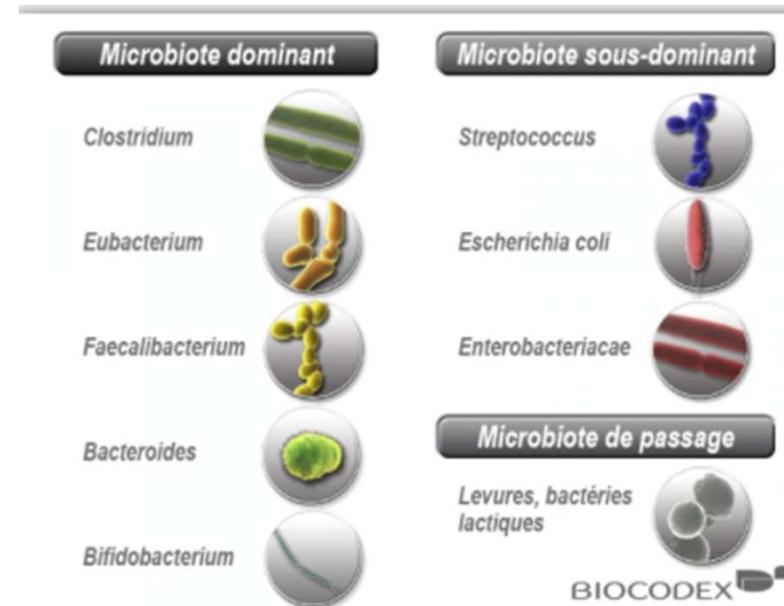
90%



Flore anaérobie majoritaire

Ratio : 1/100 à 1/1000

- ▶ 3 à 4 entérotypes majeurs*
 - *Bacteroides*
 - *Prevotella*
 - *Actinobacteria*
 - *Ruminococcus*

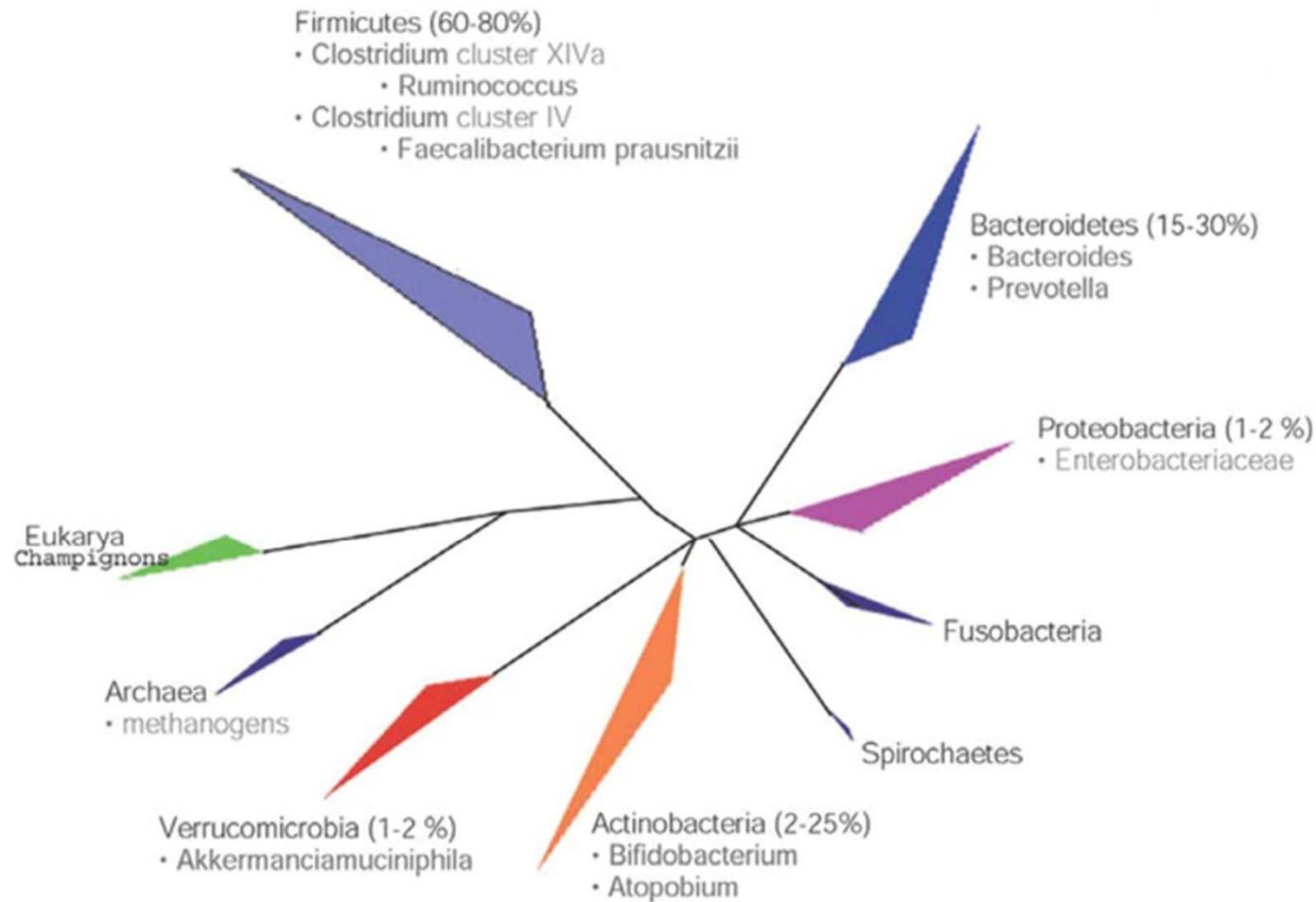
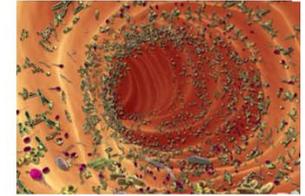


- Chaque entérotipe est caractérisé par l'existence de nombreuses espèces bactériennes

▶ Biodiversité

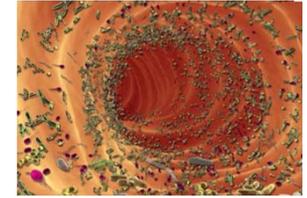
* Ensemble de populations bactériennes

Microbiote : c'est quoi? (6)

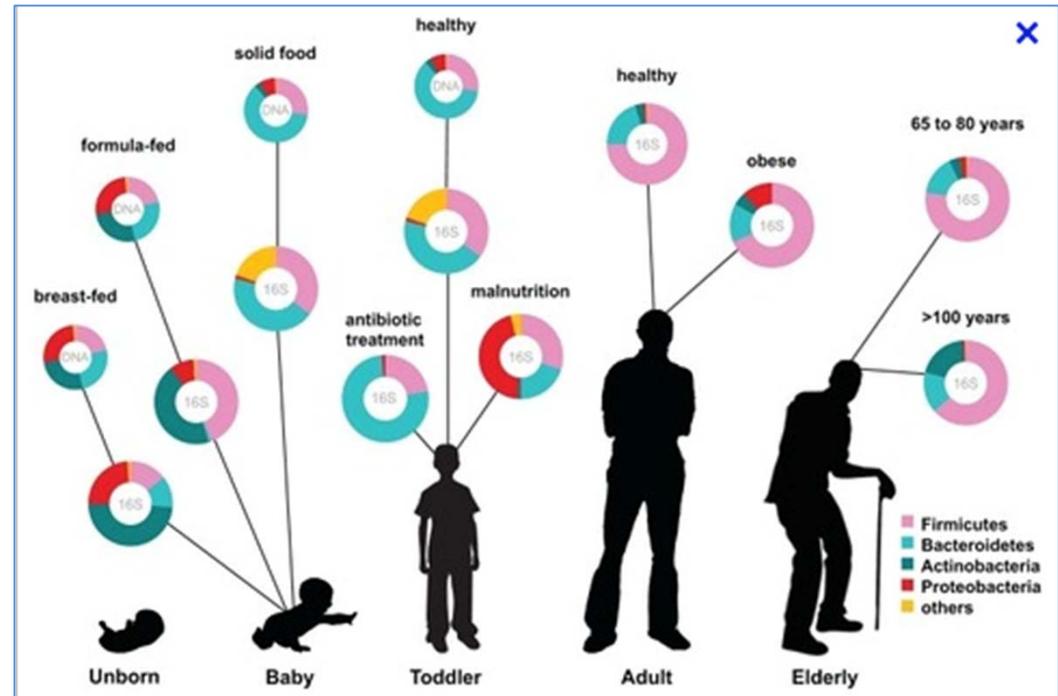


D'après Cheng et al, 2013

Microbiote : c'est quoi? (7)



- ▶ Un millier d'espèces est partagé par tous dans des proportions différentes. La majorité des espèces hébergées par chaque individu constitue un complexe bactérien qui lui est spécifique, et qui reste remarquablement stable au cours du temps :



Résilience

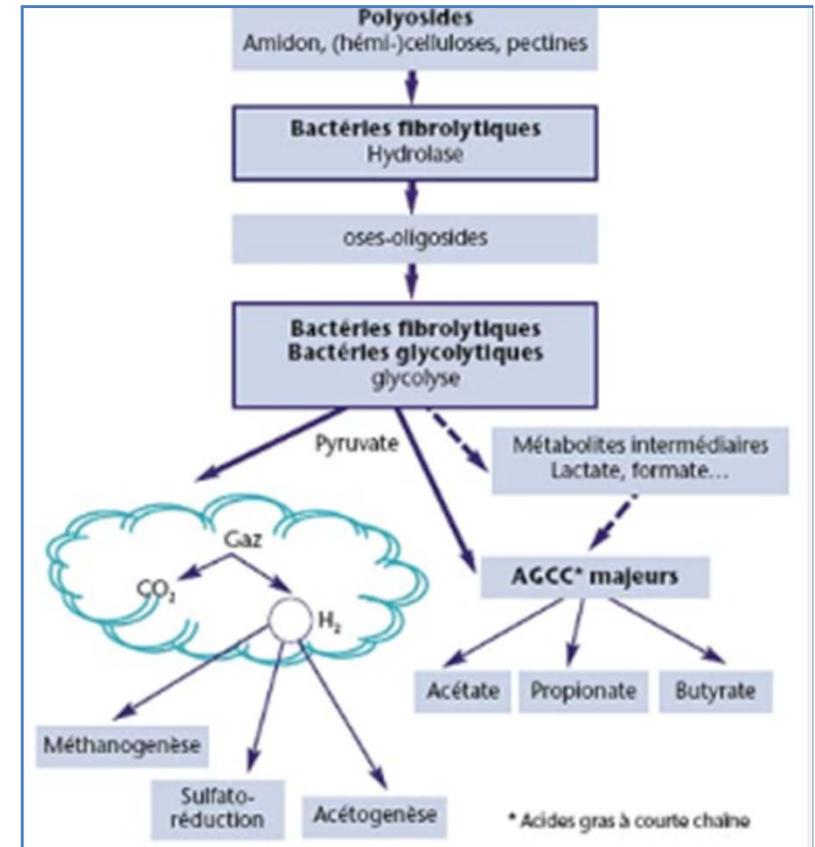


Microbiote = ces bactéries qui nous veulent du bien



Microbiote : un ami qui nous veut du bien

- **Usine indispensable à la digestion des aliments non assimilés**
 - Acquisition d'activités métaboliques et biochimiques
 - Dégradation des polysaccharides végétaux
 - Dégradation des substances alimentaires
- **Synthèse**
 - Vitamines (B7, B12, K...)
 - Acide gras à chaîne courte à partir des glucides : nutriment énergétique des cellules du TD
 - Acide butyrique : prolifération des cellules du TD

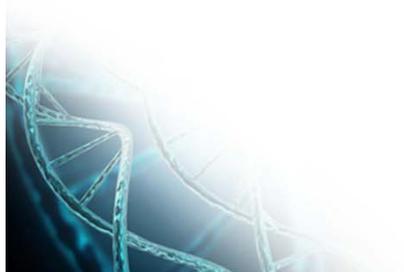
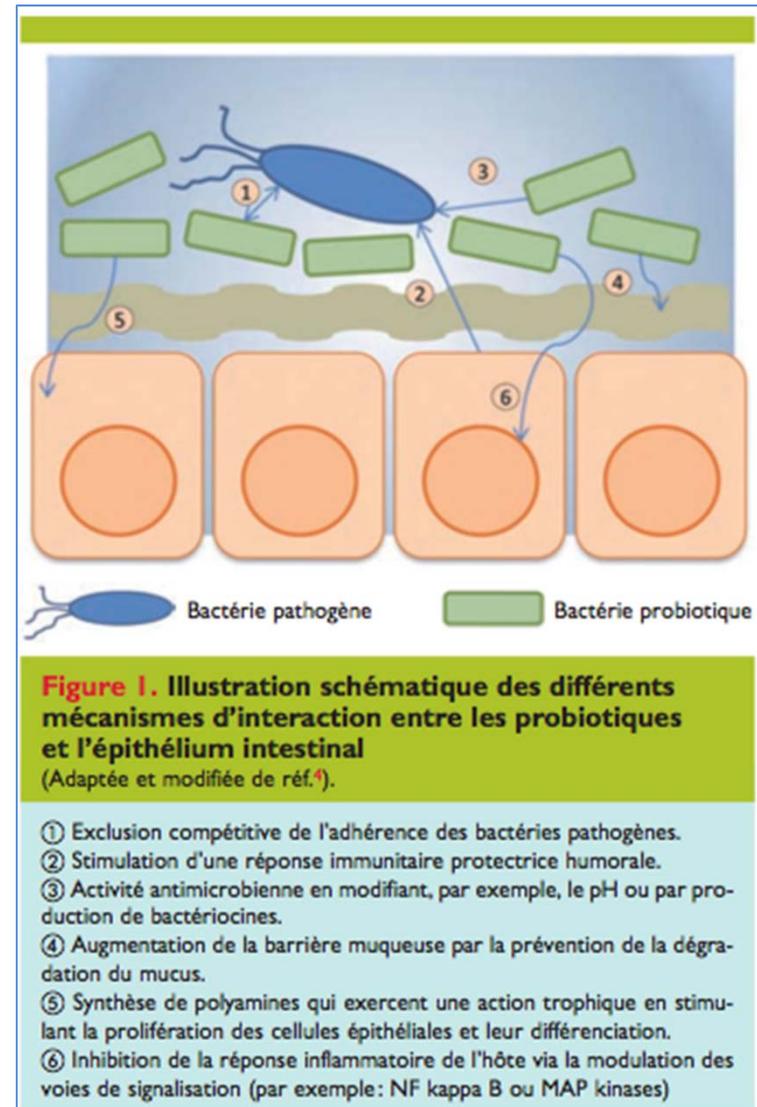


Supra-organisme = espace métabolique intégré

Microbiote : un ami qui nous veut du bien (2)

► Rôle de protection = effet barrière-défense

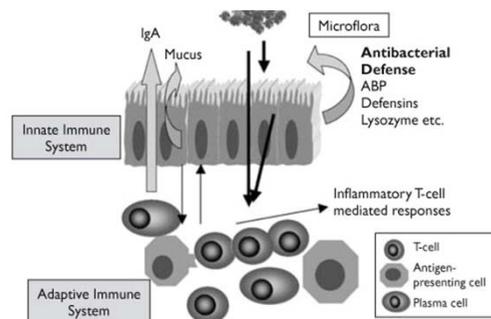
- Droit de premier occupant auprès des niches écologiques
- Sécrétion de substances bactéricides
- Limite vis à vis des bactéries pathogènes



Microbiote : un ami qui nous veut du bien (3)

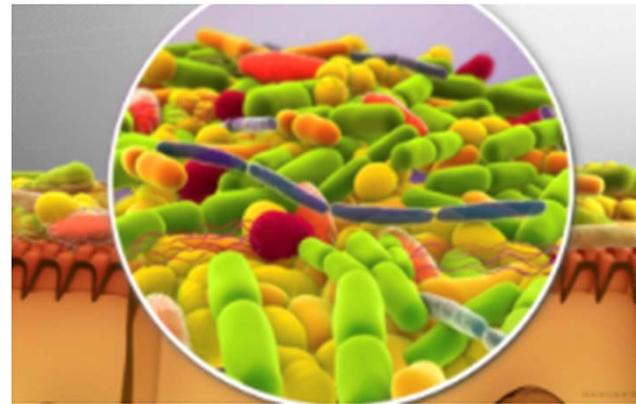
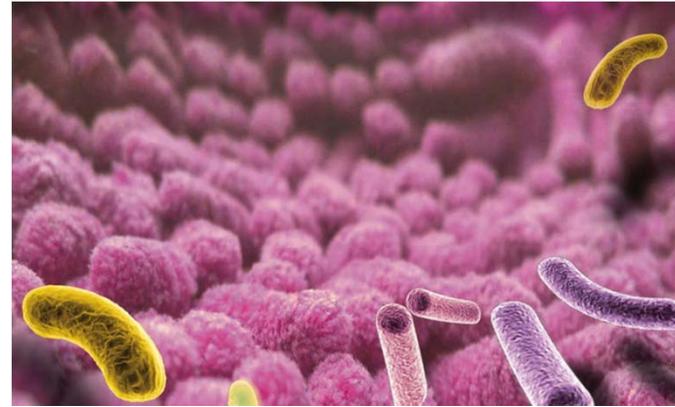
► Participe au renforcement du système immunitaire

- Concentration à 80% dans l'intestin
- Production anticorps (IgA)
- Co-existence pacifique avec le microbiote : **la tolérance locale**
- Adaptation pour la protection de l'hôte contre les micro-organismes pathogènes tout en favorisant les communautés commensales
- Stimulation permanente du système immunitaire par le microbiote intestinal :
 - pour son développement et sa maturation,
 - pour le maintien de l'homéostasie intestinale
 - Pour le rôle de barrière de l'épithélium
 - Pour l'équilibre entre réponses pro- et anti-inflammatoires



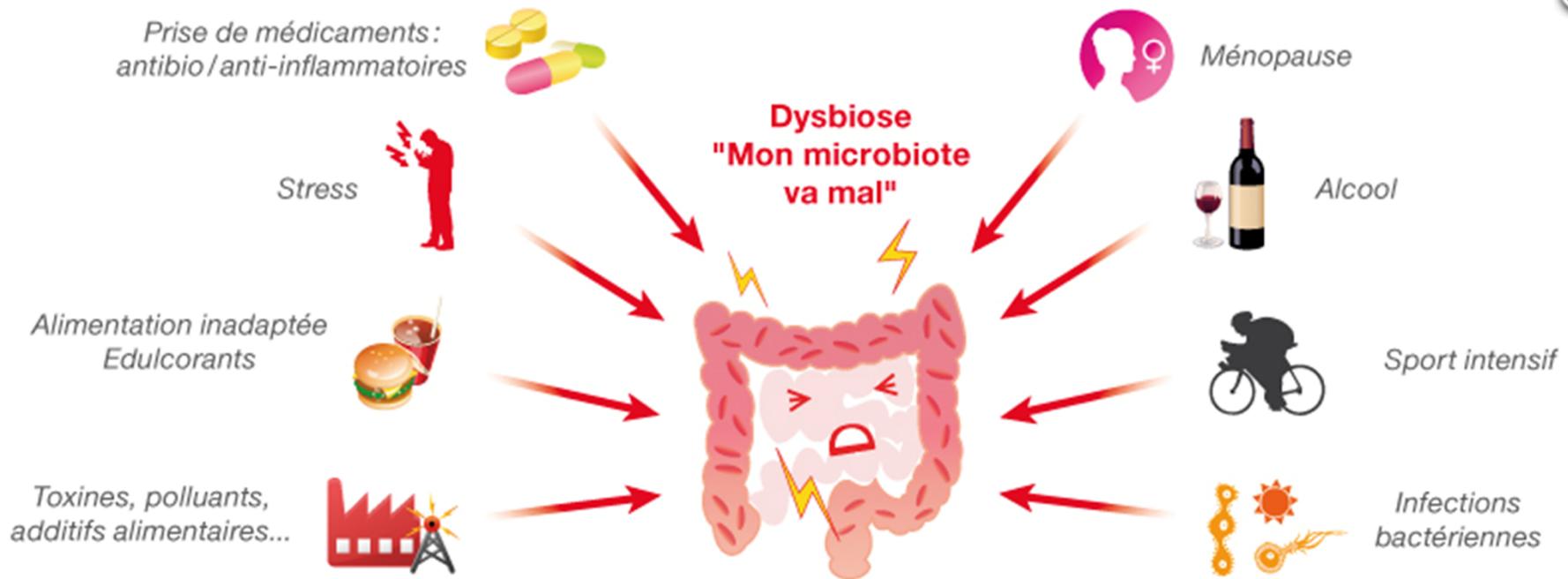
Microbiote : c'est quoi?

- ▶ Rôles multiples
- ▶ Diversité
- ▶ Spécificité
- ▶ Stabilité – résilience
- ▶ Equilibre (= symbiose)



Homéostasie intestinale : un équilibre fragile

- *Microbiote : un ami qui se transforme en ennemi*

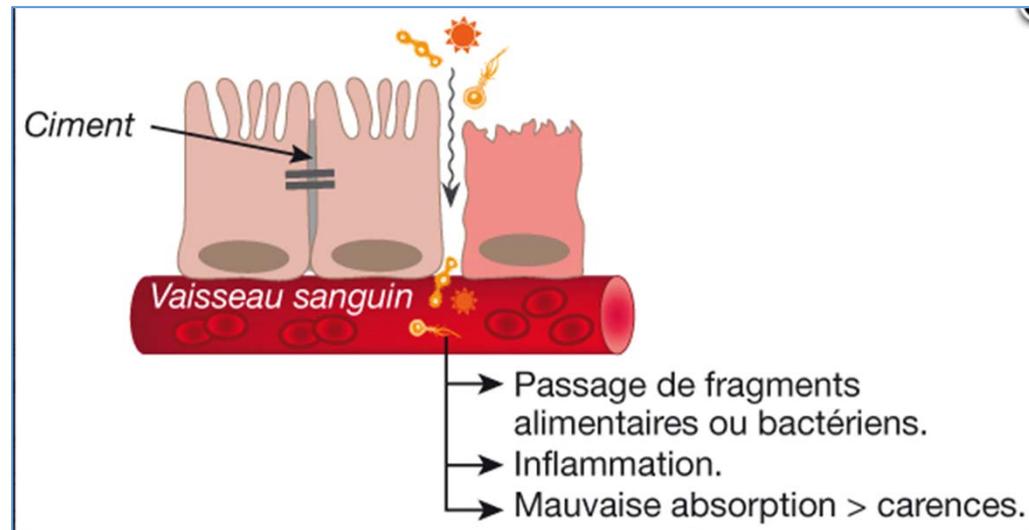


les modes d'accouchement et la période péri-natale

► → **Dysbiose**



Homéostasie intestinale : un équilibre fragile (2)



Rupture d'équilibre →

« syndrome de l'intestin qui fuit » ou intestin poreux, perméable.

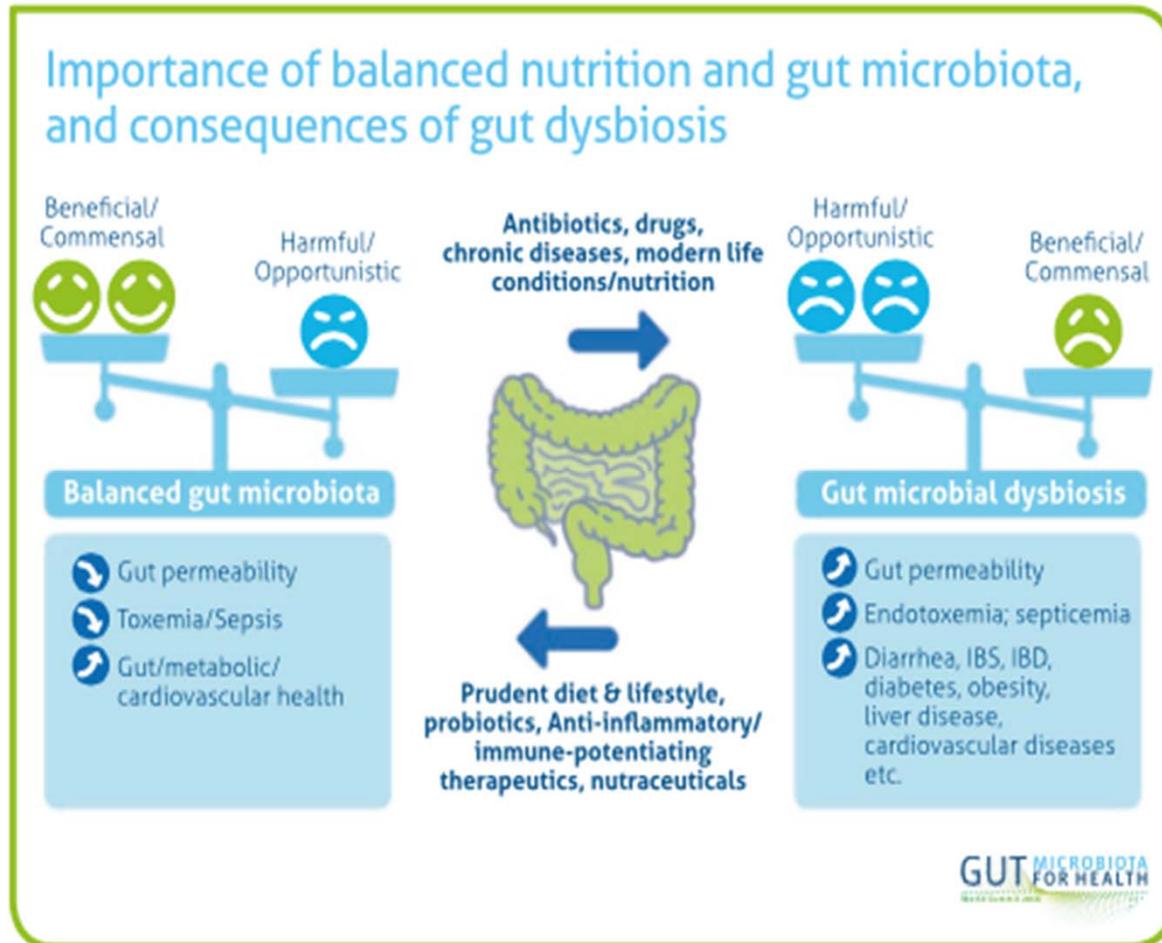
Destruction du ciment qui assure l'étanchéité des cellules
Passage des substances (ou germes, composés bactériens) qui vont dans la circulation sanguine.



Etat d'inflammation chronique, source de problèmes



Homéostasie intestinale : un équilibre fragile (3)



Diminution du nombre de bactéries produisant des acides gras à chaîne courte (butyrate)

Faecalibacterium →

Diminution de l'effet barrière intestinale

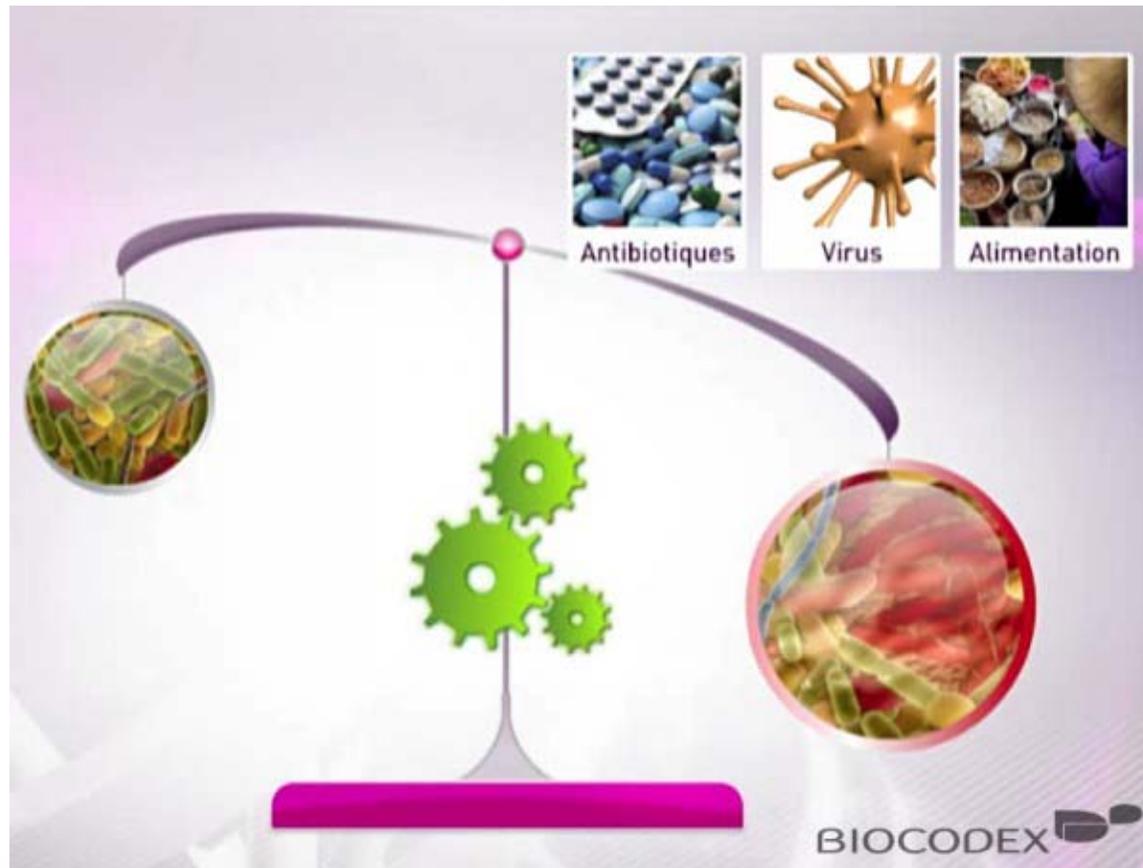
Augmentation des bactéries délétères :

- Bactéries résistantes à l'oxygène : destruction des cellules épithéliales qui tapissent la muqueuse.
- Capacité accrue à produire du sulfure d'hydrogène, toxique pour les cellules épithéliales.

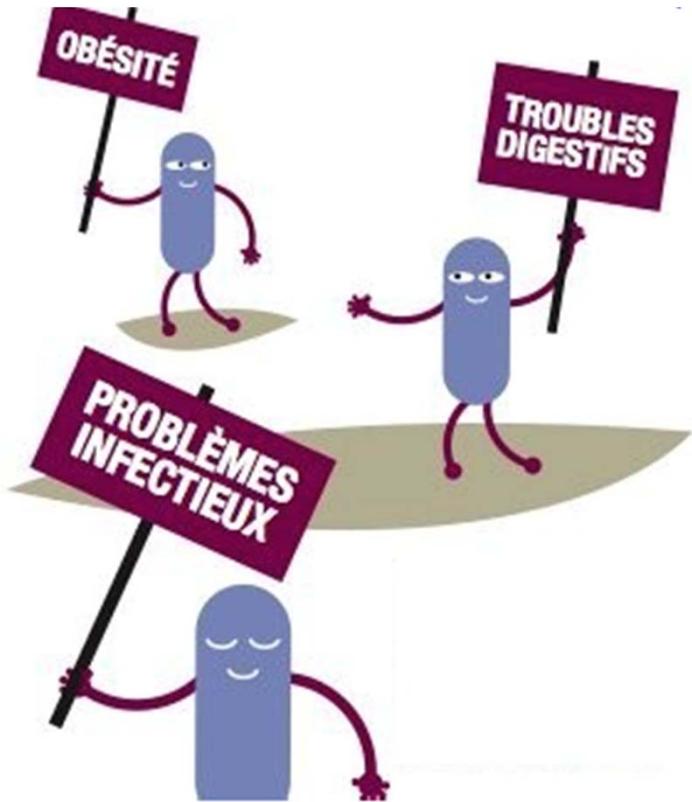


Dysbiose

- ▶ Déséquilibre du microbiote
- ▶ Modifications composition/nombre



Conséquences de la dysbiose



Mais aussi :

Troubles du comportement : autisme

Maladies neuro-dégénératives:

maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson

Dépression et anxiété

Diabète

Asthme et allergies

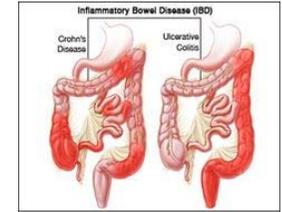
Cancers

...



Microbiote : un ennemi ?

Les maladies inflammatoires intestinales

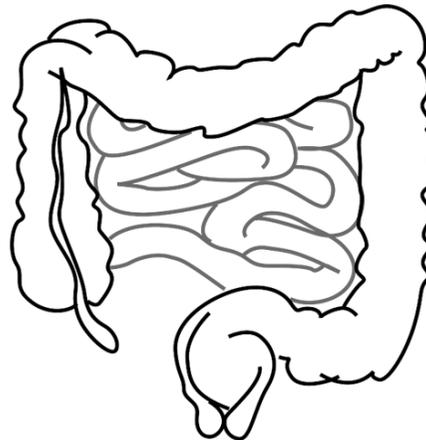


► Hypothèse :

- Réponse aberrante et inadaptée du système immunitaire vis-à-vis d'une modification du microbiote intestinal chez des patients génétiquement prédisposés.

Facteurs
génétiques

Facteurs
immunologiques



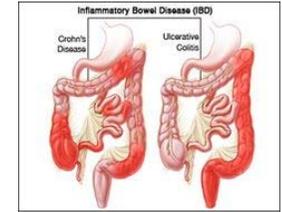
Microbiote

Facteurs
environnementaux

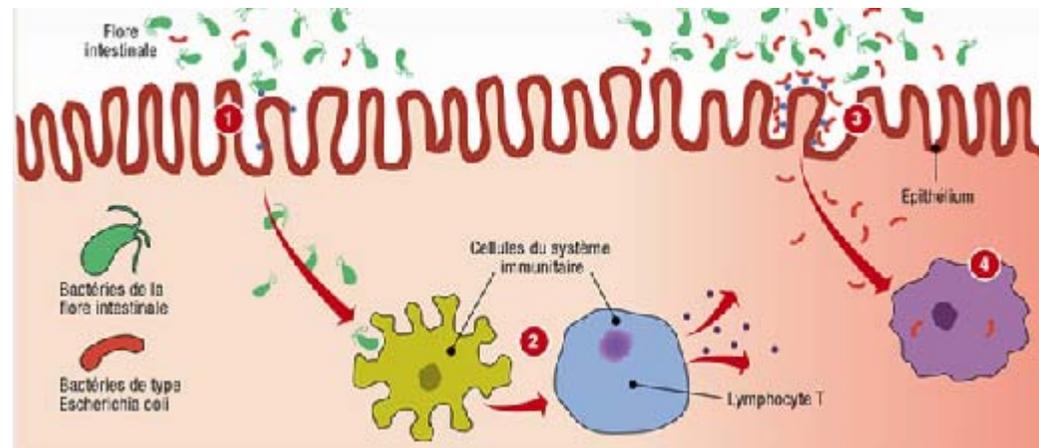


Microbiote : un ennemi ?

Les maladies inflammatoires intestinales (2)



- Perméabilité intestinale augmentée

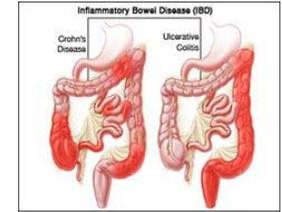


- Instabilité du microbiote au cours du temps
- Présence de bactéries inhabituelles (30%)
- Restriction de la biodiversité aux dépens du phylum Firmicutes : *Faecalibacterium prausnitzii* (rôle anti-inflammatoire)
- Augmentation de la concentration de bactéries dans la muqueuse (*E. Coli*)



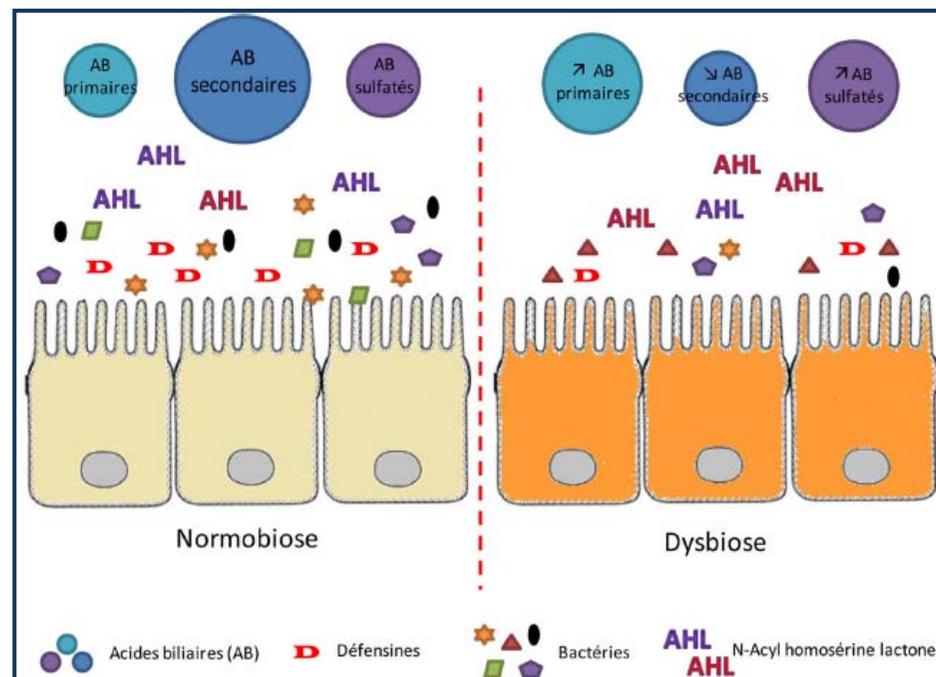
Microbiote : un ennemi ?

Les maladies inflammatoires intestinales (3)



► Dysbiose → Dismétabolose des acides biliaires

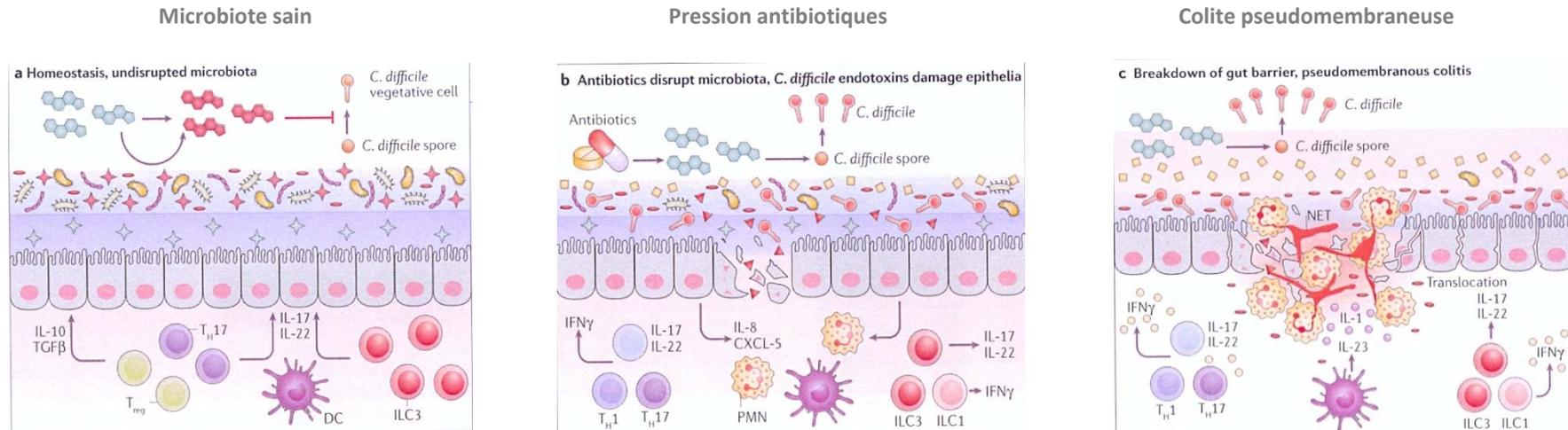
- Déficit de la déconjugaison et de la transformation des AB par le microbiote (*F. prausnitzii*)
- Dismétabolisme des AB : voies de l'inflammation et de la carcinogénèse
- Diminution des défensines (peptides antimicrobiens et immunomodulateurs)
 - α sécrétées par les cellules de paneth (Maladie de Crohn)
 - β sécrétées par cellules épithéliales (RCH)



Microbiote : un ennemi ?

Les infections intestinales (*C. Difficile*)

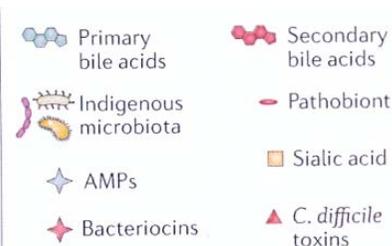
- ▶ *C. Difficile* libère des enterotoxines à l'origine de l'inflammation → des diarrhées.



Jonctions serrées
Présence de bactériocines
Mucus de qualité

↓ du mucus
↓ PAM et des bactériocines
↓ Pertes des jonctions serrées
↓ Des AB 2nd
↑ + IL-8, CXCL5 fabriqués par cellules épithéliales
↑ Acides sialiques

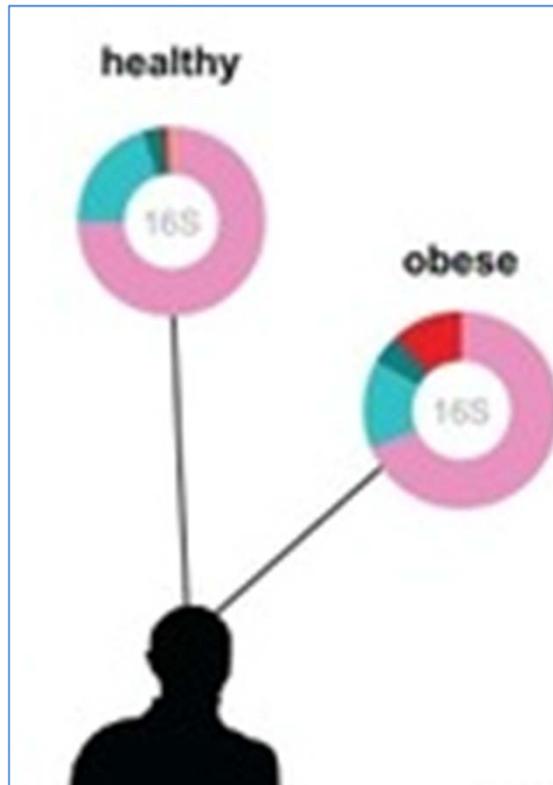
↑ Des PNN
↑ IL-1 et IL-23
Apoptose des cellules épithéliales



D'après A. Khoruts et MJ. Sadowsky, Nature Gastro, 2016

Microbiote : un ennemi ?

L'obésité et diabète



La flore de l'obèse est plus pauvre.

La flore de l'obèse est anormalement riche en bactéries gram- (des *Proteobacteria*) dû à l'ingestion importante de sucres et de graisses saturées →

↑ inflammation médiée par les LPS inflammatoires

↓ métabolisme des fibres, des vitamines B et de certains facteurs immunitaires comme les immunomodulines du mucus ou glycocalyx

↓ *Akkermansia muciniphila* (corrélation avec le poids)

En conséquence du stress, synthèse d'une protéine appelée ClpB par *E. Coli* mimant l'hormone de la satiété → période de satiété entrecoupée de fringales

→ Modification de microbiote

Microbiote : un ennemi ?

Le stress

stress induit :

Stimulation du système endocannabinoïde



- Une augmentation de la prise alimentaire
- Une hyperperméabilité intestinale
- Une augmentation des réactions enzymatiques et du stress oxydatif
- Une diminution des IgA
- Une augmentation du cortisol

Une augmentation de la capture du
tryptophane, précurseur de la sérotonine →

État de mal-être : **axe intestin - cerveau**



Microbiote : un ennemi ?

La dépression, l'anxiété...



Informations ascendantes (2^{ème} cerveau)

Stress

Certains métabolites produits par les bactéries intestinales atteindraient le cerveau, provoquant des anomalies comportementales, par exemple de type anxieux ou dépressif, du moins chez la souris

Composition du microbiote (selles) différentes entre sujet dépressifs ou pas (étude norvégienne) → modification de l'information

Les bactéries au banc des accusés!

Helicobacter pylori : augmentation de l'incidence du cancer gastrique

Fusobacterium : augmentation du risque de cancer colique

Augmentation de *Fusobacterium* et *Enterobacteriaceae* et diminution des *Faecalibacterium* ou *Clostridia* dans les MICI

Modification du microbiote par les AB et incidence du cancer du sein (plus de 2 AB/an → incidence plus élevée)

Augmentation des *Enterobacteriaceae* →

- Maladie de Parkinson
- Obésité

Comment faire refleurir le jardin?

entretenir le jardin et éliminer les mauvaises
herbes: renforcer l'effet barrière : probiotiques?

réensemencer régulièrement en lui apportant
un bon « engrais » : rôle de l'alimentation



Les six pistes pour rétablir l'équilibre

Une alimentation équilibrée favorisant le développement des bactéries bénéfiques pour le système digestif : apport de fibres → AGCC

AB ciblée ponctuelle : *C. Difficile*

Apport de probiotiques

Apport de prébiotiques (composants alimentaires non digestibles mais utile à la croissance des bactéries bénéfiques)

Apport des symbiotiques : probiotiques + prébiotiques

Transplantation fécale : reconnue pour le traitement des infections à *C. Difficile*. Pour les autres indications, il s'agit uniquement d'essais cliniques

Les probiotiques



Définition

- « *micro-organismes **vivants** qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels* »

Renforcement de la flore anaérobie et de l'effet barrière

Aide à la digestion, stimulent le système immunitaire, préviennent ou traitent les diarrhées

Additifs des produits laitiers et autres produits (céréales...)

En gélules ou en poudre

Une seule souche ou plusieurs

En quantité importante par prise : 10^8 à 10^{10} bactéries pour être efficace

Au moins 10 jours de traitement

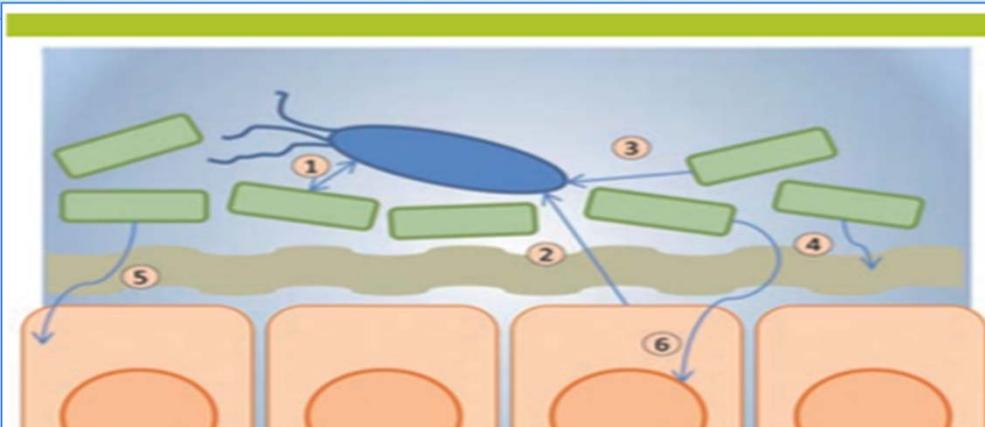
Résultats controversés

- La commission de la transparence de la HAS a rendu des avis mitigés
- Remboursement partiel (SMR)
- Spécialités pharmaceutiques bénéficiant d'une AMM
 - *Saccharomyces boulardii* (Ultralevure®)

Probiotiques : comment ça marche ? (2)



- ① Exclusion compétitive de l'adhérence des bactéries pathogènes.
- ② Stimulation d'une réponse immunitaire protectrice humorale.
- ③ Activité antimicrobienne en modifiant, par exemple, le pH ou par production de bactériocines.
- ④ Augmentation de la barrière muqueuse par la prévention de la dégradation du mucus.
- ⑤ Synthèse de polyamines qui exercent une action trophique en stimulant la prolifération des cellules épithéliales et leur différenciation.
- ⑥ Inhibition de la réponse inflammatoire de l'hôte via la modulation des voies de signalisation (par exemple: NF kappa B ou MAP kinases)

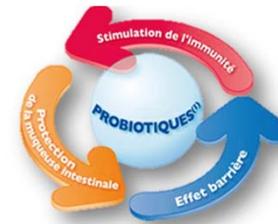


s probiotiques : les principales souches utilisées dans les MICI (3)



Bifidobacterium <i>B. animalis subsp. animalis</i> <i>B. animalis subsp. lactis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> * <i>B. bulgaris</i> <i>B. infantis</i> * <i>B. longum</i> *	<i>L. plantarum</i> * <i>L. reuteri</i> <i>L. salivarius</i>
	Bacillus <i>B. coagulans</i>
	Saccharomyces <i>S. boulardii</i>
Lactobacillus <i>L. acidophilus</i> * <i>L. delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> * <i>L. casei</i> * <i>L. farciminis</i> <i>L. rhamnosus GG</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. paracasei</i>	Escherichia <i>E. coli strain (Nissle 1917)</i>
	Streptococcus <i>S. salivarius subsp. thermophilus</i> *
	Enterococcus <i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>

Les probiotiques (4)



Ils ont montré leur intérêt dans nombre de pathologies intestinales d'origine infectieuse ou inflammatoire :

- Gastro-entérite
- Ulcère gastro-duodéal
- MICI (surtout dans la RCH)
- Mais aussi
 - Diabète de type 2 et l'obésité
 - ...

Anxiolytique :

- Régulateur du stress au quotidien

Défenses immunitaires

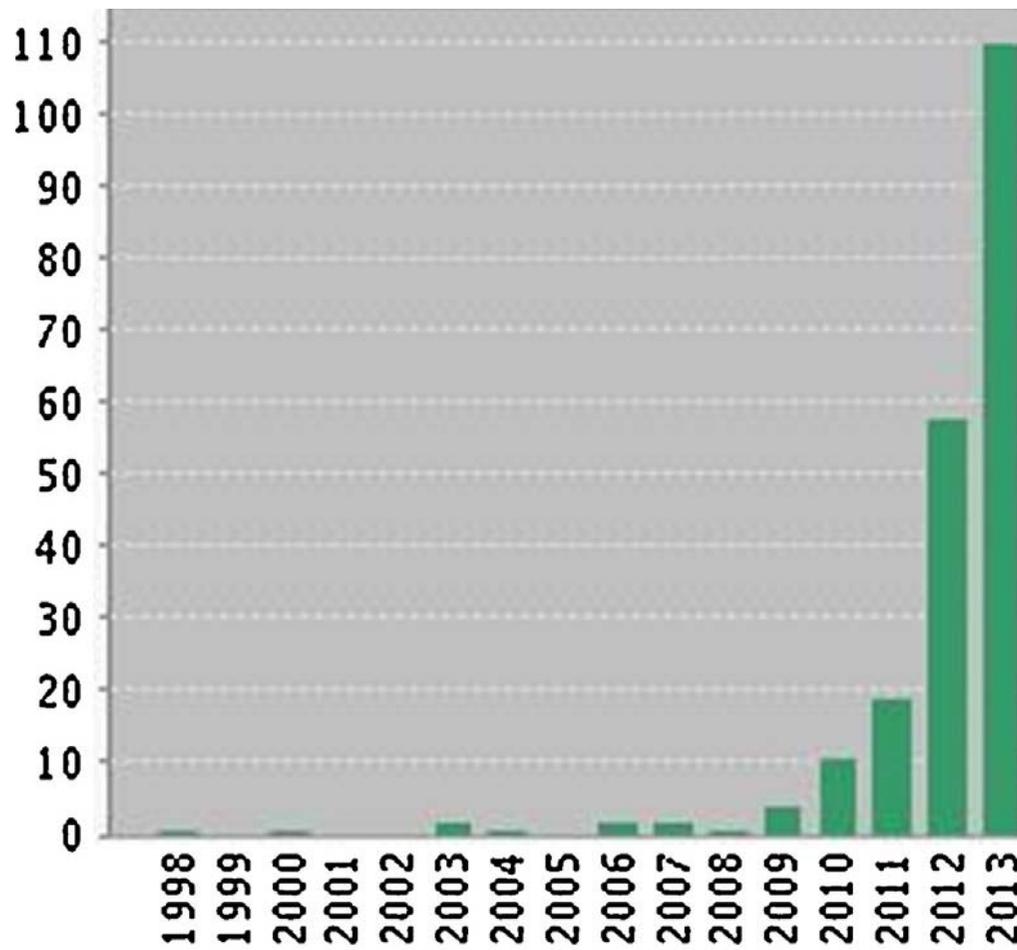
Un marché florissant!!!



Les probiotiques (4)



Transplantation du microbiote fécal : une innovation pas comme les autres!



Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres !



La matière fécale : une matière première pas comme les autres !

- La matière fécale est une matière première de composition complexe et variable selon les donneurs et dans le temps (un don, un lot), de substances non toujours caractérisables (bactéries, métabolites, cellules humaines, etc.).

Qu'est ce que la matière fécale?

- Chyme + mucus + bactéries

Intérêts du TMF

- Rétablir la flore intestinale en faisant disparaître la dysbiose par transplantation de matières fécales issues d'un **donneur sain**.

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (2)!



Afin d'encadrer cette pratique, l'Agence du médicament (ANSM) a mis en place à l'automne 2013 un comité scientifique pour en évaluer les bénéfices et les risques réels. Les conclusions de leurs travaux ont été rendues publiques le 20 mars 2014

Rapport ANSM de mars 2014, modifié en juin 2015 puis jan 2017*

Création « Groupe Français de Transplantation Fécale » en octobre 2014



ACADEMIE NATIONALE DE PHARMACIE

SANTÉ PUBLIQUE - MÉDICAMENT - PRODUITS DE SANTÉ - BIOLOGIE - SANTÉ ET ENVIRONNEMENT

Fondée le 3 août 1803 sous le nom de Société de Pharmacie de Paris

Reconnue d'utilité publique le 5 octobre 1877

« Traitement par transfert de microbiote fécal des infections récidivantes à *Clostridium difficile* »

RECOMMANDATIONS

préparées par le Groupe de travail « Transfert de flore »
du Groupe "Projet Santé-environnement"
adoptées par le Conseil du 26 novembre 2014

L'Académie de Pharmacie a édité des recommandations en Nov 2014

European consensus conference on faecal microbiota transplantation in

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (3)!



Le microbiote fécal est considéré comme **un médicament** (L.5111-1 CSP) et sa préparation (art L.5121-1 CSP) doit être réalisée sous la responsabilité de la pharmacie à usage intérieur (PUI) d'un établissement de santé. Cette situation est unique en Europe.

En l'état actuel des connaissances, **la transplantation de microbiote fécal** doit être réservée aux **situations graves ou rares, en échec de traitement conventionnel et en l'absence d'alternative thérapeutique disponible et appropriée.**

L'actualisation de ce rapport précise que, bien que **la littérature** ait rapporté diverses pathologies potentiellement concernées par cette pratique (maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, troubles fonctionnels intestinaux, obésité, maladies métaboliques et auto-immunes ou encore certains désordres neuropsychiatriques), **le traitement des infections récidivantes à *Clostridium difficile* représente, à ce jour, la seule indication pour laquelle des données relativement bien**

Infections à Clostridium Difficile

Clostridium difficile est un bacille à Gram positif anaérobie sporulé responsable de 15 à 25% des diarrhées post-antibiotiques, de 10% des diarrhées nosocomiales et de plus de 95% des colites pseudo-membraneuses, et est la première cause de diarrhée nosocomiale chez l'adulte.

Les infections à C. difficile diagnostiquées à l'hôpital sont d'origine nosocomiale dans plus de 70% des cas, survenant souvent sous forme d'épidémies dans des services à risque (réanimation, maladies infectieuses, hématologie et gériatrie). Depuis quelques années, l'incidence, la sévérité et la létalité des infections à C. difficile augmentent et cette évolution est liée à l'émergence d'une souche particulièrement virulente (PCR-ribotype 027).

La létalité de l'ICD varie de 0,6 à 1,5%, mais atteint 35 à 50% en cas de complications de colite pseudo-membraneuse.

En France, l'incidence des ICD dans les établissements de santé est estimée entre 0,5 et 3/10000 jours d'hospitalisation. En ville, l'incidence des ICD, bien que mal connue, est en augmentation. Elle est due à l'émergence d'ICD communautaires chez des sujets ne présentant pas de facteurs de risques classiques (absence d'antibiothérapie).

Traitement des infections à C. difficile

Forme sans signe de gravité

- *En première intention* : métronidazole (Flagyl®) *per os*, 500 mg x 3/j pendant 10 jours

Dans ces atteintes modérées, l'efficacité clinique du métronidazole est équivalente à celle de la vancomycine (proche de 90%). Par ailleurs, cette molécule est à moindre risque de sélection de germes résistants (entérocoques résistants aux glycopeptides)

- *En cas d'échec de l'antibiothérapie de première intention* (persistance de ≥ 3 selles liquides par jour après 5 jours de traitement) :

Relais par Vancomycine *per os*, 250 mg x 4/j, pendant 10

Traitement des infections à C. difficile

Forme avec signe de gravité

*Traitement oral possible : vancomycine per os, 250 mg x 4/j,
pendant 10 jours*

Une étude montre une supériorité de la vancomycine par rapport au métronidazole en terme de guérison clinique des formes graves (97% versus 76%), mais le taux de rechute est équivalent avec les deux molécules (~15%).

Traitement oral impossible : vancomycine par la sonde gastrique, 250 mg x 4/j
pendant 10 jours + métronidazole iv 500 mg x 3/j pendant 10 jours

Vancomycine ne doit pas être utilisée par voie intraveineuse car sa diffusion dans la paroi est très faible par voie systémique. En cas d'impossibilité d'administrer par la sonde gastrique, la vancomycine peut être utilisée par voie rectale à l'aide d'un cathéter : 500 mg x 4/j, dilués dans 1 litre de sérum physiologique, débit de perfusion 1-3 ml/mn.

Traitement des infections à C. difficile

Cas de rechute symptomatique

La fréquence des rechutes symptomatiques est estimée à 20%. Ce risque est plus élevé si la antibiothérapie responsable du premier épisode a été poursuivie, si l'âge du patient est supérieur à 65 ans, en présence de comorbidités sévères, en présence d'un traitement concomitant par inhibiteurs de la pompe à protons.

1^{ère} rechute : métronidazole *per os*, 500 mg x 3/j pendant 7 jours OU vancomycine *per os*, si échec du métronidazole lors du premier épisode ou si signes de gravité.

2^e rechute : vancomycine *per os* 250 mg x 4/j pendant 14 jours, ou fidaxomicine *per os* 120 mg x 2/j pendant 10 jours.

Après la 2^e rechute, un avis spécialisé (infectiologue ou gastro-entérologue) doit être demandé.

Traitement des infections à C. difficile

Clir 200 mg : (fidaxomicine) : les formes documentées d'infections à C. difficile
avec mise en évidence de la toxine dans les selles).

Opolava 25 mg/ml (bezlotoxumab) : en prévention des récurrences d'infection à
Clostridium difficile (ICD) chez les adultes à haut risque de récurrence d'ICD
efficacité démontrée en association au métronidazole et à la vancomycine

Important

IR IV

≥65 ans, antécédent d'ICD au cours des 6 mois précédents, ICD sévère (score Zar
immunodépression.

bezlotoxumab vise à prévenir la récurrence d'infections à C. difficile en stimulant
l'immunité passive contre la toxine produite par la prolifération de spores persistantes
nouvellement acquises de C. difficile. Il n'a donc pas d'effet sur l'épisode de l'ICD en
cours.

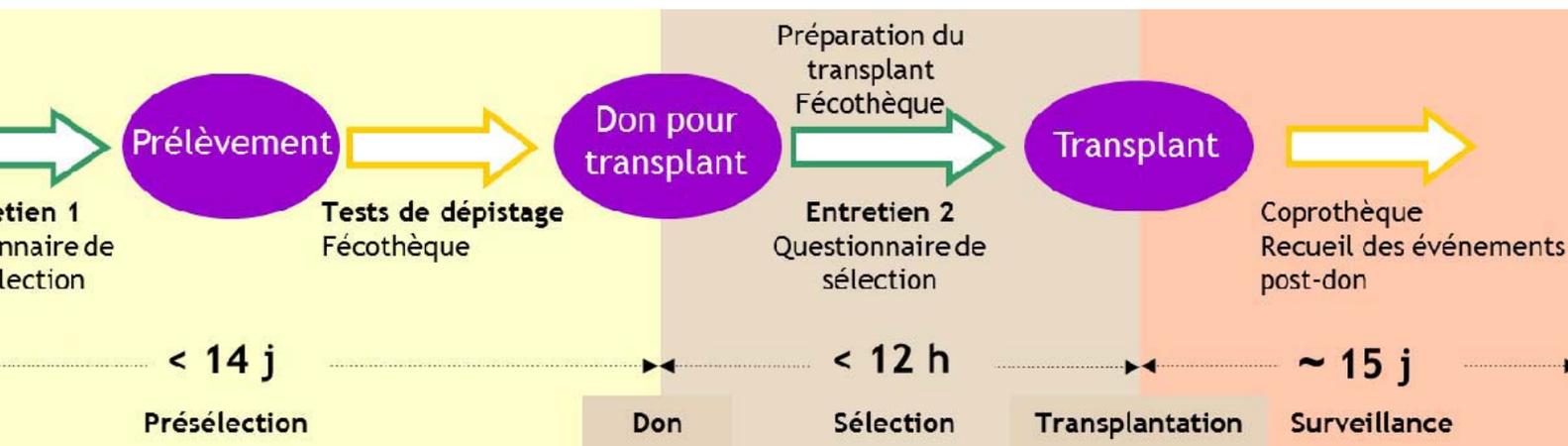
Il doit être administré au cours du traitement antibiotique de l'ICD d'une durée de 10 à

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (4)!



Que disent les recommandations?

- Quels sont les points critiques à prendre en compte concernant la sélection des donneurs ?
- Chronologie (versant « donneur ») de la transplantation



Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (5)!



Questionnaire de présélection

Questionnaire de sélection

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

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

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (6)!



Liste des agents infectieux à dépister

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

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (7)!



Profil idéal du donneur

- Age : 18-65 ans
- IMC < 30
- Absence de pathologies chroniques
- Absence de traitement curatif au long cours
- Absence de prise d'antibiotiques dans les 3 mois précédant le don
- Absence de séjour à l'étranger dans les 3 mois précédant le don
- Absence de résidence de plusieurs années en zone intertropicale
- Absence d'hospitalisation à l'étranger dans les 12 mois précédant le don
- Absence de troubles digestifs à type de diarrhée aiguë ou chronique dans les 3 mois précédant le don
- Absence d'antécédents de fièvre typhoïde
- Aspect macroscopique normal des selles
- Dépistage négatif d'agents infectieux (cf. liste proposée en annexe 1)

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (8)!



Types de don : anonyme ou dirigé

- **Dirigé :**
 - Pas de problème (membres de la famille du receveur)
- **Anonyme :**
 - difficile de trouver le donneur idéal
 - Difficile de la part du donneur d'accepter de fournir un « déchet » de son organisme : matière première pas très noble !!!



Sélection sur dossier



Appel téléphonique



Consultation/ dépistage
microbiologique

Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (9)!



Comment se prépare ce médicament?

- Pas de recommandations de l'ANSN : Broyage et filtration
- Recommandations européennes

Downloaded from <http://gut.bmj.com/> on January 18, 2017 - Published by group.bmj.com

Guidelines

Box 4 Minimum general steps to follow for the preparation of fresh and frozen faecal material

FRESH FAECAL MATERIAL

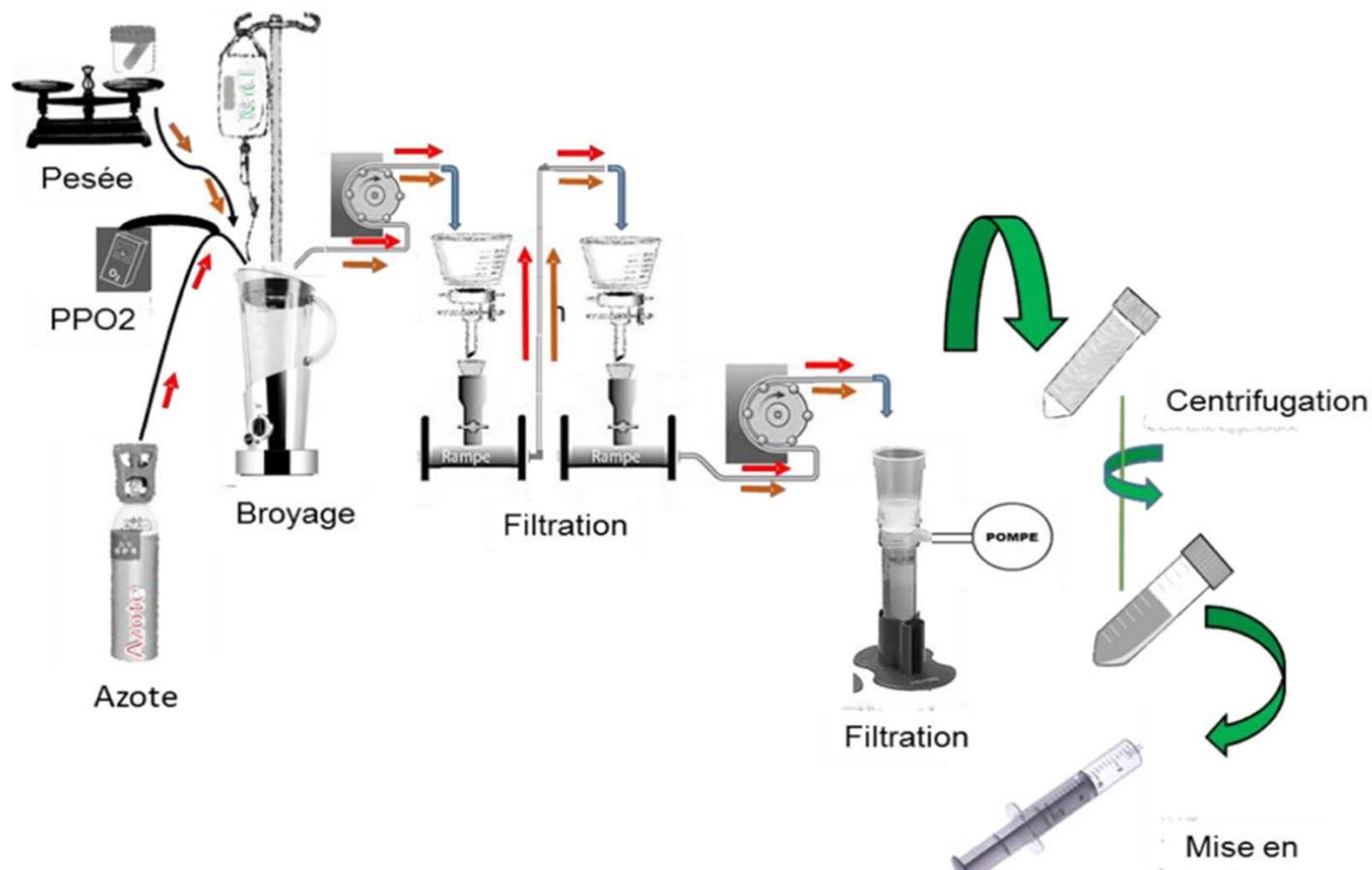
- Fresh stool should be used within 6 hours after defecation
- To protect anaerobic bacteria, the storage and preparation should be as brief as possible
- Until further processing, the stool sample can be stored at ambient temperature (20°C–30°C)
- Anaerobic storage and processing should be applied if possible
- A minimum amount of 30 g of faeces should be used
- Faecal material should be suspended in saline using a blender or manual effort and sieved in order to avoid the clogging of infusion syringes and tubes
- A dedicated space, disinfected using measures that are effective against sporulating bacteria, should be used
- Protective gloves and facial masks should be used during preparation

FROZEN FAECAL MATERIAL

- At least 30 g of donor faeces and 150 mL of saline solution should be used
- Before freezing, glycerol should be added up to a final concentration of 10%
- The final suspension should be clearly labelled and traceable, and stored at –80°C
- On the day of faecal infusion, fresh



Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (10)!



Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (11)!



Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (13)!



Comment se présente ce médicament?

- Suspension de matières fécales
 - Suspension de matières fécales congelées puis décongelées avant transfert
- } pratiques actuelles
- Suspension concentrée de matières fécales introduites dans des gélules gastrorésistantes préalablement congelées
 - Lyophilisats introduits dans des gélules gastrorésistantes
- } Essais thérapeutiques

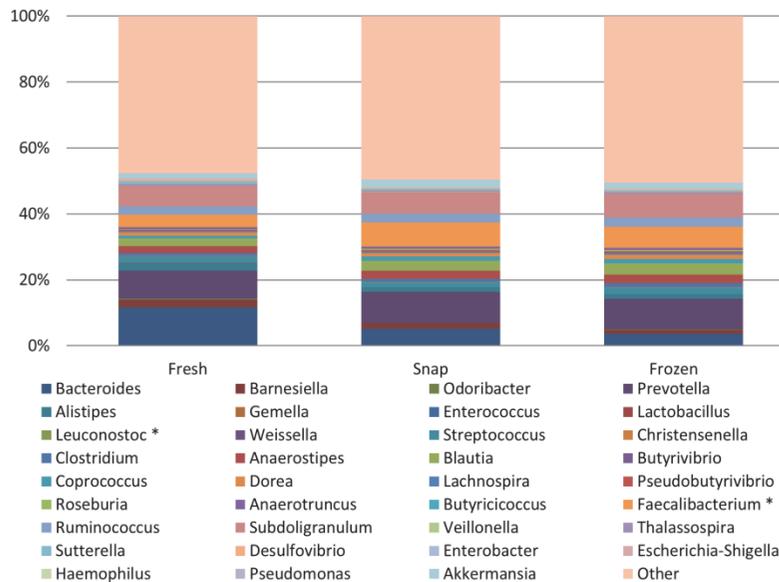
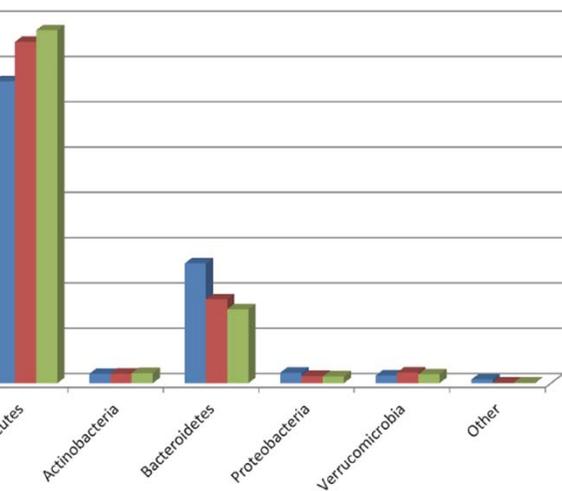
Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (14)!



Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (15)!



Quelle incidence de la congélation sur la viabilité et la diversité bactérienne ?

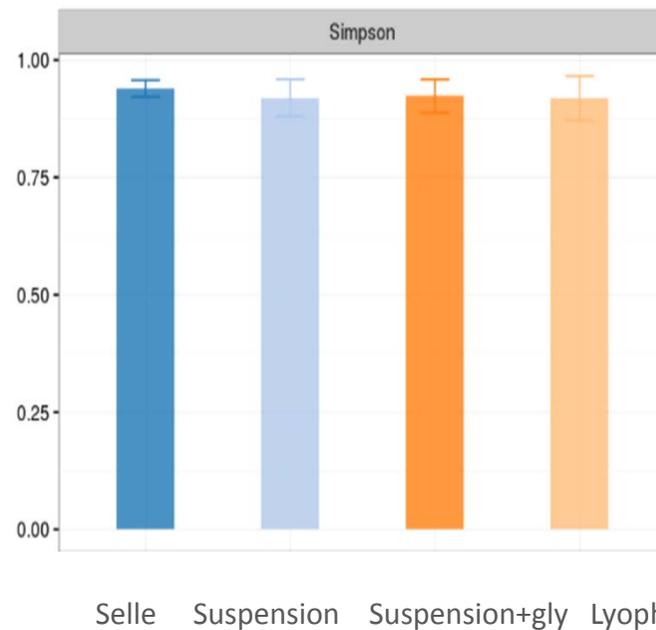
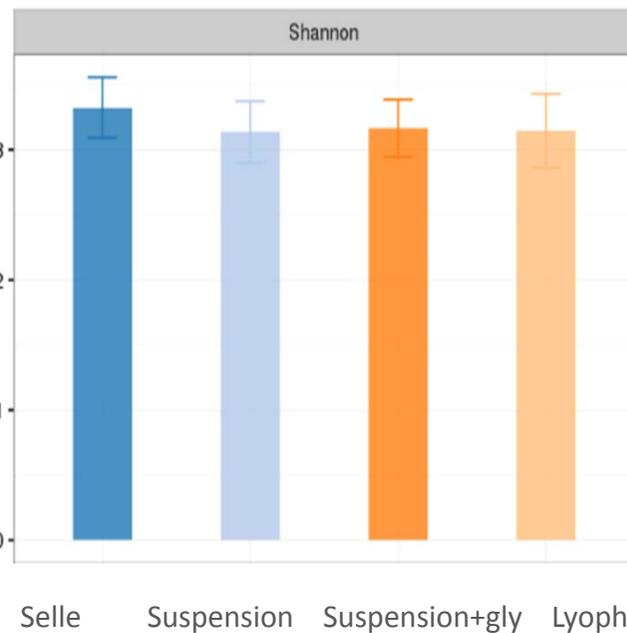


Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (16)!



Quelle incidence de la lyophilisation sur la diversité bactérienne ?

Analyse moléculaire par séquençage : la diversité

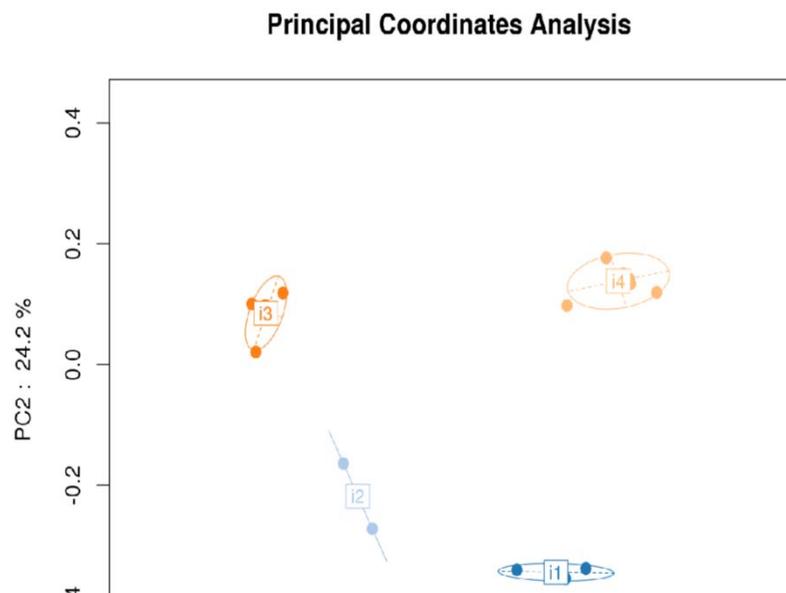


Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (17)!



Quelle incidence de la lyophilisation sur la diversité bactérienne ?

Analyse par cluster

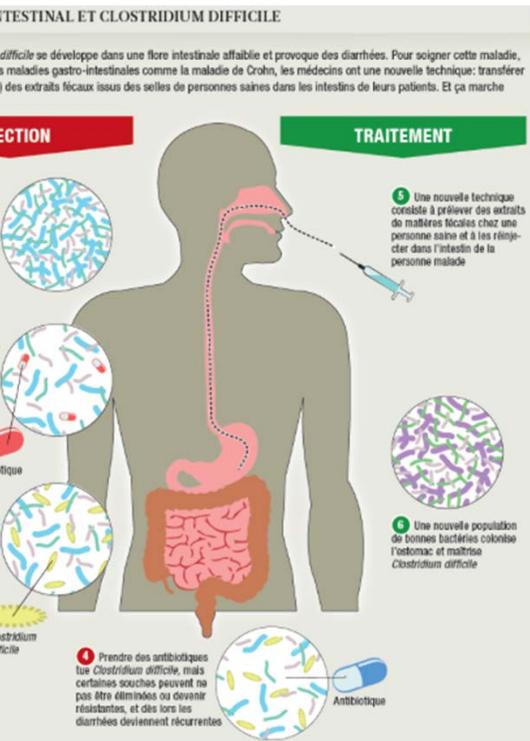


Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (18)!



Comment s'administre cette préparation?

Préparation du receveur



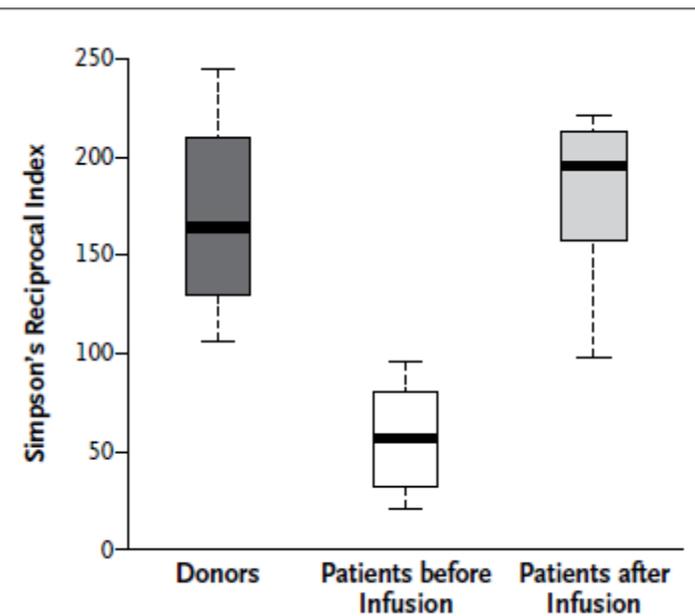
- J-5 Vancomycine : 500 mg*4 pendant 5 jours
- J-2 Inexium : 20 mg le soir de J-2 pendant 2 jours puis 20 mg le matin de la TMF
- J-1 Pose d'une sonde nasogastrique ou nasojejunale à J-1
- J0 X-Prep : 1 sachet de 2,4 g à 19h le soir à J-1 ou Macrogol : 3 l à J-1
Loperamide : 10 mg à J0 le midi 3 heures avant le TMF
Pimpéran : 10 mg à J0 à midi,, 1 à 2 heures avant TMF
- ↓
- TMF

TMF : quelle efficacité?



Taux de réussite :

- 81% contre 31% (vancomycine)
- > 90%



Els van Nood, N. Eng. J. Med, 2013

Microbiote : Ami ou ennemi?



Et si cela venait de mon intestin?

Mon déséquilibre observé	Pour quelles raisons ?
Je suis tout le temps fatigué(e),	Le microbiote permet l'absorption des vitamines et minéraux, surtout magnésium, fer et calcium. Attention donc à d'éventuelles carences.
J'ai des inconforts intestinaux (ballonnements, gaz...)	Il y a 2 flores principales: de fermentation (dégradation des sucres) ou de putréfaction (dégradation de protéines). Si l'une ou l'autre domine, il y a production anormale de gaz...
Mon transit est anormalement accéléré ou au contraire très ralenti	Dans la majorité des cas, la flore est soit colonisée par un germe pathogène soit moins diversifiée.
J'ai des fringales ou je n'ai pas faim	Le microbiote joue un rôle dans la régulation de l'appétit.
J'ai un terrain allergique	La flore est en contact direct avec 70% de nos cellules immunitaires et contribue à la régulation de l'allergie.
Je suis tout le temps malade	Le microbiote stimule l'immunité générale.
J'ai des troubles de la mémoire, de la concentration	La flore équilibrée produit des substances qui favorisent la survie des cellules nerveuses dans les régions du cerveau impliquées dans la mémorisation.
Je suis stressé(e), anxieux (se)	Un microbiote "qui va bien" freine la libération des messagers du stress et potentialise l'action des neuromédiateurs favorisant la sérénité (GABA, sérotonine).

Merci de votre attention!

