

Le transfert de microbiote et le traitement des maladies



Dr Muriel PAUL
PH, CS, MCUa
Hôpitaux Universitaires Henri Mondor

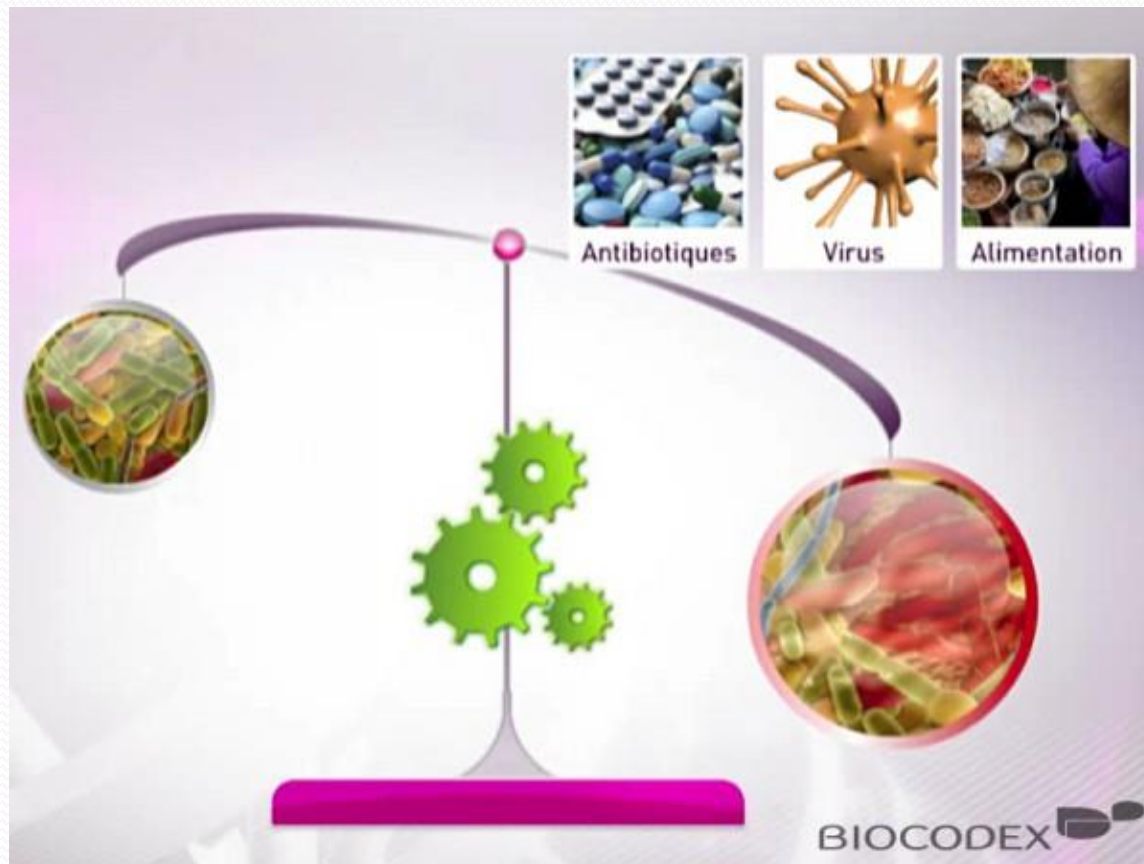
Microbiote : En bref

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

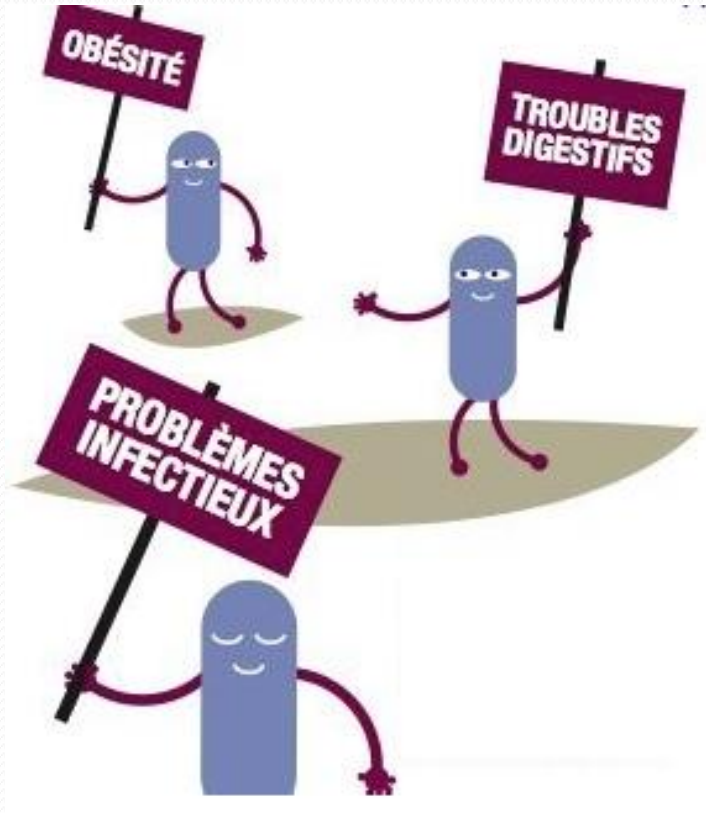


Dysbiose

- 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

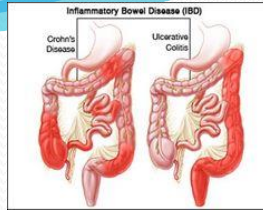
Asthme et allergies

Cancers

...

Microbiote : un ennemi ?

Les maladies inflammatoires intestinales



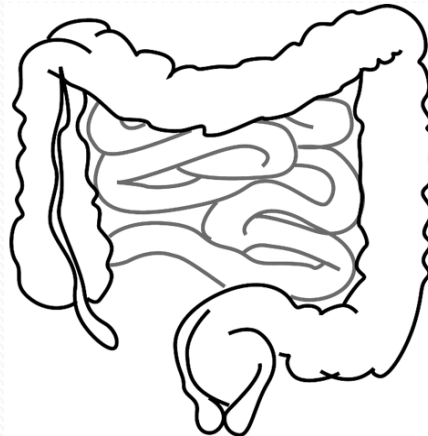
- Hypothèse :
 - Réponse aberrante et inadaptée du système immunitaire vis-à-vis d'une modification du microbiote intestinal chez des patients génétiquement prédisposés.

Facteurs
génétiques

Facteurs
immunologiques

Microbiote

Facteurs
environnementaux

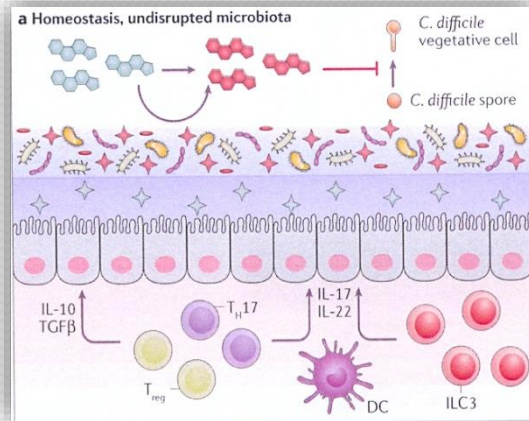


Microbiote : un ennemi ?

Les infections intestinales (*C. Difficile*)

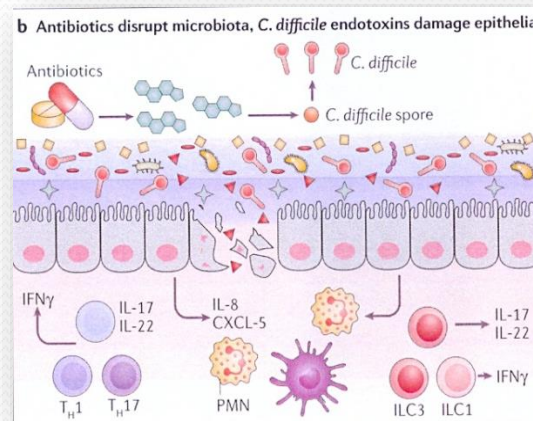
- C. Difficile* libère des enterotoxines à l'origine de l'inflammation → des diarrhées.

Microbiote sain
pseudomembraneuse



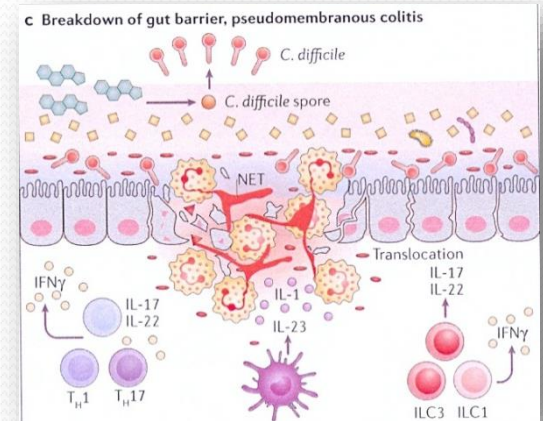
Jonctions serrées
Présence de bactériocines
Mucus de qualité

Pression antibiotiques

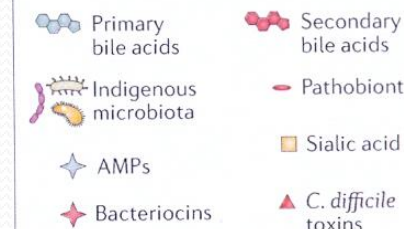


↓ du mucus
↓ PAM et des bactériocines
↓ Pertes des jonctions serrées
↓ Des AB 2nd
↑ + IL-8, CXCL5 fabriqués par
cellules épithéliales
↑ Acides sialiques

Colite

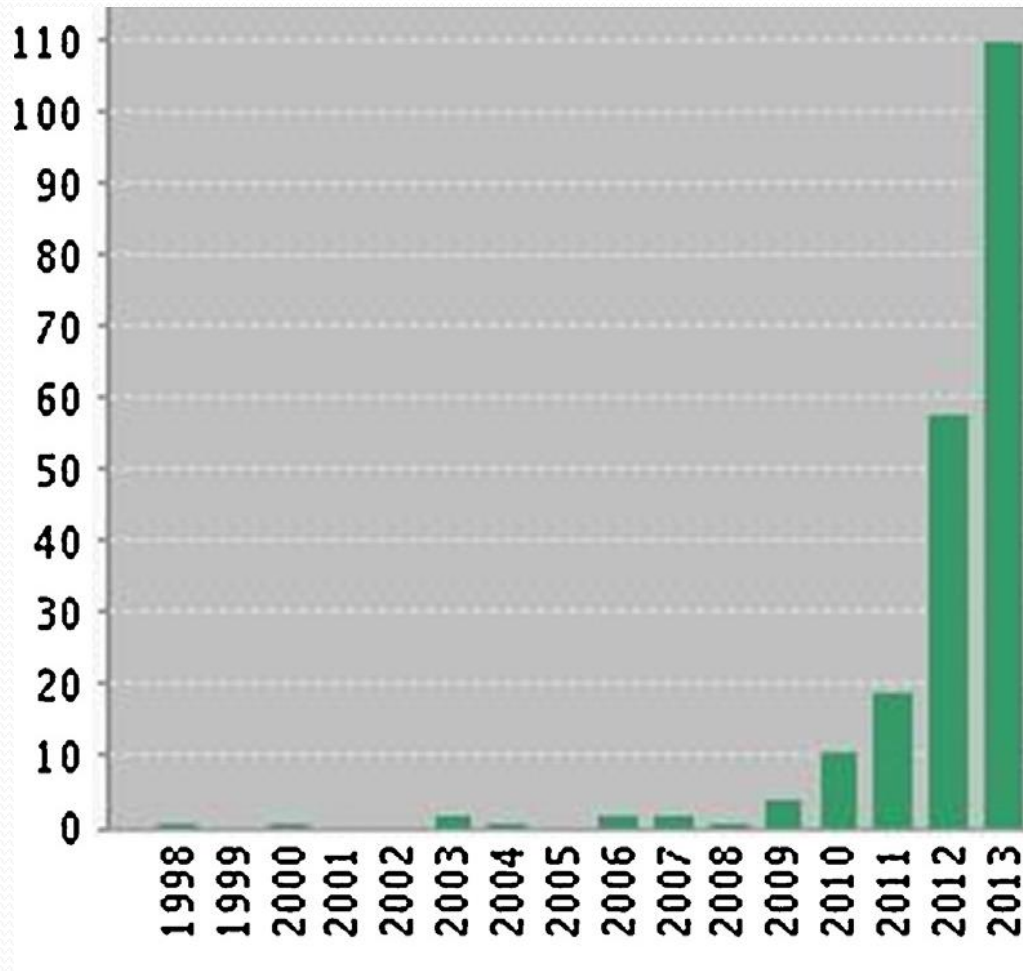


↑ Des PNN
↑ IL-1 et IL-23
Apoptose des cellules épithéliales



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

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



D'après F. Bardut, 2014

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



- L'Académie de Pharmacie a édité des recommandations en Nov 2014
- European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice publié dans Gut, 2017.

*Ajout à la liste des agents infectieux à rechercher dans les selles des donneurs: *Blastocystis hominis* et *Dientamoeba fragilis*

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

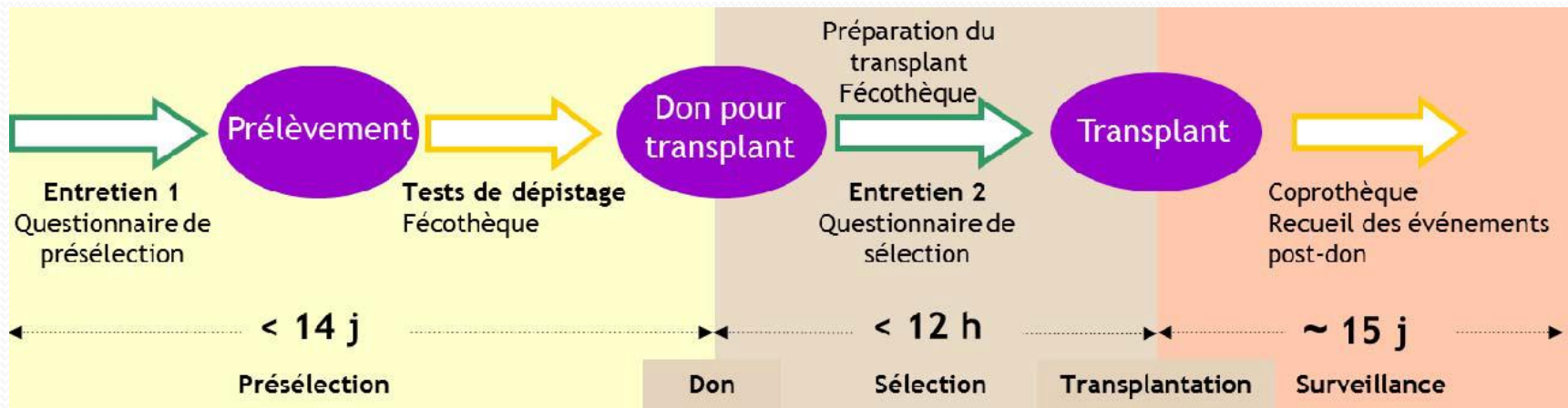
- Le microbiote fécal est considéré comme **un médicament** (L.5111-1 CSP) et sa préparation (art L.5121-1 CSP) doit être réalisée sous la responsabilité de la pharmacie à usage intérieur (PUI) d'un établissement de santé. Cette situation est unique en Europe.
- En l'état actuel des connaissances, la **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 récurrentes à *Clostridium difficile*** représente, à ce jour, la seule indication pour laquelle des données relativement bien étayées sur l'efficacité de la transplantation du microbiote fécal existent.





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



D'après ANSM, Juin 2015



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

• Questionnaire de présélection

Questionnaire de

INFORMATIONS	CRITERES DE NON INCLUSION ABSOLUE	CRITERES DE NON INCLUSION « RELATIVE » (à justifier)
Co-morbidités	- 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 : - MICI (lien de parenté) - maladies auto-immunes (lien de parenté) - cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)
Traitement médicamenteux	Donneur suivant un traitement curatif au long cours	Donneur traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don ³
Voyages	Séjour en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don - Résidence de plusieurs années en zone intertropicale Hospitalisations à l'étranger de plus de 24h dans les 12 derniers mois (y compris membres de l'entourage du donneur)¹	/
Âge	Donneur mineur ²	Donneur âgé (>65 ans) ⁴
Statut pondéral	/	Donneur avec IMC>30 ⁵

CRITERES DE NON INCLUSION	INCLUSION SUR LA BASE D'UNE APPRECIATION INDIVIDUELLE
Episode de diarrhée (>3 selles molles à liquide /j) chez le donneur ou les membres de son entourage Situations à risque de contamination : 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 : - 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	▪ <i>Treponema pallidum</i>	Coproculture standard et orientée: ▪ <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</i> sp
Virus ¹	▪ 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	▪ Adénovirus ▪ Astrovirus ▪ Calicivirus (norovirus, sapovirus) ▪ Picornavirus (entérovirus, Virus Aichi) ▪ Rotavirus ▪ Virus des hépatites A et E
Parasites	▪ <i>Strongyloïdes stercoralis</i> ▪ <i>Toxoplasma gondii</i>³ ▪ <i>Trichinella</i> sp. ▪ Amibiase	▪ <i>Strongyloïdes stercoralis</i> ▪ <i>Cryptosporidium</i> sp. ▪ <i>Cyclospora</i> sp. ▪ <i>Entamoeba histolytica</i> ▪ <i>Giardia intestinalis</i> ▪ <i>Isospora</i> sp. ▪ <i>Microsporidies</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



Don de selle, mise en banque
Métagénome



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

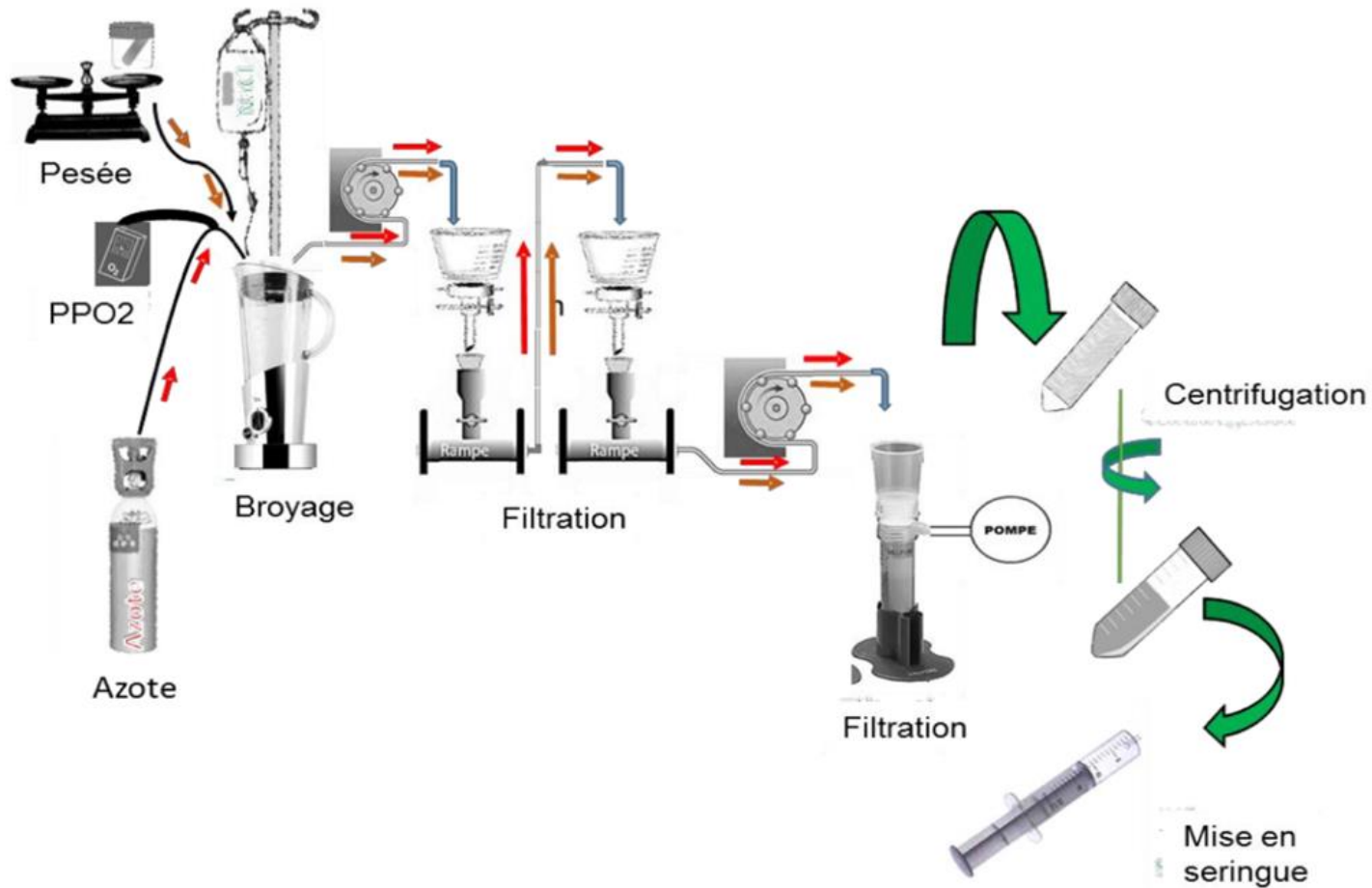
- ▶ Fresh stool should be used within 6 hours after defecation
- ▶ To protect anaerobic bacteria, the storage and preparation should be as brief as possible
- ▶ Until further processing, the stool sample can be stored at ambient temperature (20°C–30°C)
- ▶ Anaerobic storage and processing should be applied 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, faecal suspension should be thawed in a warm (37°C) water bath and infused within 6 hours from thawing
- ▶ After thawing, saline solution can be added to obtain a desired suspension volume
- ▶ Repetitive thawing and freezing should be avoided



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 thérapeutiques gastrorésistantes



Essais



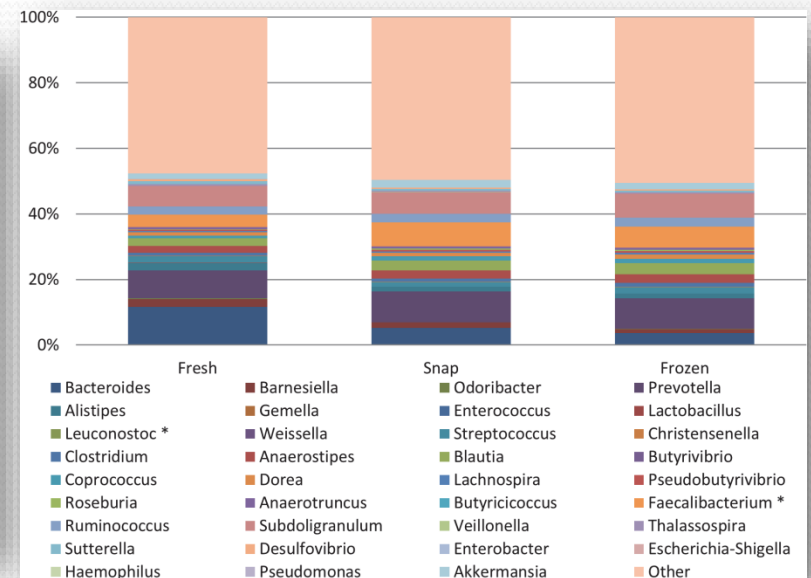
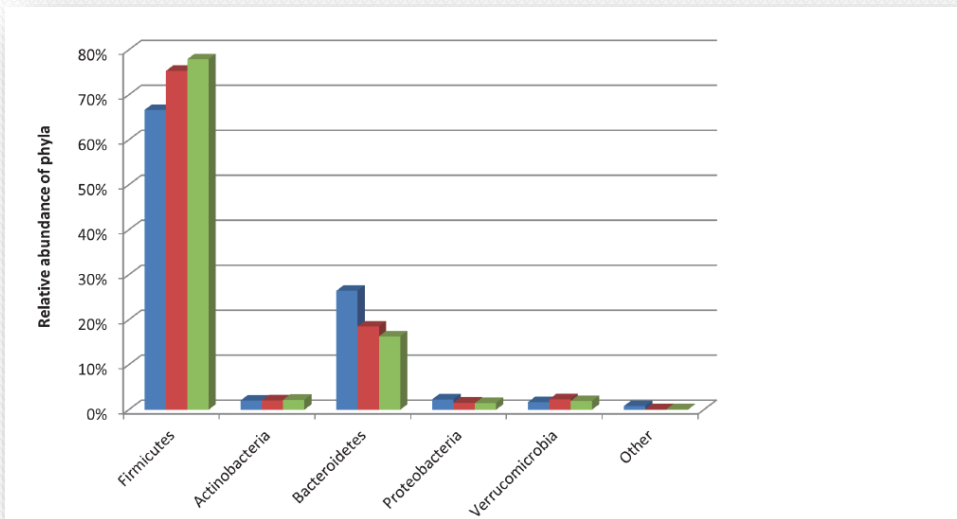
Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (14)!





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

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



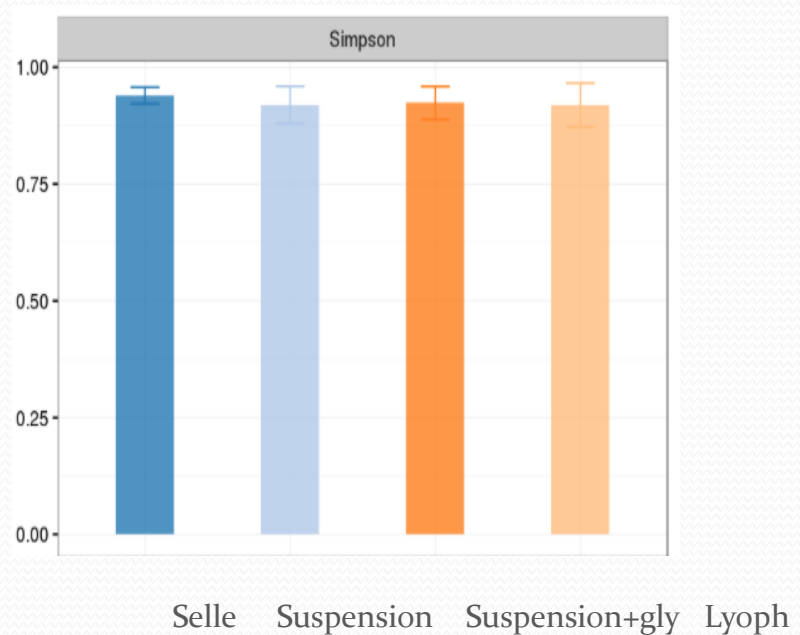
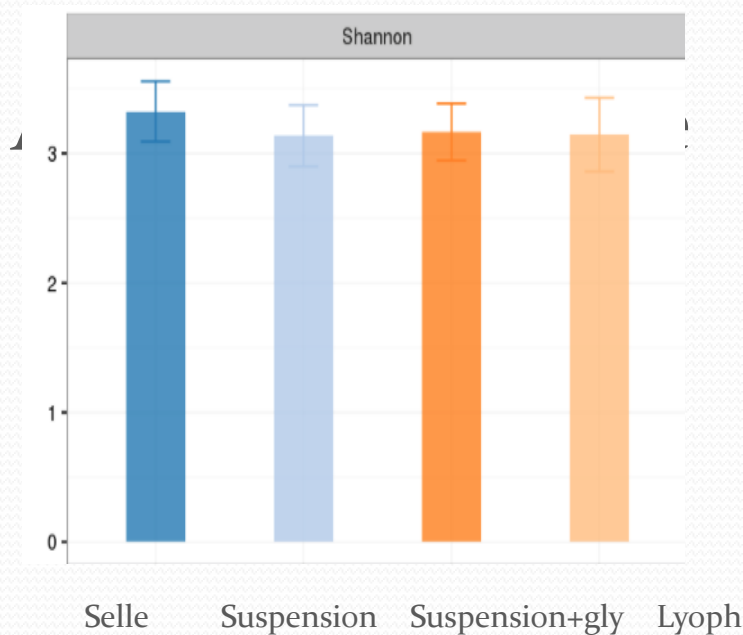
D'après Fouhy et al, Plos One, 2015



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*

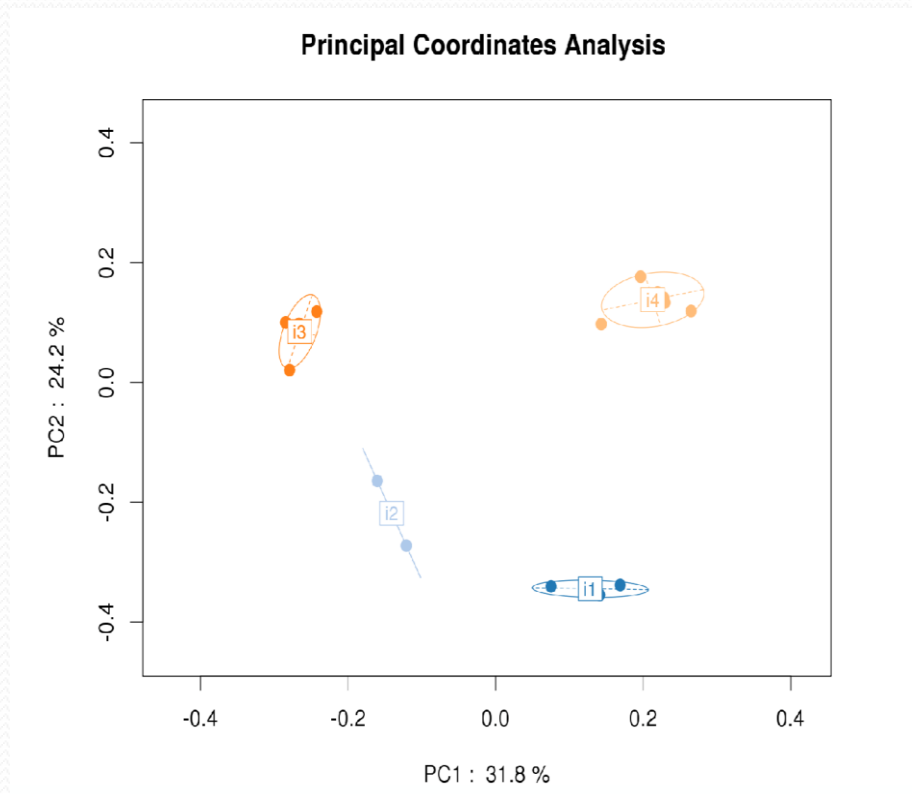




Le microbiote fécal : un médicament pas comme les autres (17)!

Quelle incidence de la lyophilisation sur la diversité bactérienne ?

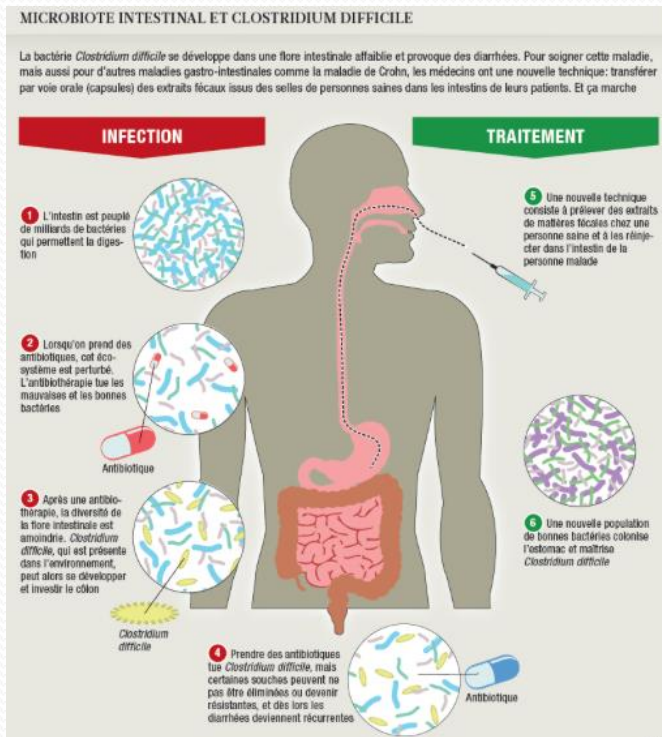
► *Analyse par cluster*





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

Comment s'administre cette préparation?



J-5

J-2

J-1

Jo

TMF

Préparation du receveur

Vancomycine : 500 mg*4 pendant 5 jours

Inexium : 20 mg le soir de J-2 pendant 2 jours puis 20 mg le matin de la TMF

Pose d'une sonde nasogastrique ou nasojéjunale à J-1

X-Prep : 1 sachet de 2,4 g à 19h le soir à J-1 ou Macrogol : 3 l à J-1

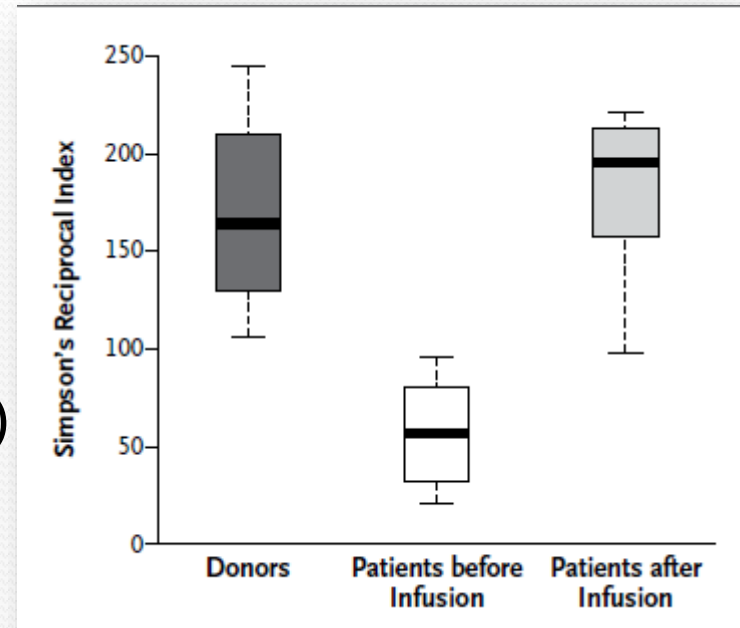
Loperamide : 10 mg à Jo le midi 3 heures avant le TMF

Primpéran : 10 mg à Jo à midi,, 1 à 2 heures avant TMF



TMF : quelle efficacité?

- Taux de réussite :
 - 81% contre 31% (vancomycine)
 - > 90%



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

Microbiote : Ami ou ennemi?



Très enthousiaste au sujet de la bactériothérapie fécale,
le Dr Durand aurait dû lire le protocole expérimental
avec plus d'attention.

Merci de votre attention!

