

Microbiote intestinal, transplantation fécale

Mythes et réalités

Laurent Alric

CHU Toulouse



Les microbiotes:

de l'ordre de 10^{14} bactéries pour 10^{12} cellules
Cutané, pulmonaire, vaginal, digestif, cérébral.....



Shot-gun sequencing



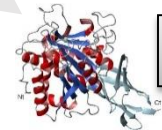
ADN

Métagenomique



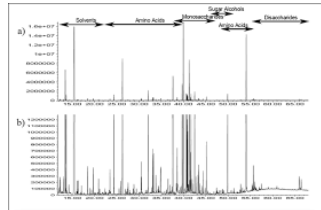
ARNs

Métatranscriptomique



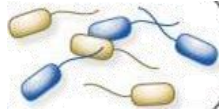
Protéines

Protéomique



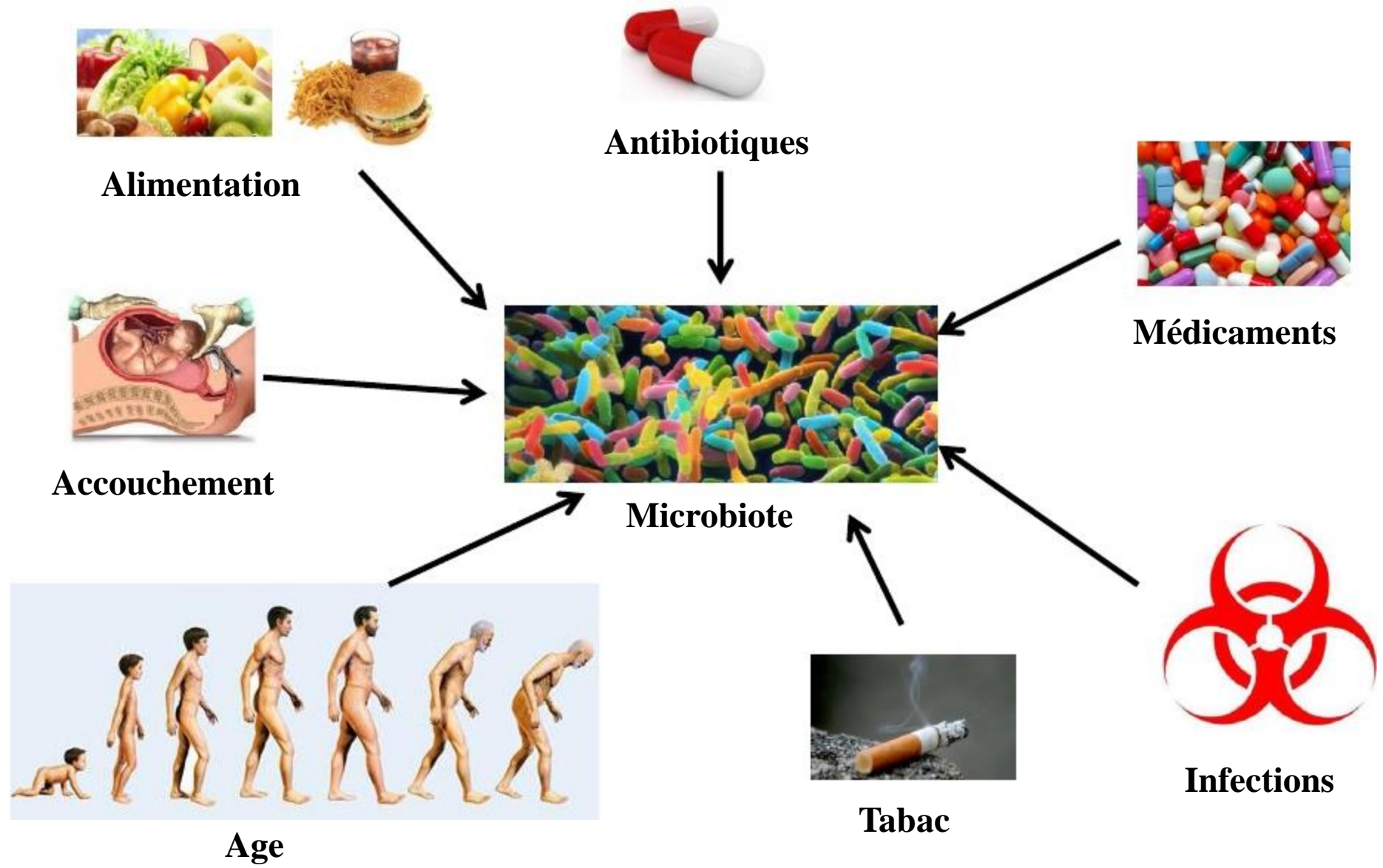
métabolites

Métabolomique

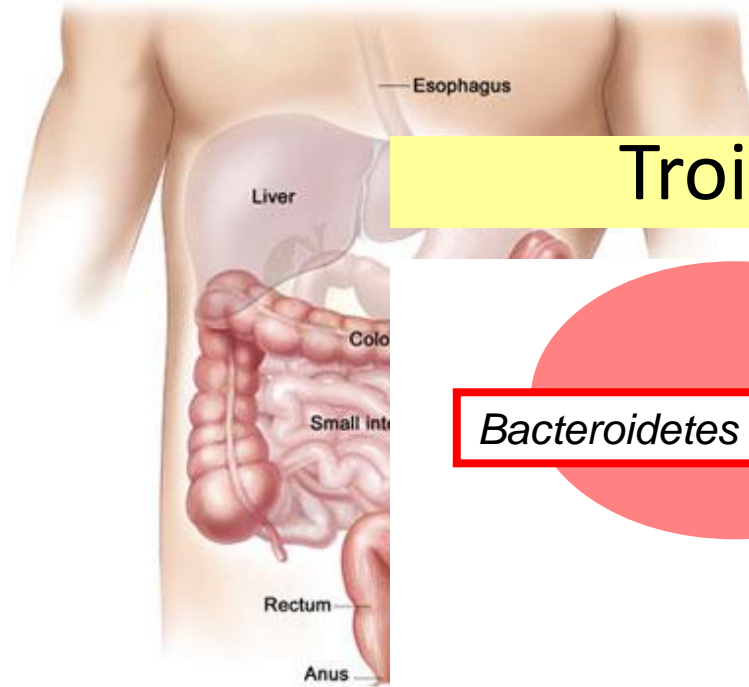


Le microbiote digestif

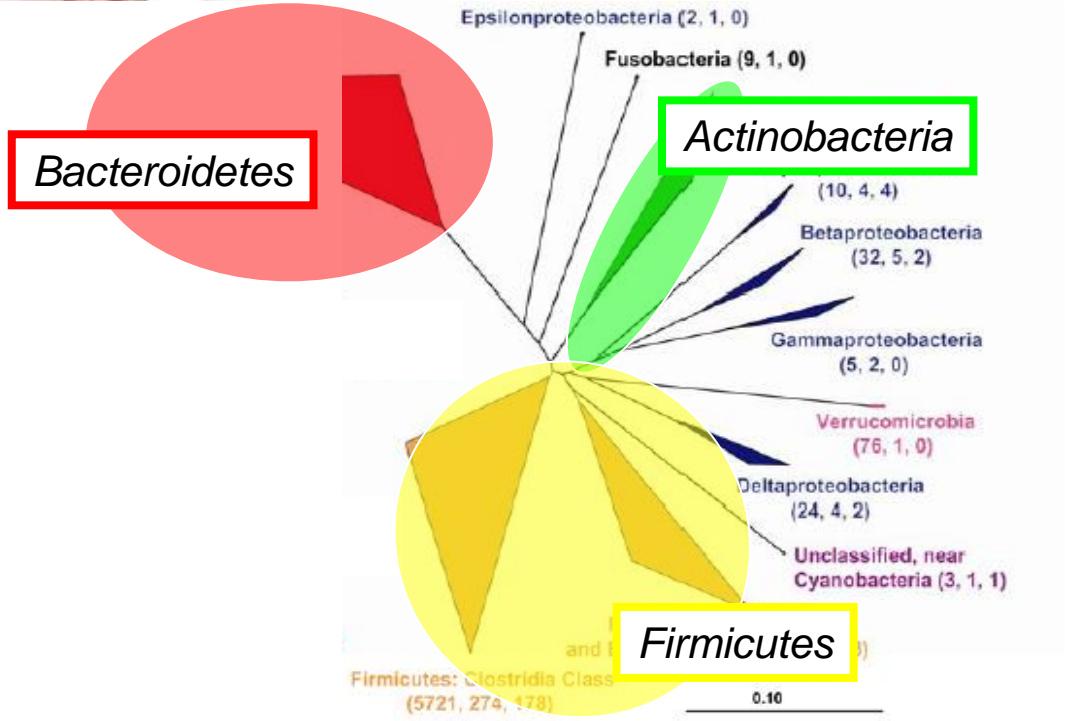
Influence des facteurs environnementaux



Taxonomie bactérienne



Trois phyla majeurs



Phylum ; classe; ordre; famille; genre; espèce; sous espèce

L'alimentation influence le microbiote

Western European children eating the diet and living in an environment typical of the developed world

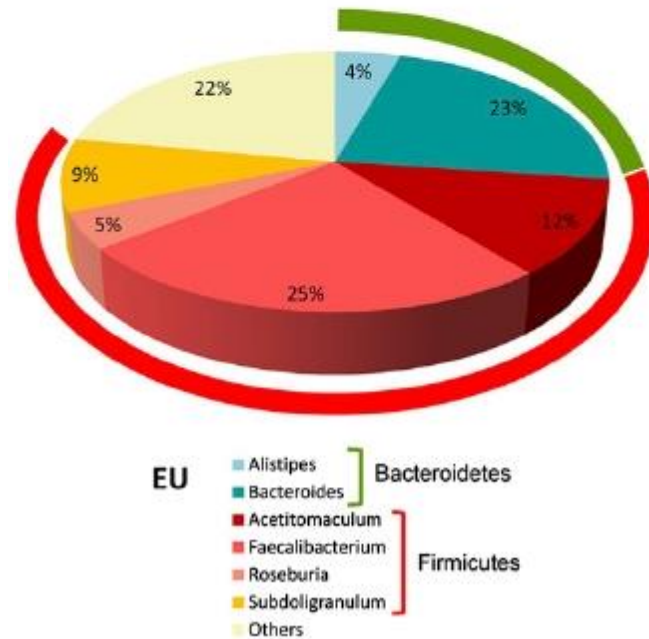


Village of rural Africa (Burkina Faso) in an environment that still resembles that of Neolithic subsistence farmers

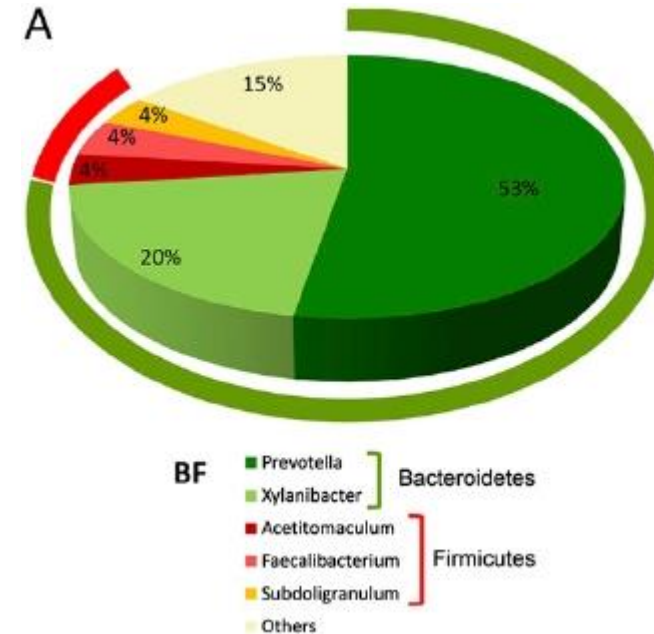


L'alimentation influence la composition du microbiote

Western European children



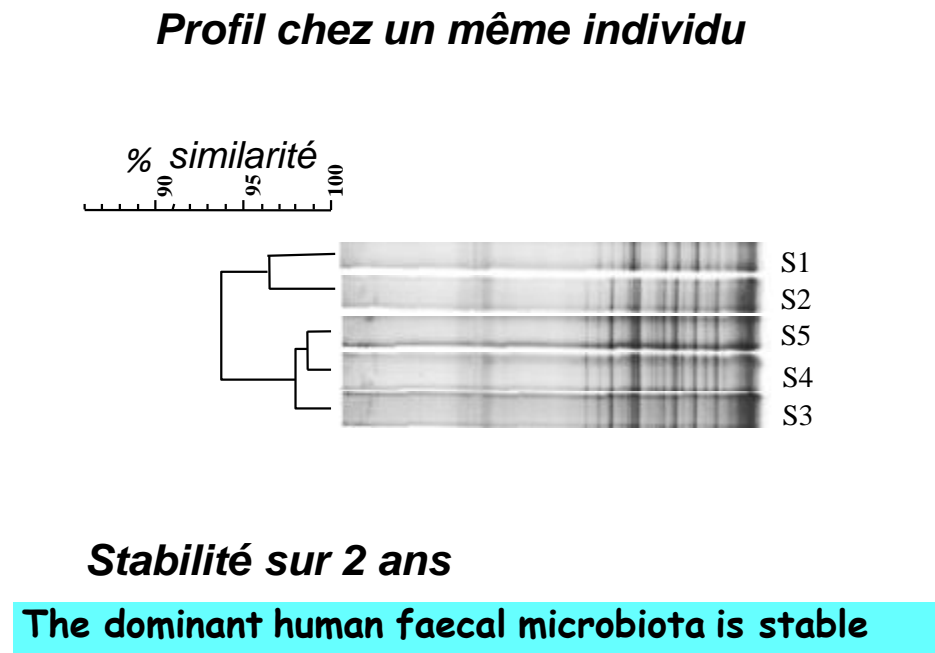
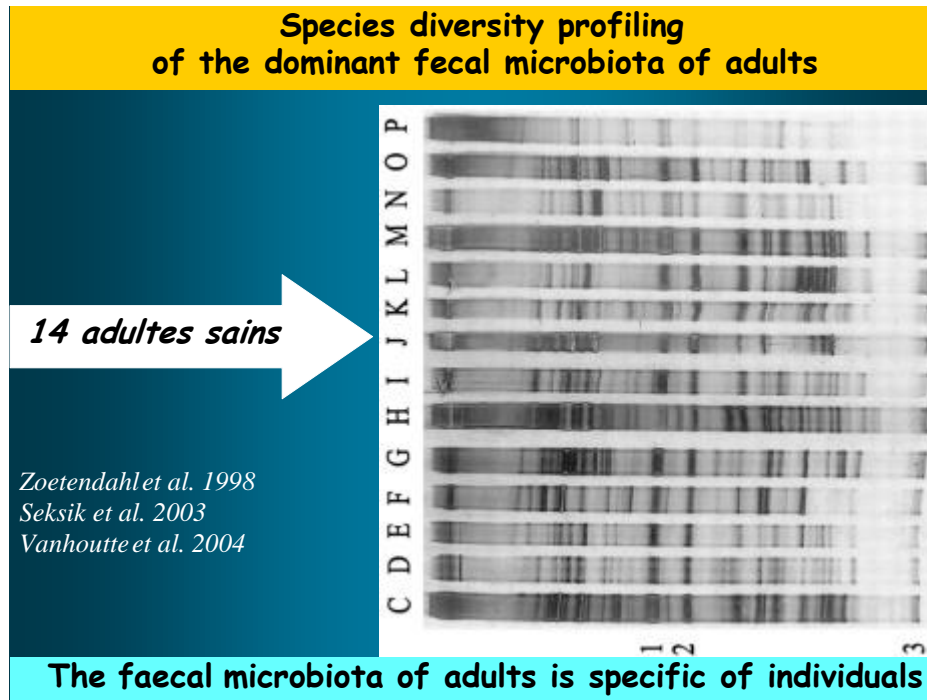
Village of rural Africa (Burkina Faso)



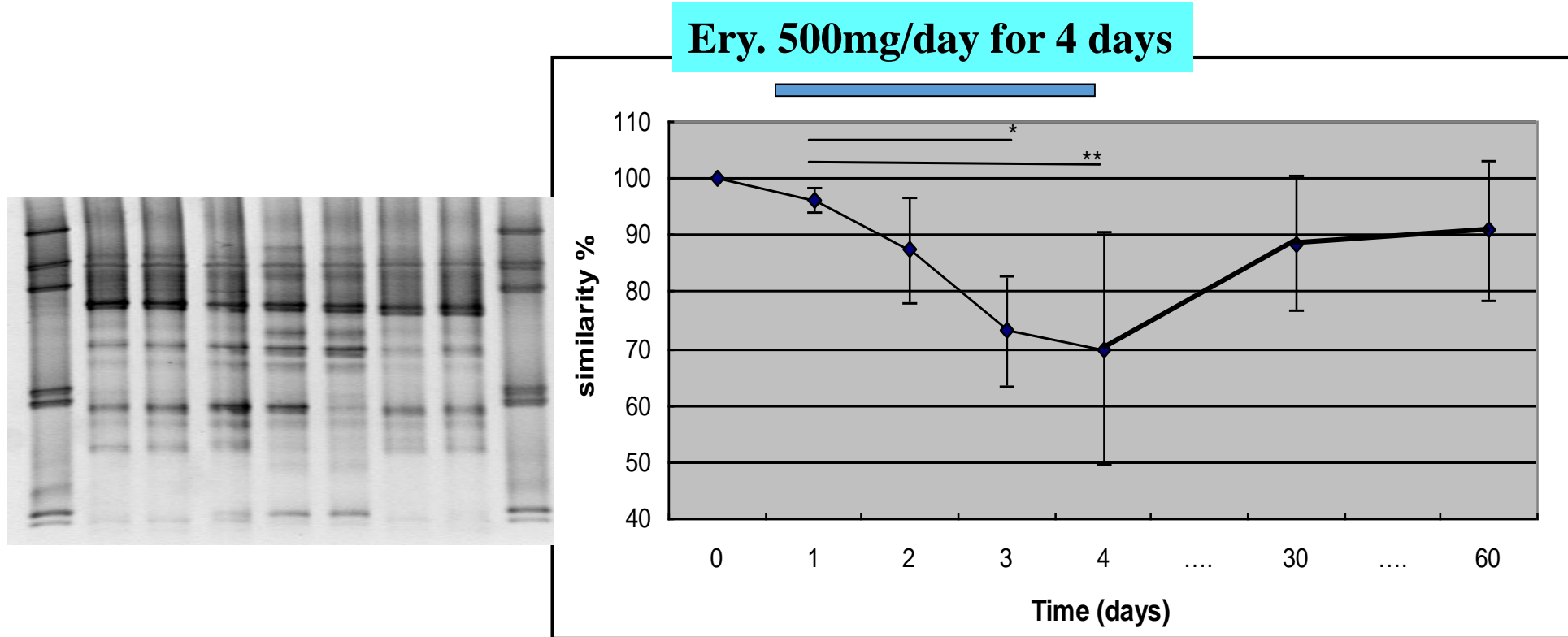
Le microbiote est capable de modifier sa capacité à produire des calories à partir des polysaccharides alimentaires en fonction de la richesse de l'alimentation

optimisation de la survie des individus

Chaque individu sain est différent mais stable

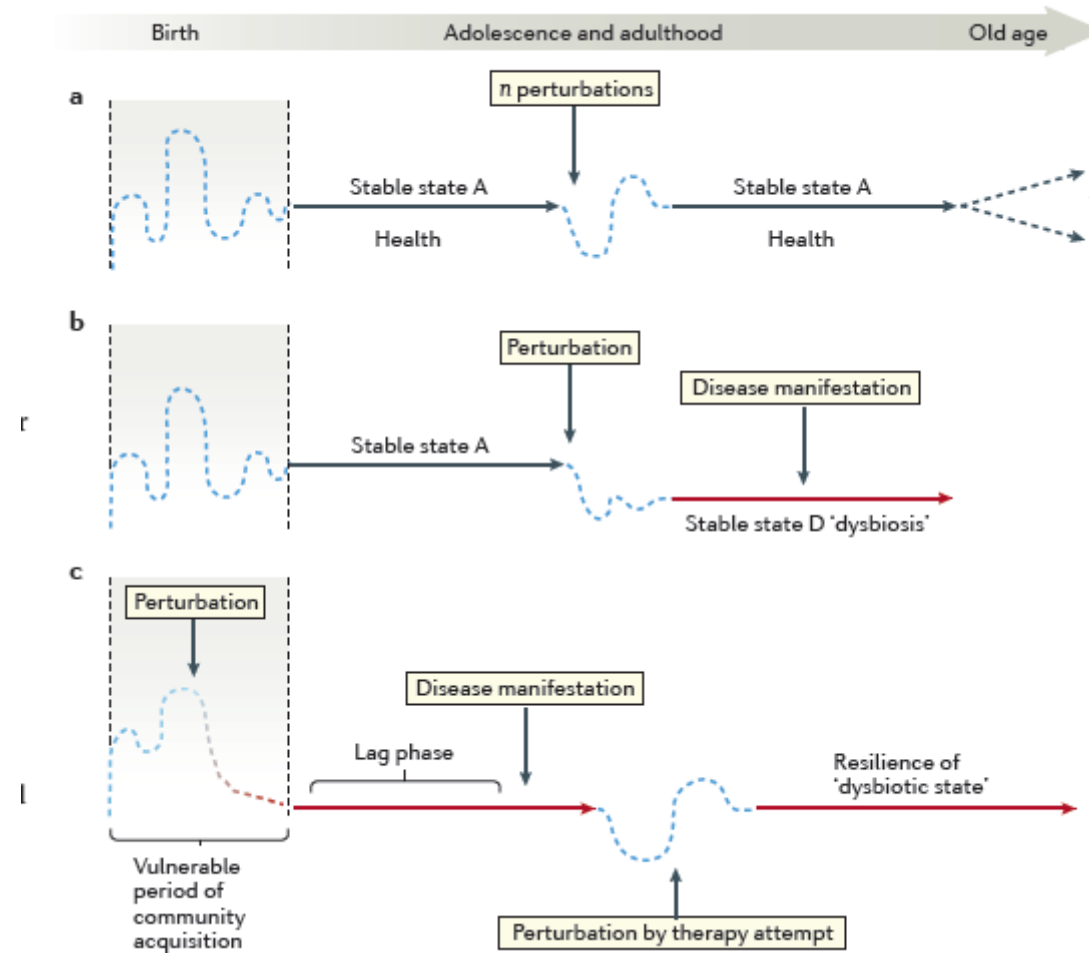


La microflore fécale est résiliente



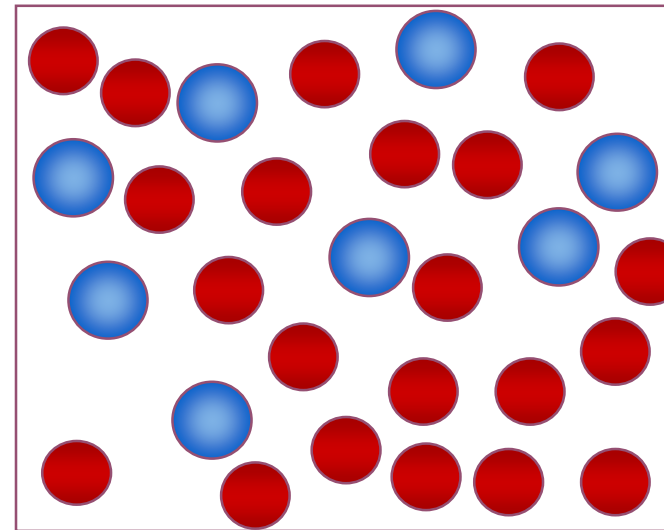
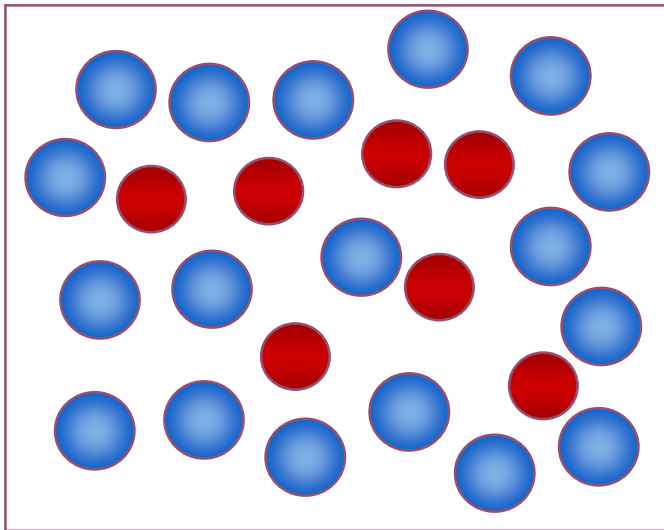
Effet de l'erythromycine sur diversité d'espèces dominantes

Résilience, mais pas indéfinie

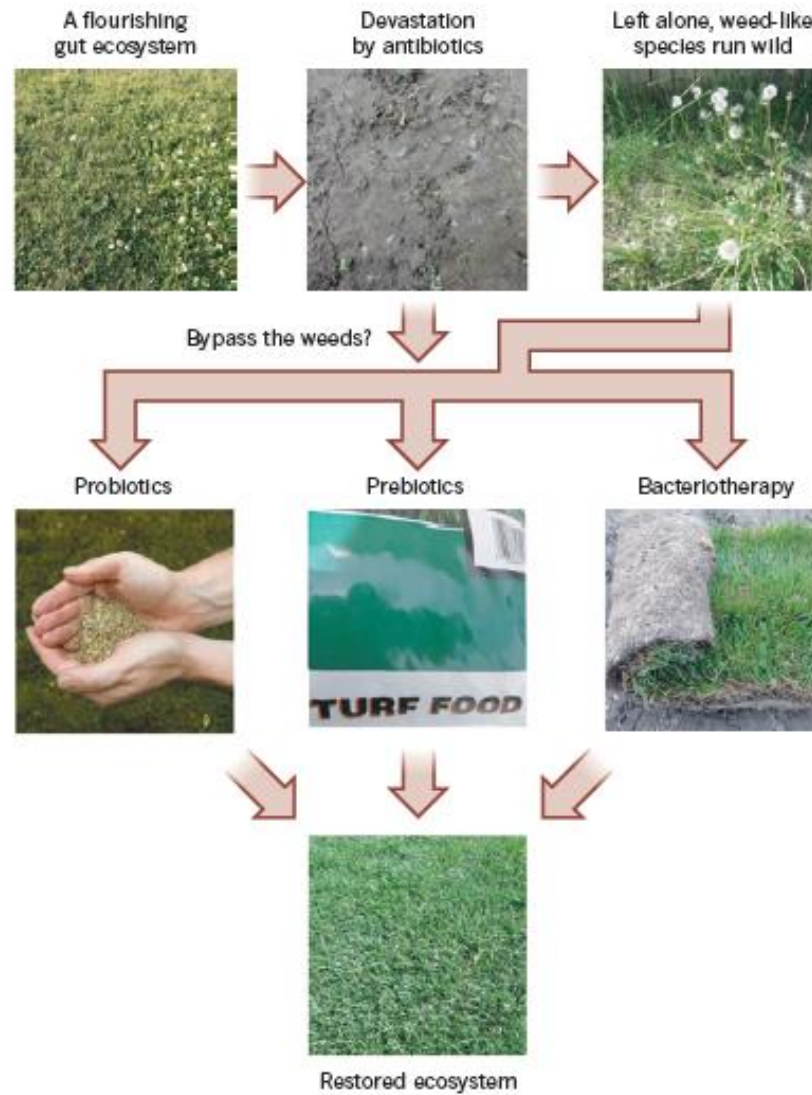


Dysbiose et maladie

déséquilibre dans la relation symbiotique du
microbiote à l'hôte



Comment restaurer un microbiote sain ?



Historique de la TMF

4^{ème} S: **Ge Hong** (traitement TIAC et diarrhée sévère)



16^{ème} S : **Li Shizhenet** et la “yellow dragon soup”

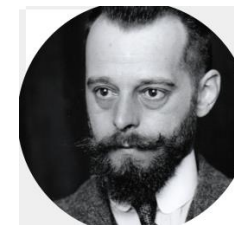


(suspension de selles fraîches, selles deshydratées ou selles d’enfants pour le traitement d’infections digestives)

17^{ème} S: médecine vétérinaire (*transfaunation*: transfert de selles d’un cheval sain à un cheval souffrant de diarrhée chronique)



1919: Félix Herelle utilise la phagothérapie pour traiter la dysentérie



1958: **Eiseman B. et al.** (4 pts avec CPM traités par lavements de selles)

Autres voies d’administrations

- ✓✓ 1991: SNG (*Aas, Gessert, Bakken*)
- ✓✓ 1998: Gastrosopie et colonoscopie (*Lund-Tønnesen*)
- ✓✓ 2010: Lavements auto-administrés (*Silverman, Davis, Pillai*)

Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent
Clostridium difficile

Els van Nood, M.D., Anne Vrieze, M.D., Max Nieuwdorp, M.D., Ph.D., Susana Fuentes, Ph.D.,

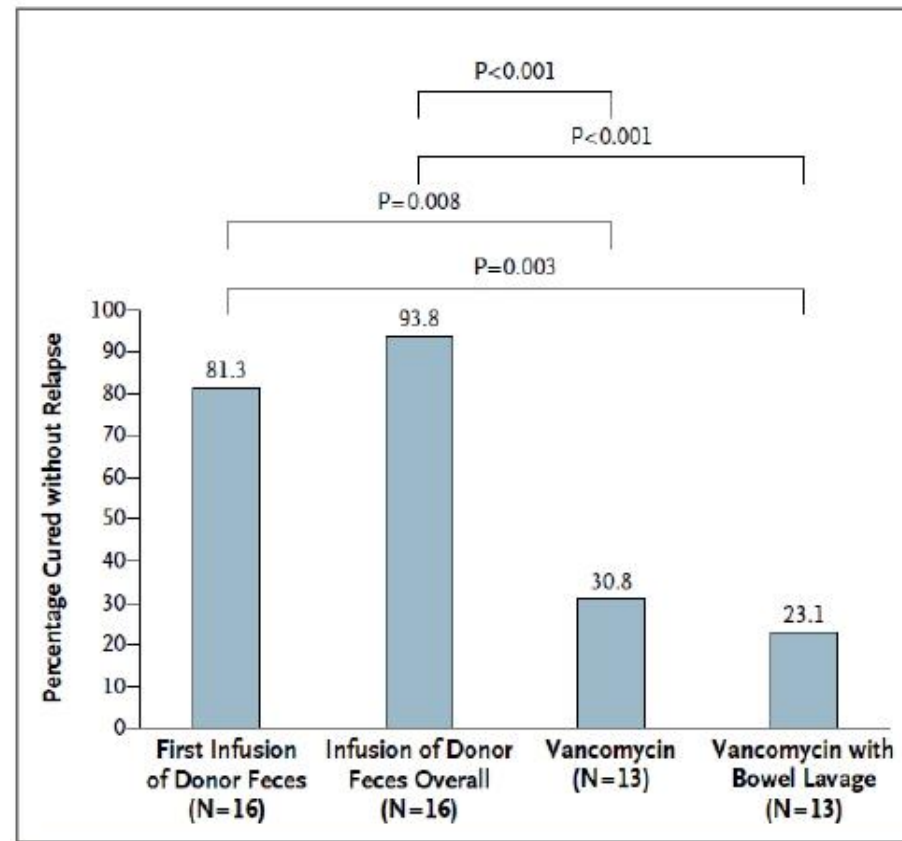


Figure 2. Rates of Cure without Relapse for Recurrent *Clostridium difficile* Infection.

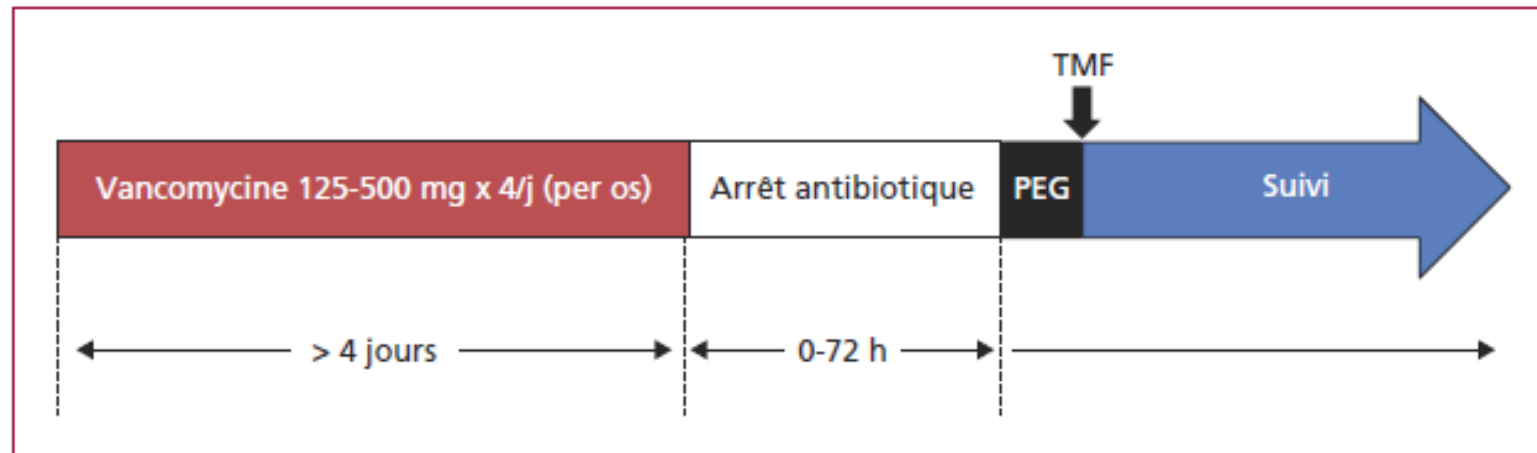
Etude arrêtée
après analyse
intermédiaire

Transplantation de microbiote fécal (TMF) dans le cadre du soin

Infection à *Clostridium difficile* récidivante

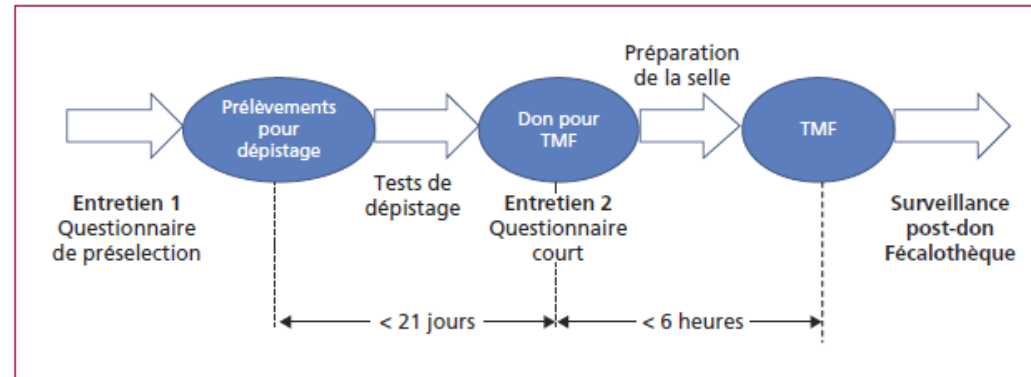
- Plusieurs milliers de cas par an en France
- Incidence en augmentation
- Traitement antibiotique peu efficace dans les formes récidivantes

Le receveur 3° récursive de CPM



Modalités de transplantation

Le donneur sain



Annexe 1 – Liste des agents infectieux à dépister chez les donneurs

Toute dérogation à cette liste devra impérativement être justifiée.

	SANG	SELLES
Bactéries	<ul style="list-style-type: none"> <i>Treponema pallidum</i> 	Coproculture standard et orientée: <ul style="list-style-type: none"> <i>Clostridium difficile</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Vibrio cholerae</i> / <i>Vibrio 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>Strongyloides stercoralis</i> <i>Toxoplasma gondii</i>³ <i>Trichinella sp.</i> Amibiase 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Strongyloides stercoralis</i> <i>Cryptosporidium sp.</i> <i>Cyclospora sp.</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia intestinalis</i> <i>Isospora sp.</i> <i>Microsporidies</i>

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

²Charge virale (PCR) en plus de la sérologie

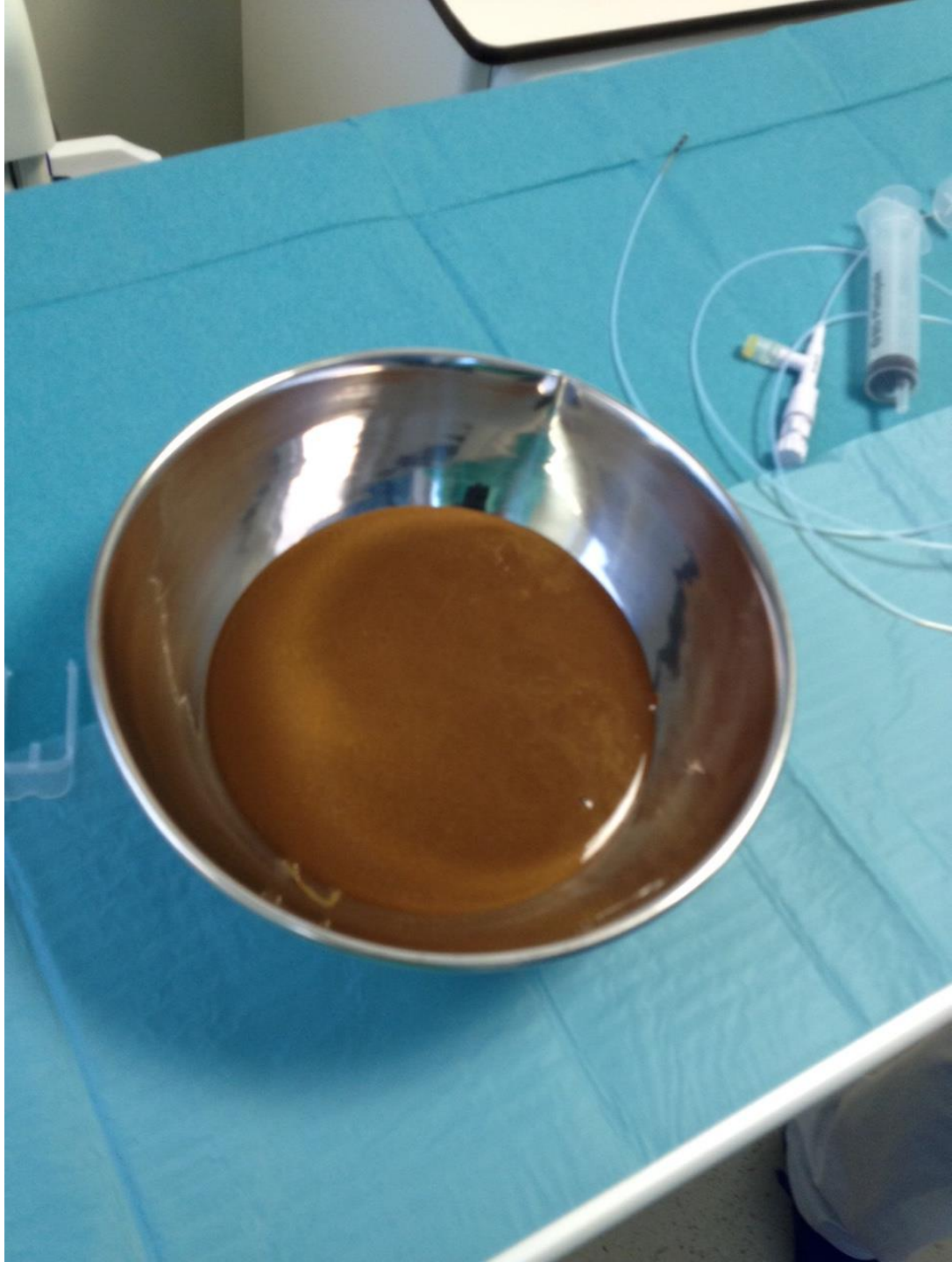
³Uniquement pour vérifier l'absence de séro-discordance avec le receveur

Méthodologie

- 50-150 g de selles
- Dilution et Homogénéisation dans NaCl 0.9%
- Filtration
- Volume final : 200-500 ml
- Congélation
-

Administration :

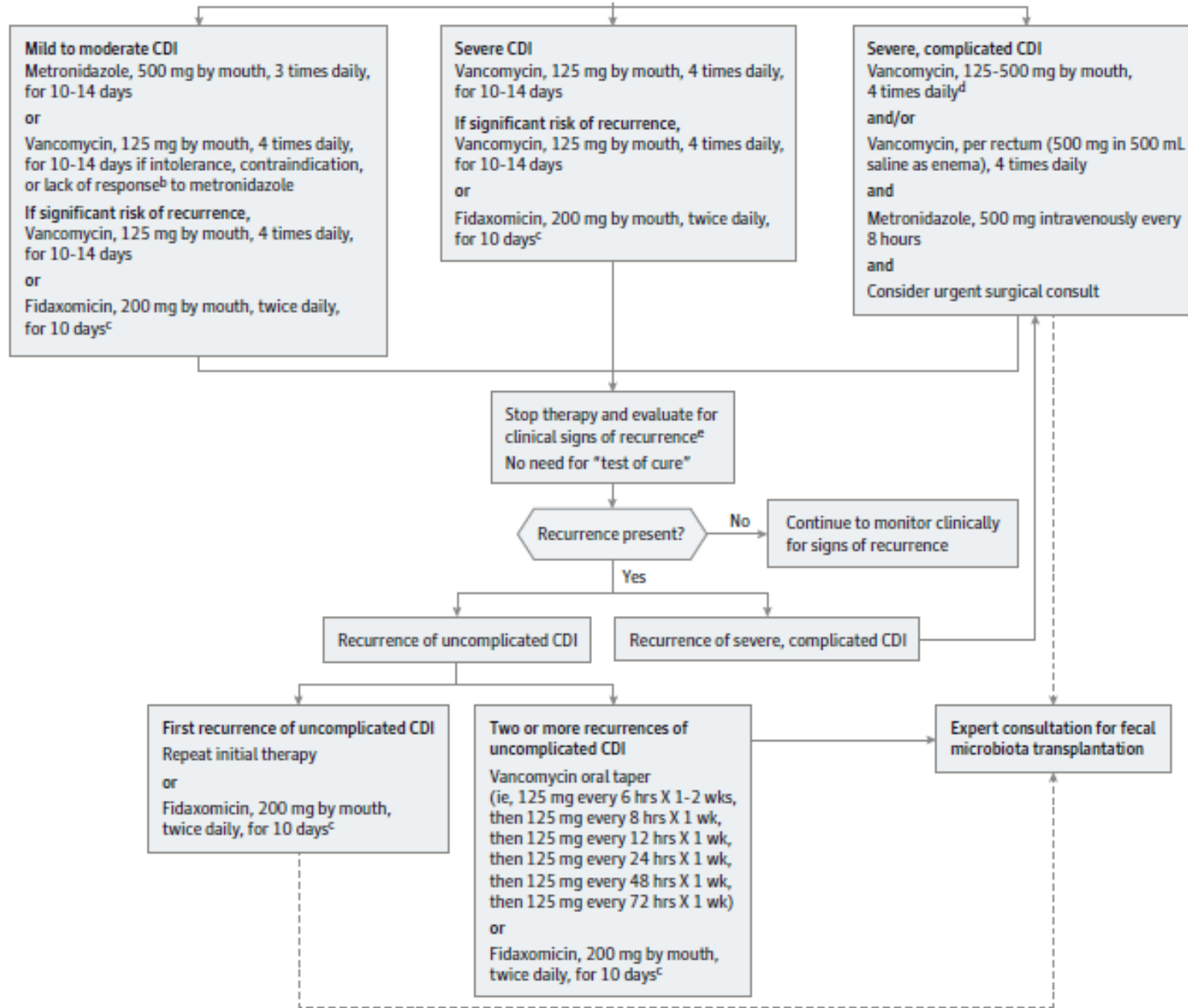
- Sonde naso-duodénale
- Coloscopie
- Lavement





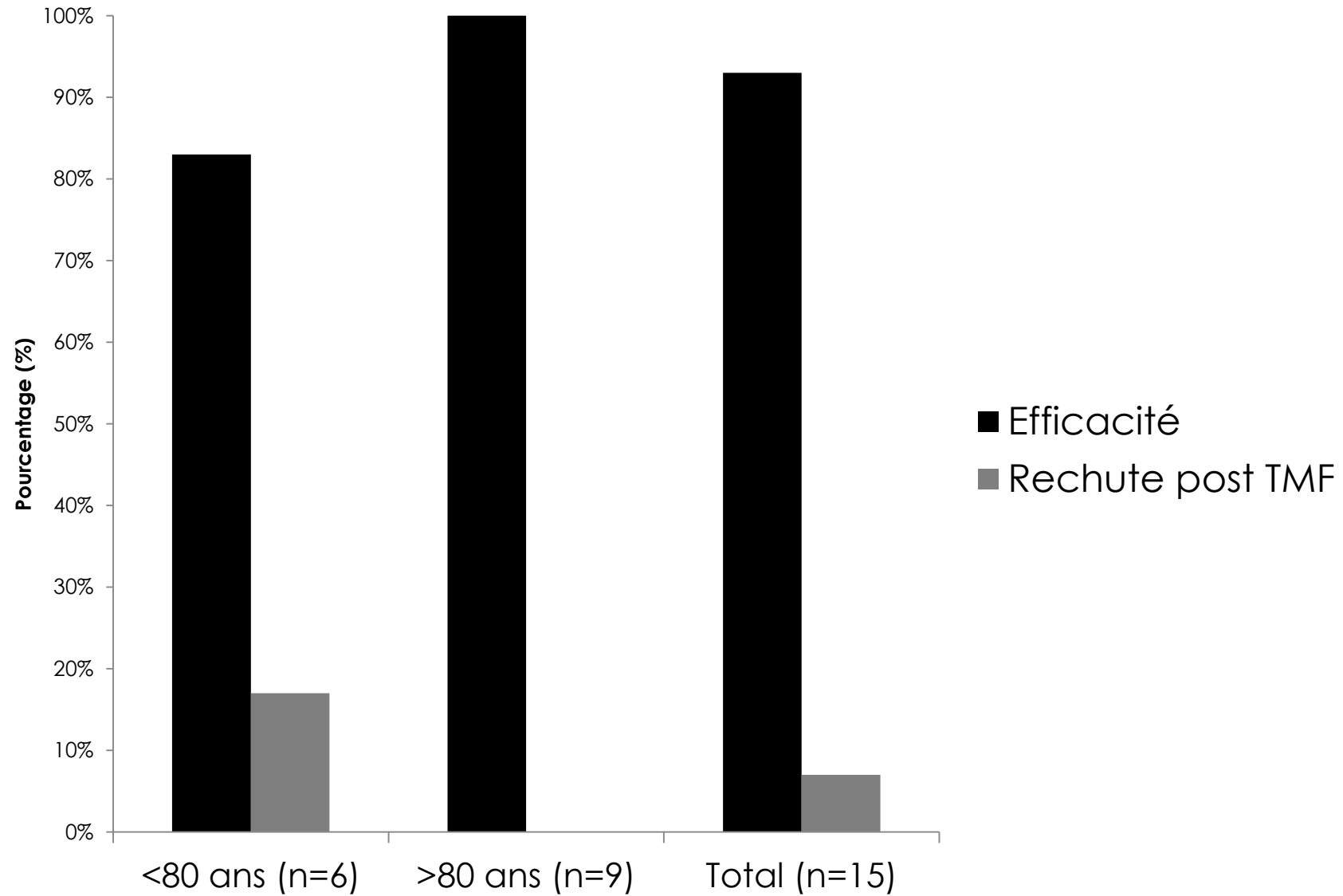






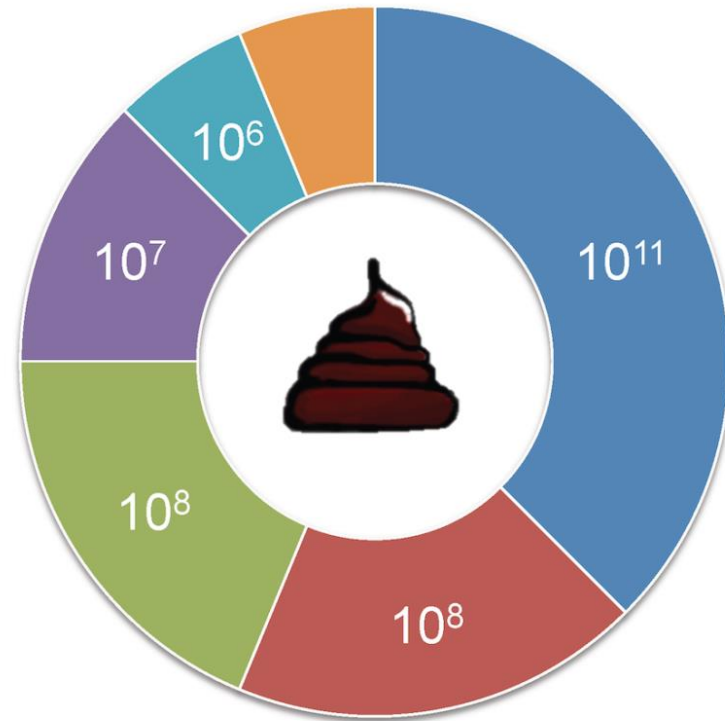
A la 3° récidence proposer une transplantation de microbiote fécal

Efficacité de la TMF Dans notre équipe



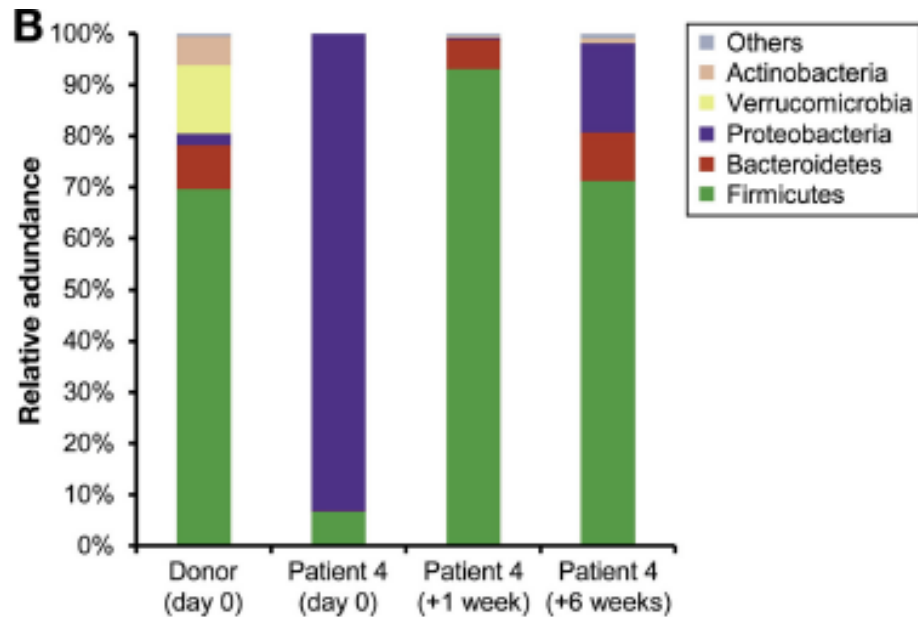
La TMF

Que contient le transplant ?

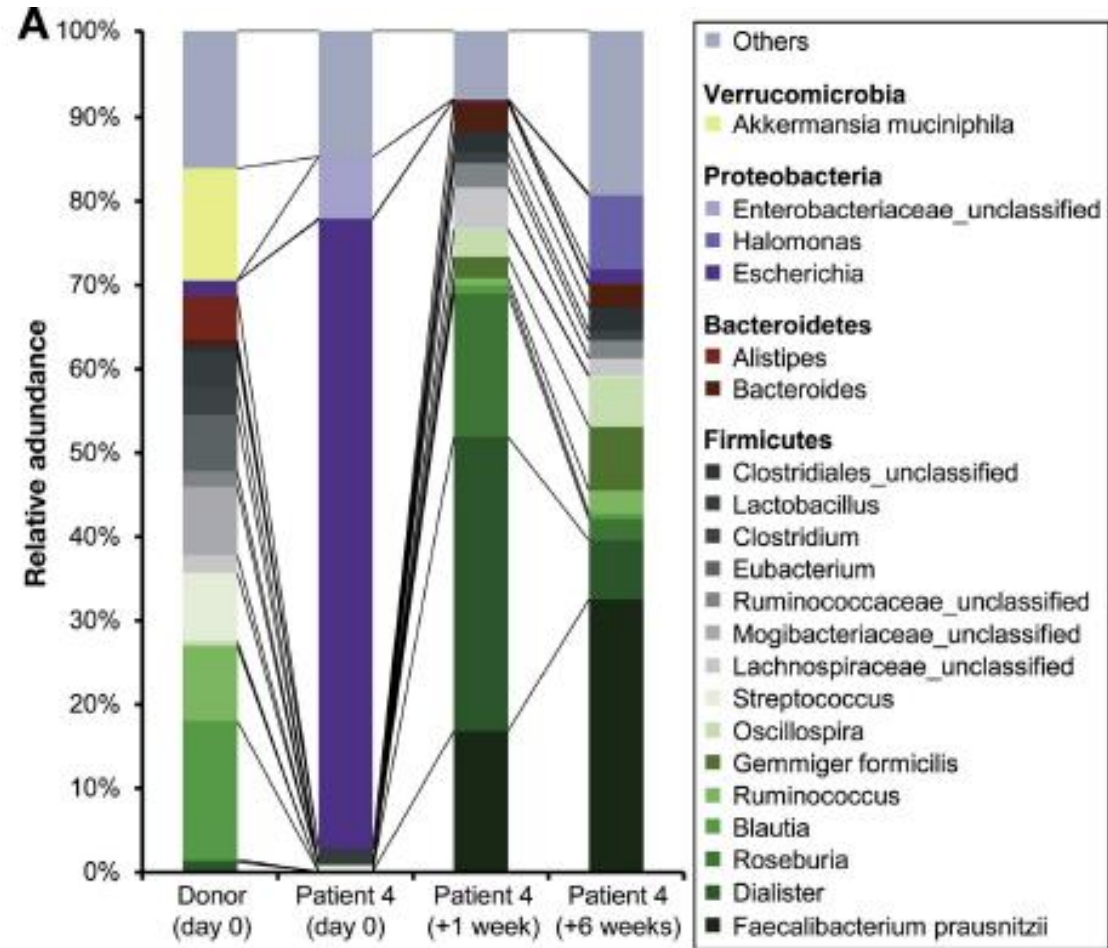


- Bacteria
- Archaea
- Viruses
- Colonocytes
- Fungi
- Metabolites, Protists, Other

Efficacy of sterile fecal filtrate for treating 5 patients with *Clostridium difficile* infection



Genus abundance

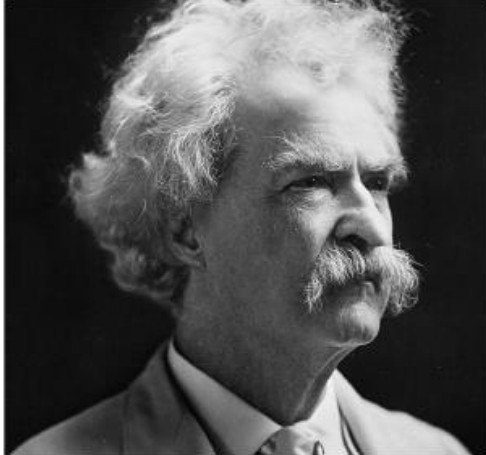


Phylum abundance



1919: Félix Herelle: phagothérapie

Le futur du microbiote et de la TMF ?



*" L'art de la prophétie est extrêmement difficile,
surtout en ce qui concerne l'avenir. "*

Mark Twain (1835--1910)

HORS SÉRIE SPÉCIAL
DÉTOX CÔLON

La nouvelle thérapie
pour vite retrouver
santé et vitalité !

ARTHROSE

Découvrez la **nouvelle solution anti-douleurs** qui a 10 ans d'avance. P. 6

MINCEUR

Purifiez votre corps et **perdez vite de 5 à 10 kg sans régime** ni reprise de poids. P. 8

DIGESTION

Comment en finir une fois pour toutes avec constipation, ballonnements, spasmes, diarrhées... P. 10

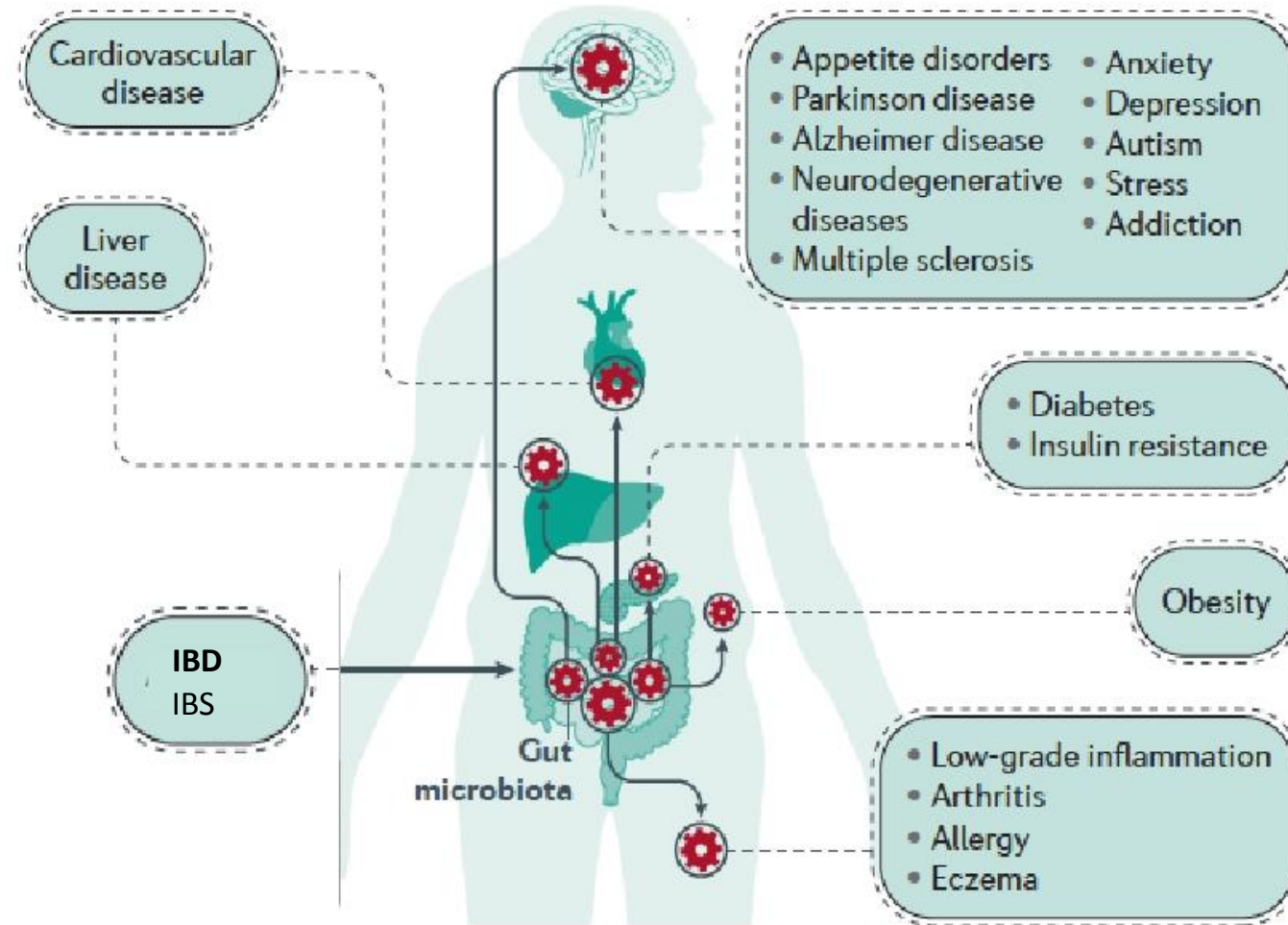
Prix Nobel :

"la mort commence par un côlon obstrué". P.2

Déprime, fatigue ?

Révélation sur le côlon - notre 2^{ème} cerveau - et son rôle méconnu sur le moral, l'énergie et la santé. P. 12

La TMF: les perspectives

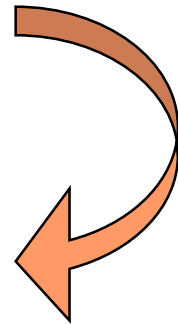


Microbiote confère le phénotype

Exemple de l'obésité



Dysbiose



**Transfert
microbiote**



Sauvage

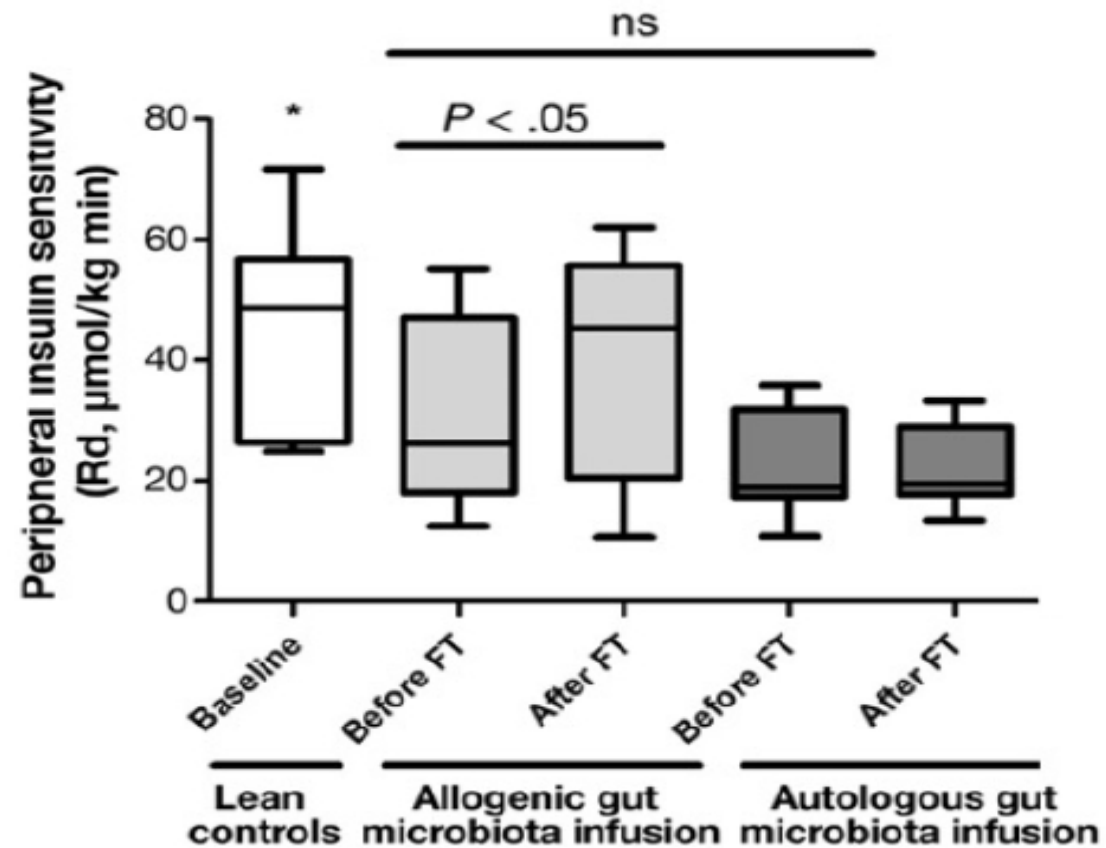


Phénotype obèse



Sauvage

La TMF modifie le syndrome métabolique



Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Blood Disorders Inhibits Gut Colonization With Antibiotic-Resistant Bacteria: Results of a Prospective, Single-Center Study

Jaroslav Bilinski,¹ Pawel Grzesiowski,² Nikolaj Sorensen,³ Krzysztof Madry,¹ Jacek Muszynski,⁴ Katarzyna Robak,¹ Marta Wroblewska,^{5,6} Tomasz Dzieciatkowski,⁵ Grazyna Dulny,⁷ Jadwiga Dwilewicz-Trojaczek,¹ Wieslaw Wiktor-Jedrzejczak,¹ and Grzegorz W. Basak¹

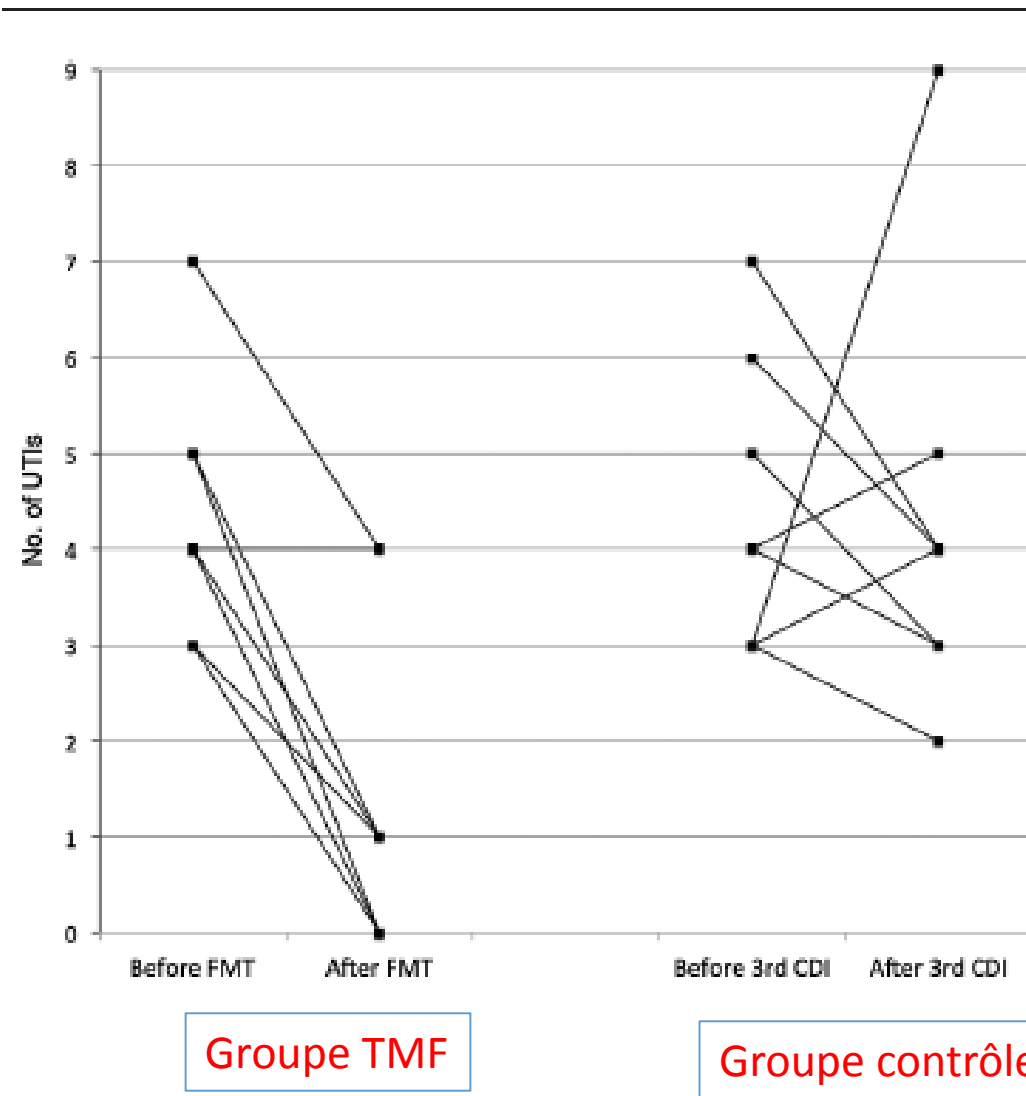
Gut-colonizing:

K. pneumoniae NDM1+ (n = 14),
carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (n = 3),
K. pneumoniae extended-spectrum β -lactamase positive (ESBL+; n = 2),
Escherichia coli ESBL+ (n = 11),
Pseudomonas aeruginosa metallo- β -lactamase (MBL; n = 2),
carbapenem-resistant *P. aeruginosa* (n = 2), carbapenem-resistant
Enterobacter cloacae (n = 2), VRE (n = 2),

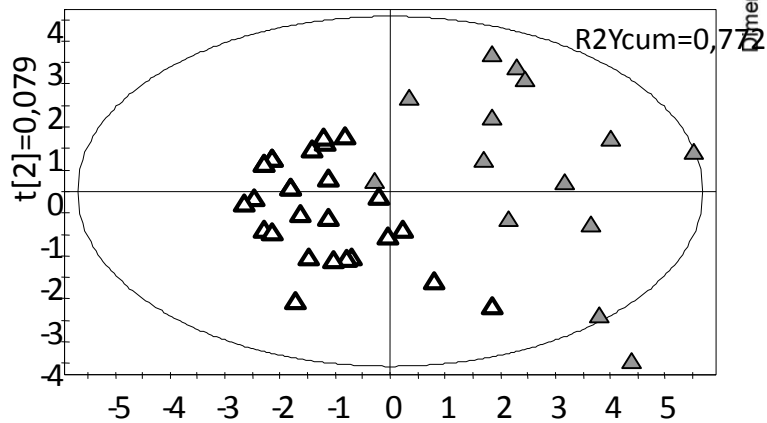
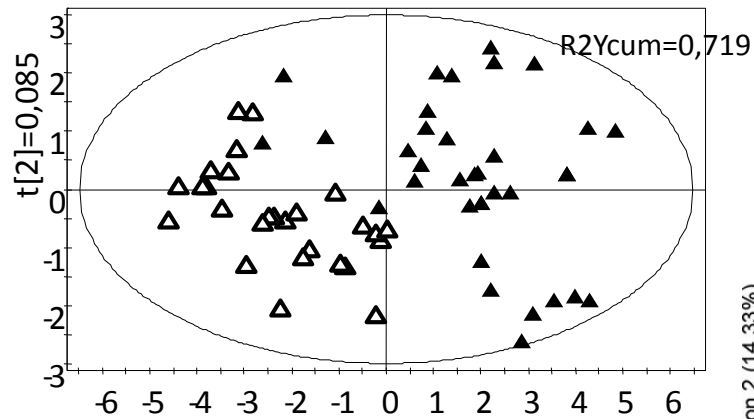
Impact of Fecal Microbiota Transplantation on Complete and Partial Antibiotic-Resistant Bacteria (ARB)

Endpoint	All FMTs n = 25	
	No.	%
Effect on all strains of ARB per FMT (complete ARB decolonization)		
At 1 month	15/25	60
At 6 months	13/14	93
Effect on at least 1 strain of ARB per FMT (partial ARB decolonization)		
At 1 month	20/25	80
At 6 months	13/14	93

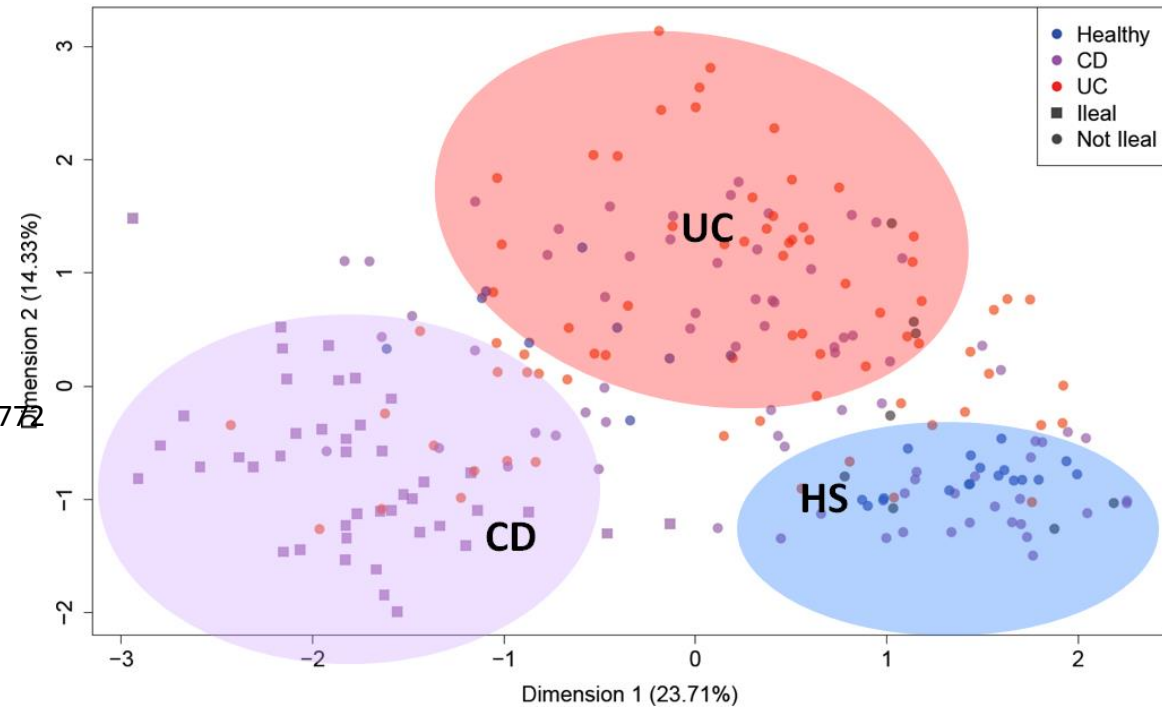
Fecal Microbiota Transplantation for Recurrent *Clostridium difficile* Infection reduces Recurrent Urinary Tract Infection frequency



Dysbiose au cours des MICI



- ▲ Active IBD
- △ IBD in remission
- △ Healthy subjects



Sokol et al. Inflamm Bowel Dis 2009

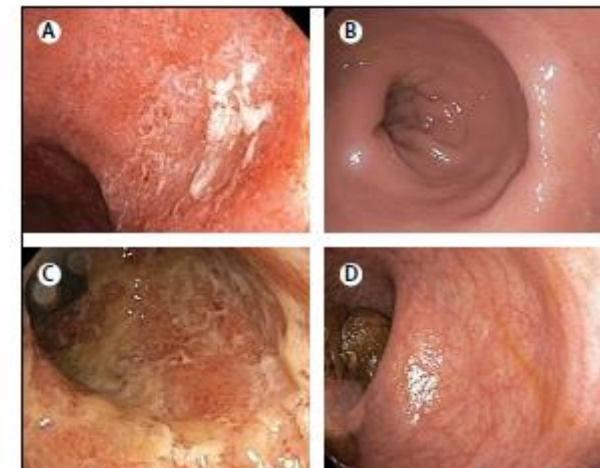
Morgan, Tickle, Sokol et al. Genome Biology 2012

La TMF dans la RCH

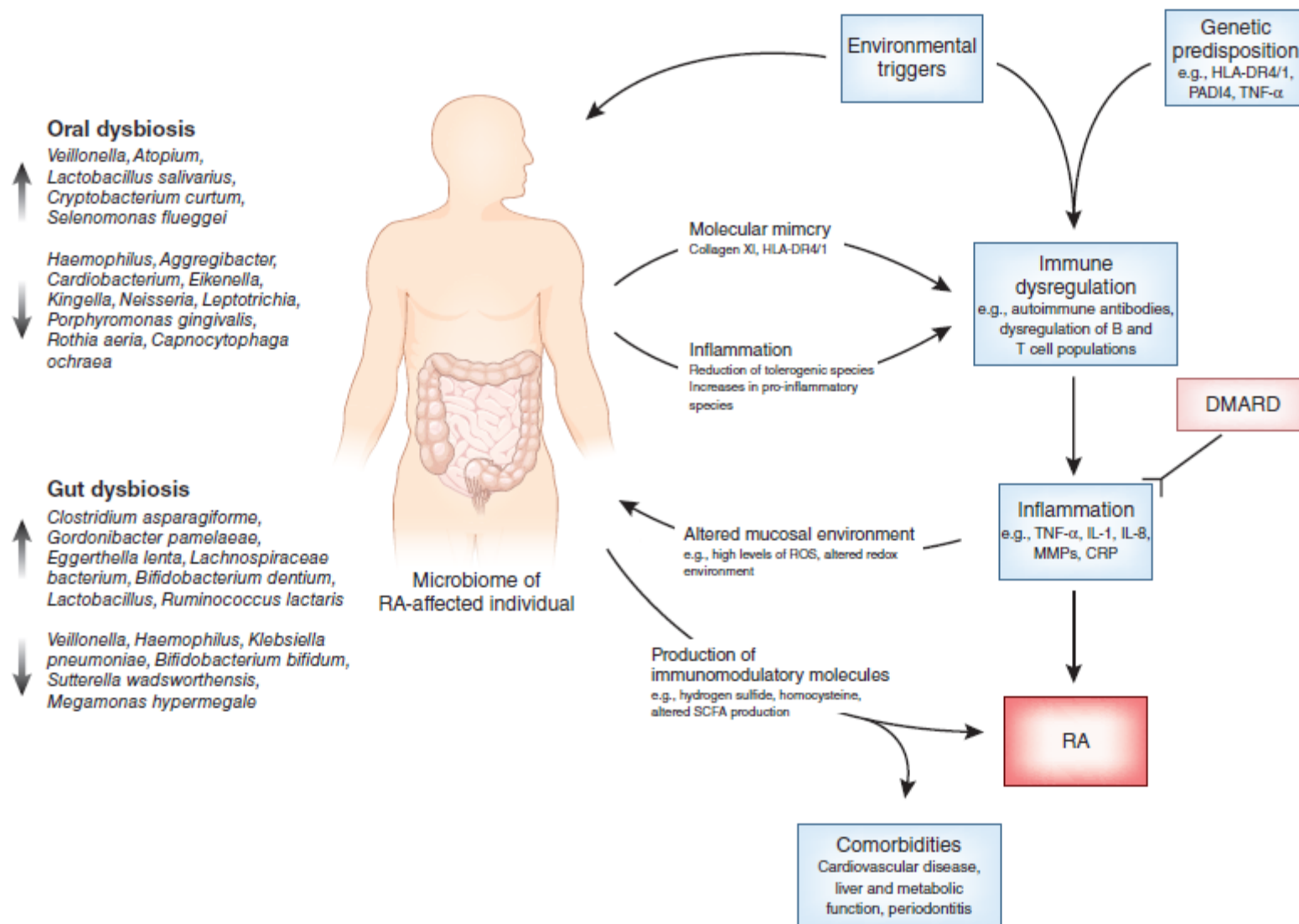
Etude Australienne Randomisée contre placebo 85 patients

	Faecal microbiota transplantation (n=41)	Placebo (n=40)	Risk ratio (95% CI)	p value
Primary outcome				
Steroid-free clinical remission and endoscopic remission or response*	11 (27%)	3 (8%)	3.6 (1.1-11.9)	0.021
Secondary outcomes				
Steroid-free clinical remission†	18 (44%)	8 (20%)	2.2 (1.1-4.5)	0.021
Steroid-free clinical response‡	22 (54%)	9 (23%)	2.4 (1.3-4.5)	0.004
Steroid-free endoscopic remission§	5 (12%)	3 (8%)	1.6 (0.4-6.4)	0.48
Steroid-free endoscopic response¶	13 (32%)	4 (10%)	3.2 (1.1-8.9)	0.016

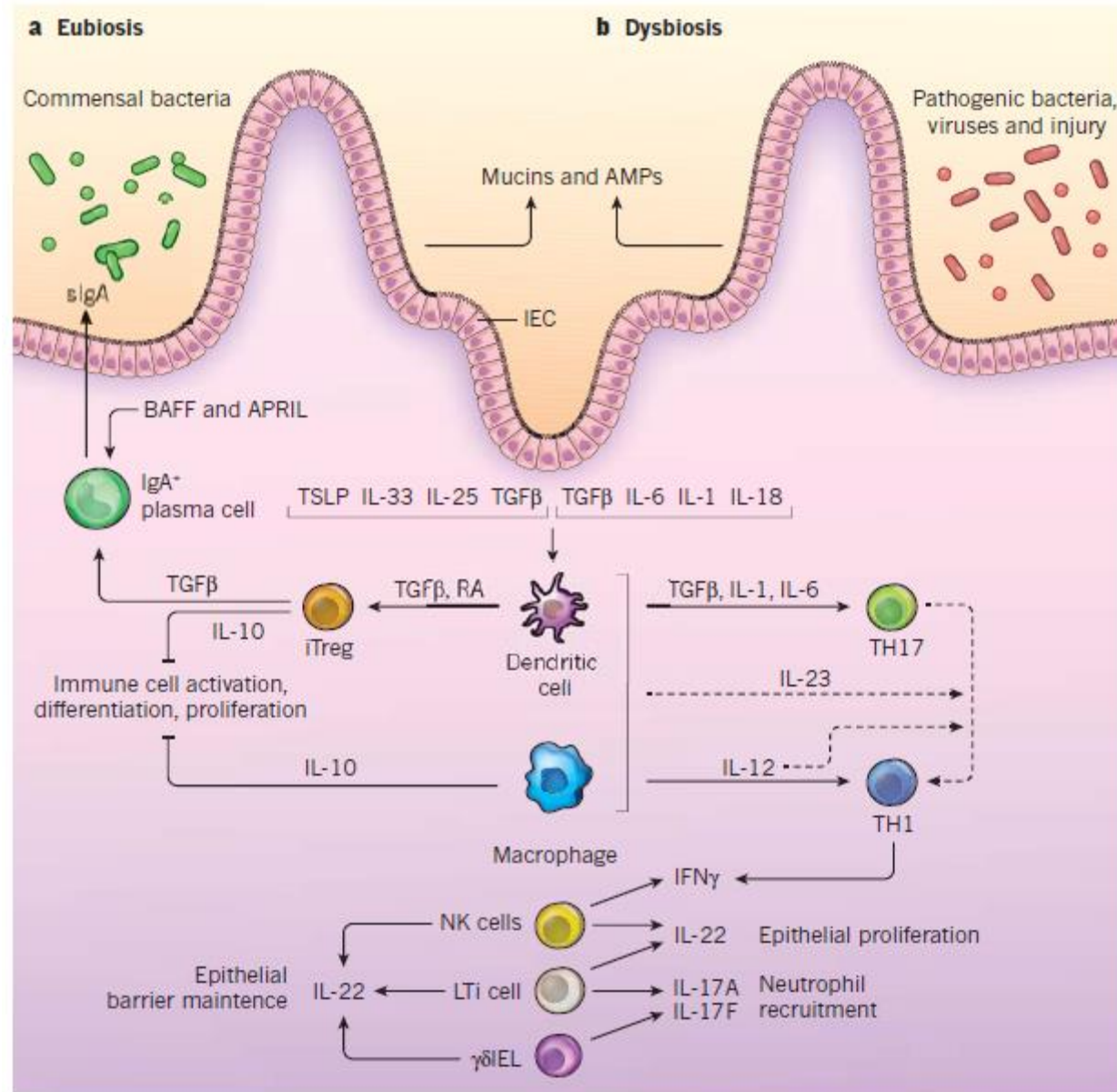
* Total Mayo score ≤ 2 , with all subscores ≤ 1 , and ≥ 1 point reduction from baseline in endoscopy subscore.
† Combined Mayo subscores of ≤ 1 for rectal bleeding plus stool frequency. ‡ Decrease of ≥ 3 points or $\geq 50\%$ reduction from baseline (or both) in combined Mayo subscores for rectal bleeding plus stool frequency. § Mayo endoscopy subscore 0. ¶ Mayo endoscopy subscore ≤ 1 , with ≥ 1 point reduction from baseline.



Microbiote et réponse immuno-inflammatoire



Microbiote et réponse immuno-inflammatoire



Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut

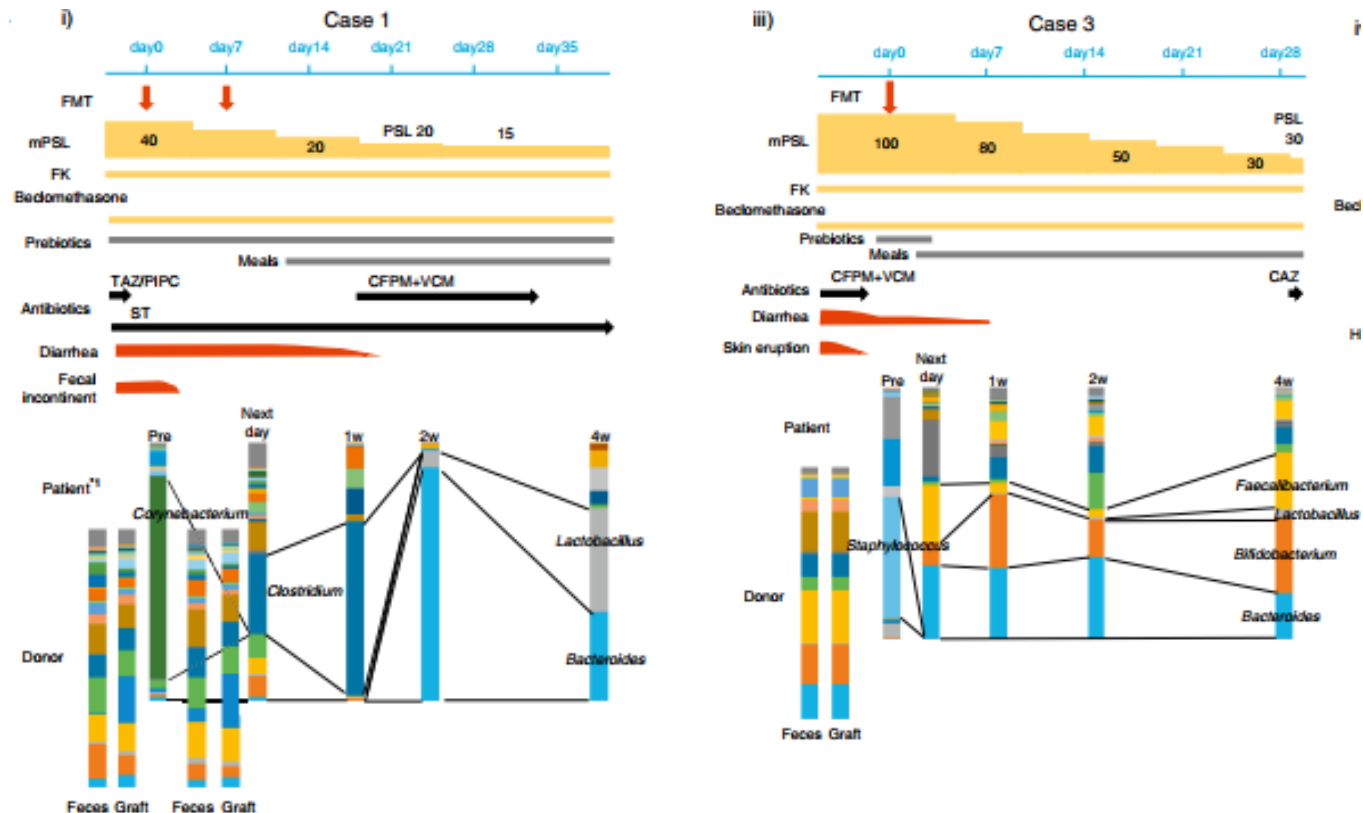
Kazuhiko Kakihana,^{1,*} Yuki Fujioka,^{2,3,*} Wataru Suda,^{4,5,*} Yuho Najima,¹ Go Kuwata,⁶ Satoshi Sasajima,⁷ Iyo Mimura,⁸ Hidetoshi Morita,⁸ Daisuke Sugiyama,² Hiroyoshi Nishikawa,² Masahira Hattori,^{4,9} Yutaro Hino,¹ Shuntaro Ikegawa,¹ Keita Yamamoto,¹ Takashi Toya,¹⁰ Noriko Doki,¹ Koichi Koizumi,⁶ Kenya Honda,^{5,7,11} and Kazuteru Ohashi¹ 2016

Etude de faisabilité chez 4 patients allogreffés de CSH avec GVH digestive

1 patient cortico-dépendant, 3 cortico-résistants

→ 3 réponses complètes, 1 réponse partielle

→ 69% de diminution des corticoïdes



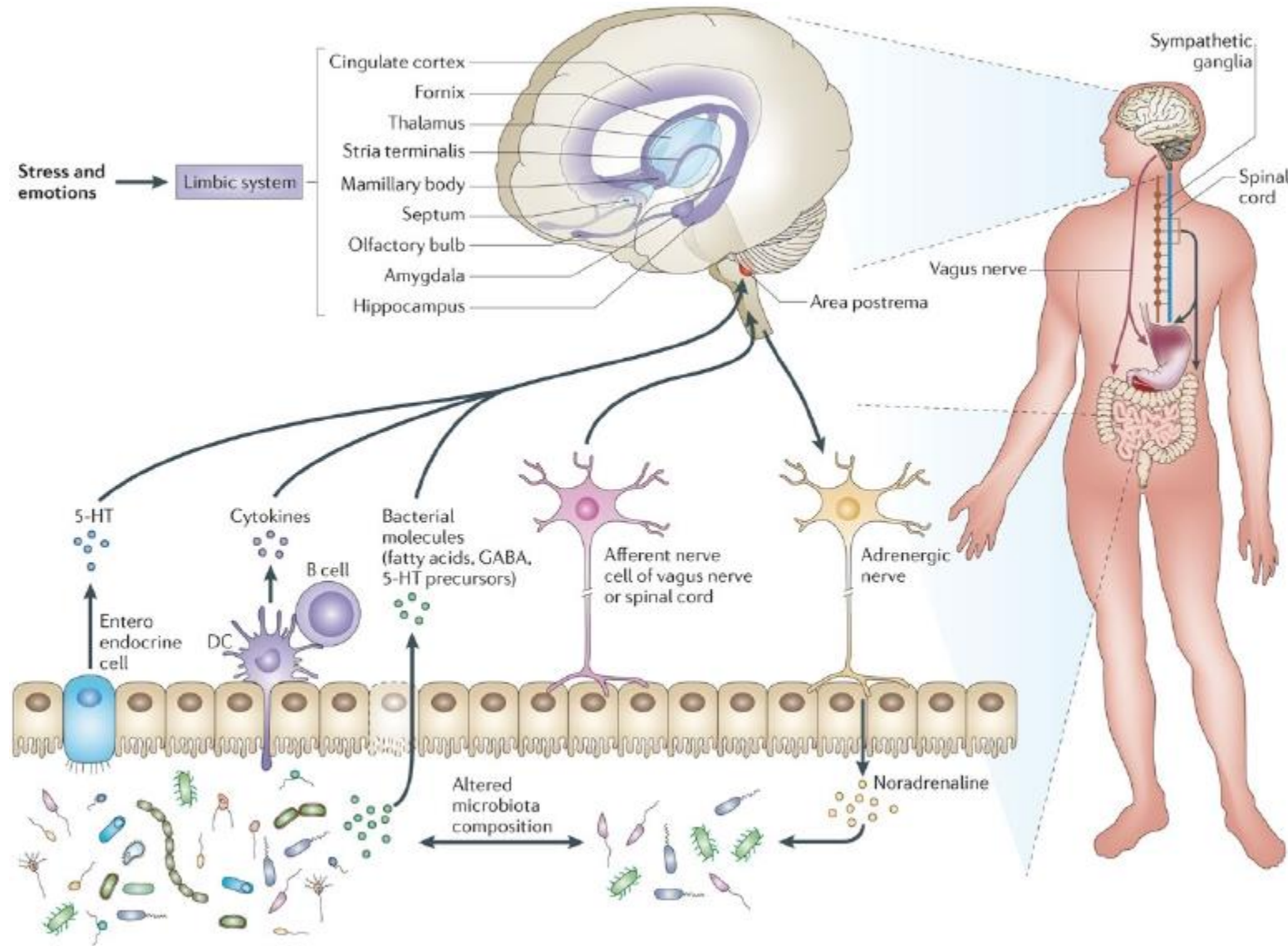
Lien entre cerveau et tube digestif ?

Une biopsie digestive contient des cellules gliales et des neurones entériques.

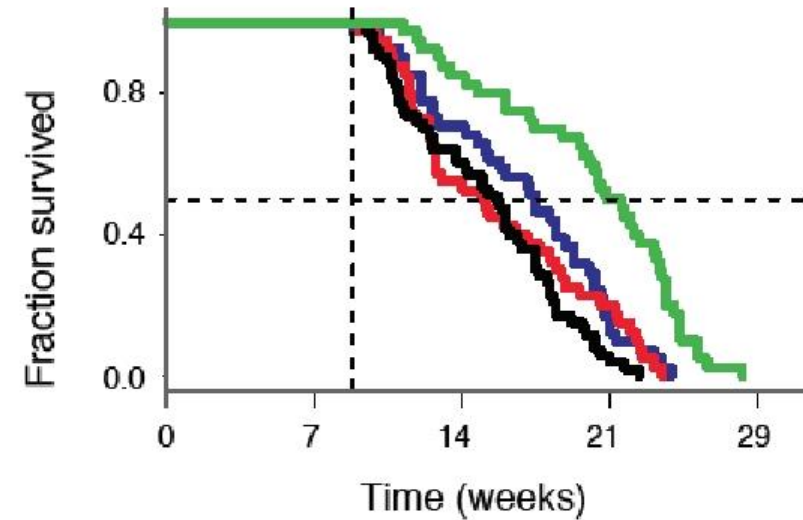
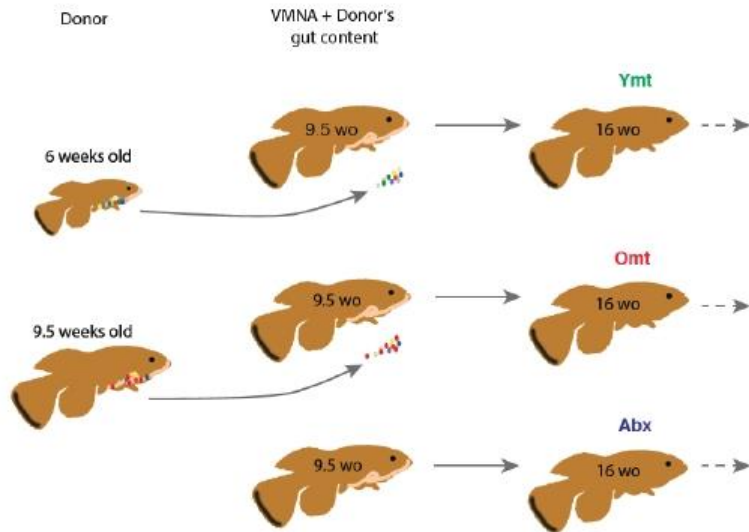
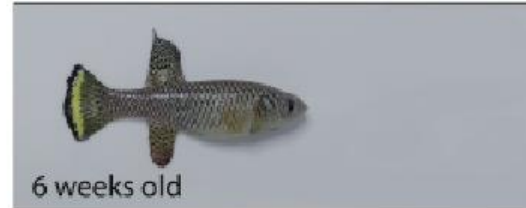


Maladies neurologiques, neurodégénératives ou psychiatriques ?

Interactions microbiote cerveau



L'immortalité ! TMF d'un jeune à un plus âgé



L'espérance de vie augmente de 41%

Le futur – voie d'administration

Successful Resolution of Recurrent *Clostridium difficile* Infection using Freeze-Dried, Encapsulated Fecal Microbiota; Pragmatic Cohort Study

Christopher Staley, PhD^{1,4}, Matthew J. Hamilton, PhD^{1,4}, Byron P. Vaughn, MD², Carolyn T. Graiziger, BS², Krista M. Newman, MD², Amanda J. Kabage, MS², Michael J. Sadowsky, PhD^{1,5} and Alexander Khoruts, MD^{1,2,3,5}



The optimized lyophilized preparation satisfied all our preset goals for physicochemical properties, encapsulation ease, stability at different temperatures, and microbiota viability *in vitro* and *in vivo* (germ-free mice). The capsule treatment was administered to 49 patients. Overall, 43/49 (88%) of patients achieved a clinical success, defined as no recurrence of CDI over 2 months. Analysis of the fecal microbiome demonstrated near normalization of the fecal microbial community by 1 month following FMT treatment. The simplest protocol using the lowest dose ($2.1\text{--}2.5 \times 10^{11}$ bacteria in 2–3 capsules) without any colon purgative performed equally well in terms of clinical outcomes and microbiota engraftment.

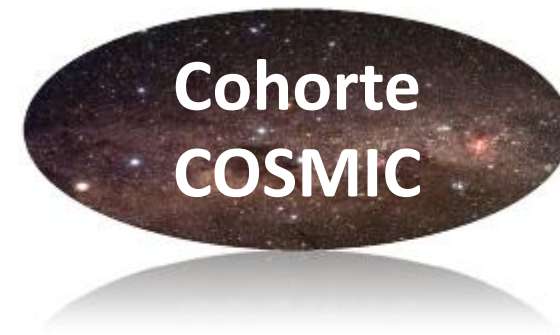
Staley, Am J Gastroenterol, 2017

Les difficultés:

- Fédérer les différents laboratoires de biologie qui feront les examens
- Identifier des donneurs et qui paiera la biologie nécessaire au don ?
- Selles congelées du donneur plus facile à utiliser (JAMA 2016)
- Archivage d'un aliquot après don (congélateur -80°C)
- RCP ouverte et multi-disciplinaire qui validera les indications

Questions non résolues

- Comment sélectionner un « bon » donneur?
 - quel dépistage faire?
 - critères de compatibilité entre donneurs et receveur?
- Quel rythme d'administration ?
 - unique ou multiples
 - donneur unique ou poolé ?
- Effet à long terme?
 - Infections
 - Autres maladies



Innocuité de la TMF ?

Situation proche des débuts
de la transfusion sanguine ou de la greffe d'organe

JAMA | **Original Investigation**

Association of Blood Transfusion From Female Donors With and Without a History of Pregnancy With Mortality Among Male and Female Transfusion Recipients

Camila Caram-Deelder, MSc; Aukje L. Kreuger, MD; Dorothea Evers, MD; Karen M. K. de Vooght, PhD;
Daan van de Kerkhof, PhD, MD; Otto Visser, PhD, MD; Nathalie C. V. Péquériaux, PhD; Francisca Hudig, PhD, MD;
Jaap Jan Zwaginga, PhD, MD; Johanna G. van der Bom, PhD, MD; Rutger A. Middelburg, PhD

Safety of FMT ?

Similar situation at the beginning of blood transfusion
or solid organ transplantation

JAMA | **Original Investigation**

Association of Blood Transfusion From Female Donors With and Without a History of Pregnancy With Mortality Among Male and Female Transfusion Recipients

Camila Caram-Deelder, MSc; Aukje L. Kreuger, MD; Dorothea Evers, MD; Karen M. K. de Vooght, PhD;
Daan van de Kerkhof, PhD, MD; Otto Visser, PhD, MD; Nathalie C. V. Péquériaux, PhD; Francisca Hudig, PhD, MD;
Jaap Jan Zwaginga, PhD, MD; Johanna G. van der Bom, PhD, MD; Rutger A. Middelburg, PhD

Among patients who received red blood cell transfusions from an ever-pregnant female donor, compared with a male donor, was associated with increased all-cause mortality among male recipients but not among female recipients.



Les bienfaits de l'ignorance
(Gilbert Garcin)