



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : الميكروبيولوجيا

Département : Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des microorganismes.

Intitulé :

Application de la transplantation de microbiote fécal contre les infections à
Clostridium difficile récidivantes

Présenté et soutenu par : - Haboudi Maya

Le : 13/07/2021

- Djemouai Ines

- Hannache Billel

Jury d'évaluation :

Présidente : Mlle Meziani M (MCB- UFM Constantine 1)

Examinatrice : Mme Guergouri I (MAA-UFM Constantine 1)

Encadreur : Mme Boulfat L (MCB-UFM Constantine 1)

Année universitaire
2020 –2021



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : الميكروبيولوجيا

Département : Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des microorganismes.

Intitulé :

Application de la transplantation de microbiote fécal contre les infections à
Clostridium difficile récidivantes

Présenté et soutenu par : - Haboudi Maya

Le : 13/07/2021

- Djemouai Ines

- Hannache Billel

Jury d'évaluation :

Présidente : Mlle. Meziani M (MCB- UFM Constantine 1)

Examinatrice : Mme. Guergouri I (MAA-UFM Constantine 1)

Encadreur : Mme. Boultifat L (MCB-UFM Constantine 1)

Année universitaire
2020 –2021

Remerciements

Tout travail ne peut être réalisé sans l'aide de dieu le plus puissant. Alors, et en premier lieu, on remercie notre créateur qui nous a donné la force et la santé pour en être là aujourd'hui.

Nous tenons à remercier notamment notre encadreur madame Boultifat-Lebad Linda pour son aide et ses conseils précieux qui ont contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également aux membres du jury qui ont accepté d'examiner notre mémoire.

La présidente du jury Mlle. Meziani Meriem qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.

Mme. Guergouri Ibtissem pour avoir accepté de siéger dans ce jury.

Notre cycle d'études ainsi que la réalisation de ce travail ne se seraient pas aussi bien déroulé sans l'aide des enseignants et le personnel administratif, nos remerciements les plus vifs vont à eux également.

Dédicaces

Ce mémoire de fin d'études est dédié en premier lieu à mes parents en guise de reconnaissance et de gratitude envers leur appui, leur encouragement, et leur soutien moral et affectif. L'amour et le respect que j'éprouve pour vous me pousseront toujours à vous rendre fières autant que possible. J'espère que vos sacrifices auront payé par l'obtention de mon diplôme.

A mes sœurs Meriem et Rachia et à mon frère Mehdi, vos conseils m'ont poussé à faire de mon mieux pour accomplir un travail à la hauteur de vos attentes. Votre présence m'a été d'une aide inestimable notamment au cours de cette année.

A mon amie et ma collègue Khadija pour sa générosité et sa sincérité. Pour son dévouement inconditionnel, je te souhaite un avenir prospère.

Et enfin à toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce modeste travail et au bon déroulement de mes cinq années d'études.

Maya

*Je dédie ce modeste travail à mon
Grand-père "Abderrahmane" et à la mémoire
de ma Grand-mère "Fatma", à mes très chères parentes pour leurs soutien et
encouragement
inconditionnel et illimité tout le long de mon parcours d'études, que Dieu les
garde et les bénissent.
Ainsi qu'à ma petite sœur "Aroua", mon petit frère "Anes", et ma chère
tante "Hanifa"
mes tantes maternelles, mes oncles et tantes paternelles.
Je remercie mes cousines, mes amies et toute personne qui a contribué à la
réalisation de ce travail.*

Ines

je tiens à dédier ce modeste travail:

A mes chers parents :

Pour votre soutien moral et matériel sans faille,

Pour vos mains qui ont tant travaillé,

Pour votre cœur qui m'a tant donné,

Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,

Pour vos yeux qui furent parfois mouillés, Pour

vous qui m'avez tant aimé.

Pour le bon déroulement de mes études. Sans votre aide, je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui.

J'espère qu'un jour, je pourrais vous rendre un peu de ce que vous avez fait pour moi, qu'Allah vous procure bonheur et longue vie.

*A ma plus chère sœur **Hannene**, je le remercie infiniment pour son soutien, ces conseils et son encouragement, et je lui souhaite un avenir plein de joie, de la réussite, du bonheur et de la sérénité.*

*A mes chères frères **Chamse Eddine, Housseem et Isslem**, que dieu les protège et leur accorde la réussite dans leur vie.*

*A ma chère tante **Lynda**, merci d'avoir pris soin de moi ces années, je n'oublierai jamais l'aide que vous m'avez apportée.*

*A mes amis de l'université : **Mohamed, Chemsou, Charaf, Seif, Ramzi, Zerieb et Oussama**, avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.*

Billel

TABLE DES MATIÈRES

Liste des abréviations et acronymes.....	i
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux.....	iv
Introduction.....	1

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : LE MICROBIOTE INTESTINAL

1. Définition	2
2. Composition du microbiote intestinal	2
2.1. Microbiote dominant	3
2.2. Microbiote sous-dominant	4
2.3. Microbiote de passage	4
3. Répartition du microbiote digestif	4
3.1. Au niveau de la cavité buccale	5
3.2. Au niveau de l'estomac	5
3.3. Au niveau de l'intestin grêle.....	5
3.4. Au niveau du gros intestin (côlon)	6
4. Mise en place du microbiote intestinal	7
5. Facteurs influençant la mise en place du microbiote intestinal	8
5.1. Facteurs génétiques.....	8
5.2. Mode d'accouchement.....	8
5.3. Alimentation	9
5.4. Terme de la grossesse	10
5.5. Environnement et hygiène	10
5.6. Exposition aux antibiotiques	10
6. Méthodes d'analyse du microbiote intestinal	11
6.1. Méthode basée sur la culture microbienne	11
6.2. Méthodes moléculaires	12
6.2.1. Séquençage de la sous-unité 16S ribosomique	12

6.2.2.	PCR quantitative	12
6.2.3.	Métagénomique Shotgun.....	12
6.2.4.	Métatranscriptomique.....	13
6.2.5.	Métaprotéomique	13
6.2.6.	Métabolomique.....	13
7.	Fonctions du microbiote intestinal.....	14
7.1.	Fonction protectrice	14
7.1.1.	Effets sur la physiologie digestive	14
7.1.2.	Protection contre les pathogènes	14
7.2.	Fonction immunologique.....	15
7.3.	Fonctions métabolique et nutritionnelle	16
7.3.1.	Métabolisme des glucides	16
7.3.2.	Métabolisme des lipides	17
7.3.3.	Métabolisme des protéines	17
7.3.4.	Métabolisme des gaz	18
7.3.5.	Synthèse des facteurs vitaminiques.....	18
7.4.	Fonction neurologique	19
8.	Relation hôte-microbiote intestinal.....	20
9.	Dysbiose intestinale	21

CHAPITRE 2: LES INFECTIONS A *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

1.	Notions générales et physiologie	22
2.	Épidémiologie des infections à <i>Clostridium difficile</i>	24
3.	Mécanisme d'action et effet physiopathologique	26
4.	Facteurs de risques	27
4.1.	Antibiothérapie	27
4.2.	Age.....	28
4.3.	Hospitalisation	29
4.4.	Inhibiteurs de pompe à protons (IPP)	29
5.	Manifestation clinique	30
5.1.	Portage asymptomatique.....	30
5.2.	Forme simple : diarrhée post-antibiotique.....	30
5.3.	Colites pseudomembraneuse CPM.....	31
5.4.	Formes compliquées	32

5.5. Récidives	32
6. Diagnostic.....	33
6.1. Prélèvement et choix de l'échantillon	34
6.2. Diagnostic microbiologique	34
6.2.1. Culture toxigénique	34
6.2.2. Détection du glutamate déshydrogénase (GDH).....	35
6.2.3. Test de cytotoxicité des selles	35
6.2.4. Test immuno-enzymatique IEA	36
6.2.5. Méthodes de biologie moléculaire	36
6.3. Stratégie de diagnostic.....	36
7. Traitement.....	37
7.1. Traitement du premier épisode	37
7.2. Traitement des récurrences	41
8. Mesures de prévention	43

CHAPITRE 3: LA TRANSPLANTATION DE MICROBIOTE FÉCAL

1. Historique.....	44
2. Définition.....	45
3. Indications.....	46
4. Application de la transplantation de microbiote fécal	46
4.1. Recrutement du donneur.....	46
4.1.1. Choix du donneur	46
4.1.2. Présélection	47
4.1.3. Bilan biologique et infectieux du donneur	47
4.1.4. Recherche du génome viral du SARS-CoV-2.....	50
4.1.5. Sélection définitive du donneur.....	51
4.2. Préparation du patient receveur	52
4.3. Préparation de la suspension fécale humaine	53
4.4. Administration de la suspension fécale humaine	54
4.4.1. Partie inférieure du tube digestif.....	55
4.4.2. Partie supérieure du tube digestif	55
4.5. Traçabilité.....	57
5. Mécanisme d'action	59

6. Effets secondaires	61
Conclusion et perspectives.....	62
Références bibliographiques.....	63
Annexes	
Résumé	

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

- ❖ °C : Degré Celsius
- ❖ ACP: Analyse en composante principale
- ❖ ADN : Acide désoxyribonucléique
- ❖ ADNr : Acide désoxyribonucléique ribosomique
- ❖ AGCC : Acide gras à chaîne courte
- ❖ ALAT : Alanine Amino-Transférase
- ❖ ANSM: Agence Nationale de Sécurité du Médicament
- ❖ ARN: Acide ribonucléique
- ❖ ARNm : Acide ribonucléique messenger
- ❖ ARNr : Acide ribonucléique ribosomique
- ❖ ASAT : Aspartate Amino-Transférase
- ❖ ATB : Antibiotique
- ❖ BLSE: Beta-Lactamase à spectre élargi
- ❖ *C.difficile* : *Clostridium difficile*
- ❖ CMV : Cytomégalovirus
- ❖ CPM: Colite pseudomembraneuse
- ❖ CRP: Protéine C- réactive
- ❖ Cwp66: *Cell wall protéine 66 kDa*
- ❖ *E.coli* : *Escherichia coli*
- ❖ EBV : *Virus Epstein-Barr*
- ❖ ELISA: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*
- ❖ Fbp68: La protéine de liaison à la fibronectine de la souche 68 de *Clostridium difficile*
- ❖ FDA: *Food and Drug Administration*
- ❖ FliC: Flagelline
- ❖ FliD: Coiffe du flagelle
- ❖ GABA: *Gamma aminobutyric acid*
- ❖ GDH: Glutamate déshydrogénase
- ❖ GFTF : Groupe Français de transplantation fécale
- ❖ GroEL: *Heat Shock Protein 58 kDa*
- ❖ GTPases: Enzymes qui catalysent l'hydrolyse de la guanosine triphosphate

- ❖ HIV : Virus de l'immunodéficience humaine
- ❖ HPLC: *High performance liquid chromatography*
- ❖ HPV: *Human Papilloma Virus*
- ❖ HSV : *Herpes Simplex Virus*
- ❖ HTLV : Virus T-lymphotropique humain
- ❖ HVB : Virus de l'hépatite B
- ❖ HVC : Virus de l'hépatite C
- ❖ ICD: Infections à *Clostridium difficile*
- ❖ IEA: *Enzyme ImmunoAssay*
- ❖ IgA : Immunoglobuline A
- ❖ IgG: Immunoglobulin G
- ❖ IMC: Indice de masse corporelle
- ❖ IPP: Inhibiteur de la Pompe à Protons
- ❖ IV: Intraveineuse
- ❖ Kb: Kilobases
- ❖ MALDI-TOF : *Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time of Flight*
- ❖ MICI : Maladies inflammatoires chronique de l'intestin
- ❖ PAL : Phosphatase alcalines
- ❖ PCR : *Polymerase chain reaction*
- ❖ PEG: Polyéthylène glycol.
- ❖ pH : Potentiel Hydrogène
- ❖ PO : per os
- ❖ RMN : Résonance magnétique nucléaire
- ❖ SARS-COV-2: *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*
- ❖ SII : Syndrome de l'intestin irritable
- ❖ TCA : Temps de céphaline activée
- ❖ TMF: Transplantation de microbiote fecal
- ❖ TP : Le taux de prothrombine
- ❖ UFC : Unité Formant Colonie
- ❖ VO: voie orale

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Le microbiote du tractus digestif.	7
Figure 2: Coupe transversale d'intestin grêle avec plaque de Payer	20
Figure 3 : <i>Clostridium difficile</i> sous microscope optique (*1000).	23
Figure 4 : Spores de <i>Clostridium difficile</i> sous microscope optique.	23
Figure 5 : Les étapes de colonisation de <i>Clostridium difficile</i>	27
Figure 6 : Evolution de l'incidence des ICD en fonction de l'âge.	28
Figure 7 : Consistance des selles selon l'échelle de Bristol.	31
Figure 8: Aspect des colites pseudomembraneuses à l'endoscopie.	32
Figure 9 : Fréquence des infections récurrentes à <i>Clostridium difficile</i> après un premier épisode, une première et une deuxième récurrence.	33
Figure 10 : Algorithme de diagnostic.	37
Figure 11 : Schéma représentatif du traitement de la première récurrence.	42
Figure 12 : Les étapes de recrutement du donneur.	52
Figure 13 : Séquence thérapeutique de TMF dans les infections à <i>Clostridium difficile</i> récidivantes.	56
Figure 14 : Procédure de la transplantation de microbiote fécal.	58
Figure 15 : Le modes d'action de la TMF.	59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les différences entre le microbiote des nouveau-nés nés par voie basse et celui des nouveau-nés nés par césarienne	9
Tableau 2: Composition du microbiote du nouveau-né selon son alimentation	10
Tableau 3 : Caractéristiques des molécules utilisées dans le traitement des ICD.....	38
Tableau 4 : Schéma de la prise en charge des premiers épisodes d'ICD selon l'état de l'infection.....	40
Tableau 5 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur	48
Tableau 6 : Profil idéal du donneur	51

Introduction

Le microbiote intestinal, connus autrefois sous le nom de flore intestinale, est considéré comme un organe à part entière et joue un rôle crucial dans le maintien de notre santé. Regroupant près de 10^{14} microorganismes (Srikanth et Mc Cormick, 2008), ce dernier présente une composition unique à chaque individu à cause des différents facteurs qui l'influencent à savoir : l'alimentation, le mode d'accouchement, l'environnement, l'hygiène de vie, le stress, la prise d'ATB ... etc (Rothschild et *al.*, 2018 ; Dolié, 2018). L'altération de ce microbiote conduit le plus souvent à la survenue de plusieurs maladies, Parmi lesquelles on note les infections à *Clostridium difficile*.

Clostridium difficile est un bacille à Gram positif anaérobie sporulé qu'on retrouve dans le sol, l'eau ainsi que dans l'intestin de l'homme et de nombreuses espèces animales. C'est une bactérie qui est responsable de diarrhées nosocomiales bactériennes. Près de 15 à 25% des diarrhées post-antibiotiques et plus de 95% des cas de colites pseudomembraneuses (CPM) sont dues à ces souches toxigènes (Bloomfield et Riley, 2016 ; Barbut et Petit, 2001).

L'incidence et la gravité des infections à *Clostridium difficile* ont nettement augmenté ces dernières années. Un traitement d'un premier épisode par la vancomycine, le métronidazole ou la fidaxomicine est prescrit mais la réapparition de cette infection après l'arrêt de ce traitement ne peut être évitée dans certains cas. Ces récurrences d'infection à *C. difficile* sont dues soit à une persistance de spores soit à une réinfection. Des hospitalisations répétées vont constituer alors un problème économique et sanitaire majeur (McFarland, 2011).

Avec l'évolution de la recherche, il serait peut-être possible de résoudre ce problème par l'application d'une technique récente qui consiste à introduire une nouvelle flore au patient ayant un microbiote altéré sans avoir recours à l'utilisation d'antibiotiques.

Dans ce contexte, notre travail théorique a pour objectif principal de mettre en exergue une nouvelle thérapie peu connue « la transplantation de microbiote fécal », qui vise à traiter les infections à *Clostridium difficile* récurrentes et semble être une solution prometteuse pour soigner des maladies jusqu'à lors non traitées.

Chapitre 1 :

Le microbiote intestinal

1. Définition

Le microbiote intestinal, que l'on l'appelait auparavant flore intestinale, est le microbiote le plus important du corps humain, c'est un ensemble complexe de microorganismes, vivant à l'intérieur du tractus digestif et plus précisément au niveau de l'intestin. Cette communauté microbienne, non pathogène pour l'homme, recouvre la surface de la muqueuse intestinale. Elle est composée de levures, de champignons, de virus, d'archées, de parasites et surtout de bactéries présentant une densité pouvant atteindre jusqu'à 10^{14} cellules bactériennes, soit plus de dix fois le nombre de cellules humaine (Burcelin et *al.*, 2016). Le nombre de bactéries présentes est croissant depuis l'estomac jusqu'au niveau du côlon (gros intestin) où le microbiote est plus dense (Bourlioux, 2014).

Le corps humain est constitué de plusieurs microbiotes situés à différents niveaux buccal, cutané, pulmonaire ou encore vaginal, mais le microbiote intestinal constitue la principale et la plus diversifiée unité écologique parmi ces différents microbiotes. En effet, plus de 90% des bactéries de l'organisme y est retrouvée avec une variété de 800 à 1000 espèces différentes chez un adulte (Cassard et Thomas, 2019).

Il pèse près de 2 kilogrammes et le nombre de gènes microbiens peut atteindre jusqu'à 3,3 million de gènes, soit 150 fois le nombre de gènes présent dans le génome humain. Cette grande population microbienne vit en symbiose avec son hôte et se nourrit de substrats animaux et végétaux issus de notre alimentation, ainsi que de substrats endogènes propres à l'hôte comme les mucines (El Kaoutari et *al.*, 2014).

2. Composition du microbiote intestinal

La communauté bactérienne retrouvée dans le tractus intestinal est très importante en nombre et en diversité. La caractérisation traditionnelle, basée sur la réalisation des cultures ne peut prendre en compte qu'environ 20 % à 30 % au maximum des microorganismes pouvant être observés et énumérés au microscope (Doré et Corthier, 2010). Le reste des microorganismes n'est pas cultivable, vivant dans la plupart des cas en absence d'oxygène, dans un environnement dont les propriétés physicochimiques sont souvent difficiles à caractériser et à reproduire (Landman et Quévrain, 2016).

Les méthodes d'étude moléculaires, notamment celles basées sur l'ADN ribosomique 16S comme marqueur phylogénétique, l'hybridation *in situ* couplée à la cytométrie, la PCR (Polymerase Chain Reaction) quantitative, permettent aujourd'hui une analyse à haut débit de la composition du microbiote intestinal (Doré et Rigottier-Gois, 2004).

Le microbiote intestinal normal de l'adulte sain est divisé en microbiote dominant (où il y a un nombre plus important de bactéries anaérobies strictes), sous-dominant, et en microbiote de passage d'origine exogène.

2.1. Microbiote dominant

Il se trouve principalement au niveau du colon où le taux de colonisation de chacun des groupes bactériens qui le composent atteint 10^9 à 10^{11} UFC /g, il est composé essentiellement de bactéries anaérobies strictes, parmi lesquelles des bacilles à Gram négatif du genre *Bacteroides* en nombre important, des bacilles à Gram positif des genres *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, ainsi que des cocci à Gram positif comme des *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus* (Collignon et Butel, 2004).

Les bactéries dominantes de ce microbiote intestinal peuvent être réparties en trois grandes groupes dites groupes phylogénétiques ou phylums (Doré et Corthier, 2010) :

✚ Phylum des Firmicutes : Toujours fortement représenté, il comprend:

- Le groupe dit «*Eubacterium rectale-Clostridium coccoides*» le plus souvent représenté (14% à 31% des bactéries totales en moyenne). Ce groupe est composé d'espèces bactériennes appartenant aux genres *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*.
- Le groupe « *Clostridium leptum* », avec notamment les espèces *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*, groupe qui est aussi très souvent dominant (16 à 22 % en moyenne).

✚ Phylum des Bacteroidetes :

- Les genres les plus représentés sont *Bacteroides*, *Prevotella* et *Porphyromonas*.
- Ils sont toujours présents et représentent 9% à 42% des bactéries totales en moyenne.

- ✚ Phylum des Actinobacteria : Moins systématiquement détecté comme dominant, mais il représente un petit pourcentage de bactéries totales. On y trouve :
 - Le genre *Bifidobacterium* (0,7% à 10%) et les bactéries du groupe *Collinsella* *Atopobium* (0,3% à 3,7% en moyenne).

2.2. Microbiote sous-dominant

Ce microbiote est moins dominant. Il se localise au niveau du colon à des taux de 10^6 à 10^8 UFC/g et il est composé de bactéries aérobies-anaérobies facultatives. Ces bactéries appartiennent à différentes espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* (surtout *Escherichia coli*) et aux genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*.

La multiplication exagérée et non contrôlée des bactéries de ce microbiote, appelée pullulation bactérienne, peut être à l'origine d'effets pathogènes (Collignon et Butel, 2004).

2.3. Microbiote de passage

En faible concentration inférieurs à 10^4 - 10^6 UFC/g, il est variable et transitoire composé de tous ce qui peut être ingérés (bactéries, virus, levures). Il est représenté par des entérobactéries du genre *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* ou *Enterobacter* mais aussi par des *Pseudomonas*, des staphylocoques et des levures essentiellement du genre *Candida*.

Généralement le microbiote de passage ne s'implante pas dans le tube digestif, mais, en cas de rupture de l'équilibre biologique entre les germes et l'hôte, et tout particulièrement lorsque les défenses de l'organisme sont diminuées, ces bactéries sont susceptibles de devenir pathogène (Collignon et Butel, 2004).

3. Répartition du microbiote digestif

La répartition du microbiote digestif varie selon les segments du tube digestif avec un gradient croissant dans le sens oral-anal (figure 1). Elle dépend de la teneur du milieu en oxygène, du pH, des sécrétions du tube digestif haut, des nutriments disponibles et de la vitesse du transit (Bourlioux, 1998).

3.1. Au niveau de la cavité buccale

La cavité buccale fournit un environnement favorable à la croissance et au développement des bactéries (disponibilité de nutriments divers, abondance de l'eau, température et pH adéquats). Cependant, le flux continu de la salive constitue un facteur antagoniste, en chassant en permanence les bactéries vers l'estomac où elles sont détruites par l'acidité gastrique (Bousseboua, 2005).

Les premiers micro-organismes à coloniser la cavité buccale sont des aérobies et des anaérobies strictes, telles que les genres *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Lactobacillus* et également quelques levures (Prescott et al., 2003).

3.2. Au niveau de l'estomac

L'estomac est envahi en permanence par des bactéries apportées par la salive et le mucus dégluti ou par les aliments ingérées (Perry et al., 2004), en raison de l'acidité forte (jusqu'à pH 2), du liquide gastrique et de l'activité motrice importante, la plupart des microorganismes sont tués, de ce fait l'estomac héberge sélectivement les microorganismes acidotolérants comme les Lactobacilles et les Streptocoques (Rolland, 2017).

Dans certaines circonstances, l'estomac humain peut-être colonisé par *Helicobacter pylori* responsable d'ulcère gastrique (Perry et al., 2004).

3.3. Au niveau de l'intestin grêle

Après le passage de l'estomac à pH acide, le pH du milieu redevient neutre, l'oxygène se raréfie et le nombre de bactéries va augmenter progressivement du duodénum à l'iléon (Collignon et Butel, 2004).

- Le duodénum a un microbiote relativement pauvre en raison de l'influence combinée des sucs acides de l'estomac, de l'action inhibitrice de la bile et des sécrétions pancréatiques. Les coques et les bacilles Gram positifs constituent la majeure partie de ce microbiote (Prescott et al., 2003).
- Le microbiote du jéjunum est composé d'espèces anaérobies facultatives: des *Streptococcus*, accompagnés de quelques bactéries anaérobies strictes des genres *Bacteroides* et *Bifidobacterium* (Bousseboua, 2005).

- La nature du microbiote de l'iléum est très proche de celle du gros intestin avec une prédominance d'espèces du genre *Bacteroides* et un nombre plus restreint de bactéries anaérobies facultatives, comme *E.coli* dont le rôle est d'éliminer l'oxygène (Perry et al., 2004).

3.4. Au niveau du gros intestin (côlon)

Le côlon présente un milieu anaérobie très riche en eau et en nutriments, avec des conditions physico-chimiques stables: température de 37°C, pH neutre et tamponné, potentiel d'oxydo-réduction très bas. Ces conditions entraînent une bonne prolifération de bactéries et d'autres microorganismes spécifiques (Bousseboua, 2005).

Le microbiote colique est le plus abondant, représenté par 99% des bactéries de notre organisme. Il est composé de bactéries Gram négatives, dont diverses espèces des genres *Bacteroides* et *Fusobacterium*, des bactéries Gram positives des genres *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* et *Clostridium*, les espèces d'*Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella* et *Enterobacter* représentent moins de 1 % de ce microbiote (Perry et al., 2004), en plus d'un grand nombre de bactéries le côlon peut être contenir la levure *Candida albicans*. Certains protozoaires, comme *Trichomonas hominis*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana* et *Iodamoeba butschlii* sont des commensaux inoffensifs communs (Prescott et al., 2003).

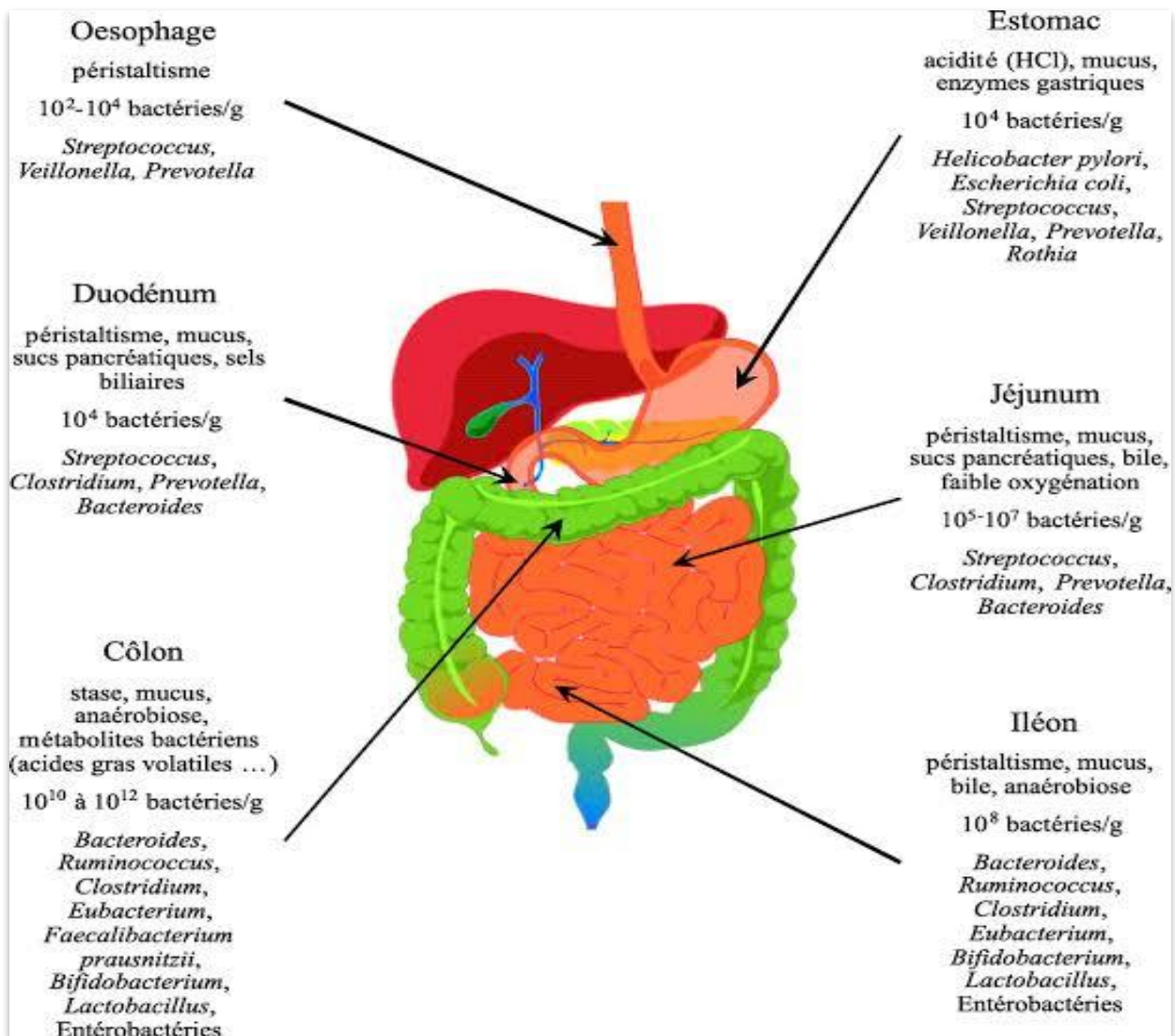


Figure 1: Le microbiote du tractus digestif (Coudeyras et Forestier, 2010).

4. Mise en place du microbiote intestinal

Durant la grossesse, le tube digestif du fœtus est totalement stérile, il est exempt de toute bactérie. L'établissement du microbiote intestinal débute dès la naissance, par la colonisation du tractus gastro-intestinal au contact des bactéries vaginales, fécales et cutanées de la mère et par les bactéries présentes dans l'environnement (Frayssinhes, 2017).

Dans les 24 à 48 heures après la naissance, les premières bactéries à coloniser le tractus digestif sont des aérobies-anaérobies facultatives: les entérobactéries telles qu'*Escherichia coli*, les entérocoques ou encore les staphylocoques. Elles consomment l'oxygène présent

dans la lumière intestinale de l'enfant, permettant la colonisation de bactéries anaérobies strictes (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*) ainsi que des lactobacilles et des microaérophiles (Campeotto et *al.*, 2007).

Par la suite, la composition du microbiote intestinal du nouveau-né continue à se développer progressivement par l'acquisition des nouvelles bactéries provenant de l'environnement, de la nourriture et des bactéries cutanées des adultes. Ce n'est que vers l'âge de 2 à 4 ans, que le microbiote intestinal se stabilise, se complexifie, et se rapproche de celui de l'adulte (Campeotto et *al.*, 2007).

5. Facteurs influençant la mise en place du microbiote intestinal

5.1. Facteurs génétiques

Les jumeaux monozygotes qui vivent dans le même environnement, présenteraient un microbiote similaire alors que les personnes les moins proches génétiquement (frères et sœurs), qui partagent le même environnement, présenteraient un microbiote différent (Coudeyras et Forestier, 2010).

5.2. Mode d'accouchement

Le microbiote des nouveau-nés nés par césarienne est différent de celui des nouveau-nés nés par voie basse (Tableau 1) (Rutayisire et *al.*, 2016).

Tableau 1: Les différences entre le microbiote des nouveau-nés nés par voie basse et celui des nouveau-nés, nés par césarienne (Rutayisire et *al.*, 2016).

Nouveau-nés nés par voie basse	Nouveau-nés nés par césarienne
<p>-Présentent un microbiote proche du microbiote fécal et vaginal de leurs mères</p> <p>-Présentent un pourcentage élevé en <i>Lactobacillus</i> et de <i>Prevotella</i>.</p>	<p>-Seront en contact avec les bactéries de l'environnement hospitalier et le microbiote cutané de leurs mères</p> <p>-Présentent un faible pourcentage en <i>Bifidobactéries</i> et <i>Bacteroides fragilis</i> et ils sont d'avantage colonisé par les <i>C.difficile</i></p>

Pour les enfants nés par césarienne, la flore anaérobie stricte s'implantera plus tardivement (jusqu'à 6 mois de retard pour les Bacteroides).

5.3. Alimentation

Le microbiote du nouveau-né nourrit avec du lait maternel est moins diversifié que celui du nouveau-né nourrit avec du lait infantile (artificiel) (Campeotto et *al.*, 2007).

Les nouveau-nés allaités ont un microbiote riche en Bifidobactéries et Lactobacilles et un faible pourcentage en *E.coli* et *C.difficile* (Penders et *al.*, 2006).

Les nouveau-nés nourris au lait artificiel possèdent un microbiote plus complexe, avec un taux plus réduit de Bifidobactéries et une abondance importante de *Bacteroides*, *Clostridium* et *Staphylococcus* (Tableau 2) (Cibik et *al.*, 2004).

Tableau 2: Composition du microbiote du nouveau-né selon son alimentation
(Lait maternel ou infantile) (Cibik et *al.*, 2004).

Lait maternel	Lait infantile
Bifidobactéries +++	Bifidobactéries ++
<i>Lactobacillus</i> +++	<i>Bacteroides</i> +
<i>Bacteroides</i> +	<i>Clostridium</i> +
	<i>Staphylocoques</i> +

+ : Présente

++: Présence minime

+++ : Présence importante

5.4. Terme de la grossesse

Il a été observé (Westerbeek et *al.*, 2006) que les nouveau-nés prématurés présentaient un microbiote moins diversifié et une implantation plus tardive des espèces anaérobies que chez les enfants nés à terme. Cela pourrait être lié au fait que la naissance des enfants prématurés se fait souvent par césarienne et nécessite leur hospitalisation avec prise d'ATB.

5.5. Environnement et hygiène

Les procédures strictes d'hygiène exercées par les pays industrialisés lors de l'accouchement pourraient être à l'origine d'une exposition réduite de l'enfant au microbiote vaginal et fécal de la mère, plus une implantation tardive des *Bacteroidetes* et *Bifidobacterium* (Campeotto et *al.*, 2007).

Les enfants nés dans un environnement ferme, avec présence d'animaux auront un microbiote enrichi et diversifié (Penders et *al.*, 2006).

5.6. Exposition aux antibiotiques

La prise d'ATB par la mère ou l'enfant pourrait influencer sur la composition du microbiote intestinal. En effet, l'implantation du microbiote du nouveau-né pourrait être influencée par l'administration d'une antibiothérapie (Campeotto et *al.* 2007) per- partum à la mère pour la prophylaxie de l'infection néo-natale à Streptocoque B. Suite à ce traitement, une augmentation des infections néonatales à germes résistants aux aminopénicillines et une modification de l'implantation du microbiote chez le nouveau-né pourront surgir. Ces

modifications du microbiote pourront être la cause d'une altération de l'effet barrière, ce qui favoriserait ainsi la colonisation par des microorganismes résistants et pathogènes.

Une diminution considérable des *Bifidobacterium* et de *Bacteroides fragilis* est observée chez l'enfant, suite à son exposition à un traitement d'ATB durant le premier mois de vie (Penders et *al.*, 2006).

La prise d'ATB est l'un des facteurs capable de provoquer un dysfonctionnement du microbiote intestinal en modifiant ou en diminuant la diversité de certaines populations microbiennes, surtout que leur effet peut persister longtemps après l'antibiothérapie.

6. Méthodes d'analyse du microbiote intestinal

Depuis la description pionnière de *Bacterium coli communior* (aujourd'hui *Escherichia coli*) par Escherich en 1885, les techniques d'analyse des micro-organismes ont beaucoup évolué. La culture *in vitro* s'est développée, offrant la possibilité de créer des milieux propices à la croissance de nombreux types de bactéries. Beaucoup d'entre elles restent néanmoins impossibles à cultiver (notamment les anaérobies strictes), et grâce à l'avènement de la biologie moléculaire et le développement du séquençage, la composition du microbiote intestinal a pu être étudiée plus en détail (Biard, 2016).

6.1. Méthode basée sur la culture microbienne

Pendant longtemps, la mise en culture pure au laboratoire est considérée comme l'unique moyen d'étudier la population microbienne. Où le microbiote intestinal est étudié par l'intermédiaire du microbiote fécal, on cultivant des selles sur différents milieux sélectifs et non sélectifs, dans des atmosphères variées, ainsi que l'identification des bactéries s'appuyant sur des caractères phénotypiques (observation macroscopique et microscopique avec un certain nombre de réactions biochimiques) (Chevalier, 2018).

Malgré ces limites, la culture microbienne a connu un essor considérable grâce à l'avènement et à la généralisation d'une méthode d'identification rapide et peu coûteuse par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (matrix assisted laser desorption ionisation/time of flight), c'est un nouveau concept d'étude des microbiotes humains appelé « culturomique microbienne ». Cette technique est fondée sur la multiplication des conditions de culture, en utilisant d'une part des conditions permettant de faciliter la croissance des espèces fastidieuses, et d'autre part d'utiliser des inhibiteurs de croissance des espèces majoritaires, ce

qui permet de sélectionner les espèces minoritaires afin de les identifier (Lagier et Raoult, 2016).

6.2. Méthodes moléculaires

6.2.1. Séquençage de la sous-unité 16S ribosomique

Pour déterminer la composition du microbiote intestinal, le séquençage du gène codant l'acide ribonucléique ribosomique 16S (ARNr 16S) est majoritairement utilisé. Cette molécule présente différentes caractéristiques intéressantes. En plus de sa petite taille (environ 1,5kb), elle est présente chez toutes les bactéries et comporte des séquences très conservées (communes à l'ensemble du domaine *Bacteria*), des séquences variables (communes à un groupe bactérien) et des séquences hypervariables (spécifiques d'une espèce) ce qui permet d'établir les relations phylogénétiques entre les différentes bactéries. Le séquençage consiste à extraire l'ADN des bactéries puis à amplifier l'*ADNr 16S* codant pour l'ARNr 16S et à le séquencer (Dolié, 2018).

6.2.2. PCR quantitative

La technique de polymérisation en chaîne ou PCR utilise des amorces spécifiques et des sondes marquées par fluorescence qui ciblent des groupes de bactéries pour l'amplification par PCR de l'*ADNr 16S* extrait de l'échantillon. Cela permet d'évaluer la quantité des bactéries recherchées par rapport au total et également de suivre la colonisation du tractus digestif d'une espèce voire d'une souche. Elle est utile pour étudier le genre bactérien ou même les espèces bactériennes (Rolland, 2017).

6.2.3. Métagénomique Shotgun

Appelée aussi métagénomique totale, elle étudie l'ensemble du génome des bactéries présentes dans l'échantillon de selles, sans étape d'amplification. Cette technique de séquençage d'ADN fournit ainsi un niveau d'information plus précis et permet, non pas de travailler au niveau du genre bactérien comme en 16S, mais d'avoir une cartographie du microbiote intestinal plus fine au niveau espèce voire même souche bactérienne (Cressard, 2020).

La métagénomique Shotgun offre également la possibilité d'extraire le contenu en gènes fonctionnels de chaque génome de micro-organismes séquencés et fournit des informations sur le potentiel fonctionnel du microbiote et donc des fonctions des gènes microbiens (Cressard, 2020).

6.2.4. Métatranscriptomique

La métatranscriptomique est l'analyse de l'ARNm ou de l'ADN transcrit de l'ensemble des microorganismes contenus dans un échantillon. Cela permet de déterminer l'activité microbienne en analysant l'expression des gènes (Frayssinhes, 2017). Cette méthode a ses propres limites. En effet, l'extraction de l'ARNm ou de l'ARN dans son ensemble n'est pas aussi facile qu'elle n'y paraît, étant donné que l'ARN est très sujet à la destruction et a une durée de vie très courte (kim et *al.*, 2013).

6.2.5. Métaprotéomique

La métaprotéomique consiste à identifier et quantifier les protéines d'échantillons biologiques complexes comme le microbiote intestinal humain. Elle étudie les fonctions réellement exprimées par l'ensemble des communautés microbiennes intestinales et donne une vue profonde des effets et des mécanismes de leur action. Cette méthode utilise une chromatographie liquide HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) couplée à un spectromètre de masse (Bassignani, 2019).

6.2.6. Métabolomique

La recherche métabolomique est appliquée à l'étude des métabolites produits par les microbes intestinaux (sucres, acides aminés, acides gras, vitamines etc.) et à la détermination de leurs voies biochimiques. Elle représente une approche sans précédent pour collecter les interactions métaboliques complexes entre l'hôte et ses partenaires microbiens commensaux, offrant ainsi la possibilité de définir les phénotypes d'un individu et d'une population. La métabolomique combine des outils analytiques comme la spectrométrie de masse et la résonance magnétique nucléaire (RMN), en plus des méthodes statistiques comme l'analyse en composante principale (ACP) (Vernocchi et *al.*, 2016).

7. Fonctions du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal effectue de nombreuses fonctions essentielles pour le maintien de la santé de l'hôte : des fonctions protectrices, immunologiques, métaboliques et neurologiques (Gérard et Bernalier-Donadille, 2007).

7.1. Fonction protectrice

7.1.1. Effets sur la physiologie digestive

En l'absence de microbiote intestinal, la physiologie du tube digestif n'atteint pas sa maturité et reste également atrophié (Gérard, 2011), cela est confirmé par des études réalisées chez des souris axéniques (élevés en milieu stériles exemptes de microbiote) ont démontré que ces animaux présentaient un épithélium intestinal immature et le réseau sanguin qui l'irrigue est moins dense que chez les souris normales (Gerard et Bernalier-Donadille, 2007).

Le microbiote intestinal assure également le maintien de l'intégrité et le développement de la structure intestinale. En effet, les produits de la fermentation microbienne constituent une énergie importante pour la croissance des cellules épithéliales. De plus, les lactobacilles et les bifidobactéries jouent un rôle important dans l'intégrité de la barrière intestinale, elles inhibent l'adhésion épithéliale des germes pathogènes comme *Escherichia coli* entéropathogène en stimulant la synthèse de mucine, renforçant la barrière protectrice du mucus (Orbie, 2015 ; Gerard et Bernalier-Donadille, 2007).

7.1.2. Protection contre les pathogènes

Les bactéries du microbiote intestinal peuvent exercer un fort antagonisme vis -à-vis des bactéries de l'environnement externe, assurant une protection contre les agents pathogènes. C'est « l'effet de barrière » (Zerhari, 2019). Elles empêchent également le développement excessif de bactéries pathogènes comme *Clostridia*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* *Pseudomonas*, et limitent la multiplication de levures saprophytes comme *Candida albicans* (Salminen et al., 1995).

Cette fonction protectrice est permise par deux mécanismes, d'une part il y a compétition pour les nutriments et d'autre part une compétition pour l'occupation des sites d'adhérence épithéliaux, cela signifie que les bactéries commensales, en étant plus nombreuses, vont consommer les acides organiques, les acides aminés et d'autres nutriments et occuper les emplacements disponibles ne laissant que peu de nourriture et de place pour les pathogènes (Srikanth et *al.*, 2008).

Le processus de fermentation des bactéries lactiques et la production d'acides gras à chaîne courte, diminuent le pH local et inhibe le développement des germes potentiellement pathogènes dans le tube digestif. En revanche, les bactéries commensales produisent également des substances antimicrobiennes (des bactériocines par exemple) qui détruisent les bactéries pathogènes (Chevalier, 2018). De plus, le microbiote peut réduire la concentration intestinale de toxines produites par des bactéries pathogènes. En effet, la prévention contre la colite pseudomembraneuse à *Clostridium difficile* a été observée chez des souris axéniques inoculées avec différentes souches d'*Escherichia coli* ou de *Bifidobacterium bifidum* (Corthier et *al.*, 1985).

7.2. Fonction immunologique

Le microbiote intestinal joue un rôle fondamental dans le développement et la maturation du système immunitaire et donc dans la mise en place de réponses protectrices cellulaires et humorales envers les virus, bactéries ou parasites entéropathogènes (Gerard et Bernalier-Donadille, 2007). Cette découverte vient de l'observation des différences entre souris axéniques et souris conventionnelles (élevées en animalerie classique). Dans ce type d'expérience, les souris axéniques présentent de nombreuses anomalies au niveau du système immunitaire intestinal, mais aussi au niveau de la rate et des ganglions lymphatiques qui ne sont pas structurés et présentent des zones lymphocytaires atrophiées. On retrouve des anomalies telles que l'hypoplasie des plaques de Payer, diminution des lymphocytes intra-épithéliaux, déficit en certaines populations lymphocytaires T, réduction de la sécrétion intestinale d'IgA, de la concentration d'immunoglobulines sériques et de la production de cytokines (Landman et Quévrain, 2016). L'ensemble de ces anomalies peut néanmoins être réparé en quelques semaines en inoculant un microbiote de souris conventionnelles à ces souris axéniques (Gérard, 2011).

L'homéostasie intestinale est sous la dépendance d'un équilibre entre les lymphocytes T effecteurs et les lymphocytes T régulateurs. Certaines bactéries vont stimuler l'une ou l'autre des populations lymphocytaires notamment par l'intermédiaire des acides gras à chaîne courtes qu'elles produisent (Landman et Quévrain, 2016).

7.3. Fonctions métabolique et nutritionnelle

Le microbiote intestinal intervient dans la fermentation et la dégradation des substrats alimentaires, ce qui va permettre aux bactéries qui le compose d'obtenir l'énergie nécessaire à leur croissance et de maintenir leurs fonctions cellulaires. Ce microbiote métabolise les glucides, les lipides, les protéines, les gaz et il intervient également dans la synthèse de certains facteurs vitaminiques (Bernalier-Donadille, 2004 ; Cachia, 2017).

7.3.1. Métabolisme des glucides

Selon les individus et leur régime alimentaire, le côlon reçoit environ 10 à 60 grammes par jour de glucides fermentescibles qui sont principalement des polysides issus des céréales et des fibres alimentaires. La dégradation anaérobie de ces substrats dans le côlon est un processus complexe impliquant la contribution de différents groupes microbiens aux activités métaboliques variées et complémentaires. Ces microorganismes vont interagir entre eux pour former une chaîne trophique assurant la transformation des macromolécules comme les polysides en métabolites fermentaires (acides gras à chaîne courte et gaz, principalement) (Gerard et Bernalier-Donadille, 2007).

Dans un premier temps, les polymères sont dégradés en fragments plus petits (oligosides, oses, etc.) faisant intervenir une grande variété d'hydrolases (polysaccharidase, glycosidases, etc.) produites par des bactéries fibrolytiques (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus* et *Roseburia*). Ces fragments de sucres vont par l'intermédiaire des bactéries glycolytiques, être utilisés dans la voie de la glycolyse et ainsi former du pyruvate. Par la suite, le pyruvate est transformé via différentes voies métaboliques en acides gras à chaînes courtes (AGCC), produits finaux de la fermentation. Il s'agit de l'acétate produit par la majorité des espèces prédominantes du côlon (*Bacteroides*, *Clostridium*), du propionate synthétisé principalement par les espèces du genre *Bacteroides* et également par *Propionibacterium* et *Veillonella* et enfin du butyrate produit par les espèces des genres *Eubacterium*, *Coprococcus*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* (Landman et Quévrain, 2016).

7.3.2. Métabolisme des lipides

Dans la lumière colique, les lipides proviennent de trois origines : les lipides arrivants du tractus intestinal en amont, les lipides provenant de la desquamation des colonocytes et les lipides bactériens. Ces acides gras non absorbés dans l'intestin grêle sont transformés dans le côlon par les bactéries du microbiote via des phénomènes d'hydrolyse, d'oxydation, réduction et d'hydroxylation (Dolié, 2018). Par ailleurs, le cholestérol colique est transformé par le microbiote en coprostanol, il n'est pas absorbé et donc éliminé dans les fèces. Cette efficacité est très variable d'un sujet à l'autre et le taux fécal de coprostanol pourrait être impliqué dans la réduction du risque cardiovasculaire et la cancérogénèse colique (Landman et Quévrain, 2016). D'autre part, les acides biliaires sont un produit de transformation du cholestérol par le foie. Ils sont également conjugués, et vont être réabsorbés dans l'iléon terminal puis retournent au foie via le système porte, avant d'être à nouveau sécrétés dans la bile (cycle entérohépatique des acides biliaires). Seuls 5% des acides biliaires secrétées dans la bile parviennent au colon et y sont métabolisés par les bactéries du genre *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, en acides biliaires secondaires selon des réactions de déconjugaison, d'oxydation et d'épimérisation (Landman et Quévrain, 2016).

7.3.3. Métabolisme des protéines

Les protéines qui atteignent le côlon sont soit d'origine exogène (issues de l'alimentation), soit d'origine endogène (enzymes pancréatiques, sécrétions biliaires, mucines, etc.). Le métabolisme des protéines est quantitativement moins important que celui des glucides mais il est fondamental car les protéines représentent la principale source azotée des bactéries coliques. Leur biodégradation nécessite la contribution de différentes espèces bactériennes dotées d'activités enzymatiques complémentaires (protéases, désaminases, décarboxylases etc.). Ces bactéries dites « protéolytiques », appartenant aux genres *Bacteroides*, *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*, sont capables par leur activité protéasique d'hydrolyser les protéines en petits peptides. Certaines espèces peuvent assimiler ces peptides et les transformer en acides aminés libres qui seront utilisés par d'autres incapables d'assimiler directement les peptides, comme les espèces de *Veillonella*, *Eubacterium*, *Clostridium* (Bernalier-Donadille, 2010).

La fermentation des acides aminés par des réactions d'oxydation et de réduction aboutit à la production d'acides gras à chaînes courtes (acétate, propionate, butyrate) comme la fermentation des glucides, mais aussi d'ammoniac et d'autres composés potentiellement toxiques pour l'hôte (phénols, indoles, amines, etc.) sont absorbés et détoxifiés par la muqueuse colique, puis excrétés dans les urines. L'ammoniac quant à elle est absorbée par la muqueuse colique et transportée par la veine porte jusqu'au foie, où elle est converti en urée, qui est excrétée dans l'urine (Bernalier-Donadille, 2010).

7.3.4. Métabolisme des gaz

Chaque jour, les processus fermentaires produisent des quantités importantes d'hydrogène dans le côlon (environ 300 mL/g de substrat fermenté), le microbiote impliqué dans la production de ce gaz reste encore mal connu. Les espèces produisant de l'hydrogène *in vitro* lors de la fermentation des oses ou des polysides appartiennent principalement aux genres *Clostridium*, *Ruminococcus* et *Eubacterium*. Une partie de l'hydrogène est éliminée par voie pulmonaire et par les gaz rectaux, mais la majorité est métabolisée par des bactéries du microbiote colique dites hydrogénotrophes. Ces dernières sont de 3 types, elles utilisent chacune une voie métabolique différente : les archées méthanogènes (présents dans le microbiote colique de 30 à 50 % des adultes) produisent du méthane, les bactéries acétogènes produisent de l'acétate et les bactéries sulfatoréductrices produisent des sulfures qui sont potentiellement délétères pour le colonocyte (Bernalier-Donadille, 2004).

7.3.5. Synthèse des facteurs vitaminiques

Parmi les fonctions métaboliques majeures du microbiote intestinal est la synthèse des vitamines, certaines bactéries anaérobies facultatives dont *Escherichia coli* et *Enterobacter aerogenes* sont capables de synthétiser *in vitro* un large éventail de vitamines (Zerhari, 2019) :

- ✓ vitamine K : qui intervient dans le processus de la coagulation sanguine et dans le métabolisme des os et d'autres tissus.
- ✓ cobalamine (B12) : vitamine hydrosoluble essentielle au fonctionnement normal du cerveau, du système nerveux et à la formation du sang.

- ✓ acide folique (B9) : vitamine hydrosoluble précurseur métabolique d'une coenzyme, le tétrahydrofolate, impliquée notamment dans la synthèse des bases nucléiques constituant les acides nucléiques (ADN et ARN) du matériel génétique. Cette coenzyme intervient également dans la synthèse d'acides aminés tels que la méthionine, l'histidine et la sérine.
- ✓ pyridoxine (B6) : vitamine hydrosoluble qui intervient dans le métabolisme des acides aminés et du glycogène ainsi que dans la synthèse de l'ADN, de l'hémoglobine et de nombreux messagers chimiques du cerveau.
- ✓ biotine (B8) : vitamine hydrosoluble et coenzyme qui participe au métabolisme des acides gras, des glucides et des acides aminés, ainsi qu'à la biosynthèse des vitamines B9 et B12.
- ✓ riboflavine (B2) : vitamine hydrosoluble qui joue un rôle important dans la transformation des aliments simples (glucides, lipides et protéines) en énergie. Elle intervient dans le métabolisme de réparation des muscles (Nemar, 2020).

7.4. Fonction neurologique

Plus récemment, des recherches sur l'axe intestin-cerveau dévoilent que le microbiote intestinal prendrait également part à la communication entre l'intestin et le cerveau. Une telle communication est bidirectionnelle et implique 4 grandes voies : neuronale, endocrinienne, immunitaire et métabolique (Skonieczna-Żydecka *et al.*, 2018).

Les bactéries intestinales dialoguent avec le cerveau en produisant des molécules chimiques appelées « neurotransmetteurs » : la noradrénaline, la sérotonine, la dopamine, GABA (gamma-aminobutyric acide) et l'acétylcholine. Ces métabolites microbiens n'agissent pas directement sur le cerveau, mais agissent sur les cellules de la paroi intestinale (cellules immunitaires, cellules endocriniennes...etc.), afin que celles-ci transmettent leur message au système nerveux central via les neurones du tube digestif connectés au cerveau (Dinan et Cryan, 2017).

Les acides gras à chaîne courte (AGCC), sont produits par les bactéries du côlon lors de la fermentation des fibres alimentaires. Elles jouent un rôle important dans la communication entre les deux organes en agissant directement sur le cerveau (Morais *et al.*, 2021). À l'aide de ces acides gras, les bactéries intestinales peuvent stimuler certains globules blancs, celles-ci produisent alors des messagers chimiques (les cytokines) qui peuvent traverser la paroi

intestinale, voyager dans le sang et traverser la barrière hémato-encéphalique (membrane protégeant le cerveau). Ils agissent ensuite sur le cerveau, en particulier sur des régions impliquées dans la régulation de la réponse au stress, l'anxiété, la dépression...etc. (Dinan et Cryan, 2017).

8. Relation hôte-microbiote intestinal

En interaction avec l'épithélium intestinal, le microbiote intestinal est un élément indispensable à la santé de tout être vivant.

Le microbiote intestinal réagit comme une barrière physique et chimique. D'autre part, la régulation de la population microbienne se fait en présence de plaques de Payer par la production de peptides antimicrobiens. Ces plaques sont des agrégats de 5 à 200 follicules lymphoïdes situés à l'intervalle réguliers dans la partie terminale de l'iléon. Composés en grande partie de lymphocytes B et de lymphocytes T, ils sont séparés de la lumière intestinale par des cellules épithéliales particulières, appelées cellules M (Figure 2) (Charlotte, 2017).

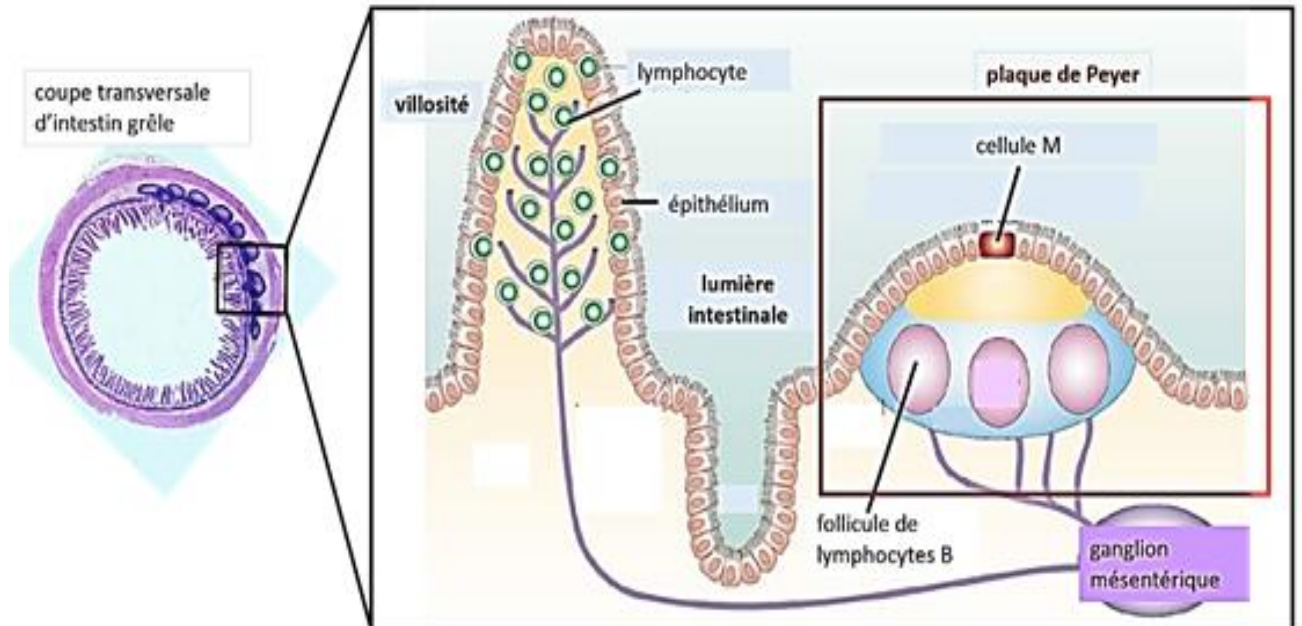


Figure 2: Coupe transversale d'intestin grêle avec plaque de Payer (Charlotte, 2017).

L'hôte procure une niche écologique riche en éléments nutritifs nécessaires pour la survie et la multiplication des bactéries, en retour, le microbiote synthétise des métabolites utilisés par les cellules intestinales et participe à de nombreux processus physiologiques chez l'hôte. C'est une symbiose, où ni le microbiote intestinal ni l'hôte ne peuvent survivre l'un sans l'autre (Charlotte, 2017).

9. Dysbiose intestinale

Elle est définie comme étant un déséquilibre du microbiote intestinal avec perte de sa diversité et modification de sa composition. Elle se traduit par une diminution de certaines bactéries et par une augmentation des autres microorganismes pathogènes. L'épithélium intestinal, sera donc hautement perméable. L'altération de la barrière intestinale (suite à une mauvaise alimentation, prise d'ATB, abus de boissons alcoolisées, déficit immunitaire, stress, infections bactériennes virales ou parasitaires... etc.) favorisera l'entrée des microorganismes, qui par translocation, peuvent devenir pathogènes (Charlotte, 2017). De ce fait, les dysbioses peuvent être à l'origine de plusieurs maladies graves, notamment les infections à *Clostridium difficile*.

Chapitre 2 :

Les infections à *Clostridium difficile*

1. Notions générales et physiologie

Clostridium difficile a été identifié pour la première fois en 1935 lors d'une étude menée par Hall et O'Toole sur la flore bactérienne intestinale de nouveau-nées (Hall, 1935). Pendant longtemps il a été considéré comme un commensal du microbiote intestinal chez l'homme adulte en bonne santé. *Clostridium difficile* a été nommé par rapport à sa difficulté d'isolement et de culture (Sabri, 2018). En 1978 Bartlett et *al* ont découvert son pouvoir pathogène lié à des colites pseudomembraneuses (CPM) (Bartlett et *al.*, 1978). Les souches toxigènes de cette bactérie sont depuis impliquées dans les diarrhées nosocomiales bactériennes, de 15 à 25% des diarrhées post-antibiotiques et dans la quasi totalité des cas de colites pseudomembraneuses (Barbut et Petit, 2001).

Les infections à *Clostridium difficile* se propagent sur une échelle qui débute d'une colonisation digestive asymptomatique aux diarrhées simple aqueuses sans colite jusqu'à des symptômes plus considérables et sévères comme les colites pseudomembraneuses (CPM) et les colites fulminantes. Cela est souvent accompagné de complications telles que le mégacôlon toxique, l'iléus paralytique, perforation intestinale, le choc septique voire même le décès du patient (Sabri, 2019).

Le taux des infections à *C. difficile* ne cesse d'augmenter depuis une vingtaine d'années. Ces infections sont de plus en plus sévères dans le monde et surtout dans les pays industrialisés, en raison de l'utilisation excessive des ATB et la propagation des clones hypervirulents.

Clostridium difficile est une bactérie de forme bacillaire à Gram positif (figure 3) anaérobie strict, sporulé. Les spores sont ovales, subterminales et déformantes (figure4). Sa taille varie de 0.5 à 2 µm de largeur sur 3 à 15 µm de longueur. Elle peut se regrouper en chaînettes de 2 à 6 cellules. Parfois mobiles grâce à une ciliature péritriche (Denchiche, 2014).

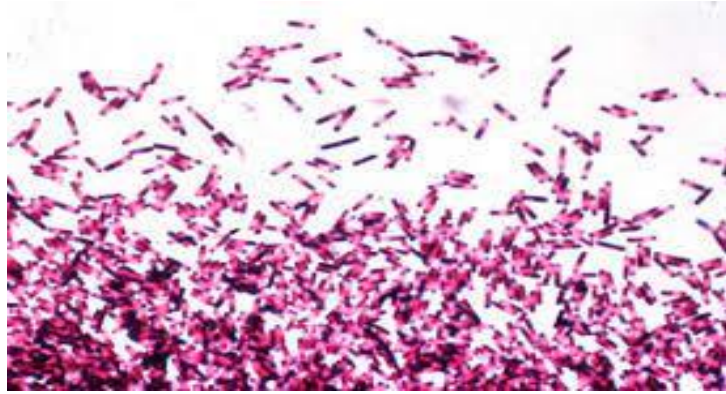


Figure 3 : *Clostridium difficile* sous microscope optique (*1000) (Buyse et *al.*, 2005).

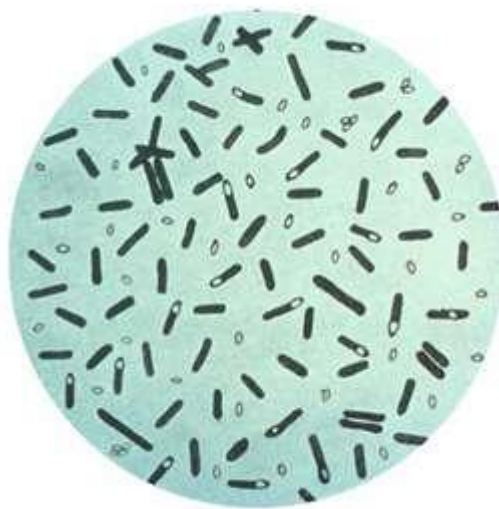


Figure 4 : Spores de *Clostridium difficile* sous microscope optique (C Diff Foundation, 2015).

Elle se cultive en anaérobiose sur milieu gélose cœur-cerveau additionné de sang de cheval à 5%, taurocholate 0.1%, cyclosérine 250 mg/l et de céfoxitine 10 mg/l (Denchiche, 2014). Les colonies ont une taille de 2 à 4 mm et peuvent atteindre jusqu'à 8 mm après 48 h, elles sont grises, opaques d'un aspect en verre brisé, mates avec une odeur caractéristique de crottin de cheval, fluorescentes à ultra-violet et leur contour est irrégulier (Detail, 2018).

Dans la taxinomie *Clostridium difficile* appartient au phylum des Firmicutes, classe Clostridia et famille des Clostridiaceae (Sandhu et *al.*, 2018). Il présente deux types de souche, une qualifiée de toxigène qui produit les toxines A et B (une entérotoxine et une cytotoxine) respectivement et une souche non pathogène.

Le portage de cette bactérie peut être symptomatique, mais aussi asymptomatique ce qui est le cas d'environ 3% de la population adulte (Eckert, 2014).

Les cellules et les spores de *Clostridium difficile* se trouvent dans les selles car de nature c'est une bactérie de la flore intestinale. Son mode de transmission se fait soit par la voie oro-fécale, soit par manu portage ou bien à partir de l'environnement.

Les cellules végétatives ne peuvent pas résister au contact de l'air ni à l'acidité gastrique, c'est pour ces causes là que la bactérie se protège en sporulant. Les spores sont le facteur principale de la contamination car elles ont la capacité de persister pendant des mois (Sabri, 2019 ; Denchiche, 2014).

2. Épidémiologie des infections à *Clostridium difficile*

Ces dernières années, l'incidence des infections à *Clostridium difficile* ne cesse de progresser allant de 1 à 10 cas pour 10000 patients par jour. Cette progression est affectée par la dissémination mondiale de la souche dénommée hyper virulente (027/NAP1/BI) qui pilote l'augmentation de la sévérité des infections à *Clostridium difficile* et de la mortalité (Detail, 2018).

De nombreuses études épidémiologiques (Barbut et al., 2012) ont été effectuées afin de comprendre et de savoir bien gérer cet enjeu de santé publique majeur. En Amérique du Nord, l'incidence des infections à *Clostridium difficile* a augmenté 2 à 3 fois chez les personnes âgées de plus de 65 ans entre 1996 et 2003, la sévérité des formes compliquées a passé de 7,1% à 18,2% entre 1991-1992 et 2003, le taux de récurrences de 28,9 % à 58,4 % et la réponse au traitement par le métronidazole avait nettement baissé. Le pourcentage des patients décédés à 30 jours suivant le diagnostic est entre 5% à 13% menant ainsi le taux de mortalité à 47 %.

L'émergence et la diffusion du clone hyper virulent 027 a été constatée pour la première fois en Amérique du Nord puis diffusée et étalée sur l'Europe où il a été responsable de plusieurs épidémiologies comme celle de la Grande-Bretagne, Belgique et la Hollande en 2005 (Sabri, 2019).

L'étude européenne réalisée en 2009 sur plus de 100 établissements de santé dans 34 pays a montré que l'augmentation du taux d'infections à *Clostridium difficile* est de 4.1 cas pour 10 000 personnes par jour, cette étude a dévoilé une grande disparité au sein du même établissement et d'un établissement à l'autre et aussi entre les différents pays (Bauer *et al.*, 2009).

Une autre étude européenne épidémiologique sur plus de 37 hôpitaux dans 14 pays différents a indiqué un taux d'infection entre 0,6 à 18,5 cas sur 10000 patients par années (Freeman *et al.*, 2010).

L'agence de protection de la santé (HPA) localisée en Grande-Bretagne, a mentionné qu'en Europe le taux moyen des infections à *Clostridium difficile* en 2012 est de 7,9/10000 patients par jour (Chikhouné, 2019).

L'étude nationale ICD-RAISIN (réseau d'alerte, investigation et de surveillance des infection nosocomiales), en France, a estimé que l'incidence des ICD est de 2.28 cas pour 10000 patients- jours pour les hôpitaux a court séjour et elle est de 1.14 cas dans les hôpitaux à moyen ou long séjour (Eckert *et al.*, 2013). Le réseau européen EUCLID (Davies *et al.*, 2014) montrait une augmentation de 157% pour la France.

Dans le Nord Pas-de Calais (Kuijper *et al.*, 2006), une épidémie s'est émergée entre 2006 et 2007 à cause du clone 027, ce clone est caractérisé par son implantation durable et sa dissémination rapide. Il représente 18% des souche en Europe (Bouza *et al.*, 2017).

Clostridium difficile est un agent pathogène qui émerge non seulement dans le milieu nosocomiale mais également dans le milieu communautaire, ce germe se diffuse particulièrement vers les maisons de retraite et les population qui ne présentent pas de facteurs de risques habituels (Chitnis *et al.*, 2013). Le clone 078 est le premier impliqué dans ce genre d'infections et il provient apparemment des réservoirs environnementaux (Goorhuis, 2008).

3. Mécanisme d'action et effet physiopathologique

La manifestation des infections à *Clostridium difficile* est influencée principalement par la colonisation du tube digestif par des spores. Cette colonisation est favorisée par la dysbiose du microbiote intestinale qui perd de sa diversité bactérienne. La perte de cette diversité est causée par une alimentation mal saine, une antibiothérapie ou bien une chimiothérapie anticancéreuse. Ce qui engendre la rupture de la barrière protectrice et la diminution de résistance contre la colonisation de *Clostridium difficile* toxinogène (Eckert et Barbut, 2010).

La physiopathologie des ICD consiste en premier lieu en l'altération du microbiote intestinal (dysbiose) et l'ingestion des spores de *C. difficile*. Ces spores ont la capacité de résister à l'acidité gastrique pour qu'ils puissent par la suite germer et libérer des cellules végétatives sous l'action des selles biliaires.

La seconde étape repose sur l'adhésion et la colonisation digestive. Ce type d'implantation de la souche toxinogène de *C. difficile* est dû par l'intermédiaire des différents facteurs de colonisation qui sont responsables de l'adhésion aux cellules intestinales de l'hôte. Parmi ces facteurs on trouve principalement les adhésines telles les protéines de la couche S, la protéine de liaison à la fibronectine Fbp68, la protéine Cwp66, la protéine de choc thermique GroEL et les protéines flagellaires FliC et FliD (Borriello, 1998).

Par la suite, la souche toxinogène de *C. difficile* va produire dans la lumière intestinale les toxines A (TcdA) et B (TcdB) (Kuehne et al., 2011) qui possèdent des activités entérotoxique et cytotoxique respectivement (Voth et Ballard, 2005). Ces deux toxines (des glucosyltransférases qui inactivent les GTPases Rho, Rac et Cdc42 des cellules épithéliales) détruisent les jonctions serrées des entérocytes par dépolymérisation des filaments d'actine du cytosquelette et induisent une réaction inflammatoire intense conduisant à une nécrose de ces entérocytes et à des diarrhées aqueuses.

Ces différentes étapes sont représentées dans le schéma ci-dessous (Figure5) :

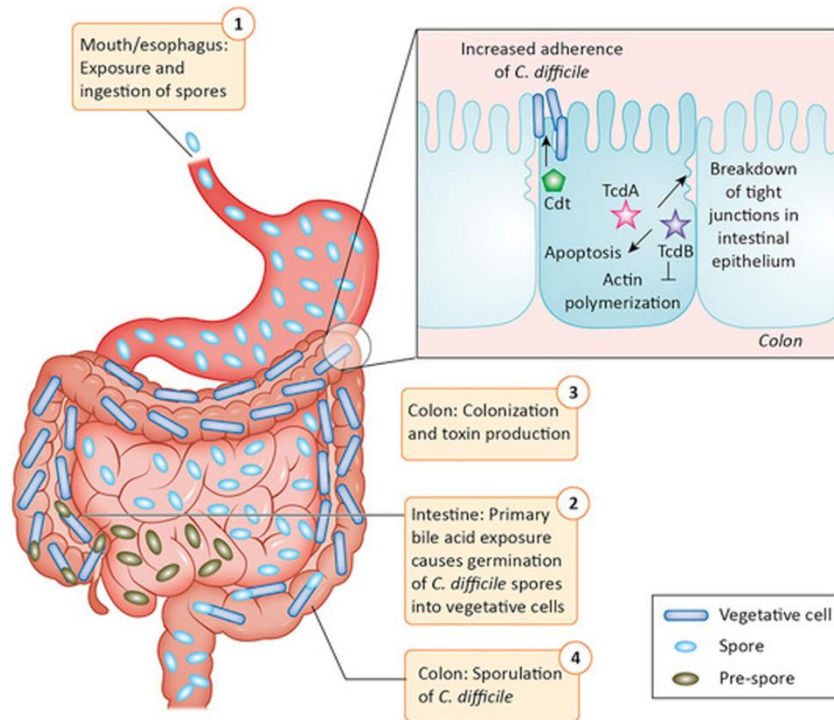


Figure 5 : Les étapes de colonisation de *Clostridium difficile* (Sandhu et al., 2018).

4. Facteurs de risques

Pour mettre en place des mesures de prévention adaptées, il faut déterminer les facteurs de risques des infections à *Clostridium difficile*.

4.1. Antibiothérapie

En générale, la prise récente d'antibiotiques (< 2mois) (Detail, 2018) engendre en premier lieu la rupture de la flore intestinale et se présente comme étant le facteur majeur des survenue des infections à *Clostridium difficile*. On parle généralement d'antibiotiques qui agissent sur la flore anaérobie de la barrière intestinale tels que la clindamycine, l'amoxicilline, l'acide clavulanique, les céphalosporines et les fluoroquinolones de deuxième génération comme la moxifloxacine ou la lévofloxacine (sabri, 2019). Cette action va diminuer la résistance à la colonisation par *C. difficile*.

Le risque de provoquer une infection à *C. difficile* augmente avec l'association des antibiotiques (Bignardi, 1998) et l'élongation de la durée de l'antibiothérapie. Il a été montré que la prise d'antibiotiques de plus de 3 jours est souvent accompagnée par des colites liées à *C. difficile* plus importante par rapport à l'antibiothérapie d'une durée de moins de 3 jours (Wiström, 2001).

4.2. Age

L'âge extrême (moins de 6 ans et plus de 65ans) (Détail, 2018) est parmi les plus grandes raisons de risque à développé une ICD. Les personnes âgées de plus de 65 ans présentent un risque d'infection à *C. difficile* plus important dont le taux est 20 fois plus élevé que les jeunes (Figure 6) (Chikhoun, 2019).

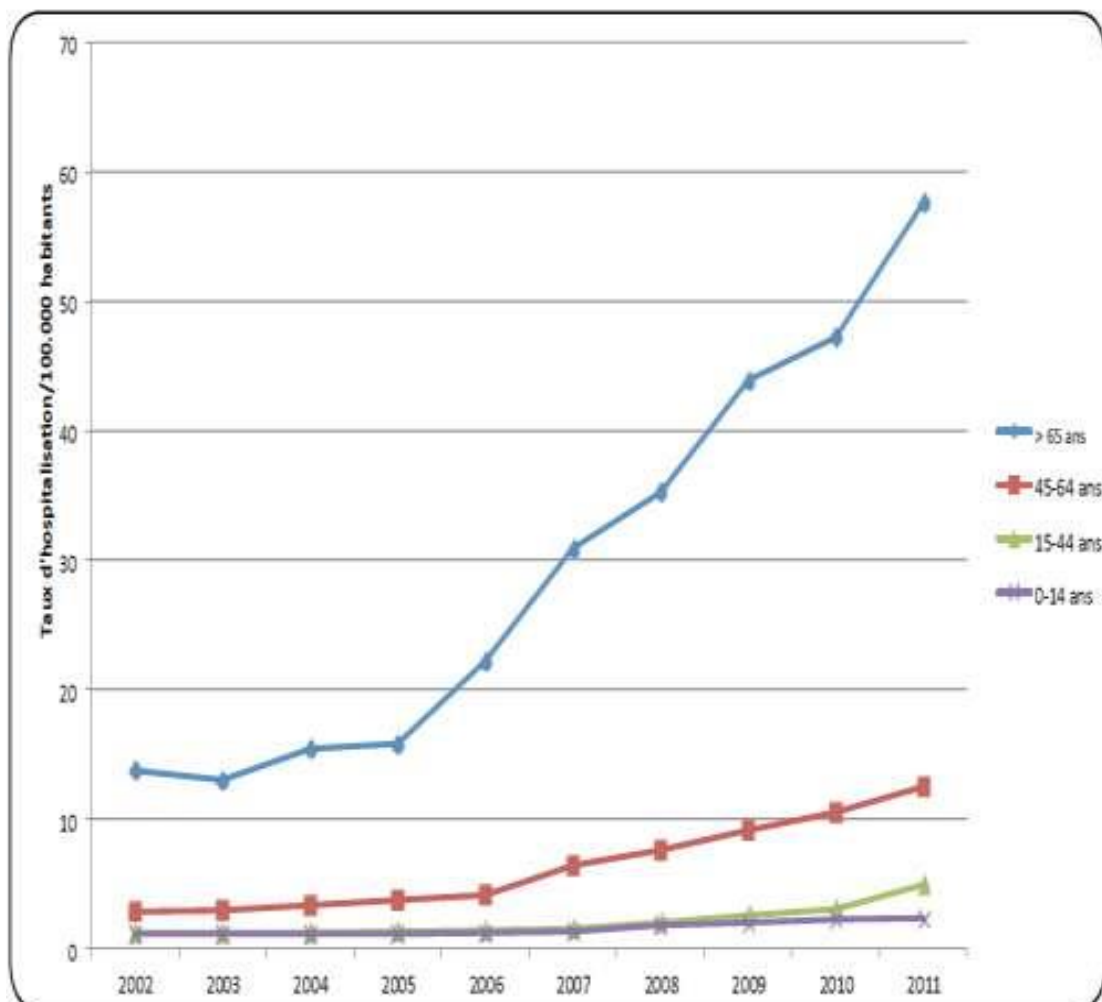


Figure 6 : Évolution de l'incidence des ICD en fonction de l'âge (Denchiche, 2014).

L'apparition des ICD chez les personnes âgées peut être influencée par plusieurs variants, notamment les pathologies sous-jacentes (insuffisance rénale, maladie chronique inflammatoire de l'intestin).

Le profil immunitaire joue un rôle primordial dans le développement des ICD, où l'inefficacité des réponses immunitaire contre les toxines de *Clostridium difficile* est due au taux bas des IgG sériques anti toxine A (Kyne et *al.*, 2000), ce qui indique aussi que les sujets immunodépressifs sont majoritairement les cas les plus impliqués dans les ICD.

4.3. Hospitalisation

Clostridium difficile est un germe nosocomial, sa propagation se fait par le biais du personnel soignant (manu portage), ou par le matériel médical (environnement). Cela a été confirmé par l'étude de Mc Farland qui a trouvé que 49% des prélèvements environnementaux d'une chambre de patients atteint d'une ICD sont positives à *C. difficile* par rapport à 29% dans les chambre des patients à portage asymptomatique. Cette étude a démontré aussi la contamination des mains chez 59% du personnel soignant après leurs contact avec des patients infectés (McFarland et *al.*, 1989).

La durée du séjour hospitalier et les interventions chirurgicales gastro-intestinales favorisent aussi le développement des ICD (Denchiche, 2014).

4.4. Inhibiteurs de pompe à protons (IPP)

L'augmentation du pH gastrique par les différents inhibiteurs de pompe à protons altère le microbiote intestinal et facilite la colonisation du tube digestif par *C.difficile* (McDonald et *al.*, 2018). D'autres classes de médicament telles que les laxatifs et les ralentisseurs de transit, qui ont une action sur la mobilité intestinale, peuvent également entraîner une dysbiose intestinale (Dial, 2005).

Les chimiothérapies anticancéreuses (methotrexate, doxorubicine, cyclophosphamide ou le 5-fluorouracile) altèrent également la flore intestinale et entraînent par la suite des ICD (Blot et *al.*, 2003).

5. Manifestation clinique

5.1. Portage asymptomatique

Le portage asymptomatique est estimé par 3% de la population saine en milieu communautaire (Hurley et Nguyen, 2002), généralement les souches de *Clostridium difficile* isolées sont des souches non toxigènes.

Clostridium difficile est trouvé notamment dans la matière fécale des nouveau-nées à une fréquence de 70% et à l'âge de 2 ans. Cette fréquence se réduit pour atteindre le taux observé chez l'adulte (Carroll et Bartlett, 2011).

Les toxines de *C. difficile* sont mises en évidence dans les selles des patients adultes asymptomatiques. Le taux des souches toxigènes ou non toxigène, touche jusqu'à 50% des patients hospitalisés de plus de quatre semaines et augmente de plus en plus que la durée d'hospitalisation se prolonge (Barbut et al., 2012).

5.2. Forme simple : diarrhée post-antibiotique

La diarrhée post-antibiotique survient 3 à 7 jours après le début du traitement par antibiotiques (Barbut et al., 2013). Elle peut persister pendant des semaines dans les cas exagérés. C'est une diarrhée modérée nauséabonde (3 selles non formées par jour), se caractérise par l'absence du sang visible et de glaire et correspond au stade 5 à 7 du classement de Bristol (Figure 7).

La diarrhée est souvent associée à une fièvre modérée sans qu'il n'y ait d'altération de l'état générale.

A l'endoscopie (examen non nécessaire dans ce cas) (Denchiche, 2014), la muqueuse présente un aspect normal ou érosif et sans ulcérations.

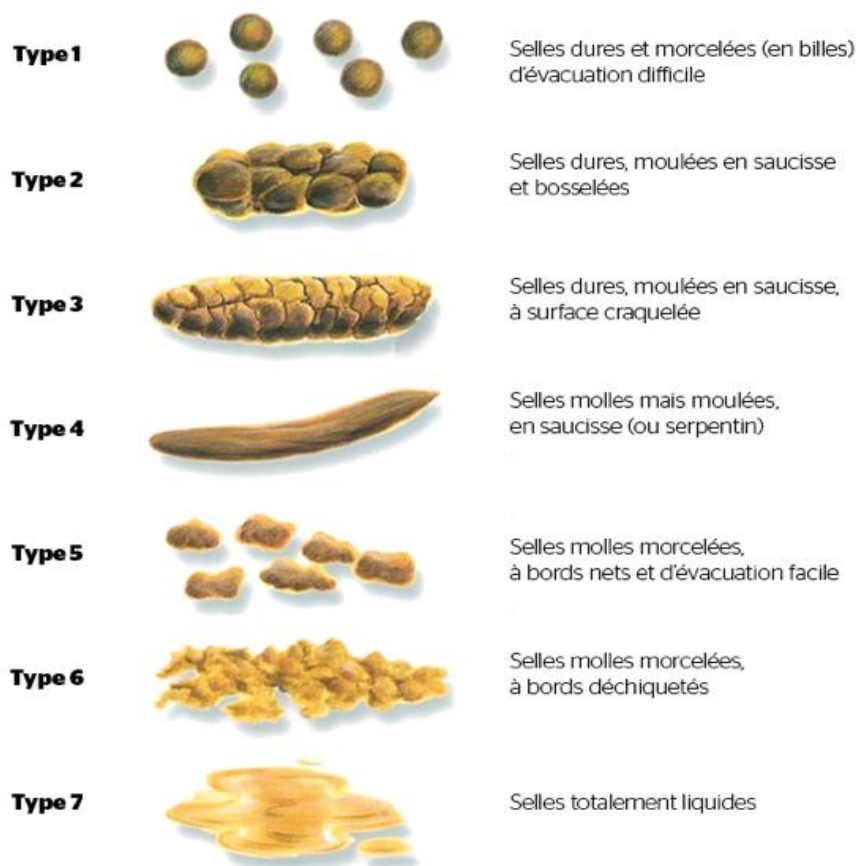


Figure 7 : Consistance des selles selon l'échelle de Bristol (Détail, 2018).

5.3. Colites pseudomembraneuse CPM

Clostridium difficile est responsable de 95% des colites pseudomembraneuses qui débutent par une diarrhée liquide hétérogène non sanglante abondante (plus de 7 selles par jour) et qui durent plus de 7 jours, accompagnée d'une hyperthermie considérée par un taux de 65%, perte d'appétit, nausées et douleurs abdominales à 70% (Détail, 2018).

Les bilans cliniques montrent l'hyperleucocytose à 40%, le syndrome biologique inflammatoire avec une élévation de la protéine C réactive (CRP) et la déshydratation extracellulaire qui est due à la perte hydrique (Sabri, 2019).

A l'endoscopie, la muqueuse est recouverte de plaques surélevées jaunâtres éparses ou confluentes (Figure 8) appelées plaques pseudomembraneuses, ces plaques sont constituées de débris cellulaires, de mucus, de fibrines et de leucocytes (Denchiche, 2014).

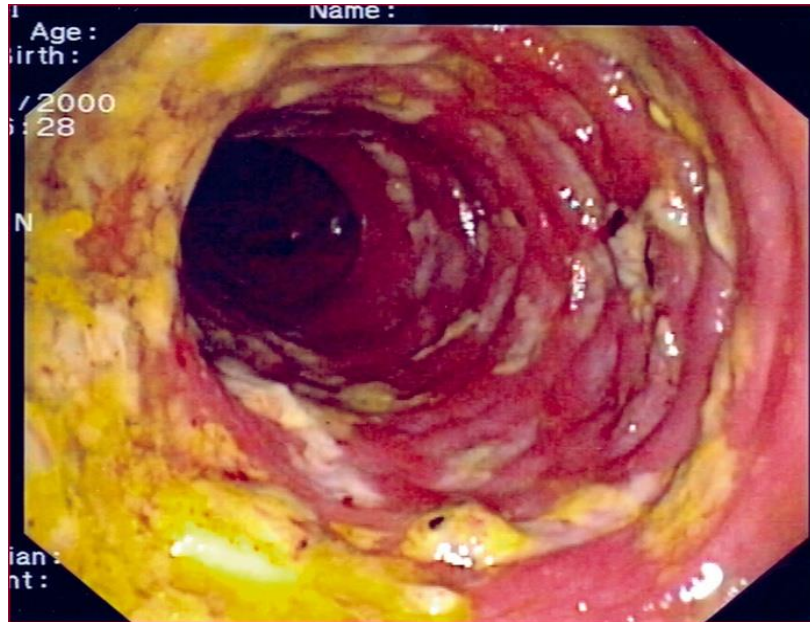


Figure 8: Aspect des colites pseudomembraneuses à l'endoscopie (Détail, 2018).

5.4. Formes compliquées

La complication des colites pseudomembraneuses (CPM) conduit à une colite fulminante qui survient chez 4-10% des patients (Olivas, 2010) et aggrave l'état général en induisant une diarrhée profuse, un abdomen tendu et douloureux et une déshydratation qui peut se développer en choc hypovolémique et une fréquente hyperleucocytose supérieure à 20.000/mm³ (Sabri, 2019).

On parle du mégacôlon toxique lorsque le diamètre du côlon transverse dépasse 6 cm entraînant une perforation colique mais également un choc septique (Kyne, 1999).

5.5. Récidives

Les rechutes d'infections à *C. difficile* sont de plus en plus élevées. Elles surviennent dans 20% des cas dans les huit semaines qui suivent l'épisode initial traité (Detail, 2018).

Les patients qui présentent une première récurrence sont plus menacés de développer des récurrences multiples. La probabilité de présenter une récurrence passe à 45 % après un deuxième épisode et 65 % après trois épisodes (figure 9) (Kelly et al., 2012).

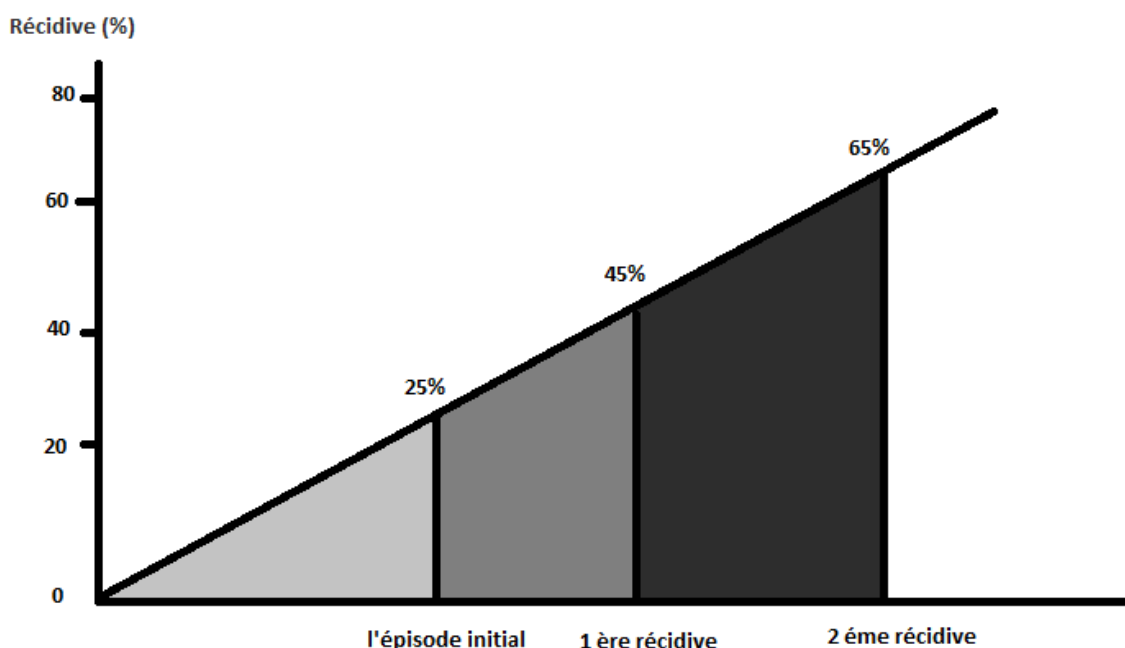


Figure 9 : Fréquence des infections récurrentes à *Clostridium difficile* après un premier épisode, une première et une deuxième récurrence (Kelly et al., 2012).

Les récurrences sont liées principalement à deux causes : la persistance des spores dans le tube digestive malgré un traitement efficace de la souche initiale ou bien une réinfection et l'acquisition tardive d'une autre souche.

Les facteurs de risques de récurrences sont semblables aux facteurs de risque de l'infection. On cite : l'âge plus de 65, l'antibiothérapie concomitante, l'hospitalisation, les maladies sous-jacentes et la faible réponse immunitaire après un premier épisode (Detail, 2018).

6. Diagnostic

Le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* repose en premier lieu sur le diagnostic microbiologique qui comporte la mise en évidence des souches toxigènes dans les selles, ou bien la détection des toxine A et B et leurs gène (Crobach et al., 2009). En deuxième lieu le diagnostic clinique peut aussi décrire l'état d'avancement de l'infection, ces deux approches sont associées afin de dévoiler un diagnostic optimal (Sabri, 2019).

6.1. Prélèvement et choix de l'échantillon

- Le prélèvement se fait pour tout patient présentant plus de 3 selles diarrhéiques par 24h des stades 5 à 7 de la classification de Bristol (Detail, 2018).
- selon la Infectious Diseases Society of America (IDSA) et la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA), il n'est pas nécessaire de réaliser une recherche de *C.difficile* pour les nouveau-née avec diarrhée car ils sont considérés comme porteur sains (Crobach et al., 2016).
- Les prélèvements doivent se faire avant de procéder à un traitement antibiotique (Detail, 2018).
- Il faut réaliser les tests dans les deux heures qui suivent le prélèvement ou bien les conserver a une température de +4 C° (Crobach et al., 2016).

6.2. Diagnostic microbiologique

Le diagnostic bactériologique de l'infection à *C. difficile* consiste à isoler et la cultiver la souche de *C. difficile* à partir d'un échantillon de selles, ainsi que la détection des toxines (Buyse et al., 2005).

6.2.1. Culture toxigénique

C'est une méthode de référence sensible qui permet la différenciation des souches toxigènes et de réaliser un antibiogramme. Cependant, c'est une méthode peu spécifique et lente (minimum 48 heures) avant d'obtenir un résultat (Eckert et al., 2011).

Elle se passe en deux étapes : d'abord isoler *C. difficile* sur des milieux sélectifs, puis le pouvoir toxigène est déterminé par un test de cytotoxicité, par un test immuno-enzymatique, ou bien par PCR (Detail, 2018).

L'isolement de *C. difficile* se fait sur le milieu gélose cœur cervelle additionné d'antibiotiques (cyclosérine et céfoxitine). La sensibilité de la culture est de l'ordre de 2000 bactéries/g de selles. Pour favoriser la germination des spores il est additionné au milieux du taurocholate ou du lysozyme, ou bien il existe une autre approche qui consiste à mettre les selles sous un choc thermique ou à un choc alcoolique ce qui va privilégier la sélection des

spores et ensuite en passe à la culture dans un milieu avec des facteurs de germination (Eckert *et al.*, 2011).

Après l'identification de *C.difficile* (examen macroscopique et microscopique, caractères biochimiques et autres), vient la deuxième étape qui consiste à déterminer le pouvoir toxigène, cette étape peut se réaliser par différentes méthodes : PCR directement à partir des colonies, test de cytotoxicité, test immuno-enzymatique. Il est à souligné que dans tous les cas il faut prendre plusieurs colonies (en général cinq) (Chikhouné, 2019).

6.2.2. Détection du glutamate déshydrogénase (GDH)

La glutamate déshydrogénase est une enzyme produite par toutes les souches de *C.difficile*, elle est détectée soit par un test immuno-enzymatique ou immunochromatographique (Sabri, 2019).

La détection de la GDH un test de dépistage rapide permettant de révéler la présence de *C.difficile* dans les selles et dont la sensibilité est très élevée. Sa valeur prédictive négative est supérieure à 90% ce qui aide à éviter les diagnostics aux infections à *C. difficile* (Detail, 2018).

6.2.3. Test de cytotoxicité des selles

C'est une méthode référence simple à réaliser et à interpréter qui permet de percevoir l'effet cytopathologique des toxines de *Clostridium difficile* (Sabri, 2019). Elle consiste à mettre un filtrat de selles sur une culture cellulaire (sensible aux toxines), dans une atmosphère riche en CO₂ et une température de 37 °C, l'apparition de l'effet cytopathologique se caractérise par une ballonnisation cellulaire et une dépolymérisation des filaments d'actine du cytosquelette (Chikhouné, 2019). C'est une technique avec une bonne sensibilité car elle peut détecter des taux faibles (jusqu'à 10 ng) de toxine B qui est 1000 fois plus cytotoxique que la toxine A (Sabri, 2019), elle est aussi de bonne spécificité qui se confirme selon un test de neutralisation par un antisérum (Denchiche, 2014). Cependant la technique présente certains inconvénients (Detail, 2018):

- Méthode est considérée comme longue (24h 48h),
- Nécessite une infrastructure lourde et adaptée à la culture cellulaire
- Présente un défaut de standardisation

6.2.4. Test immuno-enzymatique IEA

Ce test permet de détecter la toxine A seule ou les toxines A et B parallèlement et par cela, la mise en évidence des souche A⁻ /B⁺ dont une partie du gène de la toxine A est manquante et les tests IEA basés sur la détection de la toxine A seule ne détectent pas ces souches car ils utilisent des anticorps reconnaissant un motif codé par cette région manquante (Eckret *et al.*, 2011).

Ce test se présente en plusieurs type: tests unitaires immuno-chromatographiques ou tests en plaque de 96 puits (Eckret *et al.*, 2011), et le plus souvent c'est un test de type ELISA facile à réaliser et rapide (20 min), très spécifique (supérieur à 95%) mais moins sensible que le test de cytotoxicité de ce fait, il doit être associé à d'autres diagnostics (Detail , 2018 ; Sabri, 2019).

6.2.5. Les méthodes de biologie moléculaire

Principalement le test de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel, permet de repérer a partir des selles les gènes *tcdA*, *tcdB* qui correspondent respectivement aux toxines A et B. Le test PCR est un test qui se déroule en 2 étapes majeures, une dénaturation de selles à 97°C suivie par une étape d'amplification d'ADN de *C. difficile* (Chikhoun, 2019). C'est une technique rapide et sensible mais coûteuse (Eckret *et al.*, 2011).

6.3. Stratégie de diagnostic

Pour obtenir un diagnostic optimal il est préférable de respecter ces conditions de : sensibilité, spécificité, rapidité et moindre coût. La stratégie de diagnostic est différent d'un pays à l'autre, généralement le diagnostic débute par un test de GDH vu sa valeur prédictive négative qui permet par la suit soit de confirmé le test par une méthode référence telle que le test de cytotoxicité ou bien la culture toxigénique, soit d'exclure le diagnostique si le test GDH est négatif (Figure 10) (Detail, 2018).

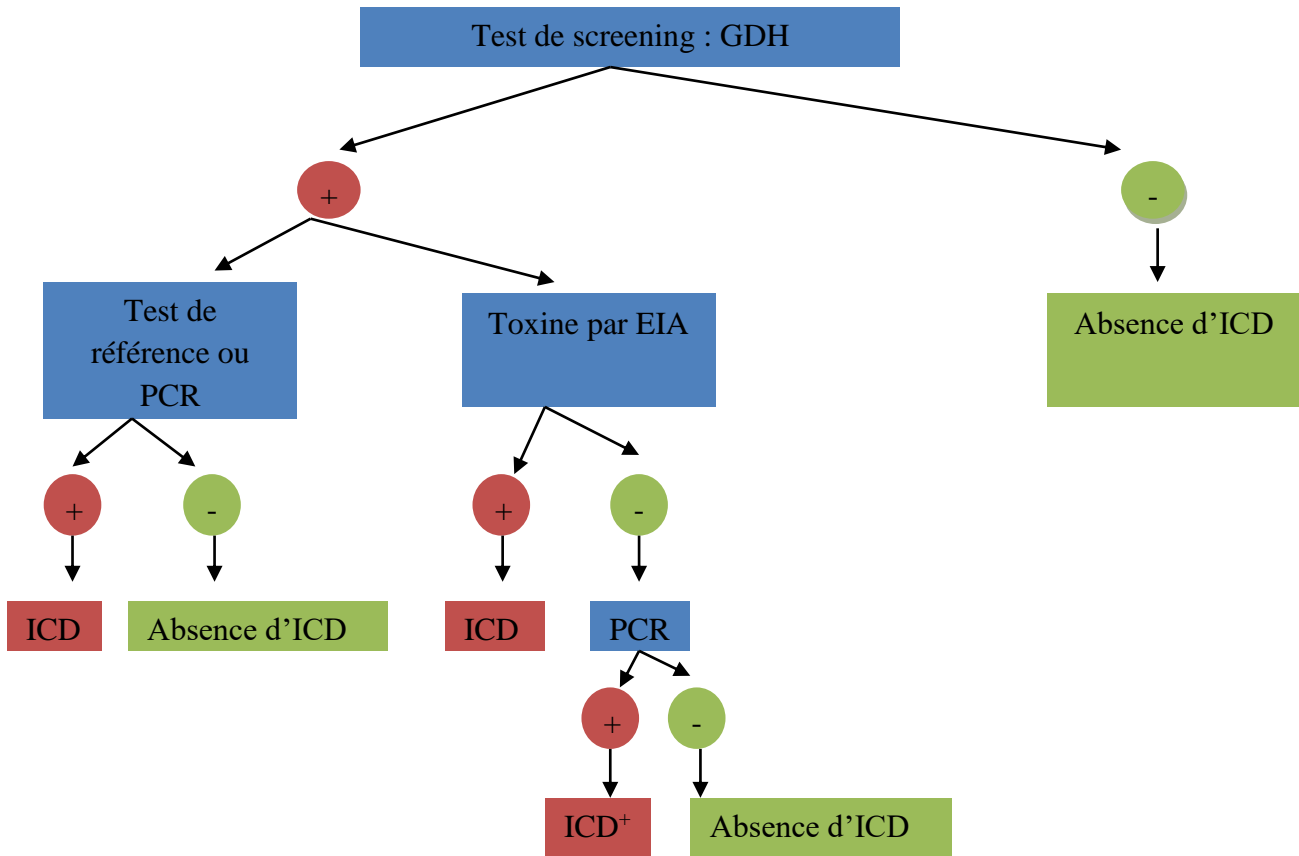


Figure 10 : Algorithme de diagnostic (Detail F., 2018).

7. Traitement

7.1. Traitement du premier épisode

Le traitement du premier épisode se base sur l'utilisation de trois molécules: le métronidazol qui appartient à la famille des nitro-5-imidazolés, la vancomycine famille des glycopeptides et la fidaxomicine qui est un antibiotique de la classe des macrocycliques (Barbut *et al.*, 2007). Ces antibiotiques ont des propriétés pharmacologiques différentes et leur choix durant le traitement dépend de l'état clinique du patient (Tableau 3).

Tableau 3 : Caractéristiques des molécules utilisées dans le traitement des ICD

(Sabri , 2019).

	Métronidazole	Vancomycine	Fidaxomicine
Posologie standard	500 mg 3 fois /jour	125 mg 4 fois /jour	200 mg 2 fois /jour
Voie d'administration	IV, Per os	Per os	Per os
Spectre	Large	Etroit	Etroit
Effet sur le microbiote intestinal	++++	++	+/-
Absorption intestinale	Oui	Non	Non
Effets secondaires	Neuropathies périphériques, effet antabuse, goût métallique	Rares	Rares
Concentrations fécales ($\mu\text{g/g}$ de selles)	0,4-14,9	3100	1433,3
Coût journalier (Euros)	0,75	4,12	141,6

PO : per os, IV:Intraveineuse, VO: voie orale

Dans une étude comparative réalisée entre 1994 et 2002 (Zar et *al.*, 2007), il a été prouvé que l'action de la vancomycine pendant 10 jours sur les formes sévères a plus de succès de guérison en comparaison avec le métronidazole qui est moins efficace. Par contre ils ont présenté une efficacité semblable sur les formes simples, mais selon les recommandations européennes (Debast et *al.*, 2014) le métronidazole reste le traitement de première intention. Or, les recommandations américaines voient qu'il ne faut plus avoir recours au métronidazole en raison de son action à large spectre qui cause une dysbiose profonde (Olivas et *al.*, 2010) (Tableau 4).

En terme de guérison clinique la fidaxomicine a une performance semblable à la vancomycine voir même un effet bactéricide et post antibiotique plus important que les deux autres molécules, et au niveau de prévention de récurrence elle est aussi bien mieux que la vancomycine, donc sur l'ensemble de la guérison globale (guérison clinique + absence de récurrence) la fidaxomicine est de 74% d'efficacité par rapport à la vancomycine (Sabri, 2019).

Tableau 4 : Schéma de la prise en charge des premiers épisodes d'ICD selon l'état de l'infection (Detail, 2018).

1 ^{er} épisode (dure environ 6 jours)	
<p>Forme légère à modéré : Leucocyte < 15 G/l et créatinémie < 1.5 x valeur de base</p>	<p>En l'absence de facteur de risque de récurrence</p> <ul style="list-style-type: none"> • Première intention = métronidazole PO 500mg 3 fois par jour pendant 10 jours <ul style="list-style-type: none"> ○ Si évolution défavorable et/ou persistance après 3-5 jours : switch vancomycine PO 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours • Seconde intention : si contre-indication au métronidazole, on donne de la vancomycine PO 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours <ul style="list-style-type: none"> ○ Si évolution défavorable et/ou persistance après 3-5 jours : avis spécialisé • En présence de facteur de risque initiaux de récurrence : population ciblée <ul style="list-style-type: none"> ○ Première intention = fidaxomicine PO 200mg 2 fois par jour pendant 10 jours
<p>Forme sévère : Leucocyte > 15 G/l et créatinémie > 1.5 x valeur de base</p>	<ul style="list-style-type: none"> • vancomycine PO 125mg 4 fois par jour pendant 10 jours
<p>Formes compliquées : hypotension, Iléus, mégacôlon toxique, choc septique. VO impossible</p>	<ul style="list-style-type: none"> • métronidazole IV 500mg/8h + vancomycine voie entérale (lavement ou sonde nasogastrique) 500mg 4 fois par jour pendant 10 jours + consultation spécialisée • Si échec : traitement par vancomycine + injection immunoglobulines polyvalente 200 à 400 mg/Kg dose unique ou répétés, • Chirurgie de sauvetage (colectomie) en cas de colite fulminante avec choc (mortalité importante).

PO : per os, IV: Intraveineuse, VO: voie orale

La vancomycine et la fidaxomicine ne sont pas d'adsorbées au niveau intestinal ce qui permet une tolérance bien plus important que le métronidazole. La vancomycine est administrée par voie orale et intracolique par lavement, sonde nasogastrique, et le métronidazole est administré par voie orale ou par voie intraveineuse (Sabri, 2019).

7.2. Traitement des récurrences

Pour traiter les récurrences il est recommandé de ne pas administrer un traitement prescrit au premier lieu, pour cette raison le recours à la fidaxomicine est un choix meilleur à cause de son efficacité à lutter contre les survenues de récurrences mais il est important de souligner qu'il faut suivre un schéma posologique (cas de multi-récurrences) qui consiste à administrer la fidaxomicine de 200 mg par jour pendant les 5 premiers jours puis sur deux de 7 jours à 25 jours avec un suivi de 12 semaines (Guery *et al.*, 2018).

Pour la vancomycine un traitement de 40 jours permet d'obtenir un taux de guérison sans récurrence de 50% par rapport à un traitement de 55 jours de fidaxomicine avec un taux de 70 % mais l'antibiothérapie par cette dernière demande un plus grand coût (Sirbu *et al.*, 2017).

Le traitement d'une première récurrence qui survient dans les 8 semaines après l'épisode initial est un traitement alternatif par métronidazole ou bien par vancomycine, le choix entre ces deux molécules dépend de l'efficacité du traitement de l'épisode initial. Si la forme récurrente est grave une bithérapie s'impose où la vancomycine est administrée par voie orale en Po suivie par le métronidazole en Po ou voie Intraveineuse.

La présence d'au moins de 3 facteurs de risques et l'absence de forme grave recommande directement un traitement par la fidaxomicine 200 mg deux fois par jour pendant 10 jours (figure 11) (Detail, 2018).

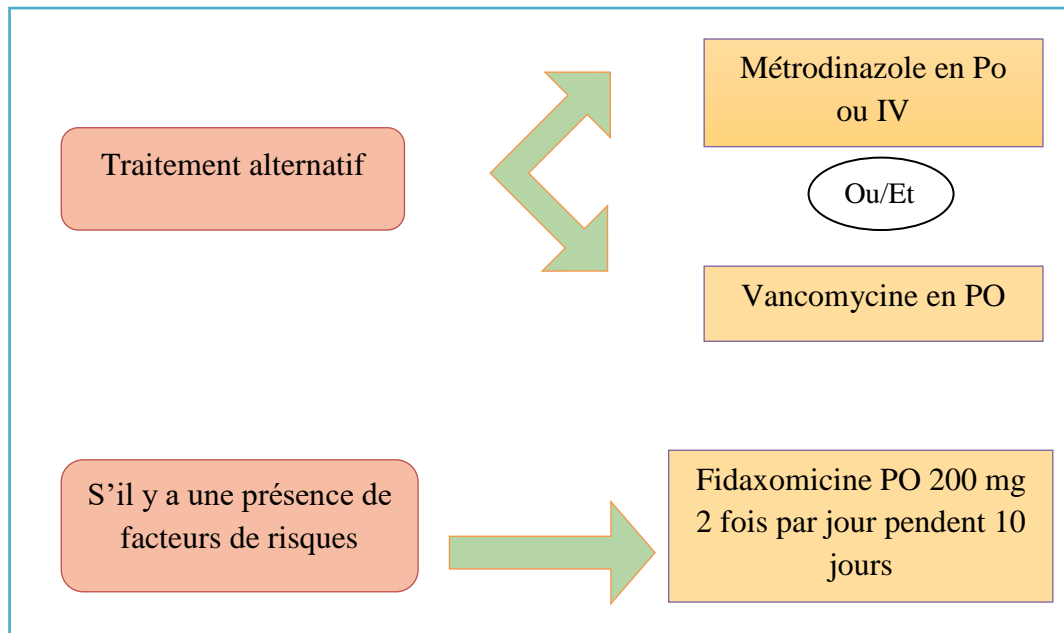


Figure 11 : Schéma représentatif du traitement de la première récurrence.

Dans le cas d'une deuxième récurrence le traitement se fait par la vancomycine où le schéma de posologie est dégressif (Detail, 2018) :

- 125 mg 4 fois par jour pendant 10 jours.
- 152 mg une fois par jour pendant 10 jours puis 125 mg tous les 2 jours pour 7 jours et finalement la même dose tous les 3 jours pour 14 jours.

La fidaxomicine est également un traitement pour la deuxième récurrence, elle suit une posologie de 200 mg 2 fois par jour pendant 10 jours. Pour voir l'efficacité des traitements un recours aux critères cliniques (symptomologie) est essentiel.

D'autres approches thérapeutiques sont mises en scène telles que : les injections intraveineuses de gammaglobuline (anticorps antitoxine A et B), administration de probiotique, la vaccination et la transplantation de microbiote fécal qui est une technique récente qui prouve une bonne efficacité (Lowy et *al.*, 2010).

La transplantation de microbiote fécale (TMF) est un nouveau traitement qui a pu révéler une réussite dans le cas de guérison des récurrences multiples, elle consiste à introduire un filtra fécal parvenant d'un donneur sain au niveau de son tube digestif à un receveur malade pour rééquilibrer son microbiote intestinal (ANSM, 2016).

8. Mesures de prévention

Lors de l'infection par *C. difficile* des mesures générales sont prises en considération (Detail, 2018):

- L'arrêt ou le changement de l'antibiotique administré
- Contrôle des troubles hydroélectriques et réhydratation
- Arrêt des ralentisseurs de transit et des pompes à protons

Pour prévoir la dissémination des ICD il faut se conditionner par les règles et les mesures suivantes (Détail, 2018 ; Barbut et *al.*, 2004) :

- Usage rationné des antibiotiques (savoir utiliser le bon antibiotique avec les bonnes indications, la bonne dose et durée requise).
- Réduction de la prescription de certains antibiotiques tels que : l'amoxicilline + acide clavulanique, la clindamycine, la fluoroquinolones et autres) car elle est corrélée positivement à l'incidence des ICD.
- Isolement des patients symptomatiques dans des chambres individuelles ou bien les regrouper dans le même secteur avec une équipe soignante, afin de minimiser la transmission horizontale.
- Formation d'une équipe soignante sur l'épidémiologie.
- Port de gants lors de tout contact avec le patient infecté ou son environnement proche, et aussi le lavage adéquat des mains avec du savon ou une solution hydro alcoolique.
- Port de surblouse à manches longues lors du contact avec le patient et son environnement.
- Utilisation d'un thermomètre à usage unique
- Désinfection quotidienne des locaux surtout les chambres des patients qui présentent des diarrhées fréquentes par des produits qui diminuent la charge bactérienne comme l'hypochlorite de sodium pour minimiser la propagation des spores

Pour procurer plus d'informations il existe plein de documents présentant les mesures de prévention et de contrôle de la diffusion des ICD tel que « Les recommandations de bonnes pratiques de soins en EHPAD : prévention des infections en EHPAD » (Denchiche, 2014).

Chapitre 3 :
La transplantation de microbiote
fécal

1. Historique

La transplantation de microbiote fécal (TMF) n'est pas une pratique récente. Elle a été effectuée pour la première fois au 4^{ème} siècle en Chine par Ge Hong (Zhang et al., 2012). Ce traitement était un remède très efficace contre les empoisonnements alimentaires sévères et les diarrhées.

Au 16^{ème} siècle Li Shizhen, un médecin Chinois, s'est dirigé vers l'utilisation des solutions fécales fermentées, fraîches, sèches ou infantiles pour soigner les maladies abdominales avec diarrhées sévères, fièvres, douleurs, vomissements et constipations. Ce médecin faisait donc avaler ces solutions connues sous le nom de « soupe jaune » à ses patients (Zhang et al., 2012).

Un siècle plus tard, Fabricius Acquapendente inventa la méthode de « transfaunation » qui consistait à administrer le contenu gastro-intestinal d'un animal sain à un animal malade ayant des problèmes de rumination (Sbahi et Di Palma, 2016). Cette méthode était inspirée d'un comportement purement naturel qui est la coprophagie ; un régime alimentaire particulier suivit par certains animaux pour rétablir leur microbiote intestinal, en mangeant de la matière fécale.

Au cours de la seconde guerre mondiale, les soldats Allemands souffraient régulièrement de dysenterie. Ils remarquèrent que les bédouins de l'Afrique du Nord ne n'en souffraient presque pas. Et pour raison, ces derniers consommaient les selles de chameaux dès que les symptômes d'une dysenterie s'installaient. De ce fait, les soldats commencèrent à en consommer à leur tour (Barbut et al., 2015).

Le premier cas d'infection récidivante à *Clostridium difficile* traité par transplantation de microbiote fécal (TMF) fut en 1983, et c'est ainsi qu'un travail a été publié à son propos (Schwan et al., 1984). Les 30 années suivantes, cette méthode a montré son efficacité, mais ce n'est qu'en 2013 qu'un premier essai clinique randomisé fut réalisé par une équipe hollandaise (Van Nood et al., 2013).

A l'heure actuelle, des études prometteuses en relation avec la transplantation de microbiote fécal sont en cours de réalisation visant à traiter d'autres maladies qui ont été longtemps insoignables comme la maladie de Crohn, la maladie de Parkinson, le syndrome de l'intestin irritable (SII), les maladies du foie, l'autisme, la schizophrénie, l'anxiété, les maladies auto-immunes (les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin(MICI),

rectocolite hémorragique (RCH)) les maladies métaboliques (le diabète, obésité) et les allergies (Brandt et Aroniadis, 2013 ; Vrieze et *al.*, 2013).

2. Définition

La transplantation de microbiote fécal consiste à faire introduire la matière fécale diluée et filtrée au préalable qui provient d'une personne donneuse saine dans le tube digestif d'un patient receveur infecté, pour rétablir l'équilibre de son microbiote intestinal et donc traiter ce qu'on appelle « les dysbioses » afin d'éviter toute faille favorisant la colonisation des bactéries pathogènes, notamment les *Clostridium difficile* (ANSM, 2014).

Le microbiote administré doit être considéré comme un médicament comme le souligne l'article L. 5111-1 du CSP français (Code de la Santé Publique) où le médicament est défini comme « toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique ».

En plus de certains pays de l'Union Européenne, aux Etats-Unis, la Food Drug Administration (FDA) considère aussi le microbiote fécal comme étant un médicament expérimental qui rentre dans le cadre législatif et réglementaire. A l'exception du Royaume-Uni, le Danemark, les Pays-Bas qui l'estiment comme étant un tissu corporel (ANSM, 2014).

Plus de 90% des patients souffrant d'une ICD récidivante et traités par TMF reconnaissent une amélioration et une reconstitution complète de leur microbiote intestinal (Gough et *al.*, 2011). Ce qui montre la grande efficacité de ce traitement par rapport à celui des antibiotiques (vancomycine, métronidazole, ou la fidaxomicine) qui provoque le plus souvent des résistances au fil des temps.

De nos jours, seules les infections récidivantes à *Clostridium difficile* sont traitées par la TMF, et il n'y a pas un protocole standardisé entre les pays et même d'une équipe à une autre faisant partie du même pays (Kelly, et Tebas, 2018 ; Bourlioux, 2015).

3. Indications

La transplantation de microbiote fécal est recommandée en cas des récurrences multiples d'infections à *Clostridium difficile* (à partir de la 2^{ème} récurrence) qui ne répondent pas à des traitements antibiotiques répétés (Debast et al., 2014). Seule l'infection à *C. difficile* est la mieux étudiée aujourd'hui et conduit le plus souvent à de excellents résultats, en attendant la validation de cette méthode pour d'autres maladies. Selon Harry Sokol, « *Il existe de nombreuses indications potentielles pour la TMF mais les données sont pour l'instant insuffisantes et de nombreuses questions sont non résolues* » (Sokol, 2018).

4. Application de la transplantation de microbiote fécal

Pour effectuer une transplantation de microbiote fécal, il faut suivre un ensemble d'étapes qui se présentent comme suite :

- Recrutement du donneur
- Préparation du patient receveur
- Préparation de la suspension fécale humaine
- Administration de la suspension fécale humaine
- Traçabilité

4.1. Recrutement du donneur

4.1.1. Choix du donneur

Le donneur peut être une personne de la même famille ou bien anonyme. Généralement le clinicien choisit les personnes du même entourage du receveur, parce que ce dernier acceptera psychiquement mieux les selles venant des personnes vivants avec lui sous le même toit et qui partagent presque des habitudes de vie similaires (Sokol et al., 2015 ; Chikhoun, 2019). Ce type de don diminuera fortement le risque de transmission d'agents infectieux supplémentaire auxquels le receveur n'a jamais était confronté auparavant au niveau du tube digestif.

Actuellement il n'existe aucun argument scientifique en faveur d'un don venant d'une personne familière par rapport à un don anonyme (ANSM, 2014). Néanmoins, le don anonyme reste le plus favorable car le receveur n'est plus concerné par la sélection, cette dernière dépendra uniquement du clinicien et la réalisation des examens sur le donneur n'est

effectuée qu'une seule fois. De ce fait, avec ce type de don, nous n'aurons plus la relation « un donneur pour un receveur » mais plutôt plusieurs malades sont traités en utilisant un échantillon de matière fécale du même donneur anonyme. Du coup, les couts de dépistage seront réduits (Rohlke et *al.*, 2010).

Il est à noter qu'une sélection rigoureuse du donneur est préconisée quelle que soit la relation entre le donneur et le receveur.

4.1.2. Présélection

Avant l'acceptation des selles du donneur, une présélection doit être mise en œuvre (ANSM, 2014). Cette dernière comportera :

- La prise en compte des antécédents médicaux du donneur et les facteurs de risque à l'aide d'un questionnaire de présélection.
- La recherche d'éventuelles lésions dues au virus humains Papilloma Virus (HPV) ou Herpes Simplex Virus (HSV) par l'examen de la marge anale lors d'un entretien médical.

Cette présélection est réalisée pour repérer d'avance tous les agents infectieux transmissibles qui peuvent causer des pathologies liées au microbiote intestinal et ainsi éliminer les personnes non aptes à donner leurs selles, ce qui va réduire les charges supplémentaires du bilan de dépistage sanguin et fécal. De ce fait, le donneur devra remplir un questionnaire médical de présélection (Annexe 1) (Annexe 2).

Il est important également de prévenir le donneur de ne pas s'exposer à toute source de contamination jusqu'au jour du don (Alimentation, voyages...). Le médecin traitant va décider après les résultats de présélection si le donneur candidat peut continuer ou non les démarches. Un consentement écrit et signé, de la part du donneur, doit être délivré.

4.1.3. Bilan biologique et infectieux du donneur

Après la présélection, des examens sur chacun des échantillons de sang et de selles devront être effectués entre 15 et 21 jours avant le don (Chikhouné, 2019 ; Sokol et *al.*, 2015). Pour cela, le donneur devra faire un ensemble de prélèvements pour permettre la réalisation des tests de dépistage de maladies transmissibles (Annexe 3). Les agents infectieux doivent être dépistés (Tableau 5).

Tableau 5 : Liste des agents infectieux à dépister chez le donneur pour la pratique clinique
(Sokol et al., 2015).

	sang	selles
Bactéries	<i>Treponema pallidum</i>	- <i>Clostridium difficile</i> Coproculture standard : - <i>Listeria monocytogenes</i> - <i>Vibrio cholerae</i> - <i>Vibrio parahemolyticus</i> - <i>Salmonella</i> - <i>Shigella</i> - <i>Bactéries multirésistantes antibiotiques</i>
Virus ¹	-Virus de l'immunodéficience humaine (HIV) -Virus T-lymphotropique humain (HTLV) -Virus des hépatites B et C (HVB ² HVC ²) -Cytomégalo virus (CMV) / Virus Epstein-Barr (EBV) ³	-Adenovirus -Astrovirus -Calcivirus (norovirus, sapovirus) -Picomavirus (entérovirus, virus Aichi) -Rotavirus -Virus des hépatites A et E
Parasites	- <i>Strongyloides stercoralis</i> ⁴ - <i>Amibiase</i> ⁴ - <i>Trichinella sp</i> ⁵ - <i>Toxoplasma gondii</i>	- <i>Strongyloides stercoralis</i> et <i>Cryptosporidium sp</i> (Si patient immunodéprimé) ⁶ - <i>Cyclospora sp</i> ⁶ - <i>Entamoeba histolytica</i> ^{6,7} - <i>Giardia intestinalis</i> ⁶ - <i>Isospora sp</i> ⁶ - <i>Microsporidies</i> ⁶

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.

⁴Sérologie si séjour en zone à risque.

⁵En cas de consommation de gibier uniquement.

⁶Examen parasitologique des selles sur trois prélèvements différents.

⁷En cas de séjour en zone d'endémie amibienne, une PCR *E.histolytica* est recommandée.

A cela se rajoute un bilan sanguin (Sokol, 2016 ; Batista et *al.*, 2015 ; Sokol et *al.*,2015) qui inclut :

- Un test hématologique comprenant : la numération de la formule sanguine (NFS), TP et TCA
- Un test des fonctions hépatiques (ASAT, ALAT, PAL, bilirubine, gamma-GT)
- Des données biochimiques (glycémie à jeun, créatinine et la protéine c-réactive (CRP)).

D'autre part, l'examen de selles comporte en plus :

- Un dosage de la calprotectine fécale ; une protéine de surface des monocytes et des macrophages. Lors d'un processus inflammatoire la synthèse de cette protéine augmente (Chaabouni et *al.*, 2016 ; Tibble et *al.*, 2002), c'est pour cela qu'elle présente un bon moyen pour écarter les donneurs qui souffre d'une inflammation de la muqueuse intestinale (Batista et *al.*, 2015).
- Un examen macroscopique normal (selles sans urines, sang ou pus) (Batista, R et *al.*, 2015).
- Un examen microscopique pour exclure la présence de trainée de mucus, d'hématies, de leucocytes et de cristaux de Charcot-Leyden (Batista et *al.*, 2015).

Il y a certaines différences qui existent entre le texte de l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) pour la recherche clinique et les recommandations du GFTF (Groupe Français de Transplantation Fécale) pour la pratique clinique courante. Le GFTF quant à lui, recommande un bilan de dépistage qui exclut la recherche de :

- *Listeria* dans les selles, à cause de l'absence de milieu spécifique ainsi que la recherche n'est pas faite en routine au laboratoire (Sokol et *al.*, 2015).
- *Vibrio* dans les selles, parce que le risque épidémiologique est très faible et la recherche n'est pas pratiquée de manière quotidienne au laboratoire (Sokol et *al.*, 2015).
- Virus entériques dans les selles, à part le Rotavirus pour l'enfant et Norovirus pour l'adulte (Sokol et *al.*, 2015).
- Toxoplasmose ou Epstein-Barr virus (EBV), car à ce jour le risque d'une transmission via les selles est non démontré (AFSSAPS, 2007).
- *Trichinella sp* par sérologie (Sokol et *al.*, 2015).

Cette liste doit être réexaminée en permanence. Cependant, le risque de transmission d'un agent infectieux présent en petite quantité ne peut être exclu malgré l'existence de différents protocoles et recommandations au niveau mondial (Kump et *al.*, 2014 ; Cammarota et *al.*, 2017 ; Bakken et *al.*, 2011). Bien que sa transmission soit généralement faible et sans conséquences graves pour le receveur (Sokol et *al.*, 2015).

4.1.4. Recherche du génome viral du SARS-CoV-2

En ce qui concerne la situation épidémiologique actuelle, à savoir la survenue de COVID-19, des mesures de préventions doivent être respectées afin d'assurer le bon déroulement de la TMF. Pour cela, il faudra (Pairaud, 2020 ; ANSM, 2020) :

- Se mettre à la recherche de toute situation de contact du donneur avec une personne atteinte dans les 28 jours qui précèdent le don
- Faire un examen clinique pour la recherche d'une infection COVID-19
- Au maximum 72h avant le premier don, effectuer une recherche du génome viral du SARS-CoV-2 par la PCR sur prélèvement naso-pharyngé.
- S'assurer de l'absence de ce génome viral dans les selles par la PCR.
- Placer en quarantaine les selles collectées, les préparations réalisées à partir de ces selles et les médicaments fabriqués à partir de ces selles.

Il se peut donc que ce virus soit transmis via la TMF au patient receveur si le coronavirus SARS-CoV-2 est retrouvé dans les selles du donneur, ce qui va conduire à sa réplication dans le tube digestif du patient et ainsi son infection.

4.1.5. Sélection définitive du donneur

Le jour même du don, le donneur aura à faire à un deuxième questionnaire allégé (Annexe 4) et à un entretien médical pour s'assurer qu'aucun symptôme d'infection : fièvre, vomissement, diarrhée...etc. n'a eu lieu durant les 15 à 21 jours entre la présélection et la transplantation de microbiote fécal (Sokol et *al.*, 2015; Bakken et *al.*, 2011).

Le donneur devra exclure de son alimentation tous produits causant une allergie au patient et cela cinq jours avant la pratique de la TMF (Gough et *al.*, 2011).

Le profil idéal du donneur dans ce cas est présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6: Profil idéal du donneur (ANSM, 2014).

- Age entre 18 et 65 ans
- IMC inférieur à 30
- Absence de toutes pathologies chroniques
- Absence de toute prise d'antibiotiques durant les trois mois précédents le don
- Absence de séjour dans un autre pays durant les trois mois précédents le don
- Absence de résidence en zone intertropicale pendant plusieurs années
- Absence d'hospitalisation pendant les 12 mois précédents le don à l'étranger
- Absence de diarrhée chronique ou aiguë durant les trois mois précédents le don
- Absence de fièvre typhoïde
- Aspect macroscopique normal de la matière fécale
- Dépistage négatif d'agents infectieux

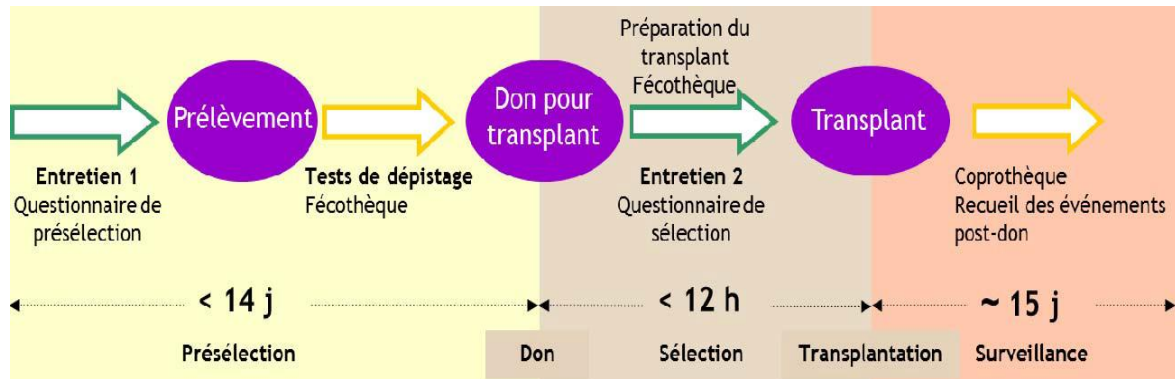


Figure 12 : Les étapes de recrutement du donneur (ANSM, 2014).

4.2. Préparation du patient receveur

Il faut tout d'abord qu'un consentement éclairé (Annexe 5) soit signé en 3 exemplaires par le patient receveur: un pour le patient, le deuxième à garder dans le dossier de soin du patient et le dernier sera inclut dans le dossier de lot. Cet acte ne doit être fait qu'après avoir reçu de la part du groupe soignant une information sur les risques qui peuvent arriver à ce patient après l'intervention. Une information qui doit être claire et adaptée au degré de compréhension de celui-ci (Batista *et al.*, 2015 ; FDA, 2016 ; Sokol *et al.*, 2015 ; ANSM, 2014).

Une antibiothérapie est nécessaire avant l'administration de microbiote fécal. Le patient va être prétraité par la vancomycine per os, 250mg trois fois par jour pendant 4 jours ou 500 mg deux fois par jour pendant 7 jours dans le but de diminuer le taux des *C. difficile* sous forme végétative. Ce traitement devra être arrêté 1 à 3 jours avant la TMF (Aas *et al.*, 2003 ; Detail, 2018).

La veille de la transplantation de microbiote fécal il est recommandé de faire un lavage colique par la prise de 4L d'une solution de macrogol (polyéthylène glycol (PEG)) (Sokol *et al.*, 2015). Lorsque l'introduction de microbiote fécal se fait par sonde nasogastrique, un prétraitement par inhibiteur de la pompe à proton (l'omeprazole 20 mg) sera réalisé la veille et le matin de l'intervention (Aas *et al.*, 2003; MacConnachie *et al.*, 2009; Rubin *et al.*, 2009; Russell *et al.*, 2010) car le microbiote inséré peut être détruit à un pH acide.

Un anti-diarrhéique (du loperamide (Imodium)) est prescrit immédiatement ou 6 heures au maximum après la transplantation de microbiote fécal, pour éviter toute excrétion de selles durant au moins 4 heures et dans le but de maximiser le temps de contact de la matière fécale introduite avec la muqueuse du receveur (Brandt et *al.*, 2012 ; Rohlke et *al.*, 2010 ; Bakken, 2009).

4.3. Préparation de la suspension fécale humaine

La préparation de la suspension fécale humaine pourra être effectuée une fois les consentements signés par le receveur et le donneur, les bilans biologique et infectieux du donneur réalisés, la recherche du génome viral du SARS-CoV-2 faite et les questionnaires validés.

Cette préparation est sous la responsabilité de la pharmacie à usage intérieur qui se trouve au sein d'un établissement de santé. Quant au laboratoire de la microbiologie, il est chargé d'effectuer le contrôle des préparations de selles (ANSM, 2014 ; Sokol et *al.*, 2015).

Les selles sont fournies par le donneur le jour de la transplantation de microbiote fécal, de préférence au niveau de l'établissement de santé où a eu lieu la préparation de la suspension fécale. Pour garantir que le donneur aura la capacité de transmettre une quantité suffisante de selles le jour même du don, il serait mieux de lui administrer un laxatif doux tel le citrate de magnésium (Rohlke et *al.*, 2010) ou l'hydroxyde de magnésium (Kelly et *al.*, 2012 ; Yoon et Brandt, 2010) ou bien un laxatif osmotique comme le macrogol ou le lactulose (Batista et *al.*, 2015 ; Owens et *al.*, 2013 ; Sokol et *al.*, 2015).

Compte tenu du temps restreint entre l'émission des selles et leur introduction dans le patient receveur (6 heures (Aas et *al.*, 2003 ; Bakken et *al.*, 2011 ; Kelly et *al.*, 2012 ; Mattila et *al.*, 2012 ; Rohlke et *al.*, 2010 ; Russell et *al.*, 2010) à 24 heures (Bakken et *al.*, 2011)), la matière fécale doit être immédiatement transportée au lieu de la préparation dans un pot en plastique étanche. Ce lieu doit être réservé uniquement à cette pratique (AFSSAPS, 2007) et équipé d'une hotte aspirante à charbon ou d'une Sorbonne qui aspire l'air de cet espace et qui détecte les polluants, afin d'échapper au risque de contamination croisée (Batista et *al.*, 2015).

Toutes les étapes de préparation de la suspension fécale sont réalisées à température ambiante. De 50g jusqu'à 150g de selles sont recommandés pour effectuer la préparation, car selon Gough et *al.*, le taux de rechute est quatre fois plus élevé lorsqu'une quantité inférieure à cela est utilisée (Gough et *al.*, 2011).

L'échantillon doit être par la suite dilué en le mélangeant avec le Chlorure de Sodium (NaCl) (Borody, 2000 ; Gough et *al.*, 2011), ou bien de l'eau stérile (Arkkila et *al.*, 2010 ; Kelly et *al.*, 2012 ; Mattila et *al.*, 2012), cependant l'utilisation d'une solution de Chlorure de Sodium à 0.9% est préférable dans ce cas pour respecter l'isotonie de l'échantillon (Sokol, 2016 ; Sokol et *al.*, 2015). Cette solution diluée est ensuite mélangée grâce à un vortex ou manuellement jusqu'à ce qu'elle soit homogène et liquide. Puis vient l'étape de la filtration où un chinois en acier ou une compresse de gaz hydrophile stérile posée sur un entonnoir autoclavable- sont utilisés pour permettre d'enlever les grosses particules comme les débris alimentaires non digérés (Sokol, 2016 ; Sokol et *al.*, 2015), qui pourraient bloquer les systèmes d'administration : coloscope, seringue, endoscope, ou la sonde naso-gastrique. Le volume obtenu doit être limité entre 200 et 500 ml, dans le but de conserver l'échantillon de la suspension fécale le plus intact possible et de maintenir une concentration élevée en flore bactérienne (Sokol et *al.*, 2016 ; Sokol et *al.*, 2015).

Enfin, la préparation sera conditionnée selon le mode d'administration. Lorsque l'administration de la suspension fécale se fait par sonde naso-gastrique, elle sera mise dans des seringues de 50 à 60 ml avec un embout qui permet le raccordement à la sonde ou au canal à biopsie du coloscope (Batista et *al.*, 2015 ; Sokol et *al.*, 2015). Par contre si cette suspension est administrée par lavement, elle sera disposée dans une poche à lavement de 500 ml (Batista et *al.*, 2015 ; Sokol et *al.*, 2015).

Afin de respecter le délai de 6 h entre l'émission des selles et la TMF, la suspension conditionnée devra être rapidement transportée vers le lieu de transplantation à une température de conservation de +2 C° et +8 C° (Batista et *al.*, 2015 ; Sokol et *al.*, 2015).

4.4. Administration de la suspension fécale humaine

A l'heure actuelle, il n'existe aucun consensus clair sur la voie d'administration qui procure le plus un grand bénéfice (Cammarota et *al.*, 2017). Cependant, il existe un nombre d'avantages et d'inconvénients pour chaque méthode d'administration (Postigo et Kim, 2012).

4.4.1. Partie inférieure du tube digestif

- Par coloscopie

Il s'agit de la voie d'administration la plus couramment utilisée dans le cadre de la bactériothérapie. La suspension fécale est mise dans des seringues de 50 à 60 ml avec un embout qui s'insère dans le canal opératoire du coloscope (Sokol et *al.*, 2015). A l'aide de ce coloscope, la suspension fécale sera transplantée au niveau de la partie inférieure du tube proximal du tractus gastro-intestinal. Le tube est introduit par voie anale.

Cette procédure a deux principaux inconvénients ; d'une part, les patients les plus fragiles sont exclus à cause de la nécessité d'une anesthésie générale ; d'autre part, il y a un risque de perforation colique (Bowles et *al.*, 2004). Quant à ses avantages, ils résident en la capacité d'administrer des volumes plus importants et d'évaluer l'atteinte de la muqueuse (Trang et *al.*, 2017 ; Sokol et *al.*, 2015).

- Par lavement

Cette technique nécessite l'utilisation d'une poche à lavement à usage unique. Il est demandé au patient dans cette procédure de contenir la préparation 2 heures minimum. Cette technique est facile à réaliser, ne nécessite pas des compétences spécifiques, mais est coûteuse et moins invasive. Cependant, il peut y avoir un risque de non rétention du transplant en cas de fuite (Trang et *al.*, 2017 ; Sokol et *al.*, 2015; Bakken, 2009).

4.4.2. Partie supérieure du tube digestif

- Par sonde naso-duodénale

C'est une technique qui est réalisée sur un patient à jeun ayant reçu au préalable des inhibiteurs de pompe à protons (20 mg d'esoméprazole ou 40 mg d'oméprazole). Pour que cette technique soit mise en pratique, un contrôle radiographique doit être fait afin de s'assurer que la sonde soit bien positionnée. Cette voie est contre-indiquée pour les patients à risque de vomissement ou présentant un reflux gastro-oesophagien compte tenu du risque d'inhalation (Trang et *al.*, 2017 ; Sokol et *al.*, 2015).

- Par gélules

C'est une technique expérimentale qui n'est pas encore agréée par la FDA (la Food and Drug Administration). 24 à 38 gélules de 0.47 ml sont ingérées par le patient en association à la vancomycine. Les gélules sont préparées le jour de la transplantation du microbiote fécal à partir de 100 g de matière fécale diluée dans du sérum physiologique. Cette préparation est centrifugée, décantée et remise dans les gélules par pipetage (Denchiche, 2014).

Le matériel réutilisable salit par les selles doit être autoclavable. Dans le cas contraire, si le matériel est à usage unique, il sera jeté dans les déchets d'activités de soins à risques infectieux (AFSSAPS, 2007).

Les personnes qui réalisent la préparation de la suspension fécale doivent porter des gants, des blouses, des masques et des lunettes de protection, car les selles constituent un risque biologique de niveau 2.

Le malade doit rester au lit durant 48 heures pour une surveillance de 24 heures au minimum après la transplantation de microbiote fécal (Batista et al., 2015).

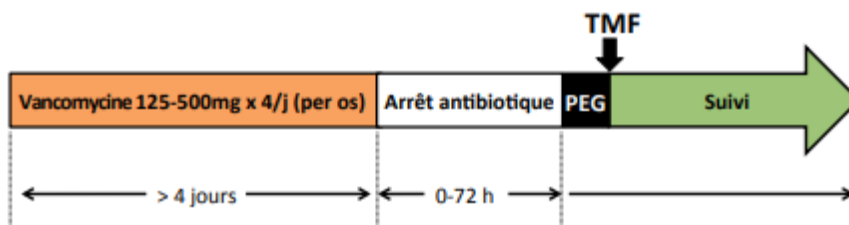


Figure 13 : Séquence thérapeutique de TMF dans les infections à *Clostridium difficile* récidivantes (Sokol et al., 2015).

4.5. Traçabilité

Une traçabilité rigoureuse doit être rajoutée au protocole de la transplantation de microbiote fécal (van Nood et *al.*, 2013) pour aider à identifier et faire le lien entre le receveur et le donneur et notamment entre les principales étapes de la TMF ; du dépistage du donneur jusqu'à la transplantation de la suspension fécale (Sokol et *al.*, 2015 ; Détail, 2018). Elle est indispensable en raison des risques de transmission d'agents pathogènes. Une coprothèque et une échantillothèque doivent être mise en place pour chaque TMF.

La coprothèque comprend 1 à 2g prélevés de l'échantillon de selles brutes émises par le donneur le jour même du don. L'échantillothèque regroupe 1 à 5 ml des échantillons de la préparation de microbiote fécal. Ces prélèvements sont conservés ensuite à -80 C° pendant au moins 5 et 3 ans respectivement (Hamilton et *al.*, 2012 ; Shankar et *al.*, 2014 ; ANSM, 2014 ; Sokol et *al.*, 2015).

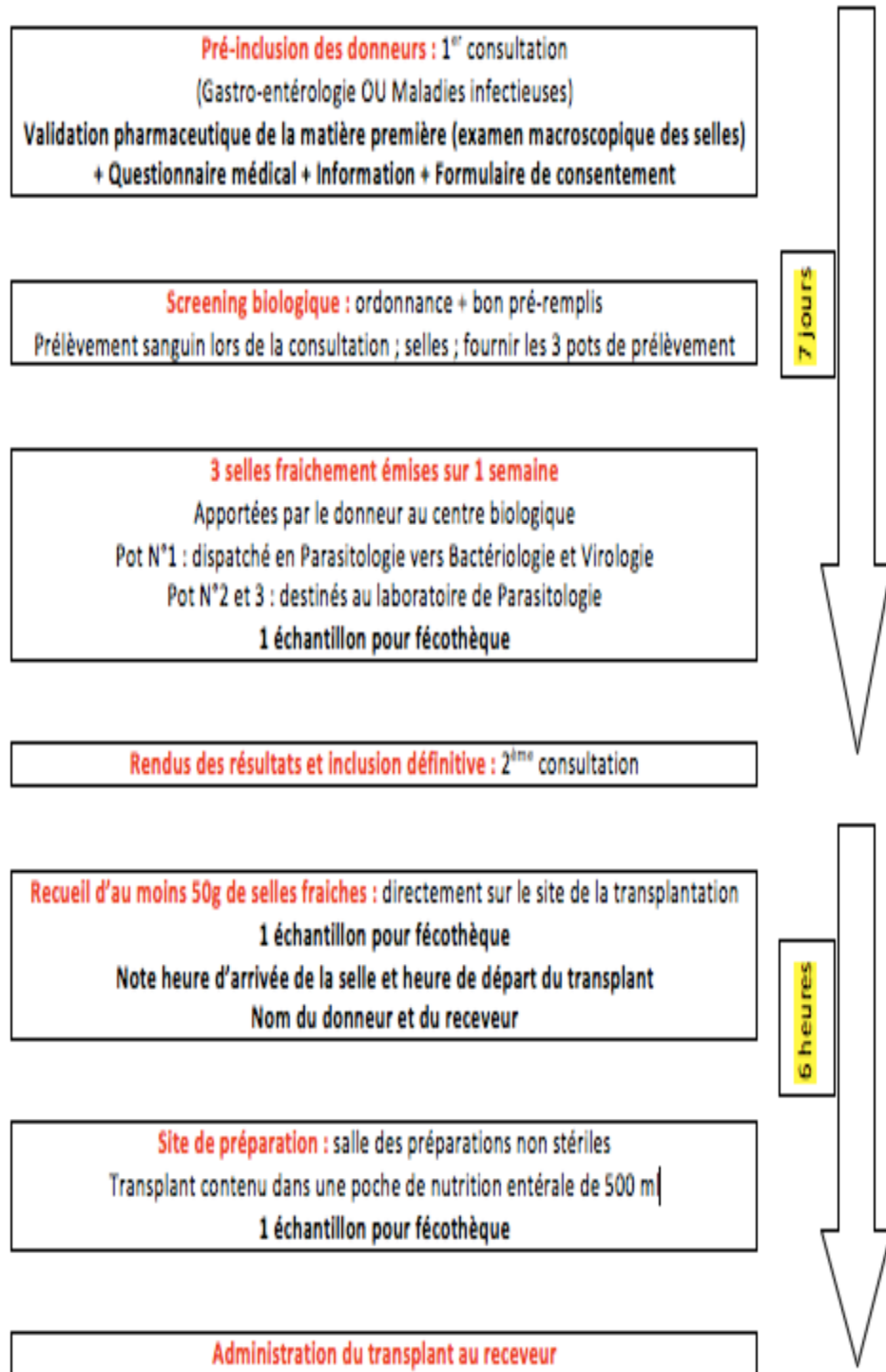


Figure 14 : Procédure de la transplantation de microbiote fécal (Détail, 2018).

5. Mécanisme d'action

Le mécanisme de la transplantation de microbiote fécal se présente comme suite (Dolier, 2018 ; Biocodex Microbiota institute) :

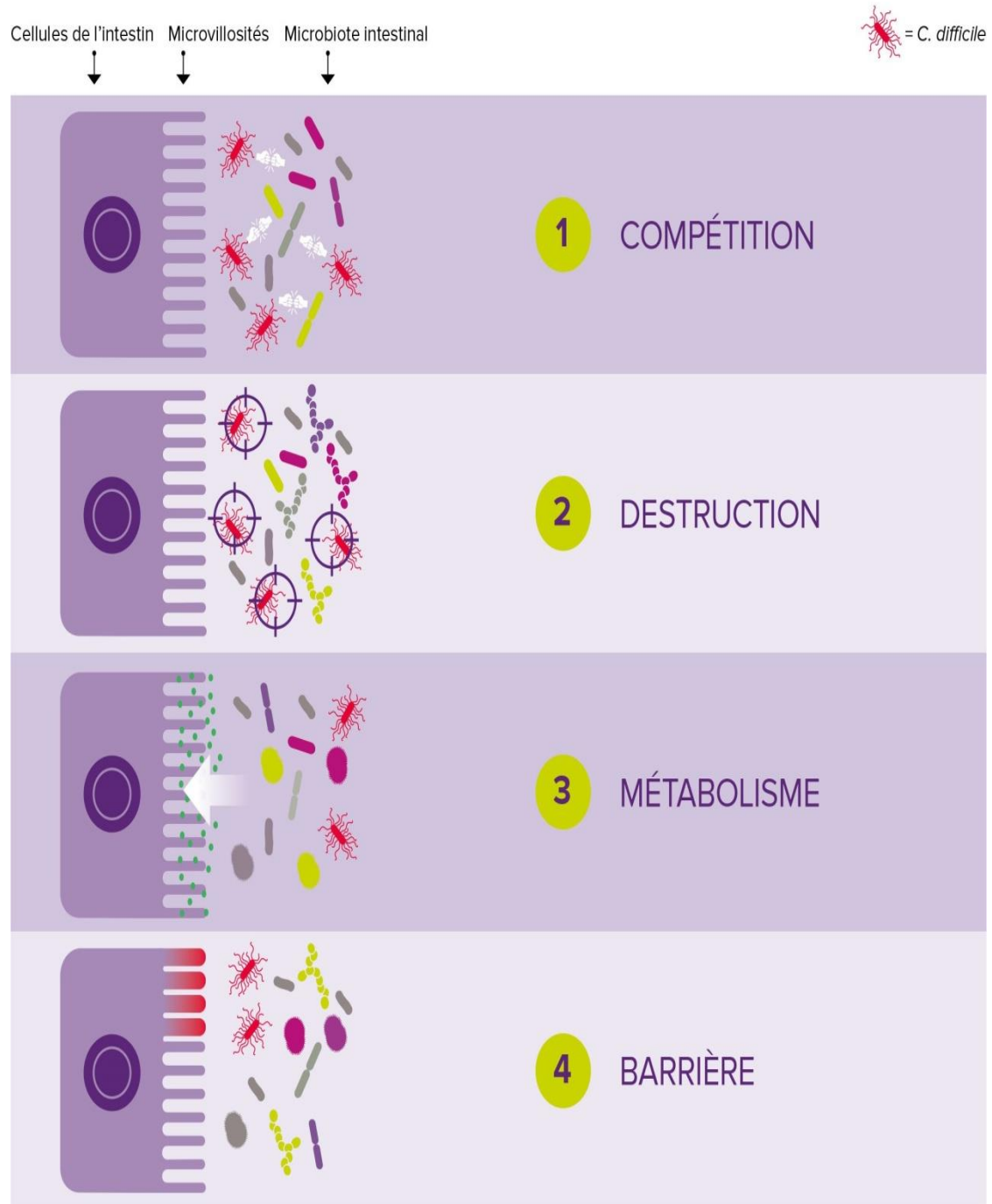


Figure 15 : Le mode d'action de la TMF (Biocodex Microbiota institute).

- Compétition pour l'espace et la nourriture disponibles : étant plus adaptées à l'écosystème intestinal, les bactéries commensales du microbiote fécal introduit s'opposent à la colonisation des *Clostridium difficile* en se fixant sur la surface de la muqueuse intestinale. De ce fait, la TMF rétablit la compétition pour le milieu et également la nourriture, conduisant ainsi à la diminution du milieu et des ressources nutritionnelles pour les *C. difficile* qui auront cette fois-ci une croissance limitée.
- Destruction de la bactérie pathogène : une fois fixées, les bactéries de ce microbiote stimulent la synthèse de peptides antimicrobiens par les cellules de l'épithélium intestinal, telles les bactériocines. Ces peptides ont une activité bactéricide ou bactériostatique. Dans ce cas, la TMF participe à la destruction des *C. difficile*.
- Rétablissement du fonctionnement normal du métabolisme de l'hôte : l'élimination des microorganismes par les antibiotiques conduit à une altération du métabolisme des acides biliaires. Les acides biliaires primaires ne seront plus convertis en acides biliaires secondaires et ils ne pourront plus exercer leur action inhibitrice sur les *C. difficile* se qui va offrir un milieu propice à la colonisation de ces bactéries pathogènes. En faisant une TMF, les sels biliaires secondaires du donneur empêcheront la prolifération des *C. difficile*.
- Restauration de l'effet barrière de l'intestin : la TMF va renforcer et restaurer la barrière intestinale en fournissant les éléments indispensables à la régénération de l'épithélium et à la synthèse de molécules antimicrobiennes.

6. Effets secondaires

La majorité des effets indésirables d'une TMF constatés sont de nature bénigne et principalement liés à la procédure de préparation et à la voie d'administration (Goughet *al.*, 2011).

Il s'agit de :

- Diarrhées
- Ballonnements
- Constipation
- Douleurs abdominales surgissant dans les heures qui suivent la transplantation et ne dépassent pas les 48 heures
- Des maux de gorge si l'administration se fait par sonde naso-gastrique
- Un inconfort rectal, nausées, flatulences et des ballonnements si l'administration se fait par coloscopie.

A l'heure actuelle aucune transmission de maladies infectieuses ni de cas de septicémie n'ont été signalées. Sauf en Amérique, où un seul cas de décès a été enregistré en 2019 et ceci à cause de l'absence de la recherche des bactéries multi-résistantes notamment d'*E.coli* productrice de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) dans leurs tests de dépistage. La FDA a exigé ainsi, que les selles du donneur devront faire l'objet d'un dépistage de ce type de microorganismes. Malgré cela, il ne faut pas exclure l'existence des risques de transmission d'agents pathogènes même après avoir fait des tests de dépistage.

Conclusion & perspectives

L'objectif principal visé par cette étude théorique est de mettre l'accent sur une technique récente : la transplantation de microbiote fécal (TMF) considérée comme alternative thérapeutique non antibiotique, utilisée pour le traitement des infections à *C. difficile* récidivantes.

La rupture de la diversité commensale du microbiote intestinal augmente le risque d'infections à *C. difficile*. La TMF est devenue un réel défit thérapeutique pour lutter contre ces infections récidivantes, contrairement aux traitements par la vancomycine, métronidazole ou la fidaxomicine où les récives surgissent dans plus de 20 % des cas dans les deux mois qui suivent l'antibiothérapie. Cette dernière a pour but de rétablir et renforcer le microbiote intestinal altéré et faire de sorte que ces récives n'aient plus lieu d'être.

Néanmoins, la transplantation de microbiote fécal présente quelques limites : d'une part, son application n'est pas standardisée entre les pays et les équipes et d'autre part, il ne faut pas exclure le risque de transmission de certains microorganismes pathogènes.

En terme de perspective à venir, nous recommandons l'utilisation de la TMF qui n'est jusqu'à présent pas appliquée en Algérie, car elle représente une alternative favorable permettant de renforcer le microbiote intestinal et augmenter la résistance à la colonisation par *C. difficile*.

Il faut noter également que la TMF peut ouvrir d'autres perspectives de recherche afin de guérir d'autres maladies liées à la dysbiose intestinale telles les MICI (Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin), l'obésité, l'autisme...etc.

Références bibliographiques

-A-

- Aas J., Gessert C., Bakken J. 2003. Colite récurrente à *Clostridium difficile* : série de cas impliquant 18 patients traités avec des selles de donneur administrées via une sonde nasogastrique. *Clin Infect Dis.* **36**: 580-585.
- AFSSAPS, « Bonnes pratiques de préparation 2007 [en ligne]. Disponible sur : https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/a5d6ae4b3d5fdee013ca463462b7b296.pdf (page consultée le 15 mai 2021).
- ANSM. 2016. La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques. (actualisation de la version de juin 2015).
- ANSM. 2021. « Microbiote fécal dans le contexte de la COVID-19: collecte et préparation à nouveau autorisées sous certaines conditions, transplantation envisageable dans des situations exceptionnelles et sous réserve d'un test PCR négatif » [en ligne]. Disponible sur : <https://ansm.sante.fr/actualites/microbiote-fecal-dans-le-contexte-de-la-covid-19-collecte-et-preparation-a-nouveau-autorisees-sous-certaines-conditions-transplantation-envisageable-dans-des-situations-exceptionnelles-et-sous-reserve-dun-test-pcr-negatif> (consulté le 25 mai 2021).
- Arkkila P.E., Uusitalo-Seppälä R., Lehtola L., Moilanen V., Ristikankare M., & Mattila E. J. 2010. 29 Fecal Bacteriotherapy for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Gastroenterology.* **138**(5): S-5.

-B-

- Bakken J. S., Borody T., Brandt L. J., Brill J. V., Demarco D. C., Franzos M. A. et al. 2011. Treating *Clostridium difficile* Infection with Fecal Microbiota Transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol.* **9**(12): 1044-1049.
- Barbut F., & Petit J.-C. 2001. Epidemiology of *Clostridium difficile*-associated infections. *Clin Microbiol and Infect.* **7**(8) : 405-410.

- Barbut F., Collignon A., Butel M.-J., & Bourlioux P. 2015. Le transfert de flore digestive : une revue de la littérature. *Ann Pharm Fr.* **73**(1) : 13–21.
- Barbut F., Gariazzo B., Bonné L., Lalande V., Burghoffer B., Luiuz R., & Petit J. C. 2007. Clinical features of *Clostridium difficile*–associated infections and molecular characterization of strains: results of a retrospective study, 2000-2004. *Inf Ctrl & Hosp Epidemiol.* **28**(2): 131-139.
- Barbut F., Lalande V., & Petit J.-C. 2004. Épidémiologie et prévention des infections digestives à *Clostridium difficile*. *Rev Fr Labo.* **2004**(368): 27–34.
- Barbut F., Le Monnier A., & Eckert C. 2012. Infections à *Clostridium difficile* : aspects cliniques épidémiologiques et thérapeutiques. *Réanimation.* **21**(S2), 373–383.
- Barbut F., Meynard J.-L., Maury É., Surgers L., & Eckert C. 2013. Infections digestives à *Clostridium difficile*: diagnostic et traitement. *Infectiol Rea.* 441–460.
- Bartlett J. G., Moon N., Taylor N., & Onderdonk A. B. 1978. Role of *Clostridium difficile* in antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Gastroenterology.* **75**(5): 778-782.
- Bassignani A. 2019. Metaproteomics analysis to study functionalities of the gut microbiota in large cohorts. Thèse de doctorat : Bioinformatiques. Paris : Université Sorbonne, 200 p.
- Batista R., Kapel N., Megerlin F., Chaumeil J.-C., Barbut F., Bourlioux P., & Chast F. 2015. Le transfert de microbiote fécal lors d'infections récidivantes à *Clostridium difficile*. Cadre et aspects pharmacotechniques. *Ann Pharm Fr.* **73**(5) : 323–331.

- Bauer M. P., Kuijper E. J., & van Dissel J. T. 2009. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI). *Clin Microbiol Infect.* **15**(12): 1067–1079.
- Bernalier-Donadille A. 2004. Principales fonctions métaboliques de la flore intestinale de l'homme. In « Flore microbienne intestinale ». Paris : John LibbeyEurotext. p : 61-80.
- Bernalier-Donadille A. 2010. Activités métaboliques du microbiote intestinal humain. *Gastroenterol Clin Biol.* **34**(4): 17–23.
- Biard N. 2016. Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives basses du nourrisson. Thèse de doctorat : Sciences Pharmaceutiques. Nancy : Université de Lorraine, 197 p.
- Bignardi, G. E. 1998. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J of Hosp Infect.* **40**(1): 1–15.
- Biocodexmicrobiotainstitute. Le mécanisme de la greffe fécale : transplanter pour rééquilibrer [en ligne]. <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/dossier/le-mecanisme-de-la-greffe-fecale-transplanter-pour-reequilibrer>. (consulté le 28/04/2021).
- Bloomfield L. E., & Riley T. V. 2016. Epidemiology and Risk Factors for Community-Associated *Clostridium difficile* Infection: A Narrative Review. *Infect Dis and Ther.* **5**(3): 231–251.
- Blot E., Escande M.-C., Besson D., Barbut F., Granpeix C., Asselain B. et al. 2003. Outbreak of *Clostridium difficile* -related diarrhoea in an adult oncology unit: risk factors and microbiological characteristics. *J of Hosp Infect.* **53**(3): 187–192.

- Borody T. J. 2000. “flora power”-fecal bacteria cure chronic *C. difficile* diarrhea. *Am J Gastroenterol.* **95**(11): 3028–3029.
- Borriello S. P. 1998. Pathogenesis of *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother.* **41**(suppl 3): 13–19.
- Bourlioux P. 1998. Composition et rôle de la flore intestinale [En ligne]. Institut Danone. Disponible sur:https://institutdanone.org/objectif_nutrition/composition-et-roles-de-la-flore-intestinale-mieux-connaître-son_importance/dossier-composition-et-roles-de-la-flore-intestinale/. (consulté le 23/04/2021).
- Bourlioux P. 2014. Actualité du microbiote intestinal. *Ann Pharm Fr* : **72** (1) : 15-21.
- Bourlioux P. 2015. Faecal microbiota transplantation: Key points to consider. *Ann Pharm Fr.* **73**(3) : 163–168.
- Bousseboua H. 2005. Microorganismes et environnements. In « Eléments de microbiologie ». 2^{ème} édition. Constantine: Édition Compus-Club. p: 244-245.
- Bouza E., Alcalá L., Marín M., Valerio M., Reigadas E., Muñoz P. et al. 2017. An outbreak of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 in Spain: risk factors for recurrence and a novel treatment strategy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **36**(10): 1777–1786.
- Bowles C. J. A. 2004. A prospective study of colonoscopy practice in the UK today: are we adequately prepared for national colorectal cancer screening tomorrow? *Gut.* **53**(2): 277–283.
- Brandt L. J., & Aroniadis O. C. 2013. An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications, and outcomes. *Gastrointest Endosc.* **78**(2): 240–249.

- Brandt L. J., Aroniadis O. C., Mellow M., Kanatzar A., Kelly C., Park T. et al. 2012. Long-Term Follow-Up of Colonoscopic Fecal Microbiota Transplant for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Am J Gastroenterol.* **107**(7): 1079–1087.
- Burcelin R., Zitvogel L., Fond G., Sokol H. 2016. Microbiote intestinale (flore intestinale) [En ligne]. Inserm. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/microbiote-intestinal-flore-intestinale>. (consulté le 13/04/2021).
- Buyse S., Azoulay E., Barbut F., & Schlemmer B. 2005. Infection à *Clostridium difficile* : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réa.* **14**(4): 255–263.

-C-

- Cachia C. 2017. Le microbiote intestinal: intérêt thérapeutique et organisation pharmaceutique. Thèse de doctorat : Pharmacie. Lyon: Université Claude Bernard-Lyon 1, 109 p.
- Cammarota G., Ianiro G., Tilg H., Rajilić-Stojanović M., Kump P., Satokari R. et al. 2017. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut.* **66**(4) : 569–580.
- Campeotto F., Waligora-Dupriet A.J., Doucet-Populaire F., et al. 2007. Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroentérologie Clinique et Biologique.* **31** (5) : 533-542.
- Carroll K. C., & Bartlett J. G. 2011. Biology of *Clostridium difficile*: implications for epidemiology and diagnosis. *Annu rev microbiol.* **65**: 501–521.

- Cassard A.M., Thomas M. 2019. Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé [En ligne]. Encyclopédie de l'environnement. Disponible sur : <https://www.encyclopedie-environnement.org/sante/les-microbiotes-humains-des-allies-pour-notre-sante/>. (Consulté le 13/04/2021).
- Cdifffoundation. *Clostridium difficile*. (6 février 2015) [carte] In: C Diff Foundation. Disponible sur : <https://cdiffoundation.org/2015/02/06/clostridium-difficile-c-diff-laboratory-test-collectionstorage/transport/cdiffmicro-2/>
- Chaabouni T., Manceau H., & Peoc'h K. 2016. Interest of fecal calprotectine dosage in inflammatory bowel diseases, state of the art and perspectives. *Ann Biol Clin (Paris)*.**74**(4) :385-394.
- Chevalier J. 2018. Microbiote intestinal : de la physiologie à la pathologie. Exemple de la maladie de Parkinson. Thèse de doctorat : Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Lille : Université de Lille 2, 95p.
- Chikhouné, L. 2019. La pratique de la transplantation de microbiote fécal dans les infections récidivantes à *Clostridium difficile* et retour d'expérience de l'hôpital de la Croix-Rousse. Thèse de doctorat : Pharmacie. Lyon : Université Claude Bernard-Lyon 1, 79 p.
- Chitnis A. S., Holzbauer S. M., Belflower R. M., Winston L. G., Bamberg W. M. et al. 2013. Epidemiology of Community-Associated *Clostridium difficile* Infection, 2009 Through 2011. *JAMA Intern Med*. **173** (14): 1359–1367.
- Cibik R., Marcille F., Corthier G., & Dore J. 2004. La flore intestinale : mise en place, description et influence du mode d'alimentation. *Arch Pédiatrie*. **11**(6): 573–575.

- Collignon A., Butel M.J. 2004. Établissement et composition de la flore microbienne intestinale. In « Flore microbienne intestinale ». Paris : John LibbeyEurotext. p : 19-35.
- Conférence de la journée sur les "Actualités en Médecine Gériatrique" le 18 juin 2014 à la Pitié-Salpêtrière, organisé par l'Université Pierre et Marie Curie, Titre de l'intervention: La transplantation fécale dans l'infection à *Clostridium difficile* : quelle place en gériatrie .Intervenant: Dr Eckert Catherine , Hôpital Saint Antoine, Paris URL: <https://www.youtube.com/watch?v=PMjce5rhznA&t=205s>
- Corthier G., Dubos F., Raibaud P. 1985. Modulation of cytotoxin production by *Clostridium difficile* in the intestinal tracts of gnotobiotic mice inoculated with various human intestinal bacteria. *App Environ Microbiol.* **49** (1) : 250-252.
- Coudeyras S., & Forestier C. 2010. Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine. *Can J Microbiol.* **56**(8): 611–650.
- Cressard P. 2020. Quelle est la technique d'analyse du microbiote intestinal la plus efficace ? [En ligne]. Nahibu. disponible sur: <https://web.babbler.fr/packshot/show/quelle-est-la-technique-danalyse-du-microbiote-intestinal-la-plus-efficace>. (consulté le 08/05/2021).
- Crobach M. J. T., Dekkers O. M., Wilcox M. H., & Kuijper E. J. 2009. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect.* **15**(12): 1053–1066.
- Crobach M. J. T., Planche T., Eckert C., Barbut F., Terveer E. M., Dekkers O. M. et al. 2016. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect.* **22**: S63–S81.

-D-

- Davies K. A., Longshaw C. M., Davis G. L., Bouza E., Barbut F., Barna Z. et al. 2014. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of Clostridium difficile infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis.* **14**(12): 1208–1219.
- Debast S. B., Bauer M. P., & Kuijper E. J. 2014. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the Treatment Guidance Document for *Clostridium difficile* Infection. *Clin Microbiol Infect.* **20**: 1–26.
- Denchiche N. 2014. Infection à *Clostridium difficile*, nouvelle stratégie thérapeutique : La bactériothérapie (ou transplantation de microbiote fécal).Thèse de doctorat: pharmacie. Lille : Université de Lille 2, 80 p.
- Détail F. 2018. La transplantation de microbiote fécal: une nouvelle stratégie thérapeutique dans la prise en charge des infections à *Clostridium difficile*.Thèse de doctorat : pharmacie. Amiens: Université de Picardie Jules Verne, 63 p.
- Dial S. 2005. Use of Gastric Acid–Suppressive Agents and the Risk of Community–Acquired *Clostridium difficile*–Associated Disease. *JAMA.* **294**(23): 2989-2995.
- Dinan T.G., Cryan J.F. 2017. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterol Clin NorthAm.* **46** (1) : 77-89.
- Dolié E. 2018. Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications. Thèse de doctorat : Sciences Pharmaceutiques. Toulouse: Université Toulouse III-Paul Sabatier, 114p.
- Doré J., Corthier G. 2010. Le microbiote intestinal humain. *Gastroentérol Clin Biol.* **34** (4) : 7-16.

- Doré J., Rigottier-Gois L. 2004. Méthodes d'étude. In « Flore microbienne intestinale ». Paris: John Libbey Eurotext. p : 3-17

-E-

- Eckert C., Coignard B., Hebert M., Tarnaud C., Tessier C., Lemire A. et al. 2013. Clinical and microbiological features of *Clostridium difficile* infections in France: The ICD-RAISIN 2009 national survey. *Med Mala Infect.* **43**(2): 67–74.
- Eckert C., Lalande V., & Barbut F. 2011. Diagnostic des infections à *Clostridium difficile*. *J Anti-Infect.* **13**(2): 67–73.
- Eckert C., & Barbut F. 2010. Infections à *Clostridium difficile*. *Med/sci.* **26**(2) : 153–158.
- El Kaoutari A., Armougom F., Raoult D., Henrissat B. 2014. Le microbiote intestinal et la digestion des polysaccharides. *med/sci.* **30** (3) : 259-265.

-F-

- FDA, « Enforcement Policy Regarding Investigational New Drug Requirements for Use of Faecal Microbiota for Transplantation to Treat *Clostridium difficile* Infection Not responsive to Standard Therapies – Draft Guidance for Industry », p 6.
- FDA, « Guidance for Industry .Enforcement Policy Regarding Investigational New Drug Requirements for Use of Fecal Microbiota for Transplantation to Treat *Clostridium difficile* Infection Not Responsive to Standard Therapies », p 4.
- Frayssinhes L. 2017. Implication du microbiote intestinal dans la santé et enjeux thérapeutiques. Thèse de doctorat : Sciences Pharmaceutiques. Toulouse: Université Toulouse 3 Paul Sabatier, 92 p.

- Freeman J., Bauer M. P., Baines S. D., Corver J., Fawley W. N., Goorhuis B. et al. 2010. The Changing Epidemiology of *Clostridium difficile* Infections. *Clin Microbiol Rev.* **23**(3): 529–549.

-G-

- Gérard P. 2011. Le microbiote intestinal: composition et fonctions. *Phytothérapie.* **9**(2) : 72-75.
- Gérard P., Bernalier-Donadille A. 2007. Les fonctions majeures du microbiote intestinal. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* **42** (2) : 28-36.
- Goorhuis A., Bakker D., Corver J., Debast S. B., Harmanus C., Notermans D. W. et al. 2008. Emergence of *Clostridium difficile* Infection Due to a New Hypervirulent Strain, Polymerase Chain Reaction Ribotype 078. *Clin Infect Dis.* **47**(9): 1162–1170.
- Gough E., Shaikh H., & Manges A. R. 2011. Systematic Review of Intestinal Microbiota Transplantation (Fecal Bacteriotherapy) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clin Infect Dis.* **53**(10): 994–1002.
- Guery B., Menichetti F., Anttila V.-J., Adomakoh N., Aguado J. M., Bisnauthsing K. et al. 2018. Extended-pulsed fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection in patients 60 years and older (EXTEND): a randomised, controlled, open-label, phase 3b/4 trial. *Lancet Infect Dis.* **18**(3): 296–307.

-H-

- Hall I. C., & O'toole E. 1935. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J dis child.* **49**(2): 390-402.
- Hamilton M. J., Weingarden A. R., Sadowsky M. J., & Khoruts A. 2012. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J of Gastroenterol.* **107**(5): 761–767.

- Hurley B. W., & Nguyen C. C. 2002. The spectrum of pseudomembranous enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea. *Arch intern med.* **162**(19): 2177-2184.

-K-

- Karen C., & John G. B. 2011. Biology of *Clostridium difficile*: Implications for Epidemiology and Diagnosis. *Ann Rev Microbiol.* **65**(1): 501–521.
- Kelly B. J., & Tebas P. 2018. Clinical Practice and Infrastructure Review of Fecal Microbiota Transplantation for *Clostridium difficile* Infection. *Chest.* **153**(1): 266–277.
- Kelly C. P. 2012. Can we identify patients at high risk of recurrent *Clostridium difficile* infection? *Clin Microbiol Infect.* **18**: 21–27.
- Kelly C. R., de Leon L., & Jasutkar N. 2012. Fecal Microbiota Transplantation for Relapsing *Clostridium difficile* Infection in 26 Patients. *J Clin Gastroenterol.* **46**(2): 145–149.
- Kim B.S., Jeon Y.S., Chun J. 2013. Current Status and Future Promise of the Human Microbiome. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* **16** (2): 71-79.
- Kuehne S. A., Cartman S. T., & Minton N. P. 2011. Both, toxin A and toxin B, are important in *Clostridium difficile* infection. *Gut Microbes.* **2**(4), 252–255.
- Kuijper E. J., Coignard B., & Tüll P. 2006. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect.* **12**: 2–18.
- Kump P. K., Krause R., Allerberger F., & Högenauer C. 2014. Faecal microbiota transplantation—the Austrian approach. *Clin Microbiol Infect.* **20**(11): 1106–1111.

- Kyne L. 1999. Factors associated with prolonged symptoms and severe disease due to *Clostridium difficile*. *Age Ageing*. **28**(2): 107–113.
- Kyne L., Warny M., Qamar A., & Kelly C. P. 2000. Asymptomatic Carriage of *Clostridium difficile* and Serum Levels of IgG Antibody against Toxin A. *N Engl J Med*. **342**(6): 390–397.

-L-

- Lagier J.C., Raoult D. 2016. Culturomics : une méthode d'étude du microbiote humain. *med/sci*. **32** (11) : 923-925.
- Landman C., Quévrain E. 2016. Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *Revue med interne*. **37** (6) : 418-423.
- Lowy I., Molrine D. C., Leav B. A., Blair B. M., Baxter R., Gerding D. N. et al. 2010. Treatment with Monoclonal Antibodies against *Clostridium difficile* Toxins. *N Engl J Med*. **362**(3), 197–205.

-M-

- MacConnachie A. A., Fox R., Kennedy D. R., & Seaton R. A. 2009. Faecal transplant for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: a UK case series. *QJM*. **102**(11): 781–784.
- Mattila E., Uusitalo–Seppälä R., Wuorela M., Lehtola L., Nurmi H., Ristikankare M. et al. 2012. Fecal Transplantation, Through Colonoscopy, Is Effective Therapy for Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Gastroenterol*. **142**(3): 490–496.
- McDonald L. C., Gerding D. N., Johnson S., Bakken J. S., Carroll K. C., Coffin S. E., et al. 2018. Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*. **66** (7): e1–e48.

- McFarland L. V. 2011. Emerging therapies for *Clostridium difficile* infections. *Expert Opin Emerg Drugs*. **16** (3): 425–439.
- McFarland L. V., Mulligan M. E., Kwok R. Y. Y., & Stamm, W. E. 1989. Nosocomial Acquisition of *Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med*. **320**(4): 204–210.
- Morais L.H., Schreiber IV, H.L., Mazmanian S.K. 2021. The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders. *Nat Rev Microbiol*. **19** (4) : 241-255.

-N-

- Nemar F. 2020. Flore intestinale, nutrition et immunité [En ligne]. Matière d’enseignement Master 1 : Science Alimentaire et Nutrition Humaine. Chlef, Algérie : Université Hassiba Ben Bouali. Disponible sur: <https://www.univ-chlef.dz/fsnv/wp-content/uploads/flore-intestinale-nutrition-et-immunit%C3%A9-NEMAR-F.pdf>. (consulté le 23/04/2021).

-O-

- Olivas A. D., Umanskiy K., Zuckerbraun B., & Alverdy J. C. 2010. Avoiding Colectomy during Surgical Management of Fulminant *Clostridium difficile* Colitis. *Sur Infect (Larchmt)*. **11**(3): 299–305.
- Orbie J. 2015. L’importance d’une flore intestinale mature équilibrée sur la santé de l’Homme. Thèse de doctorat : Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Lille: Université de Lille 2, 179p.
- Owens C., Broussard E., & Surawicz C. 2013. Fecal microbiota transplantation and donor standardization. *Trends Microbiol*. **21**(9) : 443–445.

-P-

- Paitraud D. 2020. COVID-19 et transplantation de microbiote fécal : l'ANSM prend des dispositions exceptionnelles. [en ligne]. Disponible sur : <https://www.vidal.fr/actualites/24511-covid-19-et-transplantation-de-microbiote-fecal-l-an-sm-prend-des-dispositions-exceptionnelles.html>. (consulté le 1 / 04/ 2021).
- Penders J., Thijs C., Vink C., Stelma F. F., Snijders B., Kummeling I., Stobberingh E. E. 2006. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics*. **118**(2): 511–521.
- Perry J.J., Staley J.T., Lory S. 2004. Interaction entre l'Homme et les micro-organismes. In « Microbiologie ». Paris : Dunod. p : 650-651.
- Postigo R., & Kim J. H. 2012. Colonoscopic versus nasogastric fecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a review and pooled analysis. *Infection*. **40**(6) : 643–648.
- Prescott L.M., Harley P.J., Klein A.D. 2003. La microflore normale et la résistance non spécifique de l'hôte. In « Microbiologie ». 2^{ème} édition française. Bruxelles : De Boeck and Larcier. p : 702-703.

-R-

- Rapport, A. N. S. M. 2014. La transplantation de microbiote fécal et son encadrement dans les essais cliniques. Mars.
- Rohlke F., Surawicz C. M., & Stollman N. 2010. Fecal Flora Reconstitution for Recurrent *Clostridium difficile* Infection: Results and Methodology. *J Clin Gastroenterol*. **44**(8) : 567–570.

- Rolland H. 2017. Le microbiote intestinal : son implication dans le métabolisme des œstrogènes et ses conséquences sur le cancer du sein chez la femme. Thèse de doctorat : Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Nantes : Université de Nantes, 93p.
- Rothschild D., Weissbrod O., Barkan E., Kurilshikov A., Korem T., Zeevi D., Segal E. 2018. Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature*. **555**(7695): 210–215.
- Rubin T. A., Gessert C. E., & Aas J. 2009. Stool transplantation for older patients with *Clostridium difficile* infection. *J Am Geriatr Soc*. **57**(12): 2386–2386.
- Russell G., Kaplan J., Ferraro M., & Michelow I. C. 2010. Fecal Bacteriotherapy for Relapsing *Clostridium difficile* Infection in a Child: A Proposed Treatment Protocol. *Pediatrics*. **126**(1): e239–e242.
- Rutayisire E., Huang K., Liu Y., & Tao F. 2016. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol*. **16**(1): 1-12.

-S-

- Sabri A. 2019. Infections à *Clostridium difficile*: étude rétrospective réalisée au CHU de Rouen. Thèse de doctorat : Pharmacie. Rouen : Université de Rouen Normandie UFR Santé, 103 p.
- Salminen S., Isolauri E., Onnela T. 1995. Gut flora in normal and disordered states. *Chemotherapy*. **41** (suppl I): 5-15.
- Sandhu, B. K., & McBride, S. M. 2018. *Clostridioides difficile*. *Trends microbial*. **26**(12): 1049–1050.

- Sbahi H., & Di Palma J. A. 2016. Faecal microbiota transplantation: applications and limitations in treating gastrointestinal disorders. *BMJ Open Gastroenterol.* **3**(1): e000087.
- Schwan A., Sjolín S., Trottestam U., & Aronsson B. 1984. Relapsing *Clostridium difficile* Enterocolitis Cured by Rectal Infusion of Normal Faeces. *Scand J Infect Dis.* **16**(2): 211–215.
- Shankar V., Hamilton M. J., Khoruts A., Kilburn A., Unno T., Paliy O., & Sadowsky M. J. 2014. Species and genus level resolution analysis of gut microbiota in *Clostridium difficile* patients following fecal microbiota transplantation. *Microbiome.* **2**(1) : 1-10.
- Sirbu B. D., Soriano M. M., Manzo C., Lum J., Gerding D. N., & Johnson S. 2017. Vancomycin Taper and Pulse Regimen With Careful Follow-up for Patients With Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Clin Infect Dis.* **65**(8): 1396–1399.
- Skonieczna-Żydecka K., Marlicz W., Misera A., et al. 2018. Microbiome-The Missing Link in the Gut-Brain Axis: Focus on Its Role in Gastrointestinal and Mental Health. *J Clin Med.* **7** (12): 1-18.
- Sokol H et al. 2015. Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes: recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépto-Gastro Oncol Dig.* **22**(4) : 278-290.
- Sokol H. (2018). Transplantation fécale. Post’U. Disponible sur : <https://www.fmcgastro.org/texte-postu/postu-2018-paris/transplantation-fecale/>. (consulté le 10/04/2021).
- Sokol H., Galperine T., Kapel N., Bourlioux P., Seksik P., Barbut F., Joly F. 2016. Faecal microbiota transplantation in recurrent *Clostridium difficile* infection: Recommendations from the French Group of Faecal microbiota Transplantation. *Dig Liver Dis.* **48**(3): 242–247.

- Srikanth C. V., & McCormick B. A. 2008. Interactions of the Intestinal Epithelium with the Pathogen and the Indigenous Microbiota: A Three-Way Crosstalk. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* **2008**: 1–14.

-T-

- Tibble J. A., Sigthorsson G., Foster R., Forgacs I., & Bjarnason I. 2002. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology.* **123**(2): 450–460.
- Trang C., Scanzi J., Galperine T., Mosca A., Batista R., & Sokol H. 2017. Transplantation de microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes: actualisation des recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépatogastro Oncol Dig.* **24**(4) : 319-325.

-V-

- van Nood E., Vrieze A., Nieuwdorp M., Fuentes S., Zoetendal E. G., de Vos W. M., Visser C. E., Kuijper E. J., Bartelsman J. F., Tijssen J. G., Speelman P., Dijkgraaf M. G., & Keller J. J. 2013. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* **368**(5): 407–415.
- Vernocchi P., Del Chierico F., Putignani L. 2016. Gut Microbiota Profiling: Metabolomics Based Approach to Unravel Compounds Affecting Human Health. *Front Microbiol.* **7** (1144): 1-21.
- Voth D. E., & Ballard J. D. 2005. *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and Role in Disease. *Clin Microbiol Rev.* **18**(2): 247–263.

- Vrieze A., de Groot P. F., Kootte R. S., Knaapen M., van Nood E., & Nieuwdorp M. 2013. Fecal transplant: A safe and sustainable clinical therapy for restoring intestinal microbial balance in human disease? *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* **27**(1): 127–137.

-W-

- Westerbeek E. A. M., van den Berg A., Lafeber H. N., Knol J., Fetter W. P. F., & van Elburg R. M. 2006. The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: A review of the literature. *Clin Nutr.* **25**(3): 361–368.
- Wistrom J. 2001. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study. *J Antimicrob Chemother.* **47**(1): 43–50.

-Y-

- Yoon S. S., & Brandt L. J. 2010. Treatment of Refractory/Recurrent *C. difficile*-associated Disease by Donated Stool Transplanted Via Colonoscopy. *J Clin Gastroenterol.* **44**(8): 562–566.


-Z-

- Zar F. A., Bakkanagari S. R., Moorthi K. M. L. S. T., & Davis M. B. 2007. A Comparison of Vancomycin and Metronidazole for the Treatment of *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea, Stratified by Disease Severity. *Clin Infect Dis.* **45**(3): 302–307.
- Zerhari Y. 2019. Microbiote intestinal et cancer du sein. Thèse de doctorat : Médecine. Rabat, Maroc : Université Mohammed V Rabat, 171 p.
- Zhang F., Luo W., Shi Y., Fan Z., & Ji G. 2012. Should We Standardize the 1,700-Year-Old Fecal Microbiota Transplantation? *Am J Gastroenterol.* **107**(11): 1755–1755.

Annexes

Annexe 1

Questionnaire de présélection spécifique au don de selles (ANSM, 2014).

INFORMATIONS	CRITERES DE NON INCLUSION ABSOLUE	CRITERES DE NON INCLUSION « RELATIVE » (à justifier)
Co-morbidités	<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)
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	<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 	
Âge	Donneur mineur ²	Donneur âgé (>65 ans) ⁴
Statut pondéral	Non limitant mais 	Donneur avec IMC>30 ⁵

¹ 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

² 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

³ Pour des raisons d'efficacité : le microbiote pouvant être altéré

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

⁵ 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

Annexe 2

Questionnaire médical de présélection pour transplantation de microbiote fécal

Date de l'entretien avec le médecin :.... / /.....

Donneur potentiel

Nom :.....

Prénom :.....

Date de naissance :.....

Receveur

Nom du receveur potentiel :.....

Lien entre donneur et receveur :.....

Information Co-morbidités	Vérification de l'absence de critères de non inclusion absolue chez le donneur	Absence de critères de non inclusion relative ou justification par le médecin
Co-morbidités	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur sans pathologie chronique connue (y compris diabète) <input type="radio"/> Absence d'antécédent de fièvre typhoïde <input type="radio"/> Absence de troubles digestifs (diarrhée aiguë ou chronique) dans les 3 mois précédant le don 	Absence d'antécédents familiaux : <ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Maladie inflammatoires chroniques de l'intestin (lien de parenté) <input type="radio"/> maladies auto-immunes (lien de parenté) <input type="radio"/> cancer colique (lien de parenté et âge d'apparition)
Traitement médicamenteux	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur ne prenant pas un traitement curatif au long cours 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Le donneur n'a pas été traité par anti-infectieux au cours des 3 mois précédant le don
Voyages	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Le donneur n'a pas séjourné en zone intertropicale au cours des 3 mois précédant le don <input type="radio"/> Le donneur n'a pas résidé plus d'un an zone intertropicale <input type="radio"/> Le donneur ni son entourage n'a pas été hospitalisé à l'étranger plus de 24h dans les 12 derniers mois 	
Age	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Le donneur est majeur 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur âge à moins de 65ans
Statut pondéral	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> IMC du donneur <30 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="radio"/> Donneur avec IMC >30

<p>Si présence d'un critère de non inclusion relative, décision du médecin et justification :</p> 	<p>Signature :</p>
--	---------------------------------------

Annexe 3

Procédure pharmaceutique de validation de la matière première au regard des résultats de bilans biologiques

Date du jour ://.....

Nom du donneur :

Prénom du donneur :

Date de naissance du donneur :

Liste des agents infectieux à dépister obligatoirement chez le donneur : si présence de l'un des agents infectieux dans le sang ou les selles, l'utilisation du don est impossible.

	Sang	Date du bilan sanguin et résultats	Selles	Date bilan selles et résultats
Bactéries	○ Treponema pallidum		○ Clostridium difficile	
			○ Listeria monocytogenes	
			○ Vibrio cholera/ Vibrio parahemolyticus	
			○ Salmonella	
			○ Shigella	
			○ Bactéries multirésistantes antibiotiques	
Virus	○ Virus de l'immunodéficience humaine (HIV)		○ Adenovirus	
	○ Virus T-lymphotropique humain (HTLV)		○ Astrovirus	
	○ Virus des hépatites B (HVB)		○ Calcivirus (norovirus, sapovirus)	
	○ Virus des hépatites B (HBV)		○ Picomavirus (entérovirus, virus Aichi)	
	○ Cytomégalovirus (CMV) / Virus Epstein-Barr (EBV)		○ Rotavirus	
Parasites	○ Strongyloides stercoralis		○ Strongyloides stercoralis	
	○ Toxoplasma gondii		○ Cryptosporidium sp	
	○ Trichinella sp		○ Cyclospora sp	
			○ Entamoeba histolytica	
			○ Giardia intestinalis	
			○ Isospora sp	
		○ Microsporidies		

Signature médecin :	Signature pharmacien:
---------------------	-----------------------

Annexe 4

Questionnaire de sélection du donneur (ANSM, 2014).

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• Situation à risque de contamination :<ul style="list-style-type: none">• Voyage à l'étranger• Contact avec du sang humain (piercing, tatouage, piqure, plaie, projection, soins dentaires...)• Comportement sexuel à risque• Présence de lésions anales (afin de limiter le risque de transmission du virus du papilloma humain et des virus de l'herpès).	<p>Recherche des évènements suivants :</p> <ul style="list-style-type: none">• Consultation médicale (motif)• Maladie contractée (laquelle, date et durée)• Prise de médicaments (lesquels, date de la dernière prise)

Annexe 5

Consentement éclairé pour sujet receveur de transplantation de microbiote fécal

Je soussigné(e) déclare avoir été informé(e)

1. que je souffre d'une infection intestinale dont le traitement par antibiotiques n'était plus ou pas efficace
2. qu'il s'agit d'une infection par une bactérie dénommée *Clostridium difficile*

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

Je comprends :

1. que tout retard à cette TMF est de nature à compromettre mes chances de guérison,
2. qu'aucun praticien ne procédera à des soins qu'il considérerait comme outrepassant ses capacités et ses compétences,
3. que cette TMF consiste à m'administrer une préparation au moyen d'un lavement par voie rectale, d'une coloscopie ou d'une sonde naso-gastrique ou naso-duodénale,
4. que les médecins ne peuvent pas garantir la réussite absolue de cette tentative de traitement, mais je sais qu'en cas d'échec d'autres tentatives thérapeutiques peuvent être effectuées, soit au moyen d'un autre TMF, soit au moyen des traitements antibiotiques conventionnels,
5. qu'il me sera demandé de revenir en consultation dans le Centre Hospitalier afin de vérifier à des temps réguliers que mon état de santé s'est amélioré ou non,
6. qu'une autre possibilité de traitement consisterait à reprendre une cure prolongée d'antibiotiques dont je sais qu'elle peut également être accompagnée de certains risques.

Le donneur

On m'a informé :

- que ce donneur n'est pas porteur des signes cliniques et biologiques d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin au moment du don des selles,
- que cette préparation est constituée de selles sur lesquelles sont pratiquées des analyses biologiques permettant d'éliminer le risque de transmission :
 - des virus suivants : VIH1, VIH2, HTLV1, HTLV2, hépatite A, hépatite B, hépatite C, hépatite E, CMV
 - des bactéries suivantes : *Treponema pallidum*, *Clostridium difficile*, bactéries entéropathogènes, et en particulier *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, et *Salmonella*
 - des parasites suivants : *Strongyloides stercoralis*, *Entamoeba histolytica*, *Cyclospora*, *Isospora*, *Cryptosporidium*, microsporidies, *Giardia intestinalis*.

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

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

Risques liés à la technique

Cette procédure de TMF est réalisée au plan international depuis plusieurs années et, si actuellement elle est considérée comme incapable de transmettre certaines maladies, ce risque ne peut être totalement exclu, qu'il s'agisse d'une maladie infectieuse ou d'une autre maladie. En ce sens, si les données scientifiques entourant les TMF, sont, dans l'état actuel de nos connaissances, parfaitement rassurantes, il n'est pas possible d'exclure un risque de complication infectieuse ou immunitaire.

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

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

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

Signature du patient :

A le

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

Signature :

A le

RÉSUMÉ

Certaines pathologies infectieuses sont la conséquence d'un déséquilibre qui touche le microbiote intestinal, dénommé « dysbiose intestinale ». Ce genre de dysbiose est caractérisé par une diminution de la diversité bactérienne et par des modifications de la proportion de certaines espèces de bactéries. C'est le cas des infections à *Clostridium difficile* qui surgissent après une lourde antibiothérapie. Les récurrences de ces infections sont fréquentes après l'arrêt du traitement par la vancomycine, le métronidazole ou la fidaxomicine.

Notre étude, basée sur une recherche bibliographique, qui traite les infections récurrentes à *Clostridium difficile* a pour but de présenter une nouvelle technique thérapeutique autre que l'antibiothérapie à savoir « la transplantation de microbiote fécal ». Cette technique consiste à remplacer le microbiote intestinal déséquilibré d'une personne malade par un microbiote sain d'un donneur de selles qualifié.

Cette étude suggère que comparativement à l'antibiothérapie la TMF semble être une thérapie prometteuse pour rétablir l'équilibre du microbiote intestinal et constitue de ce fait un excellent traitement contre les infections à *Clostridium difficile* récurrentes.

Mots clés : microbiote intestinal, dysbiose intestinale, *Clostridium difficile*, transplantation de microbiote fécal.

ABSTRACT

Some infectious pathologies are the consequence of an imbalance affecting the intestinal microbiota, called “intestinal dysbiosis”. This kind of dysbiosis is characterized by a decrease in bacterial diversity and by changes in the proportion of certain species of bacteria. This is the case with *Clostridium difficile* infections that develop after heavy antibiotic therapy. Recurrences of these infections are common after stopping treatment with vancomycine, metronidazole or fidaxomicine.

Our study, based on bibliographic research, which treats recurrent *Clostridium difficile* infections, aims to present a new therapeutic technique other than antibiotic therapy, namely “fecal microbiota transplantation”. This technique involves replacing the unbalanced gut microbiota of a sick person with healthy microbiota from a qualified stool donor.

This study suggests that compared to antibiotic therapy, TMF appears to be a promising therapy for restoring the balance of the intestinal microbiota and is therefore an excellent treatment for recurrent *Clostridium difficile* infections.

Key words : intestinal microbiota, intestinal dysbiosis, *Clostridium difficile*, fecal microbiota transplantation.

المخلص

بعض الأمراض المعدية هي نتيجة لخلل يؤثر على الجراثيم المعوية ، يسمى هذا الخلل " الديسبيوز المعوي". يتميز هذا النوع من الديسبيوز بانخفاض التنوع البكتيري وبالتغيرات في نسبة أنواع معينة من البكتيريا. هذا هو الحال مع عدوى المطثية العسيرة التي تتطور بعد العلاج بالمضادات الحيوية الثقيلة. تكرر هذه الالتهابات أمر شائع بعد التوقف عن العلاج بفانكوميسين , ميترونيدازول أو الفيداكسومييسين.

تهدف دراستنا ، المستندة إلى البحث البيليوغرافي ، الذي يعالج عدوى المطثية العسيرة (*Clostridium difficile*) المتكررة ، إلى تقديم تقنية علاجية جديدة غير العلاج بالمضادات الحيوية ، وهي "زرع الجراثيم البرازية". تتضمن هذه التقنية استبدال الميكروبات المعوية غير المتوازنة لشخص مريض بميكروبات صحية من متبرع براز مؤهل.

تشير هذه الدراسة إلى أنه و بالمقارنة مع العلاج بالمضادات الحيوية ، يبدو أن زرع الجراثيم البرازية علاج واعد لاستعادة توازن الجراثيم المعوية، وبالتالي فهو علاج ممتاز لعدوى المطثية العسيرة (*Clostridium difficile*) المتكررة.

الكلمات المفتاحية : الجراثيم المعوية, الديسبيوز المعوي, المطثية العسيرة (*Clostridium difficile*) , زرع جراثيم البراز

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes

Application de la transplantation de microbiote fécal contre les infections à *Clostridium difficile* récidivantes

Résumé

Certaines pathologies infectieuses sont la conséquence d'un déséquilibre intestinal, dénommé « dysbiose intestinale ». Ce genre de dysbiose est caractérisé par une diminution de la diversité bactérienne et par des modifications de la proportion de certaines espèces de bactéries. C'est le cas des infections à *Clostridium difficile* qui surgissent après une lourde antibiothérapie. Les récurrences de ces infections sont fréquentes après l'arrêt du traitement par la vancomycine, le métronidazole ou la fidaxomicine.

Notre étude, basée sur une recherche bibliographique, qui concerne les infections récidivantes à *Clostridium difficile* a pour but de présenter une nouvelle thérapie autre que l'antibiothérapie à savoir « la transplantation de microbiote fécal ». Cette thérapie consiste à remplacer le microbiote intestinal déséquilibré d'une personne malade par un microbiote sain d'un donneur de selles qualifié.

Cette étude suggère que comparativement à l'antibiothérapie la TMF semble être une thérapie prometteuse pour rétablir la dysbiose intestinale et constitue de ce fait un excellent traitement contre les infections à *Clostridium difficile* récidivantes.

Mot clés : microbiote intestinal, dysbiose intestinale, *Clostridium difficile*, transplantation de microbiote fécal.

Membre du jury :

Présidente : Mlle. Meziani M (MCB- UFM Constantine 1)

Examinatrice : Mme. Guergouri I (MAA-UFM Constantine 1)

Encadreur : Mme. Boultifat L (MCB-UFM Constantine 1)

**Présentée par : Haboudi Maya
Djemouai Ines
Hannache Billel**

Année universitaire : 2020-2021