



**HAL**  
open science

## Fecal microbiota transfer: What therapeutic potential in the treatment of metabolic diseases?

Tiphaine Le Roy, Judith Aron-Wisnewsky, Karine Clément

### ► To cite this version:

Tiphaine Le Roy, Judith Aron-Wisnewsky, Karine Clément. Fecal microbiota transfer: What therapeutic potential in the treatment of metabolic diseases?. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 2020, 34 (2), pp.108-115. 10.1016/j.nupar.2019.12.001 . hal-02880082

**HAL Id: hal-02880082**

**<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-02880082v1>**

Submitted on 24 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

1 Le transfert de microbiote fécal : quel potentiel thérapeutique dans le  
2 traitement des maladies métaboliques?

3

4 Fecal microbiota transfer: what therapeutic potential in the treatment of  
5 metabolic diseases?

6

7

8 Tiphaine Le Roy<sup>a</sup>, Judith Aron-Wisnewsky<sup>a,b,c</sup>, Karine Clément<sup>a,b</sup>

9

10 <sup>a</sup>Sorbonne Université, INSERM, UMR-S 1269 Nutrition and obesities : systemic approaches  
11 (NutriOMics) research Unit, 91 Boulevard de l'Hôpital, Paris, France.

12 <sup>b</sup>Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Service de Nutrition , Hôpital de la Pitié-Salpêtrière,  
13 75013 Paris, France.

14 <sup>c</sup>Amsterdam UMC, location AMC, dept of Vascular Medicine, University of Amsterdam,  
15 Amsterdam, the Netherlands.

16

17 adresses email : tiphaine.le.roy@mail.com, judith.aron-wisnewsky@aphp.fr,  
18 karine.clement@inserm.fr

19 Auteur correspondant : Tiphaine Le Roy

20

21

## 22 Résumé

23 Un déséquilibre de la composition du microbiote intestinal ou de ses fonctions est  
24 fréquemment observé en cas d'obésité et de maladie métabolique. De nombreuses études sur  
25 modèle murin montrent que la modification de la dysbiose du microbiote par diverses  
26 méthodes est associée à une amélioration des paramètres métaboliques. Chez l'homme, des  
27 interventions diététiques ou la chirurgie bariatrique sont accompagnées de modifications plus  
28 ou moins importantes de la composition du microbiote. La transplantation de microbiote fécal  
29 (TMF) est une option pleine de potentiel pour modifier la composition de ce microbiote  
30 intestinal, néanmoins, elle n'est pour le moment officiellement indiquée que dans le traitement  
31 des colites récurrentes à *Clostridioides difficile*. La littérature documentant l'effet du transfert  
32 de microbiote fécal dans les maladies métaboliques est en effet beaucoup moins abondante  
33 et réalisée sur des petits effectifs. Il a toutefois été montré que la TMF de donneurs sains à  
34 des patients obèses souffrant de syndrome métabolique améliorerait leur sensibilité à l'insuline  
35 de manière significative en dépit de la grande variabilité de réponse. Cette variabilité semble  
36 en grande partie dépendante de la différence de richesse entre le du microbiote du donneur  
37 et celui du receveur. À ce jour, l'impact du choix du donneur, du protocole de préparation, de  
38 conservation et d'administration de l'inoculum, ainsi que de l'éventuelle préparation du  
39 receveur sont à explorer.

40

41 mots clefs : microbiote, obésité, diabète de type 2, transplantation de microbiote fécal

42 Abstract

43 An imbalance of the gut microbiota composition or functions is frequently observed during  
44 obesity and metabolic diseases. Studies on rodents showed that the modulation of microbiota  
45 dysbiosis by various methods is associated with an improvement in metabolic parameters. In  
46 humans, dietary interventions or bariatric surgery are accompanied by changes in the  
47 composition of the microbiota. Fecal microbiota transfer is a promising therapeutic approach  
48 to change the composition of the gut microbiota, however, it is currently only officially indicated  
49 in the treatment of recurrent *Clostridioides difficile* colitis. Literature documenting the effect of  
50 faecal microbiota transplantation in metabolic diseases is much less abundant. Nevertheless,  
51 FMT from healthy donors to obese patients with metabolic syndrome significantly improves the  
52 insulin sensitivity of the recipients despite the large response variability. This variability seems  
53 to be mainly related to the difference in richness between the donor's microbiota and the  
54 recipient's microbiota. To date, the impact of the donor's choice, the protocol of preparation,  
55 storage and administration of the inoculum, as well as the possible preparation of the recipient  
56 are to be explored.

57

58 Key words : microbiota, obesity, type 2 diabetes, faecal microbiota transplantation

## 59 Introduction

60 Le rôle du microbiote dans la physiologie de son hôte est majeur, en effet, il régule de  
61 nombreuses fonctions. Les plus anciennement connues sont la régulation des fonctions  
62 immunitaires, sa contribution à la digestion des fibres et son effet barrière contre les  
63 pathogènes. Il a aussi été démontré qu'il produisait de nombreuses molécules ayant un impact  
64 sur le métabolisme de l'hôte (1) : les acides gras à chaîne courte, plusieurs vitamines et des  
65 acides biliaires secondaires pour n'en citer que quelques-uns. Le nombre des études montrant  
66 l'implication du microbiote intestinal dans la physiopathologie des maladies chroniques est en  
67 constante augmentation. Des altérations majeures de la composition du microbiote intestinal  
68 et de ses fonctions ont été observées en cas d'obésité et de maladies métaboliques telles que  
69 le diabète de type 2 (2–5), les dyslipidémies (6), les maladies cardiovasculaires (7) et la  
70 stéatose hépatique non alcoolique (8).

71 Chez la souris (9) comme chez l'Homme (10), l'obésité se caractérise par une diminution  
72 de la diversité du microbiote, c'est-à-dire une diminution du nombre d'espèces présentes par  
73 individu ainsi que du nombre de gènes du microbiote. Cette diminution de la diversité du  
74 microbiote est non seulement associée à un indice de masse corporel plus élevé mais aussi à  
75 l'insulino-résistance et à l'inflammation systémique de bas grade (4,5). Une diversité basse  
76 concerne 23 à 40 % des individus en surpoids ou en obésité modérée (4,5) et jusqu'à 75%  
77 des individus souffrant d'obésité sévère (11). Cette faible diversité est accompagné d'une  
78 augmentation de l'abondance de bactéries connues pour leur activité pro-inflammatoire et une  
79 diminution de celles connues pour leur activité anti-inflammatoire (4,5). L'insulino-résistance  
80 et le diabète de type 2 (DT2) sont quant à eux associés à une diminution des bactéries  
81 productrices de butyrate et d'*Akkermansia muciniphila*, en parallèle d'une augmentation des  
82 genres *Streptococcus*, *Dorea* et *Sutterella* (2,12,13). Par ailleurs, les individus atteints  
83 d'athérosclérose présentent une augmentation significative de l'abondance des  
84 *Enterobacteriaceae* et du genre *Streptococcus* par rapport aux individus en bonne santé (7).

85 Les altérations du microbiote intestinal en cas d'obésité et de maladies métaboliques sont  
86 abondamment documentées, néanmoins ces associations ne permettent pas de déterminer si  
87 ces altérations sont une cause ou une conséquence de la pathologie concernée (14). Le  
88 transfert de microbiote fécal de souris à souris et d'humain à souris a permis de montrer pour  
89 la plupart de ces pathologies que les altérations du microbiote n'étaient pas juste un  
90 phénomène concomitant à ces pathologies mais avait bel et bien un rôle causal. En effet, il a  
91 été possible de partiellement ou complètement transférer le phénotype des donneurs aux  
92 souris par transplantation de microbiote dans diverses pathologies, démontrant ainsi la  
93 contribution du microbiote dans la prise de masse grasse, le développement de l'intolérance  
94 au glucose, la stéatose hépatique, l'hypertension, la dyslipidémie et l'athérosclérose (15–20).

95 Cibler le microbiote intestinal semble dans ce contexte une approche à considérer afin  
96 d'étoffer l'arsenal thérapeutique contre l'obésité et tout particulièrement contre les maladies  
97 métaboliques associées à cette dernière.

98 Plusieurs types d'interventions améliorent les paramètres métaboliques tout en modulant  
99 la composition du microbiote. Par exemple, une étude a montré qu'un régime hypocalorique  
100 et enrichi en fibre, en plus d'une diminution du poids et une amélioration des altérations  
101 métaboliques, augmente significativement la richesse du microbiote, néanmoins uniquement  
102 chez les individus ayant initialement une diversité faible (5). La chirurgie bariatrique augmente  
103 elle aussi la diversité et modifie les proportions des taxa constituant le microbiote en  
104 association avec une perte de poids importante et une amélioration des paramètres  
105 métaboliques (11). L'administration de prébiotiques, c'est-à-dire de composés non digestibles  
106 par l'hôte mais métabolisables par le microbiote, diminue drastiquement le poids et l'insulino-  
107 résistance chez la souris (21), les résultats chez l'Homme sont plus nuancés tout en restant  
108 encourageants (22,23). En effet, les pertes de poids obtenues en administrant des  
109 prébiotiques chez l'Homme sont au mieux de l'ordre de seulement 3 à 4 % mais permettent  
110 jusqu'à 20 % de diminution de la lipémie et de l'hémoglobine glyquée (23–25). L'administration  
111 de probiotiques au sens strict du terme n'a pour l'instant pas été couronnée de succès comme

112 le montrent les résultats d'une méta-analyse (26), mais celle de bactéries ne répondant pas à  
113 la définition actuelle de probiotiques et isolées du microbiote humain a permis l'amélioration  
114 de la sensibilité à l'insuline (27). Le succès des transferts de phénotype par transferts de  
115 microbiote chez la souris a mené à la première étude pilote sur un petit effectif consistant à  
116 transférer le microbiote de donneurs sains à des receveurs atteints de syndrome métabolique  
117 en 2012 (28). Malgré les conclusions positives de cette étude, la transplantation de microbiote  
118 fécal (TMF) n'est pas encore une procédure recommandée dans la prise en charge des  
119 maladies métaboliques alors que c'est le cas pour le traitement des colites récidivante à  
120 *Clostridioides difficile* (anciennement appelé *Clostridium difficile* (29,30)).

121 Dans cette revue, nous décrivons comment la TMF est devenue de plus en plus largement  
122 utilisée suite à ses succès cliniques. Nous décrivons ensuite les évolutions technologiques de  
123 la TMF et quels sont les éléments permettant d'évaluer son efficacité dans l'obésité et les  
124 maladies métaboliques et enfin nous discuterons des facteurs pouvant impacter son efficacité.  
125

## 126 La transplantation de microbiote fécal chez l'Homme

### 127 La réussite dans le traitement des infections à *Clostridioides difficile*

128 La seule indication de la TMF en soin courant est l'infection à *Clostridioides difficile* (Cd)  
129 récidivant après plusieurs traitements antibiotiques (31–34). Cette pathologie apparaît suite à  
130 des perturbations majeures du microbiote intestinal, dans la majorité des cas suite à un  
131 déséquilibre du microbiote intestinal causé par plusieurs traitements antibiotiques visant une  
132 autre pathologie infectieuse. Le nombre d'espèces présentes dans le microbiote des patients  
133 atteints d'infection récidivante à Cd est diminuée d'environ 40 % par rapport aux individus sains  
134 (35). L'abondance de plusieurs genres bactériens constitutifs du "core microbiome", c'est-à-  
135 dire l'ensemble des espèces présentes chez tous les individus sains, est considérablement  
136 diminuée (36). La TMF restaure la diversité du microbiote intestinal ainsi que son effet barrière  
137 contre la colonisation par des pathogènes et permet ainsi une amélioration clinique dans 80 à

138 90 % des cas et une rémission complète un mois après l'intervention dans 60 % des cas (37–  
139 39). La TMF s'est en effet révélée efficace au point de mener à l'interruption prématurée du  
140 premier essai clinique randomisé étant donné sa supériorité par rapport au traitement de  
141 référence par vancomycine, qui ne permettait que 25 à 30 % de rémission (37). Ces résultats  
142 ont par la suite été confirmés dans d'autres études cliniques randomisées (33,40–42) ainsi  
143 que par une méta-analyse (43). La TMF est aujourd'hui incluse dans les recommandations de  
144 prise en charge des infections récurrentes à Cd (44–46). Un panel d'experts a publié un  
145 consensus formalisé des recommandations de mise en œuvre de la TMF dans le traitement  
146 des infections récurrentes à Cd (47) ainsi que des directives concernant les exigences  
147 techniques, réglementaires et administratives pour une utilisation optimale de la TMF (48).

148 Le succès de la TMF dans le traitement des infections à Cd a ouvert la voie à de nombreuses  
149 études cliniques testant l'efficacité de cette technique dans d'autres pathologies caractérisées  
150 par une dysfonction du microbiote intestinal telles que le syndrome du colon irritable (49,50),  
151 la maladie de Crohn (51) et la réaction du greffon contre l'hôte (52).

152

### 153 Voies et modalités d'administration de la TMF

154 La TMF a initialement été et est toujours dans la majorité des cas préparée avec des  
155 selles émises depuis moins de 24h et administrée soit par voie haute via un sonde  
156 nasoduodénale soit par voie basse via une colonoscopie ou un lavement. L'administration par  
157 un sonde nasoduodénale peut être précédée par une préparation colique avec une solution  
158 de lavage de polyéthylène glycol (PEG) ou de phosphate de sodium. Plusieurs administrations  
159 peuvent être nécessaires selon les cas et la pathologie concernée (50). Les selles sont diluées  
160 d'un facteur 2 à 5 dans une solution isotonique selon le degré d'hydratation initial des selles  
161 puis filtrées. La quantité de selles administrée est variable selon les études et les pathologies  
162 et va ainsi de 15 à 100 grammes (53). Plus récemment, des essais ont été réalisés à partir de  
163 selles congelées avec des cryoprotectants et/ou administrées sous forme de gélules afin de



164 faciliter les procédures en soin courant (54,55). Dans le cadre du traitement des infections à  
165 Cd, une étude a montré que les TMF administrées sous forme de gélules sont aussi efficaces  
166 que les voies classiques (56). Une autre étude durant laquelle les patients ont reçu 15 gélules  
167 congelées sur deux jours, soit environ 20 grammes de selles, a obtenu un taux de rémission  
168 de 86% après une première TMF et de 100 % après une deuxième (57). L'administration de la  
169 TMF par gélules congelées, conservables plusieurs mois après leur préparation, est d'autant  
170 plus intéressante qu'elle diminue grandement les difficultés de mise place par rapport au  
171 traitement par voie endoscopique.

172

### 173 Les complications de la TMF

174 Deux types de complications sont à craindre : celles liées à la procédure en elle-même  
175 et celles liés à la transmission d'une pathologie infectieuse du donneur au receveur.  
176 Néanmoins, la plupart des études ont constaté une très bonne tolérance de la TMF aussi bien  
177 à court qu'à long terme : les effets indésirables sont rares et sont majoritairement la  
178 conséquence de la pathologie initiale plutôt que de la TMF en elle-même (58,59) chez des  
179 patients fragiles. En ce qui concerne les complications liées à la procédure, les énémas n'ont  
180 pas été associés à des effets indésirables. Par contre, l'administration des selles par sonde  
181 nasoduodénale a mené à quelques cas de saignements intestinaux et de péritonites (60). Une  
182 méta-analyse incluant plus de 1000 patients ayant reçu une TMF par colonoscopie ou par  
183 sonde nasoduodénale a constaté que 0.97 % des patients avaient été victime d'une  
184 complication menant à une hospitalisation. Un patient est décédé suite à l'inhalation de  
185 contenu gastrique lors de l'anesthésie générale (58). Un autre décès est probablement la  
186 conséquence d'une pneumopathie causée par un reflux pendant l'administration de la TMF  
187 par sonde nasoduodénale (61). Les autres effets indésirables liés à la procédure ayant été  
188 documentés sont bénins et transitoires, tels que des ballonnements, des diarrhées, des  
189 flatulences, des douleurs abdominales voire des vomissements (62,63).

190 Les selles peuvent véhiculer des agents infectieux, un dépistage minutieux est donc  
191 indispensable. Ceci est d'autant plus à souligner que récemment deux cas de septicémie, dont  
192 un fatal, ont été rapporté chez des patients immunodéprimés ayant reçu une TMF par ingestion  
193 de gélules aux États-Unis (64). Ces deux patients ont développé une infection à *Escherichia*  
194 *coli* ST-131 O25B, un sérotype connu pour être porteur d'un plasmide lui conférant une  
195 résistance à de multiples antibiotiques. Le donneur s'est par la suite révélé être porteur de la  
196 souche isolée chez les deux patients. Il faut souligner que la recherche de bactéries antibio-  
197 résistantes dans les selles du donneur n'avait pas été effectuée préalablement au don de  
198 selles. La recherche systématique de bactéries résistantes aux antibiotiques fait partie du  
199 circuit de sélection des donneurs de selles en France depuis 2015 recommandées par l'ANSM  
200 (53) et fait partie des recommandations internationales publiées en Novembre 2019 (65).

201 La transmission de *Blastocystis* a été récemment observée, sans pour autant que les  
202 patients ne développent de symptômes associés (66). La recherche de *Blastocystis* dans les  
203 selles des donneurs n'est pas systématique et se fait généralement par observation  
204 microscopique, une technique menant à plus de faux négatifs que le dépistage par PCR. Ce  
205 protozoaire est retrouvé dans les selles de 15 à 20 % de la population en France, sans  
206 symptômes associés, son statut de parasite ou de commensal est encore discuté, ce qui  
207 explique l'absence de dépistage systématique.

208 En conclusion, la sélection minutieuse des donneurs assure la sécurité de la TMF (47),  
209 qui s'avère dans ce cas extrêmement sûre. En parallèle, le développement de l'administration  
210 des TMF par gélule permet de s'affranchir des risques liés à l'administration par sonde  
211 nasoduodénale ou par colonoscopie.

212

## 213 La TMF, l'obésité et les maladies métaboliques

214 Une amélioration du métabolisme chez l'Homme ?

215 Le microbiote influence aussi bien positivement que négativement le métabolisme  
216 énergétique de son hôte par de nombreux mécanismes qui ont déjà été abondamment  
217 discutés (67) : la production d'acides gras à chaîne courte (AGCC), la diminution ou  
218 l'augmentation de l'inflammation systémique ou la modification du profil d'acides biliaires pour  
219 n'en citer que quelques-uns (68). La première étude pilote sur la TMF dans les maladies  
220 métaboliques comportait 9 patients en surpoids ou obèses et atteints du syndrome  
221 métabolique. Ces patients ont reçu les selles de donneurs minces et métaboliquement sains  
222 par sonde nasoduodénale et ont présenté une amélioration de leur sensibilité à l'insuline 6  
223 semaines plus tard (28). Ces résultats positifs sur la sensibilité à l'insuline ont été reproduits  
224 par le même groupe dans une cohorte de 26 patients, accompagnés d'une diminution faible  
225 mais significative de l'Hba1c 6 semaines après la TMF (69). Il est à noter que les patients  
226 étaient insulino-résistants mais ne souffraient pas de diabète de type 2, leur HbA1c initiale  
227 n'était donc que discrètement élevée. Une réduction plus importante chez des patients  
228 diabétiques ayant un mauvais contrôle glycémique est à supposer. Réciproquement, le même  
229 groupe de recherche a montré que la TMF à partir de donneurs souffrant de syndrome  
230 métabolique causait une détérioration de la sensibilité à l'insuline des receveurs (70). Ces trois  
231 études soulignent également la disparité de réponse à la TMF des receveurs : certains ont  
232 gardé des paramètres métaboliques stables tandis que d'autres présentaient une nette  
233 variation.

234 Une quatrième étude sur la TMF d'humain à humain dans le cadre des maladies  
235 métaboliques portait sur le développement de l'athérosclérose (71). Certaines bactéries du  
236 microbiote intestinal ont en effet la capacité de convertir la choline et la L-carnitine, des  
237 nutriments d'origine animale, en triméthylamine (TMA), elle-même convertie par l'hôte en  
238 oxyde de TMA (TMAO). Ce dernier a une action pro-inflammatoire et pro-athérogène (72). Un  
239 régime végétalien est associé à une plus faible abondance des bactéries productrices de TMA  
240 et à des taux circulants de TMAO plus faibles. Les auteurs de cette étude ont donc effectué  
241 une TMF de donneurs végétaliens à 10 receveurs souffrant de syndrome métabolique (73)

242 mais n'ont pas constaté de changement du taux de TMAO et des marqueurs d'inflammation  
243 vasculaires. La TMF n'était pas associée à une intervention nutritionnelle chez les receveurs,  
244 ce qui pourrait expliquer l'absence de modifications durables des fonctions du microbiote des  
245 receveurs.

246 La dernière étude de TMF a été publiée en Juillet 2019 et décrit la TMF d'un donneur  
247 mince à 11 receveurs obèses sans syndrome métabolique par administration de gélules en  
248 deux prises séparées de 8 semaines. Smits *et al* n'ont pas constaté de perte de poids chez  
249 les receveurs mais rapportent que la composition de microbiote des receveurs était plus  
250 proche de celle du donneur après transfert qu'elle ne l'était au début de l'étude.

251

252 Impact de la TMF sur le poids ?

253 Les TMF sur les modèles murins ont largement démontré le caractère transmissible de  
254 paramètres métaboliques tels que la glycémie, le degré de stéatose hépatique, l'insulino-  
255 résistance, la cholestérolémie, etc. (15,16,19,74). Les études visant à transférer le niveau  
256 d'obésité ont donné des résultats plus mitigés. En effet, certaines études rapportent un  
257 transfert partiel du poids lors de transferts de souris ou d'humains obèses à des souris  
258 (18,75,76), tandis que d'autres ont constaté que le poids des souris receveuses n'était pas  
259 influencé par celui des donneurs (17,77). Les différences de méthodologie dans ces différentes  
260 études étaient considérables ce qui rend les résultats difficilement comparables. En effet,  
261 certaines concernent les TMF de l'Homme à la souris et d'autres rapportent les données des  
262 transferts de souris à souris. Les lignées de souris receveuses ne sont également pas les  
263 mêmes puisque certaines sont réalisées avec des souris C57Bl6J, une lignée consanguine  
264 connue pour sa susceptibilité au développement de l'obésité, tandis que d'autres ont été  
265 réalisées avec la lignée Swiss Webster, une lignée non consanguine à la réponse nettement  
266 plus variable (75,76). Certaines souris receveuses ont reçu un régime pauvre en lipides tandis

267 que d'autres ont reçu un régime hyper-lipidique. Enfin, la durée allouée à l'implantation du  
268 microbiote et au développement du phénotype allait de 2 à 10 semaines (17,18,76).

269 Chez l'Homme, les quatre études dans lesquelles des patients en surpoids ou obèses ont reçu  
270 une TMF de donneurs minces n'ont pas rapporté de perte de poids significatives des receveurs  
271 (28,69,73). Une cinquième étude s'est appuyée sur des résultats précliniques obtenus montrant  
272 que le transfert de donneurs humains ou murins ayant subi une chirurgie bariatrique à des  
273 souris induisait une perte de poids chez ces dernières (76,78). La TMF de donneurs ayant  
274 maigri de manière significative suite à une chirurgie bariatrique à ces patients obèses atteints  
275 de syndrome métabolique n'a toutefois pas induit de perte de poids en dépit d'une modification  
276 du temps de transit et de certains métabolites sanguins d'origine bactérienne (70).

277 Il n'y a donc à l'heure actuelle pas de preuve que la TMF de donneurs minces à des receveurs  
278 en surpoids puisse induire une perte de poids significative. Bien qu'initialement décevant, cette  
279 absence d'impact de la TMF sur le poids de receveurs en surpoids ou obèse n'invalide pas le  
280 concept selon lequel le microbiote intestinal est un élément environnemental contribuant à la  
281 régulation du poids, mais souligne plutôt qu'il est nécessaire d'étudier les facteurs déterminant  
282 l'efficacité de la TMF, ce que nous allons discuter par la suite.

283

284 Les limites actuelles de la TMF chez l'Homme dans le cadre des maladies  
285 métaboliques

286 En plus de l'absence d'effet significatif sur le poids, les premières études  
287 précédemment citées indiquent que l'effet de la TMF sur le métabolisme est transitoire. En  
288 effet, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline est observable 6 semaines après la TMF mais  
289 pas 18 semaines après. De manière intéressante, ces variations temporelles du métabolisme  
290 glucidique correspondent à celles de composition du microbiote intestinal des receveurs. En  
291 effet, 6 semaines après le transfert, la composition du microbiote des receveurs était  
292 significativement impactée par la TMF, avant un retour à sa composition initiale 12 semaines

293 plus tard (79). La résilience du microbiote intestinal, c'est à dire sa capacité à revenir à sa  
294 composition initiale, est une caractéristique connue de celui-ci. Elle bénéficie généralement à  
295 son hôte mais constitue un frein au succès de la TMF en tant que traitement des maladies  
296 chroniques en particulier les maladies métaboliques.

297 Un autre élément important mis en évidence par ces premières études est la variabilité  
298 de réponse des receveurs. En effet, les deux premières indiquent que 4 receveurs sur 9, puis  
299 13 sur 26 ont eu une augmentation de plus de 10% de la vitesse de captation périphérique du  
300 glucose, ce qui indique une amélioration substantielle de la sensibilité à l'insuline (28,69), alors  
301 que les autres receveurs avaient peu répondu à la TMF. Indépendamment des paramètres  
302 métaboliques des receveurs, il a été montré qu'il existait une forte variabilité de l'implantation  
303 du microbiote du donneur chez le receveur (69,79), probablement à mettre en lien avec la  
304 composition du microbiote des donneurs et des receveurs.

305 Ces notions de résilience du microbiote intestinal et de bon et mauvais répondeur  
306 indiquent que le taux de succès de la TMF dans le traitement des maladies métaboliques est  
307 difficile à prévoir et n'est pas comparable aux 90% de succès obtenus dans le traitement des  
308 infections à Cd. Ce constat est basé sur l'utilisation de protocoles identiques c'est-à-dire une  
309 seule TMF sans appariement du donneur et du receveur et avec une préparation du receveur  
310 minimale. Il est donc important de mieux comprendre les déterminants de l'efficacité de la TMF  
311 afin d'optimiser les bénéfices cliniques qui pourraient être obtenus dans le futur.

312

## 313 Les déterminants potentiels de l'efficacité de la TMF

### 314 La préparation de l'inoculum

315 Dans le cas des infections à Cd, la TMF vise à restaurer la fonction barrière du  
316 microbiote intestinal tandis que dans le cas du traitement des maladies métaboliques, son  
317 objectif est de remplacer un écosystème dysfonctionnel par un écosystème sain. De grandes

318 variations dans le protocole de préparation de l'inoculum (quantité, aérobiose ou anaérobiose,  
319 diluant, durée de conservation, congélation, lyophilisation) ont peu d'impact sur l'efficacité du  
320 rétablissement de la fonction barrière mais pourraient en avoir sur la capacité de l'inoculum à  
321 changer la structure de l'écosystème intestinal. Ce dernier est majoritairement composé de  
322 bactéries anaérobies strictes, dont les 2/3 ne sont toujours pas cultivées (80). Ceci indique que  
323 les conditions permettant de préserver leur viabilité, voire étant favorables à leur croissance,  
324 ne sont pas facilement obtenues. Staley *et al* rapportent que la dilution des selles en aérobiose  
325 dans une solution saline contenant 5 ou 10% de tréhalose suivie d'une congélation et d'une  
326 lyophilisation des selles permet de préserver l'intégrité membranaire de 56 % des bactéries,  
327 ce qui n'est pas le cas d'une solution de 5 ou 10 % de mannitol qui ne permet de conserver  
328 l'intégrité membranaire que de 30 % des bactéries (81). Burz *et al* ont quant à eux constaté  
329 que la dilution des selles en anaérobiose permet de préserver l'intégrité membranaire de 75  
330 % des bactéries, et ce sans influence de la composition de la solution utilisée pour réaliser la  
331 dilution : 0,9 % NaCl ou maltodextrine et tréhalose en différentes proportions (82). Ce  
332 pourcentage de viabilité était très peu affecté par la congélation à -80°C en présence de  
333 cryoprotectant mais chutait à 24 % lorsque les selles étaient congelées dans du NaCl 0,9%.  
334 L'anaérobiose et la présence de cryoprotectants efficaces augmente donc significativement la  
335 viabilité des bactéries de l'inoculum. Néanmoins, les conséquences de ces différences de  
336 viabilité sur la capacité du microbiote du donneur à coloniser le receveur n'a pas encore été  
337 étudiée.

338

339 La composition initiale du microbiote des receveurs

340 La première étude de TMF de donneurs minces à des patients souffrant d'un syndrome  
341 métabolique a montré qu'une augmentation significative de la diversité du microbiote était  
342 observée après la TMF (28). Par la suite, la deuxième étude du même groupe sur 26 patients  
343 a montré que les patient ayant initialement la diversité microbienne la plus basse étaient ceux

344 qui avaient le mieux répondu l'intervention (69). De manière intéressante il a été montré sur  
345 modèle murin qu'une diversité microbienne initiale faible, inférieure à celle du donneur, est  
346 associé à une meilleure implantation du microbiote du donneur (83). Inversement, une diversité  
347 initiale plus élevée que celle du donneur était moins favorable à l'implantation du microbiote  
348 du donneur. Il semblerait donc, comme cela a déjà été suggéré (84), qu'un microbiote initial  
349 plus riche et diversifié soit moins plastique et moins facilement modifié, par la TMF dans le cas  
350 présent, qu'un microbiote appauvri. La concentration en bactéries par gramme de selles est  
351 une autre caractéristique du microbiote variable d'un individu à l'autre (85) et qui pourrait être  
352 lié à l'effet barrière du microbiote initial contre l'implantation du microbiote du donneur mais ce  
353 point n'a pas encore été étudié.

354

#### 355 La composition du microbiote des donneurs

356 La différence de richesse du microbiote du donneur et du receveur a donc  
357 probablement un impact important sur l'implantation des bactéries du donneur. Dans le cadre  
358 des essais de traitements des maladies inflammatoires de l'intestin par TMF, il a été constaté  
359 des différences d'efficacité entre les donneurs. Par exemple, Moayyedi et al ont effectué des  
360 TMF sur 38 patients souffrant de rectocolite hémorragique à partir de 4 donneurs et ont  
361 constaté que 7 des 9 patients entrés en rémission ont reçu les selles d'un seul donneur (86).  
362 Ceci a mené à « pooler » les selles de plusieurs donneurs dans un même inoculum afin de  
363 diminuer la probabilité qu'un patient reçoive un inoculum inefficace. Une cohorte de 85 patients  
364 atteints de rectocolite hémorragique a reçu des pools de 4 donneurs et il s'est avéré que les  
365 receveurs des pools contenant un donneur en particulier avaient un taux de rémission deux  
366 fois plus élevé que ceux ayant reçu des pools ne contenant pas les selles de ce donneur (87).  
367 L'existence de ce type de "super-donneur" n'a pas été documentée dans le cadre des maladies  
368 métaboliques, néanmoins les études publiées à ce jour ne détaillent pas les modalités  
369 d'appariement entre les donneurs et les receveurs. Il a par la suite été montré que les donneurs



370 ayant la diversité microbienne la plus élevée en association avec une plus grande abondance  
371 d'*Akkermansia muciniphila* et de *Ruminococcaceae* étaient associé au taux de rémission des  
372 maladies inflammatoires de l'intestin (88,89).

373

#### 374 La prise de médicaments et le régime alimentaire

375 Les médicaments utilisés dans le traitement des maladies métaboliques, comme la metformine  
376 pour le diabète de type 2 et les statines pour les dyslipidémies, ont une influence sur la  
377 composition du microbiote intestinal (90) et peuvent potentiellement impacter l'implantation du  
378 microbiote du donneur. La metformine induit une diminution du genre *Intestinibacter* et une  
379 augmentation des genres bactériens comme *Butyricimonas*, *Parabacteroides*, *Escherichia* et  
380 *Akkermansia*, ce dernier ayant un effet bénéfique démontré (24,84–87). De même, les statines  
381 augmentent la diversité du microbiote tout en influant sur l'abondance de plusieurs taxa.  
382 L'impact sur le microbiote dépend partiellement de la statine utilisée : la pravastatine et  
383 l'atorvastatine diminuent l'abondance des genres *Roseburia* et *Lachnosplostridium* mais seule  
384 l'atorvastatine diminue l'abondance des genres *Oscillibacter*, *Alistipes* et *Blautia* (95). Ces deux  
385 classes de médicaments sont très largement prescrites aux patients atteints de maladies  
386 métaboliques, il sera important de prendre en compte ces traitements dans l'interprétation des  
387 résultats des études de TMF.

388 Les habitudes alimentaires sont un déterminant majeur de l'abondance des différentes  
389 bactéries du microbiote intestinal ainsi que de sa richesse (96,97). Des changements du régime  
390 alimentaire se répercutent sur la composition du microbiote intestinal à très court terme. En  
391 effet, le passage d'un régime diversifié à un régime végétalien ou majoritairement carné  
392 modifie significativement la diversité  $\beta$  en 48h (96,98). Il est donc probable que les différences  
393 de régime alimentaire entre le donneur et le receveur de microbiote ne soient pas anodines  
394 sur l'implantation du microbiote du donneur. Ceci est à l'heure actuelle soutenu par des  
395 données obtenues sur modèle murin par une étude dans laquelle le microbiote de jumeaux de

396 corpulence discordante a été implanté chez des souris axéniques soumises à différents  
397 régimes (18). Les souris colonisées par le microbiote des jumeaux minces avaient une  
398 adiposité plus faible que les souris colonisées par le microbiote des jumeaux obèses  
399 lorsqu'elles recevaient un régime pauvre en lipides et riche en fibres mais pas lorsqu'elles  
400 recevaient le régime riche en lipides saturés et pauvre en fibres. De même, l'étude portant sur  
401 la TMF de donneurs végétaliens à des receveurs omnivores a montré que, sans changement  
402 du régime alimentaire des receveurs, la capacité du microbiote à produire du TMAO était  
403 rétablie en deux semaines (73).

404 Tout comme la prise de médicaments, les habitudes alimentaires aussi bien du receveur que  
405 du donneur seront à prendre en compte dans l'évaluation de l'efficacité des TMF afin de mettre  
406 en place des recommandations permettant de maximiser son efficacité.

407

## 408 Conclusion et Perspectives

409 En l'état actuel des connaissances, il apparaît que la TMF a un effet bénéfique sur le  
410 métabolisme glucidique mais pas sur la perte de poids lorsqu'elle est effectuée selon les  
411 mêmes modalités que dans le traitement des infections à Cd, c'est-à-dire une seule TMF sans  
412 appariement du donneur et du receveur. L'efficacité est variable selon les patients et est très  
413 probablement à mettre en lien avec la composition du microbiote du donneur et du receveur.  
414 En effet, il semble que la capacité de colonisation du microbiote du donneur dépasse la  
415 résistance à l'implantation d'un nouveau microbiote chez le receveur lorsque le donneur a un  
416 microbiote plus riche que le receveur.

417 Il reste de nombreuses zones d'ombre à explorer afin d'améliorer l'efficacité de la TMF et  
418 d'évaluer le potentiel de cette approche thérapeutique dans le traitement des maladies  
419 métaboliques. En effet, à ce jour l'impact du protocole de préparation de l'inoculum, du nombre  
420 et des modalités de son administration, de l'appariement donneur-receveur et d'une  
421 intervention nutritionnelle ou médicamenteuse concomitante à la TMF sont inconnus.

422

## 423 Remerciements

424 Les travaux de l'équipe sur cette thématique ont obtenu le soutien financier du Ministère de la  
425 santé et de la solidarité (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris: à JAW/ PHRC-N Drifter, à  
426 KC/PHRC Microbaria), de l'Union Européenne (Metacardis HEALTH-F4-2012-305312 à KC,  
427 JPI MICRODIET Grant (5290510105) et EU Horizon 2020 grant (LITMUS 777377) à KC) et  
428 de la fondation LeDucq bourse (17CVD01) à KC et le prix scientifique jeune chercheur de la  
429 fondation Bettencourt Schueller à JAW.

430

## 431 Conflits d'intérêt

432 K.C. est membre du conseil scientifique indépendant de LNC-Therapeutics.

433

434

## 435 Références

- 436 1. Cani PD. Microbiota and metabolites in metabolic diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2019 Feb  
437 1;15(2):69–70.
- 438 2. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut  
439 metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature.*  
440 2013 Jun 6;498(7452):99–103.
- 441 3. Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, Hyotylainen T, Nielsen T, Jensen BAH, et al.  
442 Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature.* 2016 Jul  
443 21;535(7612):376–81.
- 444 4. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut  
445 microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* 2013 Aug 29;500(7464):541–6.
- 446 5. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention  
447 impact on gut microbial gene richness. *Nature.* 2013 Aug 29;500(7464):585–8.
- 448 6. Fu J, Bonder MJ, Cenit MC, Tigchelaar E, Maatman A, Dekens JAM, et al. The Gut Microbiome  
449 Contributes to a Substantial Proportion of the Variation in Blood Lipids. *Circ Res.* 2015 Sep 10;

- 450 7. Jie Z, Xia H, Zhong S-L, Feng Q, Li S, Liang S, et al. The gut microbiome in atherosclerotic  
451 cardiovascular disease. *Nat Commun.* 2017 Oct 10;8(1):845.
- 452 8. Kim H-N, Joo E-J, Cheong HS, Kim Y, Kim H-L, Shin H, et al. Gut Microbiota and Risk of Persistent  
453 Nonalcoholic Fatty Liver Diseases. *J Clin Med.* 2019 Jul 24;8(8):1089.
- 454 9. Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but  
455 reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe.* 2008 Apr  
456 17;3(4):213–23.
- 457 10. Yatsunenکو T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human  
458 gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012 Jun 14;486(7402):222–7.
- 459 11. Aron-Wisnewsky J, Prifti E, Belda E, Ichou F, Kayser BD, Dao MC, et al. Major microbiota  
460 dysbiosis in severe obesity: fate after bariatric surgery. *Gut.* 2018 Jun 13;
- 461 12. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut  
462 microbiota in type 2 diabetes. *Nature.* 2012 Oct 4;490(7418):55–60.
- 463 13. Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, Jensen BAH, Damgaard MTF, Bahl MI, et al. Aberrant intestinal  
464 microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia.* 2018;61(4):810–20.
- 465 14. Aydin Ö, Nieuwdorp M, Gerdes V. The Gut Microbiome as a Target for the Treatment of Type 2  
466 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 2018 Jun 21;18(8):55.
- 467 15. Le Roy T, Llopis M, Lepage P, Bruneau A, Rabot S, Bevilacqua C, et al. Intestinal microbiota  
468 determines development of non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Gut.* 2013 Nov  
469 7;62(12):1787.
- 470 16. Gregory JC, Buffa JA, Org E, Wang Z, Levison BS, Zhu W, et al. Transmission of Atherosclerosis  
471 Susceptibility with Gut Microbial Transplantation. *J Biol Chem.* 2015 Feb 27;290(9):5647–60.
- 472 17. Rabot S, Membrez M, Blancher F, Berger B, Moine D, Krause L, et al. High fat diet drives obesity  
473 regardless the composition of gut microbiota in mice. *Sci Rep.* 2016 Aug 31;6:32484–32484.
- 474 18. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins  
475 discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.* 2013 Sep 6;341(6150):1241214.
- 476 19. Li J, Zhao F, Wang Y, Chen J, Tao J, Tian G, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the  
477 development of hypertension. *Microbiome.* 2017 Feb 1;5(1):14.
- 478 20. Le Roy T, Lécuyer E, Chassaing B, Rhimi M, Lhomme M, Boudebbouze S, et al. The intestinal  
479 microbiota regulates host cholesterol homeostasis. *BMC Biol.* 2019 Nov 27;17(1):94.
- 480 21. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut  
481 microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven  
482 improvement of gut permeability. *Gut.* 2009 Aug;58(8):1091–103.
- 483 22. Dewulf EM, Cani PD, Claus SP, Fuentes S, Puylaert PG, Neyrinck AM, et al. Insight into the  
484 prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type  
485 fructans in obese women. *Gut.* 2013 Aug 1;62(8):1112.

- 486 23. Nicolucci AC, Hume MP, Martínez I, Mayengbam S, Walter J, Reimer RA. Prebiotics Reduce Body  
487 Fat and Alter Intestinal Microbiota in Children Who Are Overweight or With Obesity.  
488 *Gastroenterology*. 2017 Sep 1;153(3):711–22.
- 489 24. Zhao L, Zhang F, Ding X, Wu G, Lam YY, Wang X, et al. Gut bacteria selectively promoted by  
490 dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*. 2018 Mar 9;359(6380):1151.
- 491 25. Canfora EE, van der Beek CM, Hermes GDA, Goossens GH, Jocken JWE, Holst JJ, et al.  
492 Supplementation of Diet With Galacto-oligosaccharides Increases Bifidobacteria, but Not  
493 Insulin Sensitivity, in Obese Prediabetic Individuals. *Gastroenterology*. 2017 Jul 1;153(1):87-  
494 97.e3.
- 495 26. Koutnikova H, Genser B, Monteiro-Sepulveda M, Faurie J-M, Rizkalla S, Schrezenmeir J, et al.  
496 Impact of bacterial probiotics on obesity, diabetes and non-alcoholic fatty liver disease related  
497 variables: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ Open*.  
498 2019 Mar 30;9(3):e017995.
- 499 27. Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, et al. Supplementation  
500 with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept  
501 exploratory study. *Nat Med*. 2019 Jul 1;25(7):1096–103.
- 502 28. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, Bartelsman JFWM, et al. Transfer of  
503 intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic  
504 syndrome. *Gastroenterology*. 2012 Oct;143(4):913-916.e7.
- 505 29. Lawson PA, Citron DM, Tyrrell KL, Finegold SM. Reclassification of *Clostridium difficile* as  
506 *Clostridioides difficile* (Hall and O’Toole 1935) Prévot 1938. *Anaerobe*. 2016 Aug 1;40:95–9.
- 507 30. Oren A, Garrity GM. List of new names and new combinations previously effectively, but not  
508 validly, published. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2017 Sep;67(9):3140–3.
- 509 31. Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, Kanatzar A, Kelly C, Park T, et al. Long-term follow-up of  
510 colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J*  
511 *Gastroenterol*. 2012 Jul;107(7):1079–87.
- 512 32. Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for  
513 transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J*  
514 *Gastroenterol*. 2012 May;107(5):761–7.
- 515 33. Kelly CR, de Leon L, Jasutkar N. Fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium*  
516 *difficile* infection in 26 patients: methodology and results. *J Clin Gastroenterol*. 2012  
517 Feb;46(2):145–9.
- 518 34. Mattila E, Uusitalo-Seppälä R, Wuorela M, Lehtola L, Nurmi H, Ristikankare M, et al. Fecal  
519 transplantation, through colonoscopy, is effective therapy for recurrent *Clostridium difficile*  
520 infection. *Gastroenterology*. 2012 Mar;142(3):490–6.
- 521 35. Milani C, Ticinesi A, Gerritsen J, Nouvenne A, Lugli GA, Mancabelli L, et al. Gut microbiota  
522 composition and *Clostridium difficile* infection in hospitalized elderly individuals: a  
523 metagenomic study. *Sci Rep*. 2016 May 11;6(1):25945.

- 524 36. Han S-H, Yi J, Kim J-H, Lee S, Moon H-W. Composition of gut microbiota in patients with  
525 toxigenic Clostridioides (Clostridium) difficile: Comparison between subgroups according to  
526 clinical criteria and toxin gene load. PLOS ONE. 2019 Feb 20;14(2):e0212626.
- 527 37. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal  
528 Infusion of Donor Feces for Recurrent Clostridium difficile. N Engl J Med. 2013 Jan  
529 16;368(5):407–15.
- 530 38. Cui B, Feng Q, Wang H, Wang M, Peng Z, Li P, et al. Fecal microbiota transplantation through  
531 mid-gut for refractory Crohn’s disease: safety, feasibility, and efficacy trial results. J  
532 Gastroenterol Hepatol. 2015 Jan;30(1):51–8.
- 533 39. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation  
534 (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. Clin Infect Dis Off Publ Infect  
535 Dis Soc Am. 2011 Nov;53(10):994–1002.
- 536 40. Youngster I, Sauk J, Pindar C, Wilson RG, Kaplan JL, Smith MB, et al. Fecal microbiota transplant  
537 for relapsing Clostridium difficile infection using a frozen inoculum from unrelated donors: a  
538 randomized, open-label, controlled pilot study. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2014  
539 Jun;58(11):1515–22.
- 540 41. Cammarota G, Masucci L, Ianaro G, Bibbò S, Dinoi G, Costamagna G, et al. Randomised clinical  
541 trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of  
542 recurrent Clostridium difficile infection. Aliment Pharmacol Ther. 2015 May;41(9):835–43.
- 543 42. Lee CH, Steiner T, Petrof EO, Smieja M, Roscoe D, Nematallah A, et al. Frozen vs Fresh Fecal  
544 Microbiota Transplantation and Clinical Resolution of Diarrhea in Patients With Recurrent  
545 Clostridium difficile Infection: A Randomized Clinical Trial. JAMA. 2016 Jan 12;315(2):142–9.
- 546 43. Quraishi MN, Widlak M, Bhala N, Moore D, Price M, Sharma N, et al. Systematic review with  
547 meta-analysis: the efficacy of faecal microbiota transplantation for the treatment of recurrent  
548 and refractory Clostridium difficile infection. Aliment Pharmacol Ther. 2017;46(5):479–93.
- 549 44. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines  
550 for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. Am J Gastroenterol.  
551 2013 Apr;108(4):478–98; quiz 499.
- 552 45. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ, European Society of Clinical Microbiology and Infectious  
553 Diseases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the  
554 treatment guidance document for Clostridium difficile infection. Clin Microbiol Infect Off Publ  
555 Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 2014 Mar;20 Suppl 2:1–26.
- 556 46. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, Bakken JS, Carroll KC, Coffin SE, et al. Clinical Practice  
557 Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults and Children: 2017 Update by the  
558 Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of  
559 America (SHEA). Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2018 Mar 19;66(7):987–94.
- 560 47. König J, Siebenhaar A, Högenauer C, Arkkila P, Nieuwdorp M, Norén T, et al. Consensus report:  
561 faecal microbiota transfer - clinical applications and procedures. Aliment Pharmacol Ther.  
562 2017;45(2):222–39.

- 563 48. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et al. European  
564 consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*.  
565 2017;66(4):569–80.
- 566 49. Borody TJ, Paramsothy S, Agrawal G. Fecal microbiota transplantation: indications, methods,  
567 evidence, and future directions. *Curr Gastroenterol Rep*. 2013 Aug;15(8):337.
- 568 50. Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the  
569 management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012 Sep;36(6):503–16.
- 570 51. Zhang F-M, Wang H-G, Wang M, Cui B-T, Fan Z-N, Ji G-Z. Fecal microbiota transplantation for  
571 severe enterocolonic fistulizing Crohn’s disease. *World J Gastroenterol*. 2013 Nov  
572 7;19(41):7213–6.
- 573 52. Qi X, Li X, Zhao Y, Wu X, Chen F, Ma X, et al. Treating Steroid Refractory Intestinal Acute Graft-  
574 vs.-Host Disease With Fecal Microbiota Transplantation: A Pilot Study. *Front Immunol*.  
575 2018;9:2195.
- 576 53. Sokol H, Galperine T, Kapel N, Bourlioux P, Seksik P, Barbut F, et al. Transplantation de  
577 microbiote fécal dans le cadre des infections à *Clostridium difficile* récidivantes :  
578 recommandations pour la pratique clinique courante. *Hépatogastro*. 2015 Apr;287–90.
- 579 54. Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, capsulized, frozen fecal  
580 microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA*. 2014 Nov  
581 5;312(17):1772–8.
- 582 55. Bircher L, Schwab C, Geirnaert A, Lacroix C. Cryopreservation of artificial gut microbiota  
583 produced with in vitro fermentation technology. *Microb Biotechnol*. 2018;11(1):163–75.
- 584 56. Kao D, Roach B, Silva M, Beck P, Rioux K, Kaplan GG, et al. Effect of Oral Capsule- vs  
585 Colonoscopy-Delivered Fecal Microbiota Transplantation on Recurrent *Clostridium difficile*  
586 Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017 28;318(20):1985–93.
- 587 57. Cheminet G, Kapel N, Bleibtreu A, Sadou-Yaye H, Bellanger A, Duval X, et al. Faecal microbiota  
588 transplantation with frozen capsules for relapsing *Clostridium difficile* infections: the first  
589 experience from 15 consecutive patients in France. *J Hosp Infect*. 2018 Jul 12;
- 590 58. Rossen NG, MacDonald JK, de Vries EM, D’Haens GR, de Vos WM, Zoetendal EG, et al. Fecal  
591 microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: A systematic review. *World J*  
592 *Gastroenterol*. 2015 May 7;21(17):5359–71.
- 593 59. Lin SC, Alonso CD, Moss AC. Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile*  
594 infection in patients with solid organ transplants: an institutional experience and review of the  
595 literature. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. 2018 Jul 16;e12967.
- 596 60. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile*  
597 infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2013 Apr;108(4):500–8.
- 598 61. van Beurden YH, de Groot PF, van Nood E, Nieuwdorp M, Keller JJ, Goorhuis A. Complications,  
599 effectiveness, and long term follow-up of fecal microbiota transfer by nasoduodenal tube for  
600 treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *United Eur Gastroenterol J*. 2017  
601 Oct;5(6):868–79.

- 602 62. Smits LP, Bouter KEC, de Vos WM, Borody TJ, Nieuwdorp M. Therapeutic potential of fecal  
603 microbiota transplantation. *Gastroenterology*. 2013 Nov;145(5):946–53.
- 604 63. Drekonja D, Reich J, Gezahegn S, Greer N, Shaukat A, MacDonald R, et al. Fecal Microbiota  
605 Transplantation for *Clostridium difficile* Infection: A Systematic Review. *Ann Intern Med*. 2015  
606 May 5;162(9):630–8.
- 607 64. DeFilipp Z, Bloom PP, Torres Soto M, Mansour MK, Sater MRA, Huntley MH, et al. Drug-  
608 Resistant *E. coli* Bacteremia Transmitted by Fecal Microbiota Transplant. *N Engl J Med*  
609 [Internet]. 2019 Oct 30 [cited 2019 Nov 19]; Available from:  
610 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910437>
- 611 65. Cammarota G, Ianiro G, Kelly CR, Mullish BH, Allegretti JR, Kassam Z, et al. International  
612 consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice.  
613 *Gut*. 2019 Dec 1;68(12):2111.
- 614 66. Terveer EM, van Gool T, Ooijevaar RE, Sanders IMJG, Boeije-Koppenol E, Keller JJ, et al. Human  
615 transmission of *Blastocystis* by Fecal Microbiota Transplantation without development of  
616 gastrointestinal symptoms in recipients. *Clin Infect Dis [Internet]*. 2019 Nov 15 [cited 2019 Nov  
617 19];(ciz1122). Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1122>
- 618 67. Gérard C, Vidal H. Impact of Gut Microbiota on Host Glycemic Control. *Front Endocrinol*.  
619 2019;10:29.
- 620 68. de Groot PF, Frissen MN, de Clercq NC, Nieuwdorp M. Fecal microbiota transplantation in  
621 metabolic syndrome: History, present and future. *Gut Microbes*. 2017 04;8(3):253–67.
- 622 69. Kootte RS, Levin E, Salojärvi J, Smits LP, Hartstra AV, Udayappan SD, et al. Improvement of  
623 Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal  
624 Microbiota Composition. *Cell Metab*. 2017 Oct 3;26(4):611-619.e6.
- 625 70. de Groot P, Scheithauer T, Bakker GJ, Prodan A, Levin E, Khan MT, et al. Donor metabolic  
626 characteristics drive effects of faecal microbiota transplantation on recipient insulin sensitivity,  
627 energy expenditure and intestinal transit time. *Gut*. 2019 May 30;gutjnl-2019-318320.
- 628 71. Smits Loek P., Kootte Ruud S., Levin Evgeni, Prodan Andrei, Fuentes Susana, Zoetendal Erwin G.,  
629 et al. Effect of Vegan Fecal Microbiota Transplantation on Carnitine- and Choline-Derived  
630 Trimethylamine-N-Oxide Production and Vascular Inflammation in Patients With Metabolic  
631 Syndrome. *J Am Heart Assoc*. 7(7):e008342.
- 632 72. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, et al. Intestinal microbiota  
633 metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*. 2013  
634 May;19(5):576–85.
- 635 73. P. SL, S. KR, Levin Evgeni, Prodan Andrei, Fuentes Susana, Zoetendal Erwin G., et al. Effect of  
636 Vegan Fecal Microbiota Transplantation on Carnitine- and Choline-Derived Trimethylamine-N-  
637 Oxide Production and Vascular Inflammation in Patients With Metabolic Syndrome. *J Am Heart*  
638 *Assoc*. 7(7):e008342.
- 639 74. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, et al. Metabolic  
640 Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science*. 2010 Apr  
641 9;328(5975):228.



- 642 75. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an  
643 environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Nov  
644 2;101(44):15718–23.
- 645 76. Liou AP, Paziuk M, Luevano J-M, Machineni S, Turnbaugh PJ, Kaplan LM. Conserved shifts in the  
646 gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity. *Sci Transl Med*. 2013  
647 Mar 27;5(178):178ra41.
- 648 77. Kulecka M, Paziewska A, Zeber-Lubecka N, Ambrozkiwicz F, Kopczynski M, Kuklinska U, et al.  
649 Prolonged transfer of feces from the lean mice modulates gut microbiota in obese mice. *Nutr*  
650 *Metab*. 2016;13(1):57.
- 651 78. Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, Ståhlman M, Kovatcheva-Datchary P, Olbers T, et al. Roux-  
652 en-Y Gastric Bypass and Vertical Banded Gastroplasty Induce Long-Term Changes on the Human  
653 Gut Microbiome Contributing to Fat Mass Regulation. *Cell Metab*. 2015 Aug 4;22(2):228–38.
- 654 79. Li SS, Zhu A, Benes V, Costea PI, Hercog R, Hildebrand F, et al. Durable coexistence of donor and  
655 recipient strains after fecal microbiota transplantation. *Science*. 2016 Apr 29;352(6285):586–9.
- 656 80. Almeida A, Mitchell AL, Boland M, Forster SC, Gloor GB, Tarkowska A, et al. A new genomic  
657 blueprint of the human gut microbiota. *Nature*. 2019 Apr 1;568(7753):499–504.
- 658 81. Staley C, Hamilton MJ, Vaughn BP, Graiziger CT, Newman KM, Kabage AJ, et al. Successful  
659 Resolution of Recurrent *Clostridium difficile* Infection using Freeze-Dried, Encapsulated Fecal  
660 Microbiota; Pragmatic Cohort Study. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2017;112(6). Available  
661 from:  
662 [https://journals.lww.com/ajg/Fulltext/2017/06000/Successful\\_Resolution\\_of\\_Recurrent\\_Clostridium.26.aspx](https://journals.lww.com/ajg/Fulltext/2017/06000/Successful_Resolution_of_Recurrent_Clostridium.26.aspx)  
663
- 664 82. Burz SD, Abraham A-L, Fonseca F, David O, Chapron A, Béguet-Crespel F, et al. A Guide for Ex  
665 Vivo Handling and Storage of Stool Samples Intended for Fecal Microbiota Transplantation. *Sci*  
666 *Rep*. 2019 Jun 20;9(1):8897.
- 667 83. Ericsson AC, Personett AR, Turner G, Dorfmeier RA, Franklin CL. Variable Colonization after  
668 Reciprocal Fecal Microbiota Transfer between Mice with Low and High Richness Microbiota.  
669 *Front Microbiol*. 2017;8:196.
- 670 84. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of  
671 the human gut microbiota. *Nature*. 2012 Sep 1;489(7415):220–30.
- 672 85. Vandeputte D, Kathagen G, D’hoë K, Vieira-Silva S, Valles-Colomer M, Sabino J, et al.  
673 Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature*.  
674 2017 Nov 1;551(7681):507–11.
- 675 86. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, et al. Fecal Microbiota  
676 Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized  
677 Controlled Trial. *Gastroenterology*. 2015 Jul;149(1):102-109.e6.
- 678 87. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, van den Bogaerde J, Samuel D, et al.  
679 Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a  
680 randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2017 Mar 25;389(10075):1218–28.

- 681 88. Kump P, Wurm P, Gröchenig HP, Wenzl H, Petritsch W, Halwachs B, et al. The taxonomic  
682 composition of the donor intestinal microbiota is a major factor influencing the efficacy of  
683 faecal microbiota transplantation in therapy refractory ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol*  
684 *Ther.* 2018 Jan 1;47(1):67–77.
- 685 89. Vermeire S, Joossens M, Verbeke K, Wang J, Machiels K, Sabino J, et al. Donor Species Richness  
686 Determines Faecal Microbiota Transplantation Success in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns*  
687 *Colitis.* 2016 Apr;10(4):387–94.
- 688 90. Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder MJ, Tigchelaar EF, Schirmer M, Vatanen T, et al.  
689 Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and  
690 diversity. *Science.* 2016 Apr 28;352(6285):565.
- 691 91. Plovier H, Everard A, Druart C, Depommier C, Van Hul M, Geurts L, et al. A purified membrane  
692 protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in  
693 obese and diabetic mice. *Nat Med.* 2017 Jan;23(1):107–13.
- 694 92. Shin N-R, Lee J-C, Lee H-Y, Kim M-S, Whon TW, Lee M-S, et al. An increase in the  
695 *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose  
696 homeostasis in diet-induced obese mice. *Gut.* 2014 May 1;63(5):727.
- 697 93. Lee H, Lee Y, Kim J, An J, Lee S, Kong H, et al. Modulation of the gut microbiota by metformin  
698 improves metabolic profiles in aged obese mice. *Gut Microbes.* 2018 Mar 4;9(2):155–65.
- 699 94. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, Falony G, Le Chatelier E, Sunagawa S, et al. Disentangling  
700 type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature.*  
701 2015 Dec 10;528(7581):262–6.
- 702 95. Caparrós-Martín JA, Lareu RR, Ramsay JP, Peplies J, Reen FJ, Headlam HA, et al. Statin therapy  
703 causes gut dysbiosis in mice through a PXR-dependent mechanism. *Microbiome.* 2017 Aug  
704 9;5(1):95.
- 705 96. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and  
706 reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014 Jan 23;505(7484):559–63.
- 707 97. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary  
708 patterns with gut microbial enterotypes. *Science.* 2011 Oct 7;334(6052):105–8.
- 709 98. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated  
710 with obesity. *Nature.* 2006 Dec 21;444(7122):1022–3.

711