

Protocole « PERMAJI »

Intérêt de l'ajout d'un probiotique à une prise en charge standard sur l'activité clinique, le taux de rechutes et la modification de la barrière intestinale chez les patients atteints d'arthrite juvénile idiopathique

PERMAJI

Protocole de Recherche Biomédicale ne portant pas sur un Produit de Santé

Code Projet : P150934 - AOR15129

ID-RCB 2016-A00727-44

Version 1-0 du 09/05/2016

<p><b>Investigateur coordonnateur</b></p> <p>Pédiatrie générale, maladies infectieuses et médecine interne pédiatrique Hôpital Robert Debré 48 bd Sérurier, 75935 Paris Cedex 19 Tel : Fax : E-mail : @aphp.fr</p>	<p><b>Responsable scientifique</b></p> <p>Unité d'immunologie, hématologie et rhumatologie pédiatrique Hôpital Necker 149 rue de Sèvres, 75015 Paris Tel : Fax : E-mail: @aphp.fr</p>
<p><b>Promoteur</b></p> <p>APHP-DRCD Hôpital Saint Louis Chef de projet : 1 Av. Claude Vellefaux 75010 Paris Tél. : E-mail : @aphp.fr</p>	<p><b>Méthodologie</b></p> <p>Unité de Recherche Clinique Hôpital Robert Debré 48 bd Sérurier, 75019 Paris Tél. : E-mail : @aphp.fr i@aphp.fr <u>Coordination</u>  <u>URC-Hôpital Robert Debré</u> Tél. : E-Mail : @aphp.fr</p>

**Page de signature de protocole de Recherche Biomédicale Hors Produit de Santé**

**Titre :** Intérêt de l'ajout d'un probiotique à une prise en charge standard sur l'activité clinique, le taux de rechutes et la modification de la barrière intestinale chez les patients atteints d'arthrite juvénile idiopathique

**Version : 1-0 du 09/05/2016**

**Investigateur coordonnateur :**

Pédiatrie Générale,  
Maladies infectieuses et médecine interne pédiatrique  
Hôpital Robert Debré  
48 Bd. Sérurier, 75019 Paris

Date : ...../...../.....

Signature :

**Responsable scientifique :**

Unité d'immunologie, hématologie et rhumatologie pédiatrique  
Hôpital Necker  
149 rue de Sèvres, 75015 Paris

Date : ...../...../.....

Signature :

**Promoteur**

Assistance Publique – Hôpitaux de Paris  
Département de la Recherche Clinique et du Développement  
Hôpital Saint Louis  
1 avenue Claude Vellefaux  
75010 PARIS

Date : ...../...../.....

Signature :

La recherche a reçu un avis favorable du CPP ..... en date du et une autorisation de l'ANSM en date du .....



# TABLE DES MATIÈRES

RESUME SYNOPTIQUE .....	5
<b>1 JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE DE LA RECHERCHE .....</b>	<b>10</b>
1.1 L'ARTHRITE JUVENILE IDIOPATHIQUE (AJI) .....	10
1.2 IMPLICATION DU MICROBIOTE ET DE LA BARRIERE INTESTINALE DANS L'AJI. ....	11
1.3 LA PRISE EN CHARGE ACTUELLE DE L'AJI .....	14
1.4 LES PROBIOTIQUES COMME MODULATEURS DU MICROBIOTE INTESTINAL ET DE LA BARRIERE DIGESTIVE A VISEE THERAPEUTIQUE	14
1.5 DESCRIPTION DE LA POPULATION A ETUDIER ET JUSTIFICATION DE SON CHOIX .....	17
1.6 DENOMINATION ET DESCRIPTION DU PROBIOTIQUE UTILISE (VSL#3®).....	17
1.7 DESCRIPTION ET JUSTIFICATION DE LA QUANTITE, ET DE LA DUREE D'UTILISATION DU PROBIOTIQUE. ....	17
1.8 RESUME DES BENEFICES ET DES RISQUES PREVISIBLES ET CONNUS POUR LES PERSONNES SE PRETANT A LA RECHERCHE	18
<b>2 OBJECTIFS .....</b>	<b>18</b>
2.1 OBJECTIF PRINCIPAL.....	18
2.2 OBJECTIFS SECONDAIRES.....	18
<b>3 CONCEPTION DE LA RECHERCHE .....</b>	<b>19</b>
3.1 CRITERES D'EVALUATION .....	19
CRITERE D'EVALUATION PRINCIPAL.....	19
CRITERES D'EVALUATION SECONDAIRES.....	20
3.2 SELECTION DES PERSONNES DE LA RECHERCHE .....	21
CRITERES D'INCLUSION .....	21
CRITERES DE NON INCLUSION.....	21
CRITERES D'EXCLUSION EN COURS D'ETUDE.....	22
3.3 DESCRIPTION DE LA METHODOLOGIE DE LA RECHERCHE .....	22
PLAN EXPERIMENTAL.....	22
NOMBRE DE CENTRES PARTICIPANTS.....	23
RANDOMISATION .....	23
MODALITES DE MISE EN INSU ET DISPOSITIONS MISES EN ŒUVRE EN VUE DU MAINTIEN DE L'INSU .....	23
<b>4 DEROULEMENT DE LA RECHERCHE .....</b>	<b>23</b>
4.1 CHRONOLOGIE ET PARTICIPATION .....	23
4.2 DUREE PREVUE DE PARTICIPATION DES PERSONNES, DESCRIPTION DE LA CHRONOLOGIE ET DE LA DUREE DE LA RECHERCHE.	26
4.3 TABLEAU OU SCHEMA RECAPITULATIF DE LA CHRONOLOGIE DE LA RECHERCHE .....	27
4.4 COLLECTION BIOLOGIQUE .....	27
4.5 DESCRIPTION DES REGLES D'ARRET DEFINITIF OU TEMPORAIRE.....	28
<b>5 COMPLEMENT ALIMENTAIRE ADMINISTRE AUX PERSONNES SE PRETANT A LA RECHERCHE .....</b>	<b>28</b>
5.1 DESCRIPTION DU PROBIOTIQUE ET PLACEBO .....	28
5.2 TRAITEMENTS (MEDICAMENTEUX, NON MEDICAMENTEUX, CHIRURGICAUX) AUTORISES ET INTERDITS, Y COMPRIS LES MEDICAMENTS DE SECOURS .....	29
<b>6 GESTION DES DONNEES .....</b>	<b>29</b>
6.1 MODALITES DE RECUEIL DES DONNEES .....	29
<b>7 EVALUATION DE LA SECURITE .....</b>	<b>29</b>
7.1 DEFINITIONS .....	29
7.2 ROLES DE L'INVESTIGATEUR.....	30
1.2 ROLES DU PROMOTEUR.....	32
<b>8 ASPECTS STATISTIQUES .....</b>	<b>34</b>
8.1 DESCRIPTION DES METHODES STATISTIQUES PREVUES .....	34
8.2 HYPOTHESES DE CALCUL DU NOMBRE DE SUJETS NECESSAIRES ET RESULTAT .....	35
8.3 DEGRE DE SIGNIFICATION STATISTIQUE PREVU .....	36
8.4 CRITERES STATISTIQUES D'ARRET DE LA RECHERCHE. ....	36
8.5 METHODE DE PRISE EN COMPTE DES DONNEES MANQUANTES, INUTILISEES OU NON VALIDES .....	36
8.6 GESTION DES MODIFICATIONS APPORTEES AU PLAN D'ANALYSE DE LA STRATEGIE INITIALE.....	36
8.7 CHOIX DES PERSONNES A INCLURE DANS LES ANALYSES .....	36
<b>9 DROIT D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE .....</b>	<b>37</b>
<b>10 CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE.....</b>	<b>37</b>
10.1 PROCEDURES DE MONITORING .....	37

11	ASPECTS ETHIQUES ET LEGAUX.....	38
11.1	MODALITES D'INFORMATION ET DE RECUEIL DU CONSENTEMENT DES PERSONNES SE PRETANT A LA RECHERCHE.....	38
11.2	DECLARATION CNIL .....	38
11.3	DEMANDE D'AUTORISATION AUPRES DE L'ANSM .....	38
11.4	DEMANDE D'AVIS AU COMITE DE PROTECTION DES PERSONNES.....	39
11.5	MODIFICATIONS.....	39
11.6	39	
11.7	RAPPORT FINAL DE LA RECHERCHE.....	39
12	TRAITEMENT DES DONNEES ET CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DES DONNEES RELATIVES A LA RECHERCHE .....	39
13	ASSURANCE ET ENGAGEMENT SCIENTIFIQUE.....	40
13.1	ASSURANCE.....	40
13.2	ENGAGEMENT SCIENTIFIQUE .....	40
14	REGLES RELATIVES A LA PUBLICATION .....	40
15	BIBLIOGRAPHIE.....	41
16	ANNEXES .....	43



<b>Titre complet</b>	<b>Intérêt de l'ajout d'un probiotique à une prise en charge standard sur l'activité clinique, le taux de rechutes et la modification de la barrière intestinale chez les patients atteints d'arthrite juvénile idiopathique</b>
<b>Acronyme</b>	<i>PERMAJI</i>
<b>Investigateur coordonnateur</b>	<p>Pédiatrie générale, maladies infectieuses et médecine interne pédiatrique  Hôpital Robert Debré  Tel :  E-mail : @aphp.fr</p>
<b>Promoteur</b>	Assistance Publique – Hôpitaux de Paris
<b>Justification scientifique</b>	<p><u>L'arthrite juvénile idiopathique (AJI)</u> est la maladie rhumatologique pédiatrique la plus fréquente. Elle est caractérisée par la présence d'une ou plusieurs arthrites d'origine inconnue chez l'enfant de moins de 16 ans, sur une durée supérieure à 6 semaines. Bien que des progrès aient été récemment réalisés, notamment dans le domaine de la génétique, l'origine de cette maladie reste inconnue</p> <p>De nombreux travaux suggèrent que des altérations de l'homéostasie intestinale peuvent induire des réponses immunitaires anormales impliquées dans le développement ou la persistance de l'arthrite. Ceci ouvre la voie à de nouvelles approches thérapeutiques dont le but est de rétablir l'homéostasie intestinale pour traiter ou prévenir des poussées d'arthrite.</p> <p>L'utilisation de probiotiques a déjà montré son efficacité dans des études sur diverses maladies. De plus, cette utilisation est considérée comme relativement sûre chez les enfants. Cependant, peu de données existent concernant son action dans l'arthrite inflammatoire chez l'adulte. et aucune étude n'est disponible concernant les arthrites juvéniles.</p> <p><u>Hypothèse de travail.</u> Nous formulons l'hypothèse que l'apport des probiotiques qui visent à équilibrer le microbiote intestinal et la barrière digestive peut en complément d'une prise en charge standard, diminuer l'activité clinique et/ou le taux de rechutes de l'AJI.</p>
<b>Objectif et critère d'évaluation</b>	<b>Objectif principal :</b>

<p><b>principal</b></p>	<p>Evaluer l'effet de l'ajout du probiotique (VSL#3) durant 3 mois à une prise en charge habituelle sur l'activité de la maladie à 3 mois chez les patients atteints d'Arthrite Juvénile Idiopathique</p> <p><b>Critère d'évaluation principal :</b></p> <p>L'activité de la maladie sera évaluée à 3 mois par le score American College of Rheumatology pédiatrique (ACR Pedi ).</p> <p>L'effet de l'ajout du probiotique à une prise en charge conventionnelle sera objectivé par le taux de patients atteignant l'ACR Pedi 30.</p> <p>L'ACR pédiatrique 30 est défini par <math>\geq 30\%</math> d'amélioration de <math>\geq 3/6</math> items du score avec aggravation <math>\leq 1</math> item <math>\geq 30\%</math>.</p>
<p><b>Objectifs et critères d'évaluation secondaires</b></p>	<p><b>Objectifs secondaires :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Evaluer l'effet à court terme (3 mois), moyen terme (6 mois) et long terme (12 mois) de l'ajout du probiotique (VSL#3) durant 3 mois à une prise en charge habituelle chez les patients atteints d'AJI sur : <ul style="list-style-type: none"> <li>- l'activité de la maladie</li> <li>- le taux de rechute</li> <li>- la survenue d'une uvéite</li> </ul> </li> <li>2) Evaluer l'impact à 3 mois d'une prise régulière du probiotique (VSL#3) en complément d'une prise en charge habituelle, chez des patients atteints d'AJI sur : <ul style="list-style-type: none"> <li>- la perméabilité intestinale</li> <li>- le microbiote intestinal</li> <li>- la présence de composantes bactériennes dans le sang</li> <li>- la composition et l'activation des cellules immunitaires sanguines</li> </ul> <p>d'intérêt</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- la présence d'une inflammation intestinale</li> <li>- le recours à d'autres traitements</li> </ul> </li> <li>3) Evaluer la relation entre perméabilité intestinale et: <ul style="list-style-type: none"> <li>- le microbiote intestinal</li> <li>- la présence de composantes bactériennes dans le sang</li> <li>- la composition et l'activation des cellules immunitaires sanguines</li> </ul> <p>d'intérêt</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- la présence d'une inflammation intestinale</li> <li>- l'activité de la maladie</li> <li>-le régime alimentaire</li> </ul> </li> <li>4) Identifier des biomarqueurs de la perméabilité intestinale à 0 mois et 3 mois</li> </ol>



	<p><b>Critères d'évaluation secondaires :</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. L'activité de la maladie évaluée par le score ACR 30, 50 et 70 et le Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS10) à M0, 3 mois, 6 mois et 12 mois ;</li> <li>- En plus de l'ACR30 qui sera mesuré à l'inclusion (M0), 3 mois, 6 mois et 12 mois, L'ACR 50 ainsi que l'ACR70</li> <li>- le Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS10) à M0, M3, M6 et M12</li> <li>2. le taux de rechute à 3 mois, 6 mois et 12 mois</li> <li>3. La survenue d'uvéite évaluée à 3 mois et 6 mois et 12 mois</li> <li>4. La perméabilité intestinale évaluée à M0 et à 3 mois par le ratio lactulose/mannitol.</li> <li>5. La composition du microbiote intestinale évaluée à M0 et à 3 mois par pyroséquençage.</li> <li>6. La présence de composantes bactériennes intra- et extracellulaires dans le sang (Lipopolysaccharide, Muramyl-dipeptide, Peptidoglycan) évaluée à M0 et à 3 mois</li> <li>7. La composition et l'état d'activation des cellules immunitaires d'intérêt dans le sang (Lymphocytes TH1, TH2, TH17, cellules Tréglultrices, Monocytes, Macrophages, Cellules dendritiques, cellules NK) évaluée à M0 et à 3 mois</li> <li>8. L'inflammation intestinale évaluée à M0 et à 3 mois par la Calprotectine fécale</li> <li>9. Evaluation du Régime alimentaire à M0 par une diététicienne</li> <li>10. Les bio-marqueurs de la perméabilité intestinale et des répondeurs seront identifiés à M0 et M3</li> </ol>
<p><b>Schéma expérimental</b></p>	<p>Essai multicentrique (7 centres), randomisé, en double aveugle, contre placebo, évaluant l'effet à 3 mois de l'ajout du probiotique VSL#3® pendant 3 mois à une prise en charge habituelle sur l'activité de la maladie chez les patients atteints d'Arthrite Juvenile Idiopathique. La randomisation sera effectuée en 2 bras : bras probiotique VSL#3®+ prise en charge conventionnelle et bras placebo+ prise en charge conventionnelle.</p>
<p><b>Critères d'inclusion</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Age <math>\geq</math>1an et &lt;7ans</li> <li>-Patients ayant une AJI oligoarticulaire ou polyarticulaire avec facteurs rhumatoïdes (FR) négatifs avec FAN (facteurs antinucléaires) positifs débutant avant l'âge de 6 ans</li> <li>- Premiers signes de la maladie &lt; 6 mois avant l'inclusion</li> <li>- Titulaires de l'autorité parentale ayant signé le consentement</li> </ul>

	- Patient bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale (hors AME)
<b>Critères de non inclusion</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Age &lt;1an et ≥7ans</li> <li>- AJI polyarticulaire FR+(positif)</li> <li>- AJI avec FAN négatifs</li> <li>- AJI avec enthésite</li> <li>- AJI systémique</li> <li>- Suspicion, présence ou antécédent de : Insuffisance rénale, Maladie inflammatoire du tube digestive, Maladie Cœliaque, Hémopathie maligne, Diabète de type I, Obésité IMC&gt;30kg/m2, Hyperthyroïdie, Maladies métaboliques, Maladie auto-inflammatoire, Maladies granulomateuse, Connectivite, Vascularite</li> <li>- Patients avec une uvéite depuis plus de 6 mois ayant précédé le diagnostic de l'arthrite</li> <li>- Présence, le jour de l'hospitalisation (à M0) de : Température &gt;38°C, Symptômes d'une gastro-entérite aiguë (vomissements et/ou &gt;3 selles liquides les 24 heures avant), absence de selles depuis &gt;72 heures, crise d'asthme dans les 72 heures précédentes</li> <li>- Antécédent d'intolérance ou de réaction d'hypersensitivité au maltose et/ou dioxyde de silicium</li> <li>- Traitement par lactulose (de type Duphalac®)</li> <li>- Traitement par antibiotique &lt;4semaines avant l'inclusion</li> <li>- Traitement par Antiacides &lt;2 semaines avant l'inclusion</li> <li>- Prise d'un probiotique dans les 3 mois avant l'inclusion</li> <li>- Traitement par biothérapie (e.g. anti-TNFα) en cours ou prévu pendant les premiers 3 mois après l'inclusion.</li> </ul>
<b>Critères d'exclusion secondaires</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Changement de forme clinique d'AJI au cours de l'étude non compatible avec les formes d'AJI inclus dans l'étude.</li> <li>-Infirmation du diagnostic d'AJI au cours de l'étude</li> </ul>
<b>Modalités de prise en charge</b>	<p><b>Bras évalué :</b></p> <p>Probiotique VSL#3® + prise en charge conventionnelle pour une durée de 3 mois. La quantité de probiotique est de 2,25x10<sup>11</sup>CFU/j pour les enfants âgés de 1-3 ans et 4,5x10<sup>11</sup> CFU/j pour les enfants âgés de 4-7ans</p> <p><b>Bras contrôle:</b> Placebo+ prise en charge conventionnelle</p>
<b>Nombre de sujets sélectionnés</b>	120 <i>sujets</i>
<b>Nombre de centres</b>	7 <i>centres</i> : 3 centres AP-HP (l'Hôpital Robert Debré, l'Hôpital Necker, l'Hôpital Kremlin Bicêtre), 1 centre en Ile de France (CH de Versailles, et 3 centres hors Ile de France (l'Hôpital mère enfant de Lyon, CHU



	de Bordeaux et CHU de Toulouse)
<b>Durée de la recherche</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- <b>Durée de la période d'inclusion</b> : 24 mois</li><li>- <b>Durée de participation de chaque sujet</b> : 12 mois<ul style="list-style-type: none"><li>o Durée de la prise du probiotique/placebo : 3mois</li><li>o Durée de suivi : 9mois</li></ul></li><li>- <b>Durée totale de la recherche</b> : 36 mois</li></ul>

### 1.1 L'arthrite juvénile idiopathique (AJI)

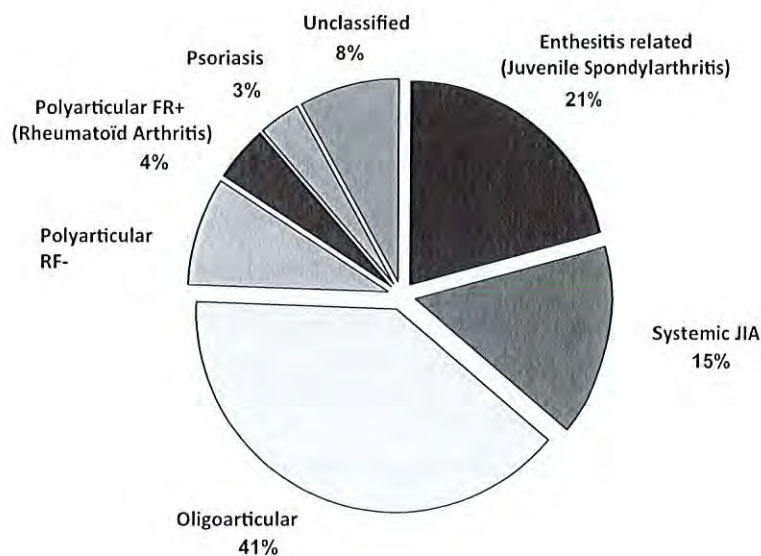
L'arthrite juvénile idiopathique est une maladie caractérisée par la présence d'une ou plusieurs arthrites d'origine inconnue chez l'enfant de moins de 16 ans, sur une durée supérieure à 6 semaines<sup>1</sup>. Il s'agit de la maladie rhumatologique pédiatrique la plus fréquente avec une prévalence de 16 à 150 cas pour 100.000 enfants<sup>1</sup>. C'est une maladie grave qui implique le pronostic fonctionnel des enfants avec un risque de handicap et une baisse de la qualité de vie. Le pronostic vital peut également être mis en jeu pour certaines formes de la maladie.

Selon les critères cliniques de l'International League of Associations for Rheumatology (ILAR), on peut distinguer les 7 formes d'AJI suivantes<sup>2</sup>

- 1) **AJI oligoarticulaire**: Elle représente plus de 50% des cas d'AJI dans les pays occidentaux. Elle commence généralement avant l'âge de 6 ans et est principalement observée chez les filles. Elle est caractérisée par une arthrite asymétrique, une réponse positive au test de laboratoire appelé anticorps antinucléaire (ANA) ou FAN (Facteurs anti nucléaires) et une association HLA. La classification ILAR distingue deux formes différentes : AJI oligoarticulaire persistante dans laquelle 4 ou moins de 4 articulations sont touchées et l'AJI oligoarticulaire étendue dans laquelle l'arthrite s'étend à plus de quatre articulations après les 6 premiers mois de la maladie. Cependant, il a été démontré que les patients avec une oligoarthrite persistante ou étendue avec FAN-positifs, partageaient les mêmes caractéristiques.
- 2) **AJI polyarticulaire à facteur rhumatoïde (FR) positif**. Elle est caractérisée par la présence, dans les 6 premiers mois de la maladie, de cinq arthrites ou plus. Cette forme rare chez l'enfant est présente seulement chez  $\leq 5\%$  des patients atteints d'AJI. Elle est considérée comme équivalente à la polyarthrite rhumatoïde (PR) qui est l'arthrite chronique la plus fréquente chez l'adulte. En effet, elle est la seule forme dans laquelle des anticorps anti peptides cycliques citrullinés sont retrouvés.
- 3) **AJI polyarticulaire à FR négatif**. Cette forme représente environ 20% des AJI. Elle est caractérisée par la présence, dans les 6 premiers mois de la maladie, de cinq arthrites ou plus en l'absence de symptômes systémiques mentionnés ci-dessus. et survient à tout âge. Cette forme n'a pas d'équivalent chez les adultes. Il existe maintenant des preuves montrant que les patients avec AJI oligoarticulaire FAN-positif et AJI polyarticulaire à FR négatif FAN-positif ont les mêmes caractéristiques (âge précoce à l'apparition, arthrite asymétrique, prédominance féminine, augmentation de l'incidence de l'uvéite)<sup>62-65</sup>.
- 4) **L'enthésite en relation avec l'arthrite (ERA)**. Représente environ 5-10% des cas d'AJI. L'inflammation concerne le plus souvent les grandes articulations des membres inférieurs et les enthèses. L'atteinte axiale avec atteinte des articulations sacro-iliaques est possible. Une uvéite antérieure se manifestant cliniquement (yeux rouges, hyper lacrimation et sensibilité à la lumière) peut être observée. La majorité des patients portent l'antigène HLA-B27. Cette forme s'observe typiquement chez les garçons après l'âge de 7-8 ans. Elle correspond à la spondylarthrite de l'adulte. La principale différence est une proportion plus élevée de spondylarthrite indifférenciée dans l'enfance



- 5) **L'arthrite psoriasique.** Représente environ 5-10% des cas d'AJI. Cette forme se caractérise par la présence d'une arthrite associée au psoriasis ou à des éléments cliniques du psoriasis.
- 6) **AJI systémique.** Représente environ 5-10% des cas d'AJI. Elle est différente des autres formes d'AJI par sa présentation clinique et ses mécanismes immunologiques. Cette forme peut être comparée aux maladies auto-inflammatoires. L'AJI systémique est caractérisée par la présence, en plus de l'arthrite, de signes systémiques (fièvre, éruption cutanée) et d'autres symptômes comme myalgies, hépato- splénomégalie, et des sérites (péricardite, pleurésie).
- 7) **Les arthrites non-classées.** ne répondant à aucune définition ou à plus d'une.



**Figure 1:** Classification ILAR de l'AJI. Répartition des catégories de maladies (extraites du Registre CAMERA des patients suivis dans les centres de référence et de compétence de l'AJI en France)

Une nouvelle classification, qui reflète mieux les connaissances actuelles sur l'AJI, est actuellement discutée au sein des sociétés de rhumatologie pédiatrique<sup>66</sup>. Cette nouvelle classification suggère de regrouper les patients dans une nouvelle catégorie : AJI d'apparition précoce (débutant avant l'âge de 6 ans) avec FAN positifs. En effet, il est maintenant clair que chez les enfants, comme chez les adultes, il y a plusieurs maladies différentes responsables de l'arthrite chronique. Cette nouvelle catégorie d'AJI représente le correspondant pédiatrique de la maladie adulte. Cependant, il existe une exception, l'arthrite à début précoce (avant l'âge de 6 ans) FAN-positif, qui est spécifique à l'enfance.

Nous nous proposons donc dans ce projet d'étudier les deux formes d'AJI les plus répandues et les plus spécifiques aux enfants qui sont les oligoarthrites et les polyarthrites sans facteurs rhumatoïdes avec FAN positifs, débutant avant l'âge de 6 ans.

## 1.2 Implication du microbiote et de la barrière intestinale dans l'AJI.

Un grand nombre de travaux montrent que des modifications du microbiote intestinal et de la barrière digestive ont une place importante dans la physiopathologie de la maladie. Selon cette hypothèse, des changements du microbiote en « flore arthritogène », seraient capables d'induire des réponses immunitaires dérégulées, aboutissant au développement ou la



persistance d'arthrite inflammatoire <sup>3</sup>.

- **L'importance des bactéries intestinales dans le développement de l'arthrite** a été démontrée à travers de nombreux modèles animaux, en comparant des animaux élevés dans des conditions stériles avec d'autres élevés dans des conditions conventionnelles <sup>4-8</sup> ou en utilisant divers modèles de souris gnotobiotiques<sup>9-11</sup>. Par exemple, les souris n'exprimant pas l'antagoniste du récepteur de l'interleukin-1 développent spontanément une arthrite auto-immune <sup>9</sup>. Cependant, ces mêmes souris ne développent pas d'arthrite quand elles sont élevées dans un environnement sans germes. Ces modèles animaux suggèrent donc que la présence de microbiote intestinal est nécessaire pour le développement d'une arthrite.

- **Association entre exposition aux antibiotiques et survenue d'arthrite.** La composition du microbiote est influencée par de nombreux facteurs, y compris le traitement antibiotique. En effet, le traitement par antibiotiques entraîne une altération de la composition du microbiote intestinal, appelé dysbiose<sup>3</sup>. Le lien entre une exposition aux antibiotiques et la survenue d'arthrite a été récemment établi chez les patients atteints d'AJI. En effet, deux études indépendantes ont montré que l'exposition précoce (dans l'année qui précède le diagnostic ou <6mois après transfert vers une équipe spécialisée) et répétée aux antibiotiques augmente le risque de développer une AJI <sup>12,13</sup>. Cette relation dépend de la dose et persiste même après ajustement sur les infections. Cette association est d'autant plus forte dans la première année suivant l'exposition aux antibiotiques. Ceci est cohérent avec les données montrant que les altérations du microbiote induites par des antibiotiques se normalisent dans les semaines <sup>14,15</sup>, voir les mois après l'arrêt des antibiotiques <sup>14,16,17</sup>. L'association entre traitement antibiotique et AJI démontrée par ces études soutient donc l'hypothèse d'un lien entre dysbiose et survenue d'AJI.

- **Association entre exposition aux antibiotiques et évolution de l'arthrite.** L'effet des antibiotiques sur l'évolution de l'arthrite inflammatoire a été démontré dans le modèle animal et chez l'homme. Différents modèles animaux démontrent que le traitement avec des antibiotiques peut modifier l'évolution de l'arthrite. Par exemple, dans le modèle des souris K/BxN qui développent spontanément une inflammation articulaire, le traitement avec des antibiotiques change l'évolution de celle-ci <sup>10</sup>. Il est intéressant de noter que dans cette étude, l'effet des antibiotiques sur l'arthrite diffère selon leur spectre antimicrobien : si le traitement par Neomycine aggrave l'arthrite, le traitement par Ampicilline et Vancomycine l'améliore et aucun changement n'est observé avec Metronidazole<sup>10</sup>. L'effet d'une modification du microbiote intestinal par des antibiotiques est également observé dans d'autres modèles murins <sup>18</sup>. Ces observations suggèrent donc que les modifications des microbiotes induites par ces antibiotiques modifient l'évolution de l'inflammation articulaire.

Dans ce contexte il est également intéressant de noter que le traitement avec des antibiotiques de la famille des tetracyclines, notamment la minocycline, peut réduire l'activité de la maladie chez les patients adultes atteints de PR évoluant depuis moins qu'une année <sup>19</sup>. Par ailleurs, la sulfasalazine, un médicament qui a fait ses preuves dans le traitement de l'AJI associée à l'enthésite, la PR ou la spondylarthrite ankylosante, possède non seulement une activité anti-inflammatoire mais également une activité anti-microbienne<sup>20</sup>. L'ensemble de ces résultats suggèrent donc qu'il est possible de modifier l'évolution de l'arthrite inflammatoire en changeant la composition du microbiote intestinal.

- **Lien entre dysbiose intestinale et arthrite inflammatoire.** La composition du microbiote intestinal dans le contexte de l'arthrite inflammatoire a été étudiée dans le modèle animal et chez l'homme.

Chez l'animal, la composition du microbiote intestinal a été étudiée dans un modèle murin d'arthrite induite par collagène. Les auteurs ont observé une différence dans la composition de la flore intestinale chez des souris prédisposées aux arthrites induites (exprimant le HLA-DRB1\*04:01) avec une prédominance de bactéries clostridium-like, comparée aux souris non



prédisposées (expriment le HLADRB 04\*02) avec une prédominance de bactéries de la famille des *Porphyromonadeceae* et *Bifidobacteria*<sup>21</sup>. Cette dysbiose a été associée à un changement de la signature TH17 dans l'intestin grêle et une augmentation de la perméabilité intestinale.

Chez l'homme, la composition du microbiote chez des patients atteints de PR a été analysée initialement par des techniques utilisant un nombre d'oligonucléotides limité, permettant uniquement une détection des grands groupes de bactéries. Chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (n=51), évoluant depuis  $\leq 6$  mois, une diminution des espèces de *Bifidobacteria*, de bactéries du group *Bacteroides-Porphyromonas-Prevotella*, du sous-groupe *Bacteroides fragilis* et du groupe d'*Eubacterium rectale-clostridium coccoïdesa* été observée, comparé aux contrôles atteints de fibromyalgie (n=50)<sup>22</sup>. Une autre étude retrouve plus de *Lactobacillus* dans les selles de patients atteints de PR diagnostiqués depuis moins de 6 mois comparé aux contrôles en bonne santé<sup>23</sup>. Ces études décrivent donc la présence d'une dysbiose dans le contexte de la PR.

Les avancées technologiques, notamment dans les techniques de séquençage à haut débit permettent aujourd'hui une analyse plus complète du microbiote. Ainsi, une étude a caractérisé des échantillons de selles chez différents groupes de patients: PR de diagnostic récent non traité (n=44), PR chronique traité (n=26), psoriasis (n=16) et des sujets contrôles (n=28). Ce travail révèle une composition du microbiote intestinale altérée chez les patients PR non traités avec un diagnostic récent, avec une richesse particulière en *Prevotellacopri*, comparé aux autres groupes<sup>24</sup>. De plus, les auteurs retrouvent une corrélation inverse entre des allèles de susceptibilité HLA et l'abondance de *P. copri* dans les selles<sup>24</sup>. Cette étude suggère donc que l'altération du microbiote pourrait jouer un rôle essentiellement au début de la maladie.

En ce qui concerne l'AJI, la composition du microbiote a été analysée chez 25 patients du groupe d'AJI associé à une enthésite (ERA) et 13 sujets contrôles<sup>25</sup>. Cette étude rapporte une altération de la composition du microbiote avec une diminution de *Faecalibacteriumprausnitzii* et de la famille des *Lachnospiraceae*. Un autre travail montre que la composition du microbiote diffère d'un sous-groupe d'AJI à un autre<sup>26</sup>. Notamment, le microbiote chez des patients du groupe ERA diffère du groupe avec une AJI oligo- et polyarticulaires. Cette étude n'inclue cependant pas de contrôles sains.

Ces études établissent donc la présence d'une dysbiose dans différentes formes d'arthrite inflammatoire adultes et pédiatriques.

**- Lien entre altération de la perméabilité intestinale et l'AJI.** La muqueuse intestinale est la plus grande interface entre l'hôte et son environnement. Elle forme une barrière qui limite l'entrée des bactéries de la lumière intestinale et des pathogènes<sup>27</sup>. Cette barrière n'est pas complètement imperméable, mais elle permet le passage d'un petit nombre de molécules de la lumière intestinale vers le milieu interne. Une augmentation de la perméabilité intestinale est observée dans plusieurs maladies se manifestant par une inflammation articulaire. C'est le cas chez les adultes dans la spondylarthrite ankylosante ou la spondylarthropathie associée aux maladies inflammatoires du tube digestif, mais elle est moins bien documentée dans l'AR<sup>21,28-30</sup> ou encore dans l'AJI.

Dans une étude de Picco et al. la perméabilité intestinale a été analysée chez des patients atteints d'une AJI oligoarticulaire (n=26), d'une spondylarthrite juvénile ou arthrite associée à une MICI (n=14), correspondant à ERA dans la classification ILAR actuelle et des patients atteints d'autres formes d'AJI (n=14 ; dont 11 arthrite psoriasique et 3 arthrite réactive chronique)<sup>29</sup>. La perméabilité intestinale était augmentée dans tous ces groupes d'AJI comparé aux contrôles. Le traitement avec des AINS n'avait pas d'effet significatif sur la perméabilité. Cette étude démontre donc un lien entre les perturbations de la barrière intestinale et l'AJI.

La perméabilité intestinale est finement équilibrée par de nombreux facteurs (mécaniques, immunologiques et

bactériologiques) qui sont eux-mêmes inter-corrélés <sup>31</sup>. Par exemple, une dysbiose peut induire une augmentation de la perméabilité intestinale. L'augmentation de la perméabilité intestinale provoque l'activation des cellules immunitaires qui peuvent participer au développement d'une inflammation locale mais aussi au développement d'une inflammation systémique <sup>32</sup>. D'un autre côté, les cellules immunitaires sont impliquées dans la perturbation de la barrière intestinale <sup>33</sup>. Ainsi, l'altération de la barrière intestinale peut être soit la conséquence d'une altération primaire des structures formant celle-ci, soit provoquée par une activation des cellules immunitaires ou par des modifications du microbiote.

Par conséquent, pour étudier les mécanismes par lesquels une intervention cherchant à rééquilibrer une dysbiose intestinale est efficace sur la maladie, il semble important d'étudier également la perméabilité intestinale. Ceci pourrait ultérieurement aider à identifier les patients susceptibles de profiter d'un tel traitement.

En conclusion, un très grand nombre de preuves indique le rôle important du microbiote intestinal et de la barrière digestive dans la physiopathologie de l'AJI. Ceci ouvre la voie à des nouvelles approches thérapeutiques cherchant à rétablir l'homéostasie intestinale pour traiter ou prévenir des poussées d'arthrite tel qu'un traitement avec des probiotiques.

### **1.3 La prise en charge actuelle de l'AJI**

Elle repose sur une approche multidisciplinaire collaborative impliquant un médecin spécialisé, des kinésithérapeutes, des orthopédistes infantiles et des psychologues, qui assurent un suivi global des aspects médicaux mais aussi du retentissement de la maladie sur la vie scolaire et familiale de l'enfant et de ses parents. Sur le plan pharmacologique, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont utilisés en première intention. Des injections articulaires avec une préparation stéroïdienne à action prolongée, comme par exemple l'hexacetonide de triamcinolone (Hexatrione®), sont utilisées dans les formes oligoarticulaires. Concernant les traitements de seconde ligne, le Méthotrexate à de faibles doses hebdomadaires est le médicament de premier choix. Il est efficace chez la majorité des patients. Les biothérapies, traitements ciblant certaines cytokines inflammatoires comme par exemple le tumornecrosis factor (TNF)-alpha (e.g. etanercept, adalimumab, infliximab) ont révolutionné la prise en charge et le pronostic des formes les plus sévères d'AJI. D'autres biothérapies sont disponibles pour les formes sévères, telles que par exemple le tocilizumab qui cible la cytokine inflammatoire IL-6, ou encore l'abatacept un analogue de la molécule CTLA-4 qui inhibe le dialogue entre cellules présentatrices et le lymphocyte.

**Aucun probiotique n'est actuellement proposé pour la prise en charge de patients atteints d'AJI malgré les nombreuses études démontant la possible implication du microbiote intestinal dans l'étiologie de la maladie.**

### **1.4 Les probiotiques comme modulateurs du microbiote intestinal et de la barrière digestive à visée thérapeutique**

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets positifs sur la santé, au-delà des effets nutritionnels traditionnels <sup>34</sup>. Les probiotiques les plus communs incluent des lactobacilli, enterococci, bifidobactéries mais aussi des levures <sup>35</sup>. Des mélanges de bactéries peuvent être également utilisés pour obtenir un bénéfice renforcé des probiotiques. De nombreux compléments alimentaires et aliments contiennent des bactéries probiotiques <sup>35</sup>, tel que les produits laitiers fermentés. Les aliments dits « aliments fonctionnels » contiennent souvent des bactéries avec des propriétés probiotiques <sup>36</sup>. Ils existent aussi en forme de comprimé, capsule et poudres dans une forme lyophilisée. En ce qui concerne les effets présumés des bactéries probiotiques, on peut citer la réduction de bactéries pathogènes, la production de facteurs anti-microbiens, la modification des réponses immunitaires et le renforcement de la barrière intestinale <sup>37</sup>. L'émergence de données attribuant un rôle central du microbiote pour la santé humaine a amené à conduire des études sur l'efficacité des probiotiques pour aider à guérir ou prévenir des maladies. En effet, des études cliniques contrôlées ont été conduites dans les

maladies touchant le tube digestif mais également dans les maladies extradiigestives<sup>35,37</sup>. Ces études ont utilisé différentes souches de bactéries ou des mélanges de bactéries, avec des résultats variables selon la maladie étudiée, la souche utilisée et la dose de probiotiques testée<sup>35,37</sup>. D'après les données de ces études, l'utilisation de bactéries probiotiques est considérée comme relativement sûre chez les enfants<sup>38</sup>.

Les preuves sur le rôle du microbiote intestinal et la barrière digestive dans les maladies rhumatismales détaillées ci-dessus ont récemment attiré l'intérêt pour l'utilisation des bactéries probiotiques pour traiter ou prévenir des maladies rhumatismales. Du côté des patients atteints d'AJI, l'utilisation de bactéries probiotiques est déjà assez répandue. Par exemple, une enquête conduite en 2011/2012 en Finlande chez 50 adolescents atteints d'AJI retrouve une utilisation de probiotiques chez 22% (11/50) des patients<sup>39</sup>. Mais paradoxalement à cela, aucune étude clinique contrôlée évaluant l'efficacité de probiotiques chez les patients atteints d'AJI n'a été menée.

#### - Données sur le rôle des probiotiques dans la prise en charge de l'arthrite inflammatoire.

Le rôle des probiotiques sur l'arthrite inflammatoire a été étudié dans différents modèles animaux. Par contre, très peu d'études contrôlées ont été conduites chez des patients adultes atteints de PR ou de spondylarthrite et aucune étude n'est disponible chez les enfants atteints d'AJI.

Dans le modèle animal, l'administration orale de *Lactobacillus casei* supprime les réponses cellulaires réactives au collagène de type Th1 et les réponses humorales<sup>40</sup>. Dans le modèle d'arthrite induite par collagène chez le rat, le traitement avec *L. casei* diminue les scores de sévérité d'arthrite et les niveaux de cytokines proinflammatoires, par rapport aux contrôles et aux animaux traités avec indométhacine<sup>41</sup>. Une autre étude évalue l'effet du lait fermenté par *Lactobacillus delbrückii* subspecies *bulgaricus* OLL11073R-1 sur l'arthrite induite par collagène dans les souris DBA/1j<sup>42</sup>. Les auteurs observent une diminution de l'arthrite et de l'interféron gamma par rapport aux contrôles. Ces études montrent donc que la prise de probiotique peut améliorer l'arthrite inflammatoire dans le modèle animal.

Chez l'homme, il existe très peu d'études sur le rôle des probiotiques dans la prise en charge ou la prévention de l'arthrite inflammatoire. Une étude pilote randomisée en double aveugle évaluant l'effet du *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) sur les symptômes de la PR a été conduite chez 21 patients adultes atteints de PR, diagnostiqués depuis au moins un an<sup>43</sup>. Les patients randomisés recevaient soit deux capsules contenant LGG (>5x10<sup>9</sup> par capsule) deux fois par jour soit un placebo pendant 12 mois. Le nombre moyen de ligaments ou articulations enflés diminuait de 8.3 à 4.6 dans le groupe LGG et de 5.5 à 4.8 dans le groupe control (p=0.41). L'activité globale de la PR, était réduite chez 71% dans le groupe LGG versus 30% dans le groupe placebo (P=0.15). Le taux sérique de IL-1beta avait une tendance à l'augmentation dans le groupe LCG (P=0.07) et aucun changement n'était observé pour le TNFalpha, MPO, IL-10 et IL-12. Les auteurs concluent que même s'il n'y avait pas de différences statistiquement significatives des paramètres cliniques ou biologiques, le sentiment de bien-être était plus souvent rapporté dans le groupe LGG.

Dans une autre étude contrôlée, randomisée et en double aveugle incluant 45 patients atteints de PR diagnostiquée depuis au moins une année<sup>44</sup>, les patients recevaient soit une préparation contenant du *Bacillus coagulans* GBI30 6086 pendant 60 jours en plus de leur traitement habituel (23 patients) soit un placebo (22 patients). Les auteurs ont observé une amélioration du score évaluant la douleur dans le groupe traité par rapport au placebo (p=0.052). Comparé au groupe placebo, les auteurs ont également observé que le *Bacillus coagulans* induisait une amélioration de l'évaluation globale du patient, de l'autoévaluation du handicap, une réduction de la CRP ainsi que la capacité de marcher plus que 2 miles, et de participer aux activités de tous les jours. Cependant, ces améliorations n'étaient pas statistiquement significatives.

Un autre travail a étudié l'effet de *Lactobacillus casei* 01 chez de 46 patients adultes atteints de polyarthrite rhumatoïde



diagnostiqués depuis au moins un an <sup>45</sup>. Un groupe de patient était traité par des gélules contenant  $10^8$  *Lactobacillus casei* 01 pendant 8 semaines et l'autre avec des gélules contenant seulement de la maltodextridine. L'activité de la maladie, mesurée par le score d'activité DAS28 était diminué dans le groupe *L. casei* 01 ( $p < 0.01$ ). Par rapport au contrôle, les cytokines inflammatoires TNFalpha, IL-6 et IL-12 étaient diminuées et la cytokine régulatrice IL-10 augmentée dans le groupe traité par probiotiques.

L'effet des bactéries probiotiques a également été étudié chez 63 patients adultes atteints d'une spondylarthrite active, non associée aux maladies inflammatoires du tube digestif <sup>46</sup>. Les patients ont été randomisés pour recevoir un probiotique oral ( $n=32$ ) ou un placebo ( $n=31$ ). Le traitement probiotique consistait en un mélange de 3 souches de bactéries ; *Streptococcus salivarius* K12 ( $1 \times 10^8$  CFU/g), *Bifidobacterium lactis* LAFTI B94 ( $4 \times 10^8$  CFU/g) et *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 ( $4 \times 10^8$  CFU/g). Ces bactéries contribuaient à 5.5% du poids de la poudre administrée (0.8g) deux fois par jour pendant 3 mois. L'index fonctionnel BASFI diminuait de  $3.5 \pm 2.0$  à  $2.9 \pm 1.9$  dans le groupe probiotique et de  $3.6 \pm 1.9$  à  $3.1 \pm 2.2$  dans le groupe contrôle ( $p=0.839$ ). L'index d'activité BASDAI diminuait de  $4.2 \pm 2.2$  à  $3.2 \pm 2.1$  dans le groupe probiotique et de  $4.5 \pm 2.0$  à  $3.9 \pm 2.2$  dans le groupe placebo ( $p=0.182$ ).

Toutes ces études présentées plus hauts ont été menées chez les adultes avec un faible nombre de patients (21-31 patients par groupe), limitant ainsi la possibilité de conclure définitivement sur le rôle du probiotique dans l'amélioration de la prise en charge de l'arthrite inflammatoire.

#### - Utilisation de bactéries probiotiques dans l'AJI.

Aucune étude n'est disponible concernant l'efficacité des probiotiques chez les enfants atteints d'AJI. Ceci constitue un manque pour diverses raisons :

1- les arthrites inflammatoires de l'enfant, notamment les AJI oligoarticulaires et polyarticulaire facteur rhumatoïde négatif, sont des formes spécifiques à l'enfant, sans équivalent chez l'adulte. Par conséquent, il semble difficile de conclure sur l'efficacité des probiotiques pour l'AJI en extrapolant les résultats des études faites chez les adultes.

2- Certaines observations suggèrent qu'un traitement avec des probiotiques pourrait être particulièrement efficace chez l'enfant puisque c'est à cet âge que la composition du microbiote intestinal change le plus. En effet, le microbiote intestinal change quantitativement et qualitativement dans les trois premières années de vie de l'enfant, puis il reste relativement stable <sup>47</sup>. On peut donc supposer qu'une intervention visant à équilibrer le microbiote intestinal peut avoir une efficacité particulière à l'âge pédiatrique.

Il apparaît donc nécessaire de mener un essai randomisé, de bonne qualité méthodologique, afin de confirmer le bénéfice de l'utilisation de probiotiques dans l'AJI. Nous proposons donc de mener une étude permettant d'évaluer l'intérêt de l'apport de probiotiques (VSL#3) en complément d'une prise en charge conventionnelle, chez un groupe de patients homogène, centré sur les formes cliniques d'AJI dont la présentation clinique est spécifiquement liée à la population pédiatrique, avec un début des premières signes de la maladie récent (<6mois), en incluant un nombre suffisant et réaliste de patients nous permettant ainsi d'avoir la puissance nécessaire pour conclure.

Nous formulons l'hypothèse que l'apport de probiotiques équilibre le microbiote intestinal et la barrière digestive et ainsi peut diminuer l'activité clinique et/ou le taux de rechutes de l'AJI.

Il est recommandé pour étudier les mécanismes d'action d'une ou plusieurs bactéries probiotiques dans le contexte particulier d'une maladie de coupler des études cliniques contrôlées à des explorations mécanistiques [8]. Pour cette raison, en

cas de preuve de l'intérêt d'un apport de probiotiques dans notre essai, une description des mécanismes sous-jacents et une identification des biomarqueurs permettant de sélectionner les patients susceptibles de bénéficier de cet apport seront faits. Nous espérons que cette étude originale et complète puisse ouvrir des nouvelles perspectives de prise en charge de l'AJI.

Le rôle des troubles de l'homéostasie intestinale dans l'AJI a été présenté et discuté à la réunion annuelle de la Société Francophone pour la Rhumatologie et les Maladies Inflammatoires en Pédiatrie (SOFREMIP) et à la réunion annuelle de l'association de malades atteints d'arthrite juvénile idiopathique (KOURIR) qui soutiennent la réalisation d'une étude sur ce sujet.

### 1.5 Description de la population à étudier et justification de son choix

Nous nous proposons d'étudier les deux formes d'AJI les plus spécifiques aux enfants qui sont les oligoartrites et les polyarthrites sans facteurs rhumatoïdes avec FAN positifs, débutant avant l'âge de 6 ans.

Ceci permet d'obtenir une population d'étude homogène avec une forme d'AJI dont la présentation clinique est spécifiquement liée à la population pédiatrique. Les malades seront inclus au début de leur maladie (début des premiers signes cliniques <6mois avant la première visite). Ce choix est motivé par les résultats d'une étude chez les adultes atteints de PR qui montre qu'une dysbiose intestinale est présente chez les malades nouvellement diagnostiqués contrairement aux malades chroniques<sup>24</sup>. Ceci nous laisse penser que des interventions visant à équilibrer le microbiote pourraient être particulièrement efficace au début de la maladie.

Nous choisissons de ne pas inclure les malades avec un traitement par biothérapie en cours ou prévu pour les trois mois après l'inclusion. Ce choix est justifié par le fait que l'amélioration attendue sous probiotiques est modérée par rapport à celle sous biothérapie pouvant masquer l'effet du VSL#3.

### 1.6 Dénomination et description du probiotique utilisé (VSL#3®)

Le VSL#3® (ActialFarmaceuticaLda) est un complément alimentaire contenant un mélange de bactéries probiotiques vivantes et lyophilisées. Les huit souches présentes dans le VSL#3® sont: *Streptococcus thermophiles*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*.

Les données de la littérature ne permettent pas de privilégier l'utilisation d'un probiotique particulier par rapport à un autre pour le traitement de l'arthrite inflammatoire. Nous faisons le choix d'utiliser le VSL#3 qui a déjà montré son efficacité dans des études cliniques chez l'adulte<sup>48-50</sup>, chez l'enfant atteint de rectocolite hémorragique, et chez l'enfant atteint de colopathie fonctionnelle<sup>51,52</sup>. Dans la RCH, certains patients présentaient des arthralgies, et dans une étude en ouvert, le traitement avec VSL#3 était efficace sur les arthralgies<sup>53</sup>.

Description du placebo utilisé :

Le placebo utilisé, fabriqué par l'Actial FarmaceuticaLda) contiendra seulement les excipients de VSL#3® (maltose et dioxyde de silicium)

### 1.7 Description et justification de la quantité, et de la durée d'utilisation du probiotique.

La durée de l'intervention avec VSL#3® ou placebo administrés per os est de 3 mois. Les données de la littérature ne permettent pas de déterminer une durée optimale pour un apport en probiotiques. Comme cette étude s'intéresse aux patients avec un diagnostic récent (< 6 mois), la durée de 3 mois permet de limiter les traitements concomitants qui pourraient être utilisés pendant ces premiers trois mois de l'étude et masquer l'effet du probiotique. Selon les algorithmes de prise en charge, les traitements



utilisés pendant les 3 premiers mois de l'étude seraient limités essentiellement aux AINS et Méthotrexate .En cas de recours à d'autres traitements, l'utilisation du probiotique sera maintenue.

Le VSL#3 est disponible dans des sachets de  $4.5 \times 10^{11}$ CFU. Il existe également une présentation optimisée pour une utilisation chez le jeune enfant, appelé VSL#3 Junior®. Cette présentation contient un nombre réduit de bactéries ( $2.25 \times 10^{11}$  CFU par sachet) et un goût aromatisé. La présentation en poudre de bactéries lyophilisées dans des sachets est adaptée à l'administration per os chez les enfants.

La quantité utilisée est de  $2,25 \times 10^{11}$ CFU/j pour les enfants âgés de 1-3 ans et de  $4,5 \times 10^{11}$  CFU/j pour les enfants âgées de 4-7 ans. Le choix de cette quantité est orienté par des études dans la littérature rapportant une efficacité et une bonne tolérance du VSL#3®, administré à des doses similaires chez des patients pédiatriques atteints de rectocolite hémorragique et de syndrome de côlon irritable <sup>51,52</sup>.

Le VSL#3® et le placebo seront produits par le même laboratoire. Le laboratoire a donné son accord pour produire et mettre à disposition le probiotique et son placebo (Actial Farmacêutica, Lda)

## **1.8 Résumé des bénéfices et des risques prévisibles et connus pour les personnes se prêtant à la recherche**

L'utilisation de VSL#3® n'a pas de contre-indications et aucun effet secondaire n'a été rapporté après son utilisation. Un léger ballonnement intestinal peut se produire durant les premiers jours de prise du VSL#3®. C'est habituellement un phénomène transitoire dû à l'adaptation de la flore microbienne intestinale. Il s'agit d'un produit dont l'usage est considéré comme sûr.

Les prises de sang font partie du processus de diagnostic et de la surveillance d'AJI. Les prélèvements sanguins spécifiques à cette étude seront faits lors des prises de sang réalisées dans le cadre du soin. Aucun risque supplémentaire n'est attendu.

Le test Lactulose-Mannitol est utilisé depuis de nombreuses années. Il est non invasif pour la perméabilité intestinale. Ce test est considéré comme sûr. Il nécessite de boire une solution contenant du lactose et mannitol et d'un recueil des urines pendant les 6h suivants.

Aucun risque n'est associé au prélèvement de selles.

En cas de preuve de l'efficacité de l'ajout du probiotique à une prise en charge habituelle, les patients participant à cette étude bénéficieront d'une réduction de l'activité de leur maladie et ainsi, une amélioration de leur qualité de vie. La réduction de la sévérité de la maladie et des rechutes aurait comme conséquence une prise en charge médicamenteuse moins lourdes avec une réduction des effets secondaires liés aux traitements actuellement proposés. Par ailleurs, la mise en évidence de biomarqueurs pourrait améliorer le suivi de la maladie à plus long terme.

## **2 OBJECTIFS**

### **2.1 Objectif principal**

Evaluer l'effet de l'ajout d'un probiotique (VSL#3) durant 3 mois à une prise en charge habituelle sur l'activité de la maladie à 3 mois chez les patients atteints d'Arthrite Juvénile Idiopathique.

### **2.2 Objectifs secondaires**

1) Evaluer l'effet de l'ajout d'un probiotique (VSL#3) durant 3 mois à une prise en charge habituelle, chez les patients atteints d'AJI sur :



- L'évolution de l'activité de la maladie entre M0 (inclusion), M3 (court terme), M6 (moyen terme) et M12 (long terme)
- L'évolution du taux de rechute entre M0 (inclusion), M3 (court terme), M6 (moyen terme) et M12 (long terme)
- la survenue d'une uvéite entre M0 (inclusion), M3 (court terme), M6 (moyen terme) et M12 (long terme)

2) Evaluer l'impact à 3 mois d'une prise régulière du probiotique (VSL#3) en complément d'une prise en charge habituelle, chez des patients atteints d'AJI sur :

- la perméabilité intestinale
- le microbiote intestinal
- la présence de composantes bactériennes dans le sang
- la composition et l'activation des cellules immunitaires sanguines d'intérêt
- la présence d'une inflammation intestinale
- le recours à d'autres traitements

3) Evaluer la relation entre la perméabilité intestinale et:

- le microbiote intestinal
- la présence de composantes bactériennes dans le sang
- la composition et l'activation des cellules immunitaires sanguines d'intérêt
- la présence d'une inflammation intestinale
- l'activité de la maladie
- le régime alimentaire

4) Identifier des biomarqueurs de la perméabilité intestinale à M0 et 3 mois

### 3 CONCEPTION DE LA RECHERCHE

#### 3.1 Critères d'évaluation

##### Critère d'évaluation principal

L'activité de la maladie sera évaluée par le score American College of Rheumatology pédiatrique (ACR Pedi).

Ce score composite est très utilisé pour évaluer la réponse aux traitements des AJI. Son utilisation est recommandée par les Guideline on clinical investigation of medicinal products for the treatment of juvenile idiopathic arthritis<sup>54</sup>

Ce score comprend 6 items qui sont :

- 1- Nombre d'articulations inflammatoires (= avec gonflement articulaire lié à une synovite active ou bien limitation articulaire + douleur à la mobilisation) ;
- 2- Nombre d'articulations de mobilité limitée (après exclusion des articulations irréversiblement ankylosées
- 3- Score fonctionnel CHAQ (rempli par l'un des parents ou le patient lui-même si son âge le permet avec un score final de 0 à 3 et des pas de 0,125) (Annexe 1) ;
- 4- Evaluation Visuelle Analogique (EVA) du bien-être de l'enfant par les parents (sur échelle de 100 mm avec mesure de la réponse de 0 à 100) ;
- 5- EVA de l'activité de la maladie par le médecin ;
- 6- Vitesse de sédimentation (VS) à la première heure (variante du score : CRP au lieu de VS).

L'effet de l'ajout du probiotique à une prise en charge habituelle sera objectivé par le taux de patients atteignant l'ACR Pedi 30 .  
L'ACR pédiatrique 30 est défini par  $\geq 30\%$  d'amélioration de  $\geq 3/6$  items du score avec aggravation  $\leq 1$  item  $\geq 30\%$ .

### Critères d'évaluation secondaires

1. L'activité de la maladie évaluée par le score ACR 30, 50 et 70 et le Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS10) à M0, 3 mois, 6 mois et 12 mois ;
- En plus de l'ACR30 qui sera mesuré à l'inclusion (M0), 3 mois, 6 mois et 12 mois, L'ACR 50 ainsi que l'ACR70 (respectivement au moins 50 ou 70% d'amélioration  $\geq 3$  items avec aggravation  $\leq 1$  item  $\geq 30\%$ ) seront évalués.
- le Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS10) à M0, M3, M6 et M12 : Le JADAS est un indice composite mesurant l'activité absolue de la maladie 55,56 . Il est constitué par 4 items :
  - l'EVA bien être (0 à 100 mm) appréciée par les parents/enfant,
  - l'EVA activité (0 à 100 mm) appréciée par le médecin,
  - le nombre d'articulations inflammatoires
  - la VS ou CRP.

Ce score a démontré une forte corrélation avec les indices d'activité qui n'y sont pas inclus (DAS28 et CDAI), et une forte sensibilité au changement. L'effet de l'ajout du probiotique à une prise en charge habituelle sera objectivée par le taux de patients atteignant le JADAS 30,50, 70

2. le taux de rechute à 3 mois, 6 mois et 12 mois  
Une poussée/rechute de la maladie est définie par: une aggravation de  $\geq 30\%$  dans  $\geq 3$  items du score ACR, avec pas  $\leq 1$  item amélioré de  $30\%$  ou plus; pour les articulations inflammatoires :  $\geq 2$  articulations supplémentaires; pour l'EVA médecin d'une progression  $\geq 20/100$
3. La survenue d'uvéite évaluée à 3 mois et 6 mois et 12 mois
4. La perméabilité intestinale évaluée à M0 et à 3 mois par le ratio lactulose/mannitol. Ce test de perméabilité intestinale repose sur l'absorption de deux sucres marqueurs, de poids moléculaires différents (le lactulose et le mannitol). Il constitue un moyen simple, objectif et non invasif d'exploration fonctionnelle de la muqueuse intestinale, sans contre-indication, avec des conditions de réalisation simples. Il permet l'expression des résultats sous forme d'un rapport de concentrations urinaires, véritable index de perméabilité intestinale. Ce test a déjà été utilisé dans de nombreuses études chez l'enfant est considéré comme sûr et sans effets secondaires<sup>57</sup>.
5. La composition du microbiote intestinale évaluée à M0 et à 3 mois par pyroséquençage.
6. La présence de composantes bactériennes intra- et extracellulaires dans le sang (Lipopolysaccharide, Muramyl dipeptide, Peptidoglycan) évaluée à M0 et à 3 mois quantifiée par chromatographie et ELISA

7. La composition et l'état d'activation des cellules immunitaires d'intérêt dans le sang (Lymphocytes TH1, TH2, TH17, cellules Tréglatrices, Monocytes, Macrophages, Cellules dendritiques, cellules NK) évaluée à M0 et à 3 mois par cytométrie en flux
8. L'inflammation intestinale évaluée à M0 et à 3 mois par la Calprotectine fécale.
9. Evaluation du Régime alimentaire à M0 : se fera à l'aide d'une diététicienne qui évaluera les habitudes alimentaires des patients inclus. Les questions seront orientées et basées sur les items du questionnaire de fréquence alimentaire Food fréquence questionnaire (FFQ)<sup>58,59</sup>
10. Les bio-marqueurs de la perméabilité intestinale et des répondeurs seront identifiés à M0 et M3 par chromatographie et spectroscopie de masse

### 3.2 Sélection des personnes de la recherche

#### Critères d'inclusion

- Age  $\geq 1$ an et  $< 7$ ans
- Patients ayant une AJI oligoarticulaire ou polyarticulaire avec facteurs rhumatoïdes (FR) négatifs avec FAN (facteurs antinucléaires) positifs débutant avant l'âge de 6 ans
- Premiers signes de la maladie apparaissant moins de ( $<$ ) 6 mois avant l'inclusion
- Titulaires de l'autorité parentale ayant signés le consentement
- Patient bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale (hors AME)

#### Critères de non inclusion

- Age  $< 1$ an et  $\geq 7$ ans
- AJI polyarticulaire avec facteurs rhumatoïdes(FR) positifs
- AJI avec FAN négatifs
- AJI avec enthésite
- AJI systémique
- Suspicion ou présence ou antécédent de : Insuffisance rénale, Maladie inflammatoire du tube digestive, Maladie Coéliqua, Hémopathie maligne, Diabète de type I, Obésité  $IMC > 30$ kg/m<sup>2</sup>, Hyperthyroïdie, Maladies métaboliques, Maladie auto-inflammatoire, Maladies granulomateuse, Connectivite, Vascularite
- Patients avec une uvéite depuis plus de 6 mois ayant précédé le diagnostic de l'arthrite
- Le jour de l'hospitalisation à M0, présence de : Température  $> 38^{\circ}C$ , Symptômes d'une gastro-entérite aigue (vomissements et/ou  $> 3$  selles liquides les 24 heures avant), absence de selles depuis  $> 72$  heures, crise d'asthme dans les 72 heures précédentes
- Antécédent d'intolérance ou de réaction d'hypersensitivité au maltose et/ou dioxyde de silicium
- Traitement par lactulose (de type Duphalac®)
- Traitement par antibiotique  $< 4$  semaines avant l'inclusion
- Traitement par Antiacides  $< 2$  semaines avant l'inclusion



- Prise d'un probiotique dans les 3 mois avant l'inclusion
- Traitement par biothérapie (e.g. anti-TNF $\alpha$ ) en cours ou prévu pendant les premières 3 mois après l'inclusion.

### Critères d'exclusion en cours d'étude

- Changement de forme clinique d'AJI au cours de l'étude non compatible avec les formes d'AJI inclus dans l'étude.
- Infirimation du diagnostic d'AJI au cours de l'étude

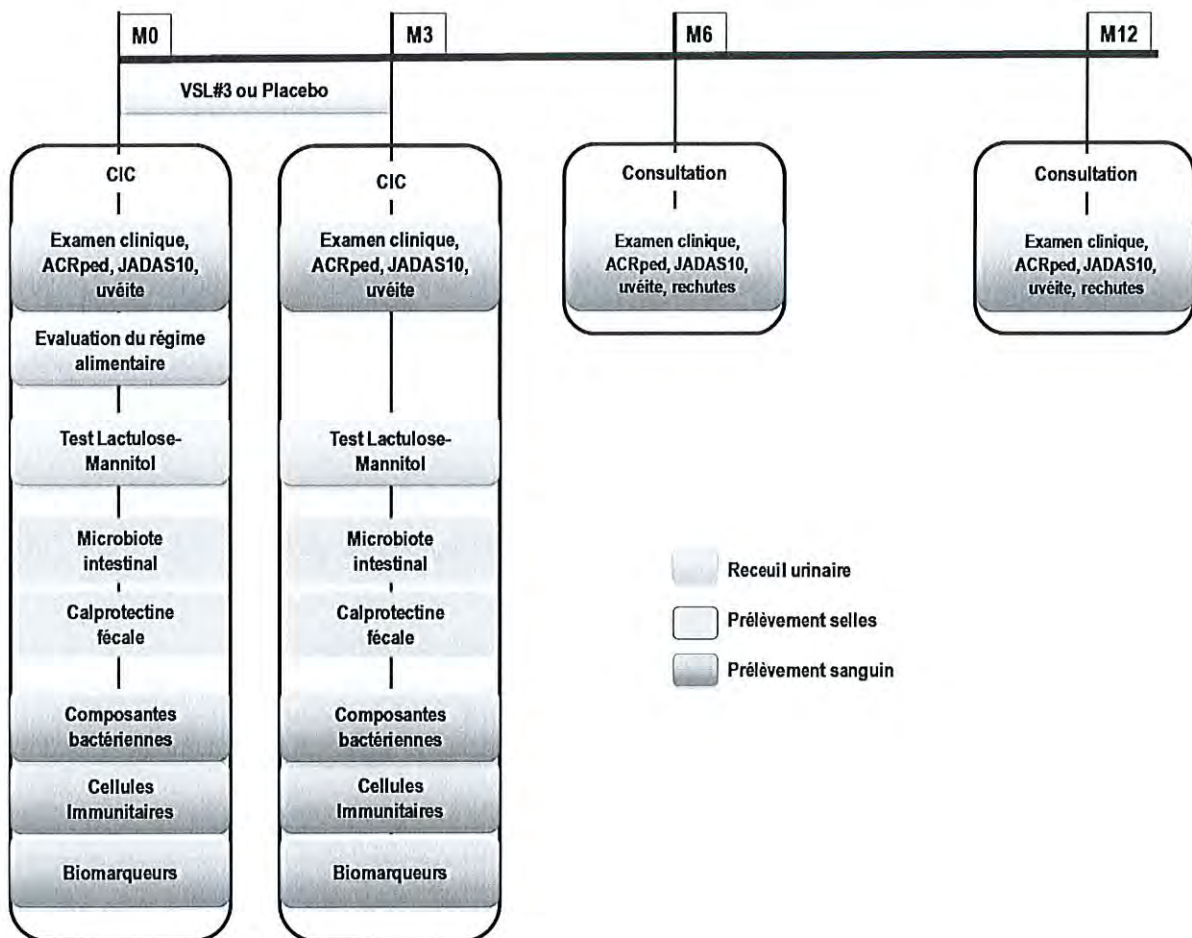
### 3.3 Description de la méthodologie de la recherche

#### Plan expérimental

Essai multicentrique (7 centres), randomisé, en double aveugle, contre placebo, évaluant l'effet à 3 mois de l'ajout d'un probiotique VSL#3<sup>®</sup> pendant 3 mois à une prise en charge habituelle, sur l'activité de la maladie chez les patients atteints d'Arthrite Juvénile Idiopathique. La randomisation sera effectuée en 2 bras : bras probiotique VSL#3<sup>®</sup>+ prise en charge conventionnelle et bras placebo+ prise en charge conventionnelle.

L'hypothèse de cette étude est que l'apport des probiotiques qui visent à équilibrer le microbiote intestinal et la barrière digestive peut améliorer la prise en charge du patient en diminuant l'activité clinique et/ou le taux de rechutes de l'AJI.

Le déroulement de la recherche est détaillé dans le schéma ci-dessous:



## Nombre de centres participants

3 centres AP-HP, 1 centre en Ile de France et 3 centres hors Ile de France participeront à cette étude et assureront le recrutement des patients (pendant 24 mois) ainsi que leur suivi durant la période de participation (12 mois). Il s'agit de l'Hôpital Robert Debré, l'Hôpital Necker, l'Hôpital Kremlin Bicêtre, CHU de Toulouse, CH de Versailles Le Chesnay, et l'Hôpital mère enfant de Lyon et le CHU de Bordeaux (voir annexe 4).

Tous les médecins référents travaillent dans des centres de référence ou de compétences pour les arthrites juvéniles.

## Randomisation

Après vérification des critères d'inclusion et de non inclusion et obtention du consentement, le patient sera randomisé de façon informatique. La randomisation sera stratifiée sur les 2 critères suivants : L'activité de la maladie (AJI oligoarticulaire : activité inexistante à faible (JADAS10  $\leq$  2) Vs Activité modérée à forte (JADAS > 2 / AJI polyarticulaire : activité inexistante à faible (JADAS10  $\leq$  3.8) , Activité modérée à forte ( JADAS >3.8)), et le traitement de l'AJI (Méthotrexate /AINS)<sup>54</sup>. La liste de randomisation sera produite à l'Unité de Recherche Clinique (URC) de l'hôpital Robert Debré et effectuée avec le logiciel NQuery® v8.

La randomisation sera effectuée via CleanWeb. Lors de la randomisation en ligne, un courriel sera envoyé à l'Unité de Recherche Clinique de l'hôpital Robert Debré afin de suivre le rythme des inclusions. Le formulaire d'inclusion devra comporter les initiales du patient, sa date de naissance, la date d'inclusion, le numéro d'inclusion dans l'étude, la strate de randomisation ainsi que l'identification du médecin ayant inclus le patient.

## Modalités de mise en insu et dispositions mises en œuvre en vue du maintien de l'insu

Dans cet essai, le probiotique VSL#3® et le placebo auront le même conditionnement devant garantir l'aveugle du patient et du médecin pour le probiotique donné. La mise en insu et la numérotation conformément à la liste de randomisation seront gérées par le laboratoire ACTIAL PHARMACEUTICA LDA qui fournira le VSL#3® ainsi que son placebo.

## 4 DEROULEMENT DE LA RECHERCHE

### 4.1 Chronologie et participation

- **Inclusion**

L'inclusion sera proposée lors d'une consultation de suivi par le médecin référent de l'enfant dans le centre participant, et pour les nouveaux patients à la première consultation avec le rhumatologue pédiatre.

Après vérification des critères d'éligibilité, l'étude sera proposée aux parents de l'enfant par l'investigateur du centre. Le consentement écrit sera recueilli auprès des titulaires de l'autorité parentale du patient. Le CIC ou le service prendra contact avec le patient pour programmer une date d'hospitalisation.

- **M0 : Hospitalisation des patients au niveau des CIC ou en hôpital de jour (une demi-journée)**

Lors de son hospitalisation, le patient aura:



- Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion.
- Recueil des éléments démographiques (sexe, âge..etc) et des traitements en cours.
- Examen clinique avec une évaluation du score ACR pédiatrique par le médecin référent et les parents, aidé par le personnel du CIC, le JuvenileArthritisDisease Activity Score (JADAS10), ainsi qu'un examen ophtalmologique pour le dépistage d'uvéite.
- Plusieurs prélèvements sanguins
  - Prise de sang (dans le cadre du soin) pour l'évaluation de la VS, CRP, NFS, ASAT ALAT, Ionogramme, Urée, Créatinine.
  - Un prélèvement sanguin pour l'analyse des composantes bactériennes (l'analyse par chromatographie et ELISA se fera au niveau de l'institut Jacques Monod et du laboratoire INSERM UMR 1149),
  - Un prélèvement sanguin pour l'analyse des cellules immunitaires d'intérêt (analyse par cryométrie de flux se fera au niveau du laboratoire d'immunologie de chaque centre)
  - Un prélèvement sanguin pour l'analyse des biomarqueurs (analyse par Chromatographie et SM au niveau de l'institut Jacques Monod).
- Test lactulose/mannitol : Ce test consiste à administrer simultanément ces deux sucres non métabolisés, par voie orale, au patient à jeun depuis 2h puis de recueillir les urines pendant 6 heures. Tous les prélèvements urinaires de tous les patients seront acheminés au laboratoire de biochimie de l'hôpital Robert Debré pour effectuer cette analyse.
- Prélèvement de selles, stocké à -80°C pour l'analyse par pyroséquencage du microbiote (au niveau du laboratoire INSERM UMR 1149) et de la calprotectine fécale (au niveau du laboratoire de biochimie de chaque centre).
- Evaluation du régime alimentaire et un bilan diététique avec une diététicienne

- **Randomisation**

Le médecin du CIC se connectera sur Cleanweb afin de récupérer les résultats de randomisation. Il sera alors attribué un numéro d'anonymat au patient (à reporter par la suite comme identifiant du patient sur le CRF).

Les patients seront répartis soit dans le groupe : « probiotiqueVSL#3® + prise en charge conventionnelle » ou dans le groupe « placebo+ prise en charge conventionnelle. »

Le patient recevra un coffret contenant le probiotique VSL#3® ou le placebo selon son bras de randomisation pour une durée de 3 mois. La quantité de probiotique à prendre est de  $2,25 \times 10^{11}$  CFU/j pour les enfants âgés de 1-3 ans et de  $4,5 \times 10^{11}$  CFU/j pour les enfants âgés de 4-7ans.

La prise en charge conventionnelle des patients sera maintenue selon le protocole habituel, la prise du probiotique ou de son placebo est ajoutée selon le bras de randomisation.

Une date de visite à 3 mois sera programmée à ce moment-là.

- **Dispositions mises en œuvre en vue du maintien de l'insu et procédures de levée d'insu**

Le placebo (dans son coffret) est en tout point semblable au produit VSL3 (dans son coffret) afin de conserver l'insu dans cette étude.

Aucune demande de levée d'insu n'est attendue dans le cadre de cette recherche compte tenu de l'absence de risques liés à la prise du probiotique.

La liste de levée d'insu sera disponible auprès du Pôle Qualité Gestion des Risque du DRCD. Dans le cas exceptionnel où un investigateur demande une levée d'insu, l'insu ne sera levé qu'après avis du promoteur et de l'investigateur coordonnateur qui jugeront de la pertinence de la demande. Toute demande devra être formulée à l'aide du formulaire de demande de levée d'insu prévue pour la recherche.

- **Suivi**

**Visite 1 (M3) « 3 mois après le début du probiotique »** : une nouvelle hospitalisation du patient est programmée au niveau du CIC ou en hôpital de jour de chaque centre 3 mois après le début du probiotique.

Au cours de cette hospitalisation, les examens suivants seront réalisés :

- Examen clinique avec une Evaluation du score ACR pédiatrique par le médecin référent et les parents, aidé par le personnel du CIC, le JuvenileArthritisDisease Activity Score (JADAS10), ainsi qu'un examen ophtalmologique pour le dépistage d'uvéite, d'une poussée/rechute.
- Recueil des traitements en cours.
- Plusieurs prélèvements sanguins
  - Prise de sang (dans le cadre du soin) pour l'évaluation de la VS, CRP, NFS, ASAT ALAT, Ionogramme, Urée, Créatinine.
  - Un prélèvement sanguin pour l'analyse des composantes bactériennes,
  - Un prélèvement sanguin pour l'analyse des cellules immunitaires d'intérêt
  - Un prélèvement sanguin pour l'analyse des biomarqueurs
- Test lactulose/mannitol (voir description à M0).
- Un prélèvement de selles, stocké à -80°C pour l'analyse par pyroséquencage du microbiote et de la calprotectine fécale (inflammation intestinale).

**Visite 2 (M6) « 6 mois après le début du probiotique »** :

Au cours de la consultation habituelle de suivi du patient:

- Examen clinique avec une évaluation du score ACR pédiatrique et JADAS10 seront faits par le médecin investigateur qui sera en aveugle du bras d'intervention.
- Prise de sang (dans le cadre du soin) pour l'évaluation de la VS, CRP, NFS, ASAT ALAT, Ionogramme, Urée, Créatinine.
- Documentation de la présence ou absence d'une uvéite, d'une poussée/rechute : L'examen ophtalmologique sera effectué de préférence dans le service d'ophtalmologie de chaque centre participant. Cependant, en cas de problème d'organisation et/ou si les patients préfèrent effectuer cette visite chez un ophtalmologue proche de leur domicile, les comptes rendus seront utilisés pour l'évaluation de l'uvéite. En cas de doutes sur des anomalies ou le constat d'anomalies, les malades seront revus par un ophtalmologue spécialisé dans l'uvéite dans les services d'ophtalmologie des centres participants. Ce circuit est fait dans le cadre d'une prise en charge habituelle du patient.
- Recueil des traitements en cours

**Visite 3 (M12) « 12 mois après le début du probiotique »** :

Au cours de la consultation habituelle de suivi du patient:



- Examen clinique avec une évaluation du score ACR pédiatrique et JADAS10 sera faite par le médecin investigateur qui sera en aveugle du bras d'intervention.
- Prise de sang (dans le cadre du soin) pour l'évaluation de la VS, CRP, NFS, ASAT ALAT, Ionogramme, Urée, Créatinine.
- Documentation de la présence ou absence d'une uvéite, d'une poussée/rechute: L'examen ophtalmologique sera effectué de préférence dans le service d'ophtalmologie de chaque centre participant. Cependant, en cas de problème d'organisation et/ou si les patients préfèrent effectuer cette visite chez un ophtalmologue proche de leur domicile, les comptes rendus seront utilisés pour l'évaluation de l'uvéite. En cas de doutes sur des anomalies ou le constat d'anomalies, les malades seront revus par un ophtalmologue spécialisé dans l'uvéite dans les services d'ophtalmologie des centres participants. Ce circuit est fait dans le cadre d'une prise en charge habituelle du patient.
- Recueil des traitements en cours

#### **Circuits des échantillons :**

- Les prélèvements pour les populations de cellules sanguines (tubes héparinés) seront analysés sur place dans le laboratoire d'immunologie de chaque centre. Les données correspondantes seront recueillies à postériori dans l'eCRF. Pour les autres prélèvements, le laboratoire du CIC de chaque centre investigateur se chargera de centrifuger tous les prélèvements sanguins, d'en récupérer le plasma et le sérum et de les transférer dans des nouveaux tubes (sans anticoagulant, sans gel, de couleur violette pour les tubes EDTA et jaunes pour les tubes secs) sur lesquels seront apposées les étiquettes correspondantes (planches d'étiquettes remises au laboratoire). Une attention particulière devra être portée afin de bien faire correspondre les étiquettes (numéro du patient, type de prélèvement (tube violet EDTA, tube jaune sec) et moment du prélèvement (M0, M3). Les tubes seront congelés à -20° C avec les prélèvements d'urine et de selles dans un congélateur à un emplacement précis où seront regroupés les tubes portant le même numéro d'identification (prélèvement sanguins et urinaires et de selle de l'enfant).
- Les prélèvements urinaires de chaque centre participant seront envoyés regroupés par colissimo dans la carboglace au service de Biochimie de l'hôpital Robert Debré, 48Bd Sérurier, 75019 Paris, à l'attention du [redacted]. Ce laboratoire est responsable du dosage urinaire du lactulose / mannitol.
- Les échantillons des différents centres seront groupés avant envoi dans la carboglace aux laboratoires qui effectueront les analyses  
Les prélèvements plasmatiques seront envoyés de façon regroupée par colissimo dans la carboglace à l'institut Jaques Monod à l'attention des [redacted] pour l'analyse des biomarqueurs.
- Les prélèvements de selles seront envoyés de façon regroupée par colissimo dans la carboglace au laboratoire du laboratoire INSERM UMR 1149 pour l'analyse du microbiote.

#### **4.2 Durée prévue de participation des personnes, description de la chronologie et de la durée de la recherche.**

- **Durée de la période d'inclusion** : 24 mois
- **Durée de participation de chaque sujet** : 12 mois
  - o Durée de la prise du probiotique ou placebo : 3mois
  - o Durée de suivi : 9mois
- **Durée totale de la recherche** : 36 mois

### 4.3 Tableau ou schéma récapitulatif de la chronologie de la recherche

Les examens réalisés dans le cadre de du soin et de la recherche sont détaillés dans le tableau ci-après

Examens	Inclusion	M0	M3	M6	M12
Consultation médicale	X				
Consentement	X				
ACR pédiatrique		X	X	X	X
JADAS10		X	X	X	X
Examen Clinique (Uvéite)		X	X	X	X
Test lactulose mannitol		X	X		
Analyse des composantes bactériennes		X	X		
Analyse des cellules immunitaires		X	X		
Analyse des biomarqueurs		X	X		
Analyse du microbiote		X	X		
Mesure de la calprotectine fécale		X	X		
Bilan diététique		X			
Probiotique ou placebo		X	X		

X Examen dans le cadre de la recherche

X Examen dans le cadre du soin

### 4.4 Collection Biologique

Type de prélèvement	Quantité	Lieu de conservation avant envoi centralisé	Finalité du prélèvement	Lieu d'analyse	Durée de la conservation après la fin de l'étude
Sang	2ml	NA	NFS, VS	local	0 mois
	1,2ml	NA	CRP	local	0 mois
	2,5ml	NA	Cellules immunitaires	local	0 mois
	2ml	centre	Sérum pour dosage cellules immunitaires	local	5 ans
	2ml	centre	Plasma pour Analyse des composantes bactériennes	Institut Jacques Monod	5 ans
Urines	5ml	centre	Lactulose/ Mannitol	Laboratoire de Biochimie Robert Debré	5 ans
Selles		centre	Calprotectine fécale	local	5 ans
		centre	Selles pour pyrosequençage	Inserm UMR 1149, Bichat	5 ans



Le volume de sang prélevé chez les enfants (9.6ml) est bien dans les limites acceptables selon les recommandations du guideline « ethical considerations for clinical trials on medicinal products conducted with the paediatric population » publié par la commission européenne en 2008.

Une partie des échantillons de sang issus des prélèvements réalisés dans le cadre de cette recherche feront l'objet d'une collection biologique. Les prélèvements seront conservés sur chaque centre, puis envoyés au laboratoire INSERM UMR 1149. La collection sera conservée au laboratoire INSERM UMR 1149 - Bichat durant 5 ans, sous la responsabilité des La collection sera déclarée à l'ANSM dans le cadre de la recherche biomédicale.

#### 4.5 Description des règles d'arrêt définitif ou temporaire

##### 4.5.1.1 De la participation d'un patient à la recherche

L'arrêt de la participation d'un patient peut se faire :

- à sa demande ou à celle de ses parents à tout moment et qu'en soit la raison
- sur décision du médecin en cas de survenue d'un événement indésirable grave ou pour toute raison ayant un impact sur sa sécurité ou qui servirait au mieux les intérêts du patient

Le patient ne pourra pas continuer à participer dans le cas de survenue d'un des critères d'exclusion suivants (arrêt prématuré de participation):

- Changement de forme clinique d'AJI au cours de l'étude non compatible avec les formes d'AJI inclus dans l'étude.
- Infirmation du diagnostic d'AJI au cours de l'étude

La prise de probiotique/placebo sera arrêtée le cas échéant. Les patients seront suivis par leur médecin selon la prise en charge habituelle.

Ces cas d'exclusion secondaire survenus en cours d'étude seront remplacés par l'inclusion de nouveaux patients afin de maintenir le nombre de 96 sujets évaluable.

## 5 COMPLEMENT ALIMENTAIRE ADMINISTRE AUX PERSONNES SE PRETANT A LA RECHERCHE

### 5.1 Description du probiotique et placebo

Le VSL#3® (ActialPharmaceuticalLda) est un complément alimentaire contenant un mélange de bactéries probiotiques vivantes et lyophilisées. Les huit souches présentes dans le VSL#3® sont: *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*

Il se présente sous forme de poudre en sachets à administration per os. Il est disponible dans des sachets de  $4.5 \times 10^{11}$  CFU. Il existe également une présentation optimisée pour une utilisation chez le jeune enfant, appelé VSL#3 Junior®. Cette présentation contient un nombre réduit de bactéries ( $2.25 \times 10^{11}$  CFU par sachet) et un goût aromatisé. La présentation en poudre de bactéries lyophilisées dans des sachets est adaptée à l'administration per os chez les enfants.

Le probiotique sera administré aux patients pendant une durée de 3 mois. La quantité est de  $2,25 \times 10^{11}$  CFU/j pour les enfants âgés de 1-3 ans et de  $4,5 \times 10^{11}$  CFU/j pour les enfants âgées de 4-7 ans.

Le placebo utilisé, fabriqué par Actial Pharmaceutical contiendra seulement les excipients de VSL#3® (maltose et dioxyde de silicium

## 5.2 Traitements (médicamenteux, non médicamenteux, chirurgicaux) autorisés et interdits, y compris les médicaments de secours

Tous les traitements habituels pour la prise en charge de l'AJI sont autorisés à l'exception des biothérapies (e.g. anti-TNF $\alpha$ ) pendant les 3 mois de prise du probiotique de l'étude.

## 6 GESTION DES DONNEES

### 6.1 Modalités de recueil des données

Les données de la recherche seront recueillies et monitorées à l'aide du Cahier d'Observations Electronique CleanWEB, dans le cadre du Marché Public conclu entre l'AP-HP et [redacted] notifié le 17/11/2003 et référencé sous le N° 033845. Ces données seront centralisées sur un serveur hébergé au [redacted] de l'AP-HP, 67 boulevard Bessières, 75017 PARIS.

Les données recueillies seront : les données démographiques (âge, sexe), données cliniques (nombre d'articulations actives,...etc) , examen biologique (VS, CRP, Creat,...etc) , résultats des tests (lactulose/mannitol, ACR, JADAS, microbiote, biomarqueurs, calprotectine fécale,...etc) , prise de médicaments concomitants (Antibiotiques,..etc).

Toutes les informations requises par le protocole doivent être fournies dans le cahier d'observation et une explication donnée par l'investigateur pour chaque donnée manquante.

Les données devront être transférées dans les cahiers d'observation au fur et à mesure qu'elles sont obtenues qu'il s'agisse de données cliniques ou para-cliniques. Les données seront saisies par un technicien d'étude clinique.

L'anonymat des sujets sera assuré par un numéro de code et les initiales de la personne qui se prête à la recherche sur tous les documents nécessaires à la recherche, ou par effacement par les moyens appropriés des données nominatives sur les copies des documents source, destinés à la documentation de la recherche.

Les données informatisées sur un fichier seront déclarées à la CNIL selon la procédure adaptée au cas.

## 7 Evaluation de la Sécurité

### 7.1 Définitions

D'après l'article R.1123-39 du code de la santé Publique

- **Evènement indésirable**

Toute manifestation nocive survenant chez une personne qui se prête à une recherche biomédicale que cette manifestation soit liée ou non à la recherche ou au produit sur lequel porte cette recherche.

- **Effet indésirable**

Tout évènement indésirable dû à la recherche biomédicale

- **Evènement ou effet indésirable grave**

Tout évènement ou effet indésirable répond à la définition de « grave » s'il :

- entraîne la mort,
- met en danger la vie de la personne qui se prête à la recherche,
- nécessite une hospitalisation ou la prolongation de l'hospitalisation,



- provoque une incapacité ou un handicap importants ou durables,
- se traduit par une anomalie ou une malformation congénitale, et également :
- tout autre évènement indésirable jugé comme « médicalement significatif ».

- **Effet indésirable inattendu**

Tout effet indésirable dont la nature, la sévérité ou l'évolution ne concorde pas avec les informations relatives aux produits, actes pratiqués, et méthodes utilisées au cours de la recherche.

D'après l'avis au promoteur d'essais cliniques ne portant pas sur un produit de santé (ANSM)

- **Fait nouveau**

Toute nouvelle donnée de sécurité, pouvant conduire à une réévaluation du rapport des bénéfices et des risques de la recherche ou qui pourrait être suffisant pour envisager des modifications des documents de la recherche, de la conduite de la recherche ainsi que, le cas échéant, dans l'utilisation du produit.

## 7.2 Rôles de l'investigateur

L'investigateur doit évaluer pour chaque évènement indésirable sa gravité et reporter tous les évènements indésirables graves et non graves dans le cahier d'observation (CRF ou e-CRF).

### 1.1.1 Evènements indésirables graves nécessitant une notification immédiate par l'investigateur au promoteur

Selon l'article R.1123-54 du Code de la Santé Publique, l'investigateur doit **notifier au promoteur, sans délai à compter du jour où il en a connaissance, tous les évènements indésirables graves**, à l'exception de ceux qui sont recensés dans le protocole (cf. section 1.1.2. Spécificité du protocole) comme ne nécessitant pas une notification immédiate.

Un évènement indésirable grave présente un des critères suivants :

- 1- Décès
- 2- Mise en jeu du pronostic vital
- 3- Nécessite ou prolonge l'hospitalisation
- 4- Incapacité ou handicap importants ou durables
- 5- Anomalie ou malformation congénitale
- 6- Ou tout autre évènement indésirable jugé comme « médicalement significatif ».

L'investigateur doit notifier au promoteur les évènements indésirables graves :

- à partir de la date de signature du consentement,
- pendant toute la durée de suivi du participant, prévue par la recherche

L'investigateur doit **documenter au mieux** les évènements indésirables graves et donner si possible, le diagnostic médical.

L'investigateur doit **évaluer l'intensité** des évènements indésirables :

- soit par des termes généralistes :

- *Léger : toléré par le patient, n'interférant pas avec ses activités quotidiennes*
- *Modéré : suffisamment inconfortable pour altérer les activités quotidiennes*
- *Sévère : qui empêche les activités quotidiennes*

*Remarque : le degré de sévérité ne doit pas être confondu avec le critère de gravité.*

L'investigateur doit évaluer le **lien de causalité** des évènements indésirables graves avec la recherche.

La méthode utilisée par l'investigateur, basée sur la méthode OMS (WHO Uppsala Monitoring Centre), repose sur les 4 termes de causalité suivants :

- Certain
- Probable/plausible
- Possible
- Improbable

Leur définition est présentée dans le tableau suivant (extrait de WHO-UMC causality categories, version du 17/04/2012).

Tableau WHO-UMC causality categories (extrait)

Causality term	Assessment criteria*
<b>Certain</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Event or laboratory test abnormality, with plausible time relationship to drug intake</li> <li>· Cannot be explained by disease or other drugs</li> <li>· Response to withdrawal plausible (pharmacologically, pathologically)</li> <li>· Event definitive pharmacologically or phenomenologically (i.e. an objective and specific medical disorder or a recognized pharmacological phenomenon)</li> <li>· Rechallenge satisfactory, if necessary</li> </ul>
<b>Probable / Likely</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Event or laboratory test abnormality, with reasonable time relationship to drug intake</li> <li>· Unlikely to be attributed to disease or other drugs</li> <li>· Response to withdrawal clinically reasonable</li> <li>· Rechallenge not required</li> </ul>
<b>Possible</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Event or laboratory test abnormality, with reasonable time relationship to drug intake</li> <li>· Could also be explained by disease or other drugs</li> <li>· Information on drug withdrawal may be lacking or unclear</li> </ul>
<b>Unlikely</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Event or laboratory test abnormality, with a time to drug intake that makes a relationship improbable (but not impossible)</li> <li>· Disease or other drugs provide plausible explanations</li> </ul>

\*All points should be reasonably complied with

## 1.1.2 Spécificité du protocole

1.1.2.1 Evènements indésirables graves ne nécessitant pas une notification immédiate par l'investigateur au promoteur

Ces évènements indésirables graves sont uniquement recueillis dans la partie « évènement indésirable » du cahier d'observation.

- *Evolution naturelle et habituelle de la pathologie :*
  - *hospitalisation programmée pour le suivi de la pathologie étudiée,*
  - *hospitalisation pour traitement de routine ou surveillance de la pathologie étudiée non associée à une détérioration de l'état du sujet,*
  - *Hospitalisation possible en cas de poussée sévère de l'AJI.*
  - *Hospitalisation pour les visites prévues par l'étude (M0 et M3)*
- *Circonstances particulières*
  - *hospitalisation pour une pathologie préexistante*
  - *hospitalisation pour traitement médical ou chirurgical programmée avant la recherche*
- *Evènements indésirables susceptibles d'être liés aux traitements prescrits dans le cadre du soin pendant le suivi de la recherche*



Ces effets indésirables doivent être notifiés par l'investigateur au centre régional de pharmacovigilance dont il dépend.

### 1.1.3 Modalités et délais de notification au promoteur

La notification initiale d'EIG fait l'objet d'un rapport écrit et signé par l'investigateur à l'aide d'un formulaire spécifique de notification des EIG spécifique à la recherche et prévu à cet effet (Cf. annexe 2)

Chaque item de ce document doit être complété par l'investigateur pour permettre au promoteur d'effectuer une analyse pertinente.

La notification initiale d'un événement indésirable grave au promoteur doit être suivie rapidement par un ou des rapport(s) complémentaire(s) écrit(s) détaillé(s) permettant de suivre l'évolution du cas ou de compléter les informations.

L'investigateur transmettra, dans la mesure du possible, tout document pouvant être utile au promoteur (comptes-rendus médicaux, résultats biologiques, résultats d'examens complémentaires, etc). Ces documents devront être rendus anonymes. Par ailleurs, ils devront être complétés par les mentions suivantes : acronyme de la recherche, numéro et initiales du sujet, nature et date de survenue de l'évènement indésirable grave.

Tout évènement indésirable sera suivi jusqu'à sa complète résolution (stabilisation à un niveau jugé acceptable par l'investigateur ou retour à l'état antérieur) même si le sujet est sorti de la recherche.

La notification initiale, les rapports de suivi d'EIG et tout autre document seront transmis au promoteur représenté par son pôle Vigilance, exclusivement par télécopie au |

Dans le cas d'une recherche avec e-CRF :

- l'investigateur complète le formulaire de notification d'EIG dans l'e-CRF, le valide, l'imprime, le signe puis l'envoi par télécopie.
- en cas d'impossibilité de connexion à l'e-CRF, l'investigateur complètera, signera et adressera le formulaire de notification d'EIG inséré en annexe 2. Dès que la connexion sera rétablie, il régularisera en complétant le formulaire de notification d'EIG de l'e-CRF.

L'investigateur doit répondre à toute demande d'informations complémentaires émanant du promoteur.

Pour toute question relative à la notification d'un évènement indésirable, il est possible de contacter le pôle Vigilance par courriel :

## 1.2 Rôles du promoteur

Le promoteur représenté par son pôle Vigilance évalue la sécurité de la recherche de façon continue, tout au long de la recherche.

### 1.2.1 Analyse et déclaration des évènements indésirables graves

Le promoteur évalue :

- la **gravité** de tous les évènements indésirables qui lui sont rapportés,
- leur **lien de causalité** avec chaque actes/procédures/examens spécifiques ajoutés par la recherche, Tous les évènements indésirables graves pour lesquels l'investigateur et/ou le promoteur estiment qu'une relation de causalité avec la prise du probiotiqueVSL#3®spécifiquement ajoutés par la recherche peut être raisonnablement envisagée sont considérés comme des suspicions d'effets indésirables.
- le **caractère attendu ou inattendu** des effets indésirables. Tout effet indésirable dont la nature, la sévérité ou l'évolution ne concorde pas avec les informations relatives aux actes/procédures/actes pratiqués et ou produits administrés au cours de la recherche est considéré comme inattendu.

L'évaluation du caractère attendu/inattendu d'un effet indésirable est effectuée par le promoteur représenté par son pôle Vigilance sur la base des informations décrites dans les documents de référence suivants : notice du probiotiqueVSL#3® (annexe 3)

Le promoteur déclare toute suspicion d'effet indésirable grave inattendu (SUSAR), dans les délais légaux, auprès de l'Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé (ANSM) et du comité de protection des personnes (CPP) concerné :

- La déclaration initiale doit être réalisée dans les 7 jours calendaires à compter de la date de réception de l'effet indésirable grave en cas de décès ou de mise en jeu du pronostic vital.
- La déclaration initiale doit être réalisée dans les 7 jours calendaires à compter de la date de réception de l'effet indésirable grave en cas d'autre gravité.
- Toutes les informations complémentaires pertinentes, doivent être déclarées par le promoteur sous forme de rapports de suivi, dans un délai de 7 jours calendaires à compter du moment où il dispose de ces informations.

Le promoteur informe tous les investigateurs concernés de toute donnée qui pourrait avoir un impact défavorable sur la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche.

Cas particulier des recherches en double insu:

Après levée de l'insu, si le produit administré est le produit expérimenté : le cas sera donc déclaré immédiatement comme suspicion d'effets indésirables graves inattendus, si le produit administré est le comparateur : le caractère inattendu de l'effet indésirable sera réévalué par rapport au document de référence du comparateur identifié dans le protocole.

### 1.2.2 Analyse et déclaration des autres données de sécurité

Il s'agit de toute donnée de sécurité ou tout fait nouveau qui pourrait modifier significativement l'évaluation du rapport des bénéfices et des risques de la recherche, ou qui pourrait conduire à envisager des modifications concernant la conduite de la recherche.

La déclaration des faits nouveaux aux autorités compétentes doit être réalisée par le promoteur sans délai et au plus tard dans un délai de sept jours calendaires à compter du jour où il en a eu connaissance.

Suite à la déclaration initiale relative à un fait nouveau, le promoteur adresse sous forme d'un rapport de suivi du fait nouveau, toute information complémentaire pertinente relative à ce fait nouveau dans un délai de 7 jours maximum à compter du moment où il dispose de ces informations.

### 1.2.3 Rapport annuel de sécurité

Le promoteur doit établir une fois par an pendant toute la durée de la recherche un rapport annuel de sécurité (RAS ou annual safety report – [ASR]) comprenant notamment :

- une analyse de la sécurité des personnes qui se prêtent à la recherche,
- une liste de toutes les suspicions d'effets indésirables graves survenus en France dans la recherche concernée, pendant la période couverte par le rapport,
- les tableaux de synthèse comprenant tous EIG survenus depuis le début de la recherche.

**Cas particulier** : pour les recherches qui ne comportent que des risques négligeables, n'ont aucune influence sur la prise en charge médicale de la personne qui s'y prête et ne comportent ni l'administration d'un produit expérimental ni la pratique d'un acte expérimental, le rapport de sécurité est adressé sous une forme simplifiée comportant la liste des suspicions d'effets indésirables survenus pendant la période couverte par ce rapport, accompagnée d'une analyse globale et d'une évaluation actualisée des bénéfices et des risques de la recherche.

Le rapport annuel de sécurité est transmis dans les 60 jours après la date anniversaire correspondant à la date du premier patient inclus dans la recherche.



## Comité de Pilotage

Il sera constitué des initiateurs cliniciens du projet, du biostatisticien en charge du projet, des représentants du promoteur et de l'URC nommés pour cette recherche.

Il définira l'organisation générale et le déroulement de la recherche et coordonnera les informations.

Il déterminera initialement la méthodologie et décidera en cours de recherche des conduites à tenir dans les cas imprévus, surveillera le déroulement de la recherche en particulier sur le plan de la tolérance et des événements indésirables.

## Comité de Surveillance Indépendant (CSI)

L'étude étant classée risque A par le promoteur (aucun risque grave attendu lié à la prise de probiotiques, lié aux procédures/actes de la recherche), elle ne nécessite pas l'intervention d'un tel Comité.

## 8 ASPECTS STATISTIQUES

### 8.1 Description des méthodes statistiques prévues

L'analyse statistique sera réalisée à l'aide du logiciel SAS v9.3 sous la responsabilité de JEC Robert Debré.

Les données qualitatives seront exprimées sous forme d'effectifs (pourcentage) et les données quantitatives sous forme de moyenne (écart-type) ou médiane (quartiles) en fonction de la nature de la distribution (gaussienne ou non).

L'analyse du critère de jugement principal consistera à comparer le taux de patients atteignant l'ACR30 à 3 mois par rapport à M0 entre le groupe « VSL#3+ prise en charge conventionnelle » et le groupe « placebo+prise en charge conventionnelle » en utilisant un test du Chi2 ou un test exact de Fischer.

De plus, chaque composante du score ACR sera évaluée individuellement sous forme de variables quantitatives discrètes ou continues : variation entre M0 et M3 de l'activité globale de l'AJI grâce à une EVA, du nombre d'arthrites, du nombre d'articulations limitées, du score CHAQ et de la vitesse de sédimentation ou CRP. La significativité de la diminution de chacun de ces paramètres sera évaluée par un test de Wilcoxon.

#### Concernant les critères de jugement secondaires :

L'analyse de l'effet de l'ajout du VSL#3 à une prise en charge conventionnelle sur l'évolution entre M0, M3, M6 et M12, de l'activité de la maladie (score ACR30, 50 et 70 et score JADAS10), le taux de rechute et le taux de patients présentant une uvéite sera évaluée dans un modèle mixte pour mesures répétées.

La comparaison du rapport lactulose/mannitol et de la Calprotectine fécale entre les deux groupes se fera par une analyse de covariance (ANCOVA). En effet, une analyse de covariance permet d'ajuster le suivi de chaque patient sur son niveau de départ évalué à l'inclusion et a l'avantage de ne pas être affectée par les différences entre les groupes à Baseline

La comparaison de la composition du microbiote intestinal, de la présence de composantes bactériennes ainsi que la composition et l'activation des cellules immunitaires sanguines d'intérêt entre le groupe « VSL#3 » et le groupe « placebo » se fera en utilisant un test du Chi2.

Afin de mesurer le lien entre la perméabilité intestinale (rapport lactulose/mannitol) et: respectivement le microbiote intestinal, la présence de composantes bactériennes dans le sang, la composition et l'activation des cellules immunitaires sanguines d'intérêt et le régime alimentaire, une analyse de variance à un facteur (avec n modalités selon le facteur explicatif) sera réalisée.

La relation entre la perméabilité intestinale (rapport lactulose/mannitol) mesuré à M3 et la Calprotectine fécalesera évaluée par le coefficient de corrélation de Pearson si les hypothèses de normalité sont respectées, ou par le coefficient de corrélation non paramétrique de Spearman dans le cas contraire.

La comparaison du rapport lactulose/mannitol entre le groupe de patients atteignant l'ACR30 (puis 50 et 70) à 3 mois et le groupe de patients ne l'atteignant pas se fera par un test t ou de Wilcoxon selon la distribution des variables.

## 8.2 Hypothèses de calcul du nombre de sujets nécessaires et résultat

L'objectif du projet vise à rechercher une différence entre les deux groupes étudiés (« probiotique VSL#3® + prise en charge conventionnelle » vs « placebo + prise en charge conventionnelle. ») sur l'activité de la maladie évaluée par le score American College of Rheumatology pédiatrique (ACR Pedi 30).

Selon les données de la littérature, le taux de patients atteignant le score ACR Pedi 30 est de 60% (dans le groupe placebo)<sup>60,61</sup>, et on espère une augmentation de ce taux à 85% dans le groupe de patients ayant reçu le probiotique en plus d'une prise en charge habituelle. Selon les hypothèses suivantes et avec  $\alpha = 5\%$  et une puissance de 80% en bilatéral, on estime à 48 le nombre de patients à inclure par groupe sur toute la durée de l'étude (24 mois d'inclusion). Soit un total de 96 patients.

En considérant que 20% des patients inclus seront perdus de vue ou sorties d'essai, nous souhaitons augmenter l'effectif pour maintenir la puissance sur la population en Intention de traiter, soit 60 patientes par groupe (120 au total).

Le nombre annuel de patients suivis pour une AJI dans les centres participants est >700 au CHU Necker-enfants malades (données CEMARA 2012), >150 au CHU Robert Debré (données CEMARA 2012), >150 au CHU Hôpital Femme Mère Enfant de Lyon, >150 à l'Hôpital Bicêtre, >50 au CH de Versailles et >150 au CHU de Bordeaux soit un total de >1275 patients, dont 41% AJI oligo-articulaire, 8% AJI poly-articulaires facteurs rhumatoïde neg, soit un nombre total de malades éligibles de plus de 600 malades/ an. Parmi eux, 20% de malades sont des nouveaux diagnostiqués (soit plus de 120 malades/an). On peut espérer facilement inclure au moins 5 patients par mois dans les 6 centres (soit 120 patients en 24 mois).

Les patients exclus secondairement (Changement de forme clinique d'AJI au cours de l'étude non compatible avec les formes d'AJI inclus dans l'étude ou infirmation du diagnostic d'AJI) au cours de l'étude seront remplacés par de nouveaux patients, afin de maintenir l'effectif de l'étude (soit 96 patients évaluables).

Une étude de Nordal et al<sup>67</sup> évalue à 9% le taux de patients oligo- ou polyarticulaire FR neg devant changer de forme clinique d'AJI sur 8 ans. Ces changements concernent 15/225 (6.6%) des patients avec une AJI oligoarticulaire et 14/94 (14.9%) des patients avec une AJI polyarticulaire FR-. Selon les données du registre CEMARA, nous nous attendons à inclure près de 5 fois plus de malades avec une AJI oligoarticulaire par rapport à l'AJI polyarticulaire FR neg. En se basant sur les données de l'étude de Nordal, le changement de forme clinique concernera à peu près 10 malades sur une période de 8,5 ans. Dans notre étude, l'objectif principal sera évalué 3 mois après l'inclusion et le suivi clinique durera au total 12 mois. Cette période beaucoup plus courte par rapport à l'étude de Nordal (12 mois versus 8 ans), nous laisse penser que le nombre de patients devant changer de



forme clinique sera assez limité (moins de trois malades). De plus une infirmation du diagnostic d'AJI est très rare. Ce qui nous laisse penser que moins de 5 patients seront exclus de l'étude

	<i>Nombre de sujets</i>
<i>Nombre total de sujets sélectionnés</i>	120
<i>Nombre de centres</i>	6
<i>Période d'inclusion (mois)</i>	24
<i>Nombre des sujets / centre</i>	20
<b><i>Nombre de sujets / centre / mois</i></b>	<b>0.8</b>

### **8.3 Degré de signification statistique prévu**

Tous les tests sont bilatéraux et le seuil de significativité est fixé à 5%.

### **8.4 Critères statistiques d'arrêt de la recherche.**

Pas de règles d'arrêt prévues donc non applicable.

### **8.5 Méthode de prise en compte des données manquantes, inutilisées ou non valides**

Un contrôle de qualité des données est programmé afin de détecter les données manquantes et incohérentes. Toutes les données manquantes seront recherchées dans le dossier source. Si les données manquantes ne peuvent être récupérées par l'ARC de l'étude, une procédure d'imputation multiple pourra être envisagée en fonction du nombre de données manquantes et du mécanisme sous-jacent. Les patients perdus de vue, ou sortis d'étude seront considérés en échec pour le critère de jugement principal.

### **8.6 Gestion des modifications apportées au plan d'analyse de la stratégie initiale.**

Un plan d'analyse est établi préalablement à l'analyse statistique, conformément au protocole, en tenant compte de la revue des données et en accord avec l'investigateur principal de l'étude. En cas de modifications apportées au plan d'analyse statistique initial, celles-ci doivent être systématiquement justifiées, tracées et faites en accord avec l'investigateur principal et/ou le comité de pilotage. Toute modification sera communiquée au promoteur.

### **8.7 Choix des personnes à inclure dans les analyses**

L'analyse sera réalisée en intention de traiter c'est-à-dire comparer le critère principal de jugement entre les groupes de traitements tels qu'ils ont été constitués au moment de la randomisation.

## 9 Droit d'Accès aux Données et Documents Source

Les personnes ayant un accès direct conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur, notamment les articles L.1121-3 et R.5121-13 du code de la santé publique (par exemple, les investigateurs, les personnes chargées du contrôle de qualité, les moniteurs, les assistants de recherche clinique, les auditeurs et toutes personnes appelées à collaborer aux essais) prennent toutes les précautions nécessaires en vue d'assurer la confidentialité des informations relatives aux médicaments expérimentaux, aux essais, aux personnes qui s'y prêtent et notamment en ce qui concerne leur identité ainsi qu'aux résultats obtenus. Les données collectées par ces personnes au cours des contrôles de qualité ou des audits sont alors rendues anonymes.

## 10 Contrôle et Assurance de la Qualité

**La recherche sera encadrée selon les procédures opératoires standard du promoteur.**

Le déroulement de la recherche dans les centres investigateurs et la prise en charge des sujets seront fait conformément à la déclaration d'Helsinki et les Bonnes Pratiques en vigueur.

### 10.1 Procédures de monitoring

La recherche est classée risque A.

Les ARC représentants du promoteur effectueront des visites des centres investigateurs au rythme correspondant au schéma de suivi des patients dans le protocole, aux inclusions dans les différents centres et au niveau de risque qui a été attribué à la recherche.

- Visite d'ouverture de chaque centre : avant inclusion, pour une mise en place du protocole et prise de connaissance avec les différents intervenants de la recherche biomédicale.

- Lors des visites suivantes, les cahiers d'observation seront revus au fur et à mesure de l'état d'avancement de la recherche par les ARC. L'investigateur principal de chaque centre ainsi que les autres investigateurs qui incluent ou assurent le suivi des personnes participant à la recherche s'engagent à recevoir les ARC à intervalles réguliers.

Lors de ces visites sur site et en accord avec les Bonnes Pratiques Cliniques, les éléments suivants seront revus :

- Respect du protocole et des procédures définies pour la recherche,
- Vérification des consentements éclairés des patients et parent(s)
- Examen des documents source et confrontation avec les données reportées dans le cahier d'observation quant à l'exactitude, les données manquantes, la cohérence des données selon les règles édictées par les procédures du DRCD.

- Visite de fermeture : récupération des cahiers d'observation, bilan à la pharmacie, documents de la recherche biomédicale, archivage.



Le promoteur est défini par la loi 2004-806 du 9 août 2004. Dans cette recherche, l'AP-HP est le promoteur et le Département de la Recherche Clinique et du Développement (DRCD) en assure les missions réglementaires.

*Avant de démarrer la recherche, chaque investigateur fournira au représentant du promoteur de la recherche une copie de son **curriculum vitæ personnel daté et signé** et comportant son numéro d'inscription à l'Ordre des Médecins et son numéro RPPS.*

### 11.1 Modalités d'information et de recueil du consentement des personnes se prêtant à la recherche

Conformément à l'article L1122-2 du Code de la santé publique, lorsqu'une recherche biomédicale est effectuée sur un mineur non émancipé, l'autorisation est donnée par les titulaires de l'exercice de l'autorité parentale.

Le consentement libre, éclairé et écrit des titulaires de l'autorité parentale est recueilli par l'investigateur, ou un médecin qui le représente avant l'inclusion définitive du mineur dans l'étude au moment de la visite d'inclusion.

La signature du patient mineur n'est pas obligatoire mais, s'il le souhaite, il pourra signer le formulaire de consentement avec ses parents.

La note d'information et une copie du formulaire de consentement daté et signé par la personne qui se prête à la recherche ainsi que par l'investigateur ou le médecin qui le représente sont remis à la personne préalablement à sa participation à la recherche.

L'investigateur conservera un exemplaire du consentement dans ses archives et en donnera un autre aux parents. Un troisième exemplaire sera transmis à l'AP-HP sous enveloppe scellée à la fin de la recherche.

### 11.2 Déclaration CNIL

La loi prévoit que la déclaration du fichier informatisé des données personnelles collectées pour la recherche doit être faite avant le début effectif de la recherche.

Une méthodologie de référence spécifique au traitement de données personnelles opérée dans le cadre des recherches biomédicales définies par la loi 2004-806 du 9 août 2004 car entrant dans le champ des articles L.1121-1 et suivants du Code de Santé Publique a été établie par la CNIL en janvier 2006.

Cette méthodologie permet une procédure de déclaration simplifiée lorsque la nature des données recueillies dans la recherche est compatible avec la liste prévue par la CNIL dans son document de référence.

Lorsque le protocole bénéficie d'un contrôle qualité des données par un ARC représentant le promoteur et qu'il entre dans le champ d'application de la procédure simplifiée CNIL, le DRCD en qualité de promoteur demandera au responsable du fichier informatique de s'engager par écrit sur le respect de la méthodologie de référence MR001 simplifiée.

### 11.3 Demande d'autorisation auprès de l'ANSM

Pour pouvoir démarrer la recherche, l'AP-HP en tant que promoteur doit soumettre un dossier de demande d'autorisation auprès de l'autorité compétente : l'ANSM. L'autorité compétente, définie à l'article L. 1123-12, se prononce au regard de la sécurité des personnes qui se prêtent à une recherche biomédicale, en considérant notamment la sécurité et la qualité des produits utilisés au PERMAJI version 1-0 du 09/05/2016

cours de la recherche conformément, le cas échéant, aux référentiels en vigueur, leur condition d'utilisation et la sécurité des personnes au regard des actes pratiqués et des méthodes utilisées ainsi que les modalités prévues pour le suivi des personnes.

#### 11.4 Demande d'avis au Comité de Protection des Personnes

En accord avec l'article L.1123-6 du Code de Santé Publique, le protocole de recherche doit être soumis par le promoteur à un Comité de Protection des Personnes L'avis de ce comité est notifié à l'autorité compétente par le promoteur avant le démarrage de la recherche.

#### 11.5 Modifications

#### 11.6

Le DRCD doit être informé de tout projet de modification du protocole par l'investigateur coordonnateur.

Les modifications devront être qualifiées en substantielles ou non.

Une modification substantielle est une modification susceptible, d'une manière ou d'une autre, de modifier les garanties apportées aux personnes qui se prêtent à la recherche biomédicale (modification d'un critère d'inclusion, prolongation d'une durée d'inclusion, participation de nouveaux centres,...).

Après le commencement de la recherche, toute modification substantielle de celle-ci à l'initiative du promoteur doit obtenir, préalablement à sa mise en œuvre, un avis favorable du comité et une autorisation de l'autorité compétente. Dans ce cas, si cela est nécessaire, le comité s'assure qu'un nouveau consentement des personnes participant à la recherche est bien recueilli.

Par ailleurs, toute extension de la recherche (modification profonde du schéma thérapeutique ou des populations incluses, prolongation des traitements et ou des actes thérapeutiques non prévus initialement dans le protocole) devra être considérée comme une nouvelle recherche.

Toute modification substantielle devra faire l'objet **par le promoteur** d'une demande d'autorisation auprès de l'ANSM et/ou d'une demande d'avis du CPP.

#### 11.7 Rapport final de la Recherche

Le rapport final sera réalisé en commun par l'Investigateur coordonnateur, le \_\_\_\_\_ le \_\_\_\_\_ le \_\_\_\_\_

Ce rapport sera soumis à chacun des investigateurs pour avis. Une fois qu'un consensus aura été obtenu, la version finale devra être avalisée par la signature de chacun des investigateurs et adressée au promoteur dans les meilleurs délais après la fin effective de la recherche. Un rapport rédigé selon le plan de référence de l'autorité compétente doit être transmis à l'autorité compétente ainsi qu'au CPP dans un délai de un an, après la fin de la recherche, s'entendant comme la dernière visite de suivi du dernier sujet inclus. Ce délai est rapporté à 90 jours en cas d'arrêt prématuré de la recherche

## 12 Traitement des Données et Conservation des Documents et des Données relatives à la Recherche

Les documents d'une recherche entrant dans le cadre de la loi sur les recherches biomédicales doivent être archivés par toutes les parties pendant une durée de 15 ans après la fin de la recherche.

(voir BPC, chapitre 8 : documents essentiels)



Cet archivage indexé comporte :

- Les copies de courrier d'autorisation de l'ANSM et de l'avis obligatoire du CPP
- Les versions successives du protocole (identifiées par le n° de version et la date de version),
- Les courriers de correspondance avec le promoteur,
- Les consentements signés des sujets sous pli cacheté (dans le cas de sujets mineurs signés par les titulaires de l'autorité parentale) avec la liste ou registre d'inclusion en correspondance,
- Le cahier d'observation complété et validé de chaque sujet inclus,
- Toutes les annexes spécifiques à l'étude,
- Le rapport final de l'étude provenant de l'analyse statistique et du contrôle qualité de l'étude (double transmis au promoteur).
- Les certificats d'audit éventuels réalisés au cours de la recherche

La base de données ayant donné lieu à l'analyse statistique doit aussi faire l'objet d'archivage par le responsable de l'analyse (support papier ou informatique).

## 13 Assurance et Engagement Scientifique

### 13.1 Assurance

L'Assistance Publique- Hôpitaux de Paris est le promoteur de cette recherche. En accord avec la loi sur les recherches biomédicales, elle a pris une assurance auprès de la compagnie \_\_\_\_\_ pour toute la durée de la recherche, garantissant sa propre responsabilité civile ainsi que celle de tout intervenant (médecin ou personnel impliqué dans la réalisation de la recherche) (loi n°2004-806, Art L.1121-10 du CSP).

L'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris se réserve le droit d'interrompre la recherche à tout moment pour des raisons médicales ou administratives; dans cette éventualité, une notification sera fournie à l'investigateur.

### 13.2 Engagement Scientifique

Chaque investigateur s'engagera à respecter les obligations de la loi et à mener la recherche selon les B.P.C., en respectant les termes de la déclaration d'Helsinki en vigueur. Pour ce faire, un exemplaire de **l'engagement scientifique (document type DRCD)** daté et signé **par chaque investigateur** de chaque service clinique d'un centre participant sera remis au représentant du promoteur.

## 14 Règles relatives à la Publication

L'AP-HP est propriétaire des données et aucune utilisation ou transmission à un tiers ne peut être effectuée sans son accord préalable.

Seront premiers signataires des publications, les personnes ayant réellement participé à l'élaboration du protocole et son déroulement ainsi qu'à la rédaction des résultats.

L'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris doit être mentionnée comme étant le promoteur de la recherche biomédicale et comme soutien financier le cas échéant. Les termes « Assistance Publique- Hôpitaux de Paris » doivent apparaître dans l'adresse des auteurs.



## 15 BIBLIOGRAPHIE

1. Prakken, B., Albani, S. & Martini, A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet Lond. Engl.* **377**, 2138–2149 (2011).
2. Petty, R. E. *et al.* Revision of the proposed classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: Durban, 1997. *J. Rheumatol.* **25**, 1991–1994 (1998).
3. Peterson, C. T., Sharma, V., Elmén, L. & Peterson, S. N. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin. Exp. Immunol.* **179**, 363–377 (2015).
4. Kohashi, O. *et al.* Susceptibility to adjuvant-induced arthritis among germfree, specific-pathogen-free, and conventional rats. *Infect. Immun.* **26**, 791–794 (1979).
5. Kohashi, O., Kohashi, Y., Takahashi, T., Ozawa, A. & Shigematsu, N. Reverse effect of gram-positive bacteria vs. gram-negative bacteria on adjuvant-induced arthritis in germfree rats. *Microbiol. Immunol.* **29**, 487–497 (1985).
6. Rath, H. C. *et al.* Normal luminal bacteria, especially *Bacteroides* species, mediate chronic colitis, gastritis, and arthritis in HLA-B27/human beta2 microglobulin transgenic rats. *J. Clin. Invest.* **98**, 945 (1996).
7. Sinkorová, Z., Capková, J., Niederlová, J., Stepánková, R. & Sinkora, J. Commensal intestinal bacterial strains trigger ankylosing enthesopathy of the ankle in inbred B10.BR (H-2(k)) male mice. *Hum. Immunol.* **69**, 845–850 (2008).
8. van den Broek, M. F., van Bruggen, M. C., Koopman, J. P., Hazenberg, M. P. & van den Berg, W. B. Gut flora induces and maintains resistance against streptococcal cell wall-induced arthritis in F344 rats. *Clin. Exp. Immunol.* **88**, 313–317 (1992).
9. Abdollahi-Roodsaz, S. *et al.* Stimulation of TLR2 and TLR4 differentially skews the balance of T cells in a mouse model of arthritis. *J. Clin. Invest.* **118**, 205–216 (2008).
10. Wu, H.-J. *et al.* Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. *Immunity* **32**, 815–827 (2010).
11. Yoshitomi, H. *et al.* A role for fungal {beta}-glucans and their receptor Dectin-1 in the induction of autoimmune arthritis in genetically susceptible mice. *J. Exp. Med.* **201**, 949–960 (2005).
12. Arvonen, M., Virta, L. J., Pokka, T., Kröger, L. & Vähäsalo, P. Repeated exposure to antibiotics in infancy: a predisposing factor for juvenile idiopathic arthritis or a sign of this group's greater susceptibility to infections? *J. Rheumatol.* **42**, 521–526 (2015).
13. Horton, D. B. *et al.* Antibiotic Exposure and Juvenile Idiopathic Arthritis: A Case-Control Study. *Pediatrics* **136**, e333–343 (2015).
14. Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C. & Jansson, J. K. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J.* **1**, 56–66 (2007).
15. Kinugasa, T., Sakaguchi, T., Gu, X. & Reinecker, H. C. Claudins regulate the intestinal barrier in response to immune mediators. *Gastroenterology* **118**, 1001–1011 (2000).
16. Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M. L. & Relman, D. A. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol.* **6**, e280 (2008).
17. Dethlefsen, L. & Relman, D. A. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108 Suppl 1**, 4554–4561 (2011).
18. Dorożyńska, I., Majewska-Szczepanik, M., Marcińska, K. & Szczepanik, M. Partial depletion of natural gut flora by antibiotic aggravates collagen induced arthritis (CIA) in mice. *Pharmacol. Rep. PR* **66**, 250–255 (2014).
19. Stone, M., Fortin, P. R., Pacheco-Tena, C. & Inman, R. D. Should tetracycline treatment be used more extensively for rheumatoid arthritis? Metaanalysis demonstrates clinical benefit with reduction in disease activity. *J. Rheumatol.* **30**, 2112–2122 (2003).
20. Hannonen, P., Möttönen, T., Hakola, M. & Oka, M. Sulfasalazine in early rheumatoid arthritis. A 48-week double-blind, prospective, placebo-controlled study. *Arthritis Rheum.* **36**, 1501–1509 (1993).
21. Mielants, H. *et al.* Intestinal mucosal permeability in inflammatory rheumatic diseases. I. Role of antiinflammatory drugs. *J. Rheumatol.* **18**, 389–393 (1991).
22. Vahtovuori, J., Munukka, E., Korkeamäki, M., Luukkainen, R. & Toivanen, P. Fecal microbiota in early rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* **35**, 1500–1505 (2008).
23. Liu, X., Zou, Q., Zeng, B., Fang, Y. & Wei, H. Analysis of fecal *Lactobacillus* community structure in patients with early rheumatoid arthritis. *Curr. Microbiol.* **67**, 170–176 (2013).
24. Scher, J. U. *et al.* Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *eLife* **2**, e01202 (2013).
25. Stoll, M. L. *et al.* Altered microbiota associated with abnormal humoral immune responses to commensal organisms in enthesitis-related arthritis. *Arthritis Res. Ther.* **16**, 486 (2014).
26. Paladini, A. *et al.* The intestinal microbiota in enthesitis-related arthritis. *Pediatr. Rheumatol. Online J.* **12**, P47 (2014).
27. Kagnoff, M. F. & Eckmann, L. Epithelial cells as sensors for microbial infection. *J. Clin. Invest.* **100**, 6–10 (1997).
28. Mielants, H. *et al.* Intestinal mucosal permeability in inflammatory rheumatic diseases. II. Role of disease. *J. Rheumatol.* **18**, 394–400 (1991).
29. Picco, P. *et al.* Increased gut permeability in juvenile chronic arthritides. A multivariate analysis of the diagnostic parameters. *Clin. Exp. Rheumatol.* **18**, 773–778 (2000).
30. Jenkins, R. T., Rooney, P. J., Jones, D. B., Bienenstock, J. & Goodacre, R. L. Increased intestinal permeability in patients with rheumatoid arthritis: a side-effect of oral nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy? *Br. J. Rheumatol.* **26**, 103–107 (1987).
31. Ménard, S., Cerf-Bensussan, N. & Heyman, M. Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens. *Mucosal Immunol.* **3**, 247–259 (2010).
32. Su, L. *et al.* Targeted epithelial tight junction dysfunction causes immune activation and contributes to development of experimental colitis. *Gastroenterology* **136**, 551–563 (2009).
33. Martin-Padura, I. *et al.* Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J. Cell Biol.* **142**, 117–127 (1998).



34. Hill, C. *et al.* Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.***11**, 506–514 (2014).
35. Varankovich, N. V., Nickerson, M. T. & Korber, D. R. Probiotic-based strategies for therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. *Front. Microbiol.***6**, 685 (2015).
36. Turrone, F. *et al.* Ability of *Bifidobacterium breve* to grow on different types of milk: exploring the metabolism of milk through genome analysis. *Appl. Environ. Microbiol.***77**, 7408–7417 (2011).
37. Patel, R. & DuPont, H. L. New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.***60** Suppl 2, S108–121 (2015).
38. van den Nieuwboer, M. *et al.* Safety of probiotics and synbiotics in children under 18 years of age. *Benef. Microbes* 1–16 (2015). doi:10.3920/BM2014.0157
39. Nousiainen, P., Merras-Salmio, L., Aalto, K. & Kolho, K.-L. Complementary and alternative medicine use in adolescents with inflammatory bowel disease and juvenile idiopathic arthritis. *BMC Complement. Altern. Med.***14**, 124 (2014).
40. So, J.-S. *et al.* *Lactobacillus casei* suppresses experimental arthritis by down-regulating T helper 1 effector functions. *Mol. Immunol.***45**, 2690–2699 (2008).
41. Amdekar, S. *et al.* *Lactobacillus casei* reduces the inflammatory joint damage associated with collagen-induced arthritis (CIA) by reducing the pro-inflammatory cytokines: *Lactobacillus casei*: COX-2 inhibitor. *J. Clin. Immunol.***31**, 147–154 (2011).
42. Kano, H., Kaneko, T. & Kaminogawa, S. Oral intake of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1073R-1 prevents collagen-induced arthritis in mice. *J. Food Prot.***65**, 153–160 (2002).
43. Hatakka, K. *et al.* Effects of probiotic therapy on the activity and activation of mild rheumatoid arthritis—a pilot study. *Scand. J. Rheumatol.***32**, 211–215 (2003).
44. Mandel, D. R., Eichas, K. & Holmes, J. *Bacillus coagulans*: a viable adjunct therapy for relieving symptoms of rheumatoid arthritis according to a randomized, controlled trial. *BMC Complement. Altern. Med.***10**, 1 (2010).
45. Vaghef-Mehrabany, E. *et al.* Probiotic supplementation improves inflammatory status in patients with rheumatoid arthritis. *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif.***30**, 430–435 (2014).
46. Jenks, K. *et al.* Probiotic therapy for the treatment of spondyloarthritis: a randomized controlled trial. *J. Rheumatol.***37**, 2118–2125 (2010).
47. Arrieta, M.-C., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. M. & Finlay, B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front. Immunol.***5**, 427 (2014).
48. Plaza-Diaz, J. *et al.* Effects of *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036 on hepatic steatosis in Zucker rats. *PLoS One***9**, e98401 (2014).
49. Tursi, A. *et al.* Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am. J. Gastroenterol.***105**, 2218–2227 (2010).
50. Tursi, A. *et al.* Low-dose balsalazide plus a high-potency probiotic preparation is more effective than balsalazide alone or mesalazine in the treatment of acute mild-to-moderate ulcerative colitis. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.***10**, PI126–131 (2004).
51. Miele, E. *et al.* Effect of a Probiotic Preparation (VSL# 3) on induction and maintenance of Remission in children with ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol.***104**, 437–443 (2009).
52. Guandalini, S. *et al.* VSL#3 improves symptoms in children with irritable bowel syndrome: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind, crossover study. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***51**, 24–30 (2010).
53. Karimi, O., Peña, A. S. & van Bodegraven, A. A. Probiotics (VSL#3) in arthralgia in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease: a pilot study. *Drugs Today (Barc. Spain)***41**, 453–459 (2005).
54. EMA/CHMP/239770/2014 Rev. 2 & Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on clinical investigation of medicinal products for the treatment of juvenile idiopathic arthritis. (2014).
55. Consolaro, A. *et al.* Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.***61**, 658–666 (2009).
56. Consolaro, A. *et al.* Remission, minimal disease activity, and acceptable symptom state in juvenile idiopathic arthritis: defining criteria based on the juvenile arthritis disease activity score. *Arthritis Rheum.***64**, 2366–2374 (2012).
57. Denno, D. M. *et al.* Use of the Lactulose to Mannitol Ratio to Evaluate Childhood Environmental Enteric Dysfunction: A Systematic Review. *Clin. Infect. Dis.***59**, S213–S219 (2014).
58. Deschamps, V. *et al.* Reproducibility and relative validity of a food-frequency questionnaire among French adults and adolescents. *Eur. J. Clin. Nutr.***63**, 282–291 (2009).
59. Kolodziejczyk, J. K., Merchant, G. & Norman, G. J. Reliability and validity of child/adolescent food frequency questionnaires that assess foods and/or food groups. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.***55**, 4–13 (2012).
60. Yokota, S. *et al.* Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase III trial. *Lancet Lond. Engl.***371**, 998–1006 (2008).
61. Klein, A. *et al.* Efficacy and safety of oral and parenteral methotrexate therapy in children with juvenile idiopathic arthritis: an observational study with patients from the German Methotrexate Registry. *Arthritis Care Res.***64**, 1349–1356 (2012).
62. Ravelli, A., *et al.* Patients with antinuclear antibody-positive juvenile idiopathic arthritis constitute a homogeneous subgroup irrespective of the course of joint disease. *Arthritis Rheum* **52**, 826–832 (2005).
63. Ravelli, A., *et al.* Antinuclear antibody-positive patients should be grouped as a separate category in the classification of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* **63**, 267–275 (2011).
64. Barnes, M.G., *et al.* Subtype-specific peripheral blood gene expression profiles in recent-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* **60**, 2102–2112 (2009).
65. Hollenbach, J.A., *et al.* Juvenile idiopathic arthritis and HLA class I and class II interactions and age-at onset effects. *Arthritis Rheum* **62**, 1781–1791 (2010).
66. Martini, A. It is time to rethink juvenile idiopathic arthritis classification and nomenclature. in *Ann Rheum Dis* 1437–1439 (2012)

67. Nordal E, Zak M, Aalto K, Berntson L, Fasth A, Herlin T, Lahdenne P, Nielsen S, Straume B, Rygg M; Nordic Study Group of Pediatric Rheumatology. Ongoing disease activity and changing categories in a long-term nordic cohort study of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011 Sep;63(9):2809-18. doi: 10.1002/art.30426.

## 16 ANNEXES

**Annexe 1** : CHAQ questionnaire

**Annexe 2** : Formulaire de notification d'EIG

**Annexe 3** : Notice d'utilisation VSL 3

**Annexe 4** : Liste des centres investigateurs





PATIENT ID

DATE OF VISIT (D/M/Y)

CHILDHOOD HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE :

VERSION FRANCAISE (PARENTS)

**INSTRUCTIONS :** Nous souhaitons savoir comment la maladie de votre enfant affecte ses capacités à effectuer les activités de la vie de tous les jours. N'hésitez pas à ajouter des commentaires à la fin du questionnaire.

Pour les questions suivantes, veuillez indiquer la réponse qui, dans l'ensemble, s'applique le mieux à votre enfant (en considérant la moyenne sur une journée entière) **AU COURS DES HUIT DERNIERS JOURS.**

**NE PRENEZ EN COMPTE QUE LES DIFFICULTÉS DUES À LA MALADIE.**

Si votre enfant a des difficultés pour faire une certaine activité ou est incapable de la faire parce qu'il est trop jeune et non parce qu'il est **LIMITÉ PAR LA MALADIE**, cochez la case "Question inadaptée pour l'âge".

	Sans AUCUNE difficulté	Avec QUELQUE difficulté	Avec BEAUCOUP de difficulté	INCAPABLE de le faire	Question inadaptée pour l'âge
<b>S'HABILLER ET SE PRÉPARER</b>					
Votre enfant est-il capable de :					
- s'habiller, y compris lacer ses chaussures et boutonner ses vêtements ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- se laver les cheveux ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- enlever ses chaussettes ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- se couper les ongles ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>SE LEVER</b>					
Votre enfant est-il capable de :					
- se lever d'une chaise basse ou du sol ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- se mettre au lit et en sortir ou se mettre debout dans son lit ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>MANGER</b>					
Votre enfant est-il capable de :					
- couper sa viande ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- porter une tasse ou un verre à la bouche ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- ouvrir un pot de yaourt ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>MARCHER</b>					
Votre enfant est-il capable de :					
- marcher dehors sur terrain plat ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
- monter quelques marches ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>* Veuillez indiquer d'une croix si votre enfant utilise habituellement un de ces APPAREILS ou ACCESSOIRES pour effectuer ces activités :</b>					
- canne	<input type="checkbox"/>	- accessoires pour s'habiller (crochet enfile bouton, anneau pour fermeture éclair, chausse pied à long manche...)			<input type="checkbox"/>
- déambulateur	<input type="checkbox"/>	- gros crayon ou autres objets spécialement adaptés			<input type="checkbox"/>
- béquilles	<input type="checkbox"/>	- siège spécialement adapté			<input type="checkbox"/>
- fauteuil roulant	<input type="checkbox"/>	- autres (préciser) : _____			<input type="checkbox"/>
<b>* Veuillez indiquer d'une croix les activités pour lesquelles votre enfant a besoin de l'aide de quelqu'un À CAUSE DE LA MALADIE :</b>					
- s'habiller et se préparer	<input type="checkbox"/>	- manger			<input type="checkbox"/>
- se lever	<input type="checkbox"/>	- marcher			<input type="checkbox"/>





PATIENT ID

DATE OF VISIT (D/M/Y)

Sans AUCUNE difficulté	Avec QUELQUE difficulté	Avec BEAUCOUP de difficulté	INCAPABLE de le faire	Question inadaptée pour l'âge
------------------------------	-------------------------------	-----------------------------------	--------------------------	-------------------------------------

**HYGIÈNE**

Votre enfant est-il capable de :

- se laver et se sécher complètement ?
- prendre un bain (entrer dans la baignoire et en sortir) ?
- s'asseoir et se relever des toilettes ou du pot ?
- se brosser les dents ?
- se peigner, se brosser les cheveux ?

**ATTEINDRE**

Votre enfant est-il capable de :

- attraper un objet lourd comme une grande boîte de jeu ou des livres placés juste au-dessus de sa tête ?
- se baisser pour ramasser un vêtement ou une feuille de papier par terre ?
- enfiler un pull ?
- tourner la tête pour regarder par dessus son épaule ?

**SAISIR, TENIR**

Votre enfant est-il capable de :

- écrire ou gribouiller avec un crayon ?
- ouvrir une porte de voiture ?
- dévisser le couvercle d'un pot qui a déjà été ouvert ?
- ouvrir et fermer un robinet ?
- ouvrir une porte en tournant la poignée ?

**AUTRES ACTIVITÉS**

Votre enfant est-il capable de :

- aller chercher le pain, faire des commissions ou des courses ?
- monter dans une voiture ou un bus et en descendre ?
- faire du vélo ou du tricycle ?
- aider à la maison (par ex. faire la vaisselle, sortir la poubelle, passer l'aspirateur, mettre la table, faire son lit, ranger sa chambre) ?
- courir et jouer ?

\* Veuillez indiquer d'une croix si votre enfant utilise habituellement un de ces APPAREILS ou ACCESSOIRES pour effectuer ces activités :

- siège de toilette rehaussé  - barre d'appui de baignoire
- siège de baignoire  - instruments à long manche pour atteindre les objets
- ouvre pot (pour les pots déjà ouverts)  - instruments à long manche pour la toilette

\* Veuillez indiquer d'une croix les activités pour lesquelles votre enfant a besoin de l'aide de quelqu'un À CAUSE DE LA MALADIE :

- hygiène  - saisir, tenir
- atteindre  - autres activités

**DOULEUR**

Nous souhaitons également savoir si votre enfant a eu des douleurs À CAUSE DE LA MALADIE.

Quelle a été l'importance de ses douleurs AU COURS DES HUIT DERNIERS JOURS ?

Faites un trait vertical sur la ligne ci-dessous pour indiquer la sévérité des douleurs

Aucune douleur 0 |-----| 100 Douleurs extrêmes

**ÉVALUATION GLOBALE**

En considérant toutes les répercussions que la maladie a sur votre enfant, indiquez comment "il se débrouille" en faisant un trait vertical sur la ligne ci-dessous

Très bien 0 |-----| 100 Très mal

1990 Original version Singh G et al.

1997 Cross-cultural adapted version Prieur AM for PRINTO, and Larbre JP, Pouchot J, Guillemain F, Coste J for the French SGQLR











Acronyme : Erreur ! Source du renvoi introuvable. PERMAJI

Référence de la personne se prêtant à la recherche : \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_ - \_\_\_\_\_  
n°centre - n° ordre de sélection - initiale - initiale  
nom prénom

**PARTIE RESERVEE AU PROMOTEUR**

REFERENCE VIGILANCE :

Référence GED : REC-DTYP-0271

		du _____	□		
au _____			□		

(1) Voie d'administration : VO=voie orale ; IM=Intramusculaire ; IV=intraveineuse ; SC=sous-cutanée ou autre (à préciser) (2) En cours au moment de la survenue de l'EIG

**6. Evènement indésirable grave [EIG]**

<b>Diagnostic :</b> <input type="checkbox"/> Définitif <input type="checkbox"/> Provisoire ..... .....		<b>Organe(s) concerné(s) :</b> ..... ..... ..... .....
<b>Date de survenue des premiers symptômes :</b> _____ Préciser lesquels ..... .....		<b>Critères de gravité :</b> <input type="checkbox"/> Nécessite ou prolonge l'hospitalisation : du _____ au _____ <input type="checkbox"/> en cours <input type="checkbox"/> Décès <input type="checkbox"/> Mise en jeu du pronostic vital <input type="checkbox"/> Incapacité ou handicap important ou durable <input type="checkbox"/> Anomalie ou malformation congénitale <input type="checkbox"/> Autre(s) critère(s) médicalement significatif(s), préciser : ..... ..... .....
<b>Date d'apparition de l'EIG :</b> _____ jj mm aaaa <b>Heure de survenue :</b> _____min <input type="checkbox"/> donnée manquante	<b>Délai entre la date de procédure/acte ajouté par la recherche et la date de survenue de l'EIG :</b> _____ / _____ jjhh min	
<b>L'évènement a-t-il conduit à une interruption de la procédure/acte ajouté par la recherche ?</b> <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Date : _____ <input type="checkbox"/> Non applicable L'arrêt de la procédure/acte ajouté par la recherche a été : <input type="radio"/> Provisoire <input type="radio"/> Définitif Le cas échéant, date de reprise de la procédure/acte ajouté par la recherche : _____ <input type="checkbox"/> Non applicable Récidive de l'EIG après reprise de la procédure/acte ajouté par la recherche : <input type="radio"/> Non <input type="radio"/> Oui Date : _____ <input type="checkbox"/> Non applicable <b>Des mesures symptomatiques ont-elles été prises ?</b> <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Date : _____ Préciser : ..... .....		
<b>L'évènement a-t-il conduit à une levée d'insu ?</b> <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui Date : _____		

**Evolution de l'évènement**

<input type="checkbox"/> Décès <input type="radio"/> sans relation avec l'EIG <input type="radio"/> en relation avec l'EIG Date : _____ jj mm aaaa	<input type="checkbox"/> Sujet non encore rétabli, préciser : <input type="radio"/> Etat stable <input type="radio"/> Aggravation <input type="radio"/> Amélioration	
<input type="checkbox"/> Résolu : <input type="radio"/> sans séquelles <input type="radio"/> avec séquelles, préciser lesquelles : ..... ..... .....	<input type="checkbox"/> Evolution inconnue Date : _____ jj mm aaaa _____ hh min	

**7. Autre(s) étiologie(s) envisagée(s)**

Non  Oui Si oui, préciser : .....  
 .....

**8. Examen(s) complémentaire(s) réalisé(s)**

Non  Oui Si oui, préciser date, nature et résultats : [joindre les bilans anonymisés] .....  
 .....  
 .....











# VSL#3<sup>®</sup> Dispensing Pack

## DATA SHEET

This data sheet uses the format based on the requirements of Article 11, Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use<sup>1</sup>. The summary of the product characteristics is as follows:

### 1. NAME OF THE PRODUCT

VSL#3<sup>®</sup>

### 2. QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION

VSL#3<sup>®</sup> is a high potency probiotic food supplement product consisting of 8 strains of live freeze-dried lactic acid bacteria from the following bacterial species:

- *Streptococcus thermophilus*
- *Bifidobacterium breve*
- *Bifidobacterium longum*
- *Bifidobacterium infantis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus paracasei*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Each sachet of VSL#3<sup>®</sup> delivers 450 billion live lactic acid bacteria. VSL#3<sup>®</sup> also contains maltose, silicon dioxide and traces of gluten, lactose and skimmed dehydrated milk.

### 3. FORM

VSL#3<sup>®</sup> is a high strength probiotic food supplement product, within the definition of Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002 on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplements<sup>2</sup>.

Each 4.4g sachet of powder contains 450 billion bacteria from 8 specific species. The recommendation is to consume 1 to 4 sachets daily.

The outer packaging contains 30 sachets and has a total weight of 132g.

### 4. PHARMACOLOGICAL PROPERTIES

VSL#3<sup>®</sup> has no pharmacological properties

### 5. CLINICAL PARTICULARS

#### 5.1. Therapeutic indications

VSL#3<sup>®</sup> may help with maintaining healthy gut microflora in patients with ileal pouches (IP) who have been treated with antibiotics.





The Advisory Committee on Borderline Substances (ACBS) has given approval for VSL#3<sup>®</sup> for use under the supervision of a physician for the maintenance of remission of ileoanal pouchitis only in adults as induced by antibiotics.

## **5.2. Contra-indications**

Please keep this produce out of the reach of children. Pregnant or lactating women should consult with a physician or health care professional before using this or any medical food product. Consult with your physician before use if you are taking any medication.

## **5.3. Adverse reactions (frequency and seriousness)**

When you start taking VSL#3<sup>®</sup> you may experience bloating while the balance of bacteria in your digestive tract changes. If you experience bloating, you may need to reduce your daily intake to allow for this adjustment. See also point 5.9.

## **5.4. Special precautions for use**

No special precautions are recommended beyond normal good hygienic practice.

## **5.5. Use during pregnancy and lactation**

Pregnant or lactating women should consult with a physician or health care professional before using this or any medical food product.

## **5.6. Interaction with other medicaments and other forms of interaction**

VSL#3<sup>®</sup> is believed to be compatible with all types of drugs. If you take it with antibiotics, it will not harm you but the effects of VSL#3<sup>®</sup> will be reduced. This is because antibiotics can inactivate the beneficial bacteria in VSL#3<sup>®</sup>.

## **5.7. Posology and method of administration for adults**

Take 1 to 4 sachets daily.

Open packet and stir contents into cold water or any non-carbonated drink and consume. VSL#3<sup>®</sup> is a food supplement. Adjustment of the intestinal flora can take a few days or weeks; it may take up to one month for the colonization of the gut to become stable.

## **5.8. Overdose (symptoms, emergency procedures, antidotes)**

Drink plenty of water.

## **5.9. Special warnings**

Since the cultures are made from fermentation media that contain both soya and milk, VSL#3<sup>®</sup> should be labelled as "contains soybean" and "contains milk".

## **5.10. Effects on ability to drive and to use machines**

None are anticipated.

\*





## **6. PARTICULARS:**

### **6.1. Major incompatibilities**

VSL#3<sup>®</sup> contains living microorganisms which are susceptible to heat (e.g. hot drinks) and prolonged exposure to acidic liquids (e.g. some carbonated beverages) prior to ingestion.

### **6.2. Shelf life**

Sachets should be refrigerated (2-8°C). If unopened and stored under refrigeration, the product is guaranteed until the "Best before" date, which is 24 months from manufacture.

### **6.3. Special precautions for storage**

VSL#3<sup>®</sup> can be stored at room temperature for up to a week without adversely affecting potency.

### **6.4. Nature and contents of the immediate packaging**

Each 4.4g sachet of powder contains 450 billion bacteria from 8 specific species. The recommendation is to consume 1 to 4 sachets daily.

The outer packaging contains 30 sachets and has a total weight of 132g.

### **6.5. Special precautions for disposal**

None.

## **7. NAME OR CORPORATE NAME AND PERMANENT ADDRESS OF THE MARKETING AUTHORIZATION HOLDER.**

Ferring Pharmaceutical Ltd.  
The Courtyard  
Waterside Drive  
Langley  
Berkshire  
SL3 6EZ

<sup>1</sup> Official Journal L 311 , 28/11/2001 P. 0067 - 0128

<sup>2</sup> Official Journal L 183 , 12/07/2002 P. 0051 – 0057

VSL#3<sup>®</sup> is a trademark of Actial Farmaceutica Lda

Data sheet last revised April 2009





**Annexe 4** : Liste des centres investigateurs

<p><b><u>CENTRE n°001</u></b>  <b>Hôpital Robert Debré,</b>  Pédiatrie Générale  48 Bd. Sérurier  75019 PARIS</p>	<p><b>Investigateur Coordonnateur :</b></p>	<p><b>CIC- P 14 26</b>   <b>Hôpital Robert Debré</b>  48 Bd. Sérurier  75019 PARIS</p>
<p><b><u>CENTRE n°002</u></b>  <b>CHU Necker enfants malades,</b>  Unité d'immunologie, hématologie  et rhumatologie  149 Rue de Sèvres, 75015 PARIS</p>	<p><b>Investigateur Coordonnateur :</b></p>	<p><b>CIC1419</b>   <b>Hôpital Tarnier</b>  89, rue d'Assas  75006 Paris</p>
<p><b><u>CENTRE n°003</u></b>  <b>CHU Hôpital FemmeMère Enfant, 32</b>  Avenue Doyen Jean Lépine, 69500 BRON  Rhumatologie – Médecine Interne  pédiatriques</p>	<p><b>Investigateur Coordonnateur :</b></p>	<p><b>CIC1407</b>   Avenue Doyen Jean Lépine, 69500  BRON</p>
<p><b><u>CENTRE n°004</u></b>  <b>CHU Bicetre, 78 Rue du Général Leclerc,</b>  94270 LE KREMLIN-BICTERE  Pédiatrie Générale</p>	<p><b>Investigateur Coordonnateur :</b></p>	<p><b>Hospitalisation en hôpital de jour</b></p>
<p><b><u>CENTRE n°005</u></b>  <b>CH de Versailles - Hôpital André Mignot</b>  177 Rue de Versailles 78157 LE CHESNAY</p>	<p><b>Investigateur Coordonnateur :</b></p>	<p><b>Hospitalisation en hôpital de jour</b></p>
<p><b><u>CENTRE n°006</u></b>  <b>CHU de Bordeaux-GH Pellegrin</b>  Place Amélie Raba-Léon,  33076 BORDEAUX  Pédiatrie Générale</p>	<p><b>Investigateur Coordonnateur</b></p>	<p><b>CIC1401</b>   <b>Centre Hospitalier Universitaire  de Bordeaux</b>   Université Victor Ségalen  Dépt de Pharmacologie  Bât 1A - zone nord  Site Carreire BP36  146, rue Léo Saignat  33076 BORDEAUX Cedex</p>
<p>Centre n°007  CHU de Toulouse  330, avenue de Grande Bretagne - TSA  70034 - 31059 Toulouse cedex 9</p>	<p></p>	<p><b>CIC 1436</b>   Hôpital Purpan</p>





Pédiatrie - POSU et urgences médico-chirurgicales		Pavillon Riser - 1er étage Place du Dr Baylac TSA 40031 31059 TOULOUSE Cedex 9
---	--	---

