



# Journées du GREPI

des jeudi 14  
et vendredi 15  
Novembre 2013



# **Infection et pathologies pulmonaires chroniques**

**Les nouveautés  
de l'année**

**Pr Pierre-Régis Burgel**  
Hôpital Cochin, Paris



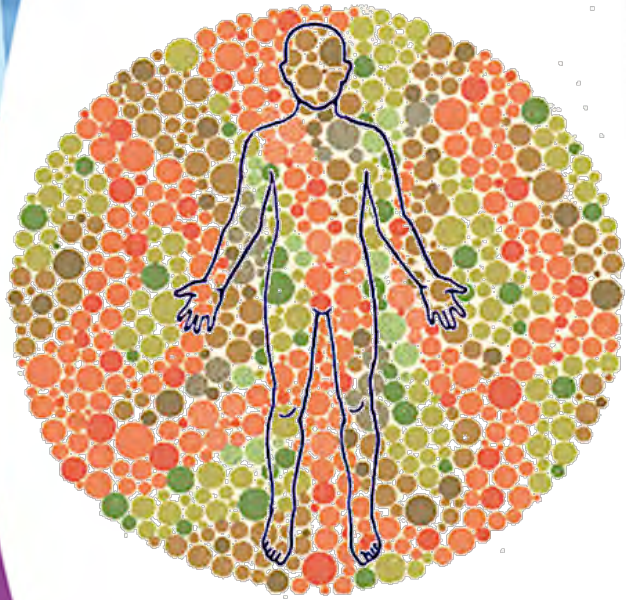
## 2013: apparition du microbiome/microbiote respiratoire “fonctionnel”

Le **microbiome** (du grec *micro* = petit et *bios* = vie) est l'« aire biotique » (aire de vie) du [microbiote](#), le mot microbiote désignant ici les espèces autrefois groupées sous le terme « microflore », c'est-à-dire celles qui prédominent et/ou sont durablement adaptées à la surface et à l'intérieur d'un organisme vivant.

Source Wikipedia



# The Human: a “Super-organism”



CTTGTATGTAACCTTATGAAIARAGCRTTGGCTTAACTTCCGTGCLAGCAGCCGGGTAATACGGAGGATGCGAGCGT TATTCG  
AAAGTTTGGCGCTCAACCGTAAAATTGCCGTGATAGTGGATATCTTGAGTGCAGTTGAGGCCAGGCGGAATTOGTGGTGTGTA  
GCTGATCAAAACAGGATGAGATACCTTGGTGTAGTTAGGGAACTTTCG  
AAAGTTTGGACAAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCTATTCGGCGTGGGATGAAGGCCCTCGGGTGTAAACCCTTTTGTGTA  
AAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGTAAATACGTAGGGTCCGAGCCGTTAAATOGGAAATTAACCTGGCGGTA  
ACACCGGAACTGCCCTTAATACTGTTGAGCTAGAGAGTAGTTCGGGTAGCCGGAATGTATGGTGTAGCCGGTGAATGCTTAG  
GACGTTGAGCCACGAAAGCGTGGGACAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCTGGGAAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTG  
TGTGATCCGGGACGAAGGCATCAATTTGAGAACATTGATGATGTTGACGGTACCGGAAAGCAAGCCACGGCTAACTACGTGC  
GGCGTAAAGCCGCGCAGCCGCGCTGCAAGTCCATCTTAAAGCGTGGGCTTAAACCCATGAGGGGATGGAAATGCAATGCAAT  
ATATCGGSAAGAACACCGGACGGCGGAAGCCAGCTTCCGGCGTACCGACCTGAGCCCGCGCTACGACAGGATAGATATGGG  
GATGAAGGCTCTTCGGATTTGTAACCTCTTTTATTAAGGACGAAGAAAGTGACCGTACTTAATGAAATAGCTCCGGCTAACTA  
TACTGGGTGTAAAGGGTGGGTAGCCGGCTTTCGAAGTCAGATGTGAAATCTATGGGCTCAACCCATAGCCCTGCATTTGAAAC  
ACAATGGAGGAACTCTGATGCAGCGATGCCCGGTGAGGGAGAAGGTTTCAGATTGTAACCCCTGCTCTCAGGGACGAT  
CGCGGTAATACGTAGGGAGCAAGCGTTGCCGGAANTTACTTGTGGGAGTGTAGCCGGATAGTTAGGTTAGGATGAAATCTATGG  
AGGTTAGCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGTGGGAAATATGACCAATGGGGGAAACCTGATGACAGCGACCGCCGGTGGTGT  
GTACCTGACTAAGAAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGGGTAATACGTACAAGCGTTATCCGGAAATTACTTGTAA  
CCCATAGTTGGCTCAAAACCTGTTTTCTTGTAGTGAAGTAGAGGTAAGCCGGAATTCCTAGTGTAGCGGTGATGAGGAATATT  
CCCTATGGGTGTAAACTGCTTTTATAAGGCAATAAGGTGACCCCTGTTGAGGCTTTTTCGATGTAACGATTAAGAA  
ATATTACGTAGGAGATTAAGCGTGTGTGAAATGTAGACCGCTCAACGCTGCACTGCAGCGGAACTCCTTGTACTACGCAC  
CGACCGCCGTGAGCGAAGAAGTATTCGGIATGTAAAGCTCTATCAGCAGGGAGAACCATGACGGTACTGCAAGAAGAA  
TTATCCGGATTCATTTGGGCGTAAAGCGCCGCGCCGCGGATCAAGCCGGAACCTCTAATCCCGGGGCTCAACCCCGCG  
CGGGTGTGGGAAATTTGCAACAATGGGGAAACCTGTATGACCGCAGCCCGCTGGAGGAAGGCTTTCGATTTGTAA  
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAMAGTAGGTGACAGCGTGTCCGGAATTAOGTAAAGGGCGCCGAGCGGCT  
TATCGGAGAGGAAAGTGGAAATTCCTAGTGTAGCGGTGATGAGGAGGTAAGCTGCTTAACTGGCCCTTATTTGACGGTAAAT  
GCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGCGCTC  
AACACCAAGTGGCGAAGCGGCTCTCTGGTCTGTAACT  
AACAGCCAAAGTAGCGTGAAGGATGAAGGTCCTACG  
CGCGGTAATACGGAGGATGCGAGCGTTATCCGGA  
GTGAGTACCGCTGATAGTTAGGGAATCTTCGGC  
AACGTCCCTGACGGTATCTAACCGAAAGCC  
ATGTGAAAGCCCGCGTCAACCGGGAGGCT  
GCTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCT  
GCGCTCGGGTTGTAAACCACTTTTGTAGA  
CGGTTAATCGGAATTACTGGCGTAAAG  
ATGGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGAG  
CTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGAC  
CAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA  
TGAAGGATGGAACCTGCAATGGC  
GAAACAGGATTAAGATATGGGG  
ATAAGCTCCGCTAACTAGG  
AGCCCTGCAATTTGAAACTG  
TCTTTCAGGGACGATAA  
GTGAAATCTATGGGC  
CGCGGTGAGTGA  
ACTTGTAAAG  
ATATTTGG  
GACCG



## Microbiome digestif

3.3 millions de gènes microbiens différents

150 x la taille du génome humain!

Qin et al. Nature 2010



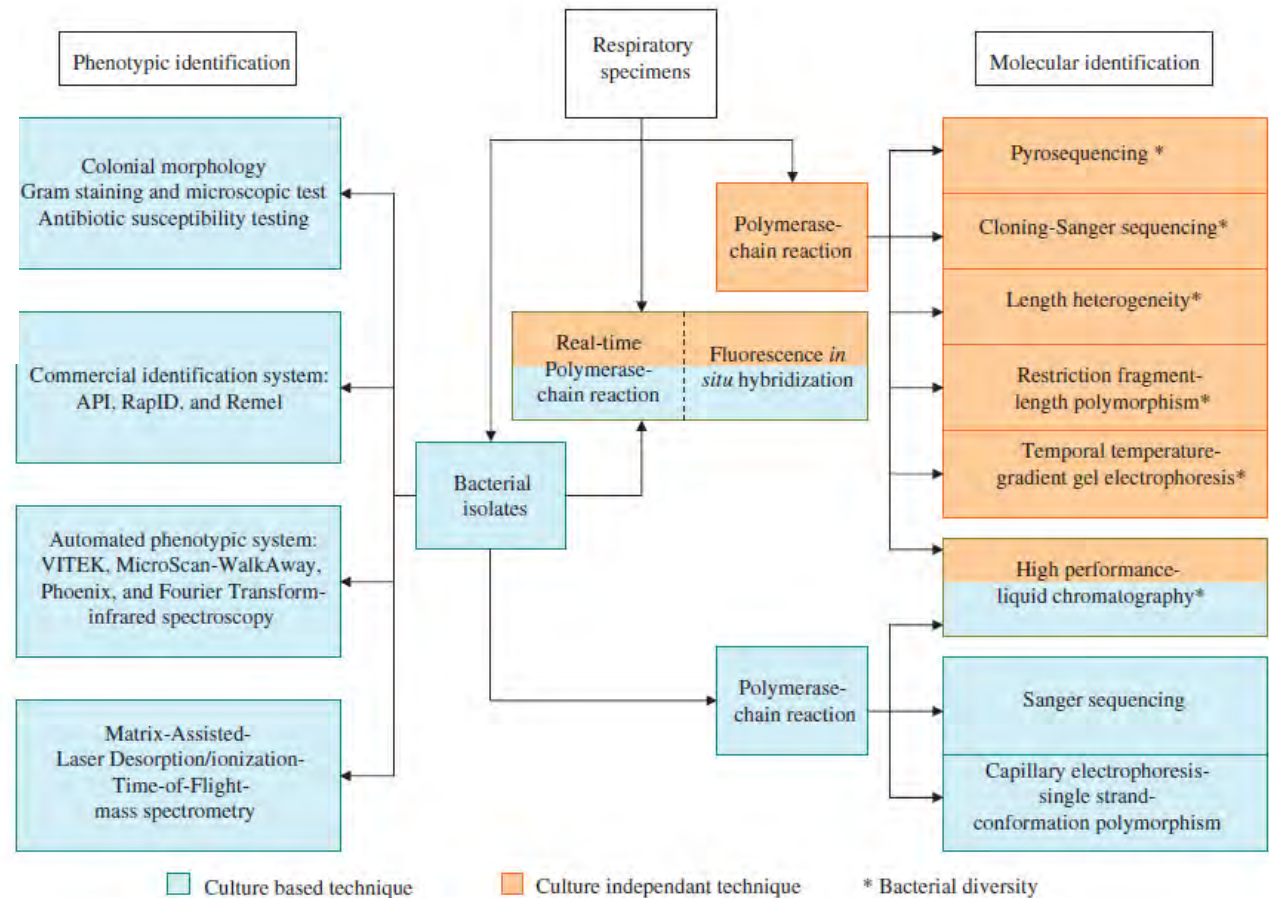
# Identification des bactéries dans les voies aériennes

## Culture dépendantes:

- Isolement de souches
- Antibiogramme
- Non exhaustives
- Erreurs d'identification possibles

## Culture indépendantes:

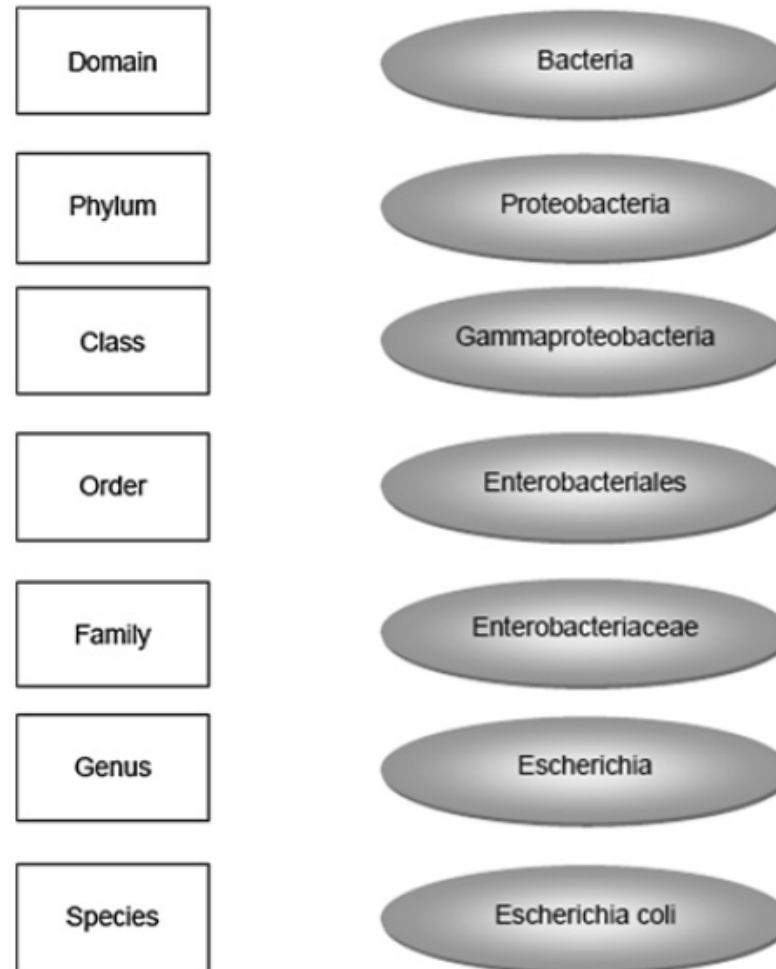
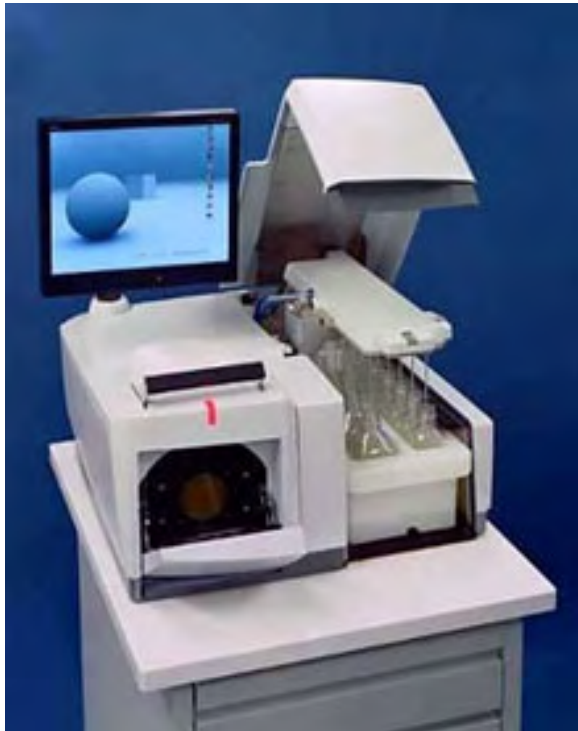
- Détection exhaustive
- Identification correcte
- Absence d'isolement de souche
- Absence d'antibiogramme



**70% des bactéries non cultivables  
20% très difficiles à cultiver**

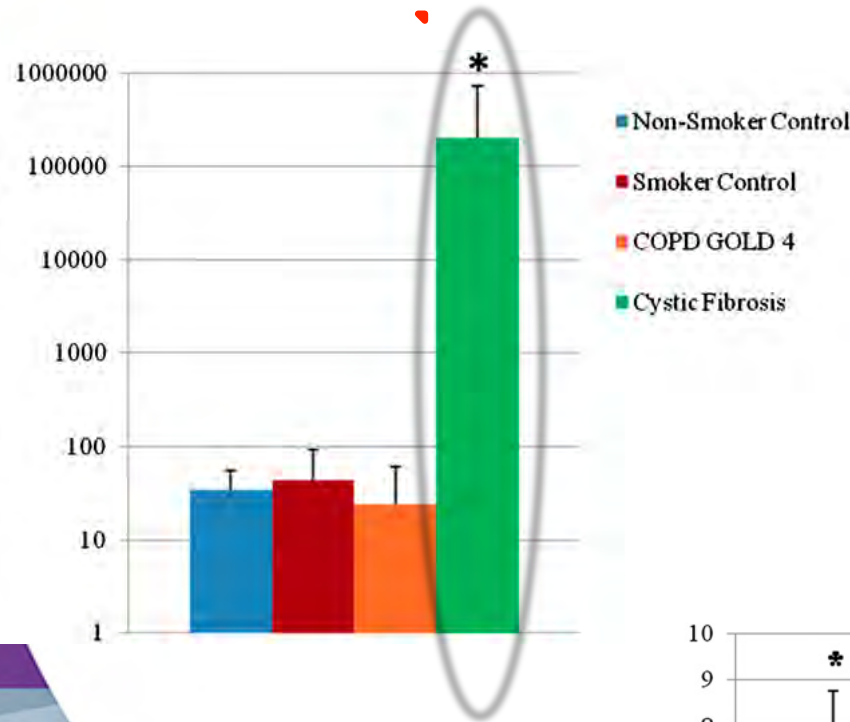
# Séquençage ARN bactérien 16s

454 pyrosequencing technology



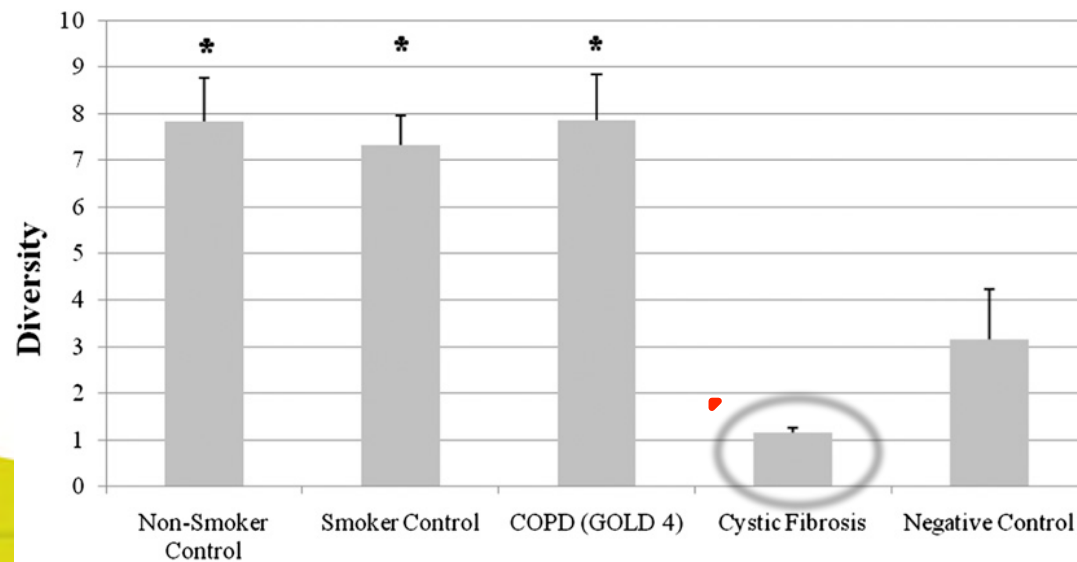
# Microbiome respiratoire humain: études descriptives (2012)

Bacteria Cells / 1000 Human Cells

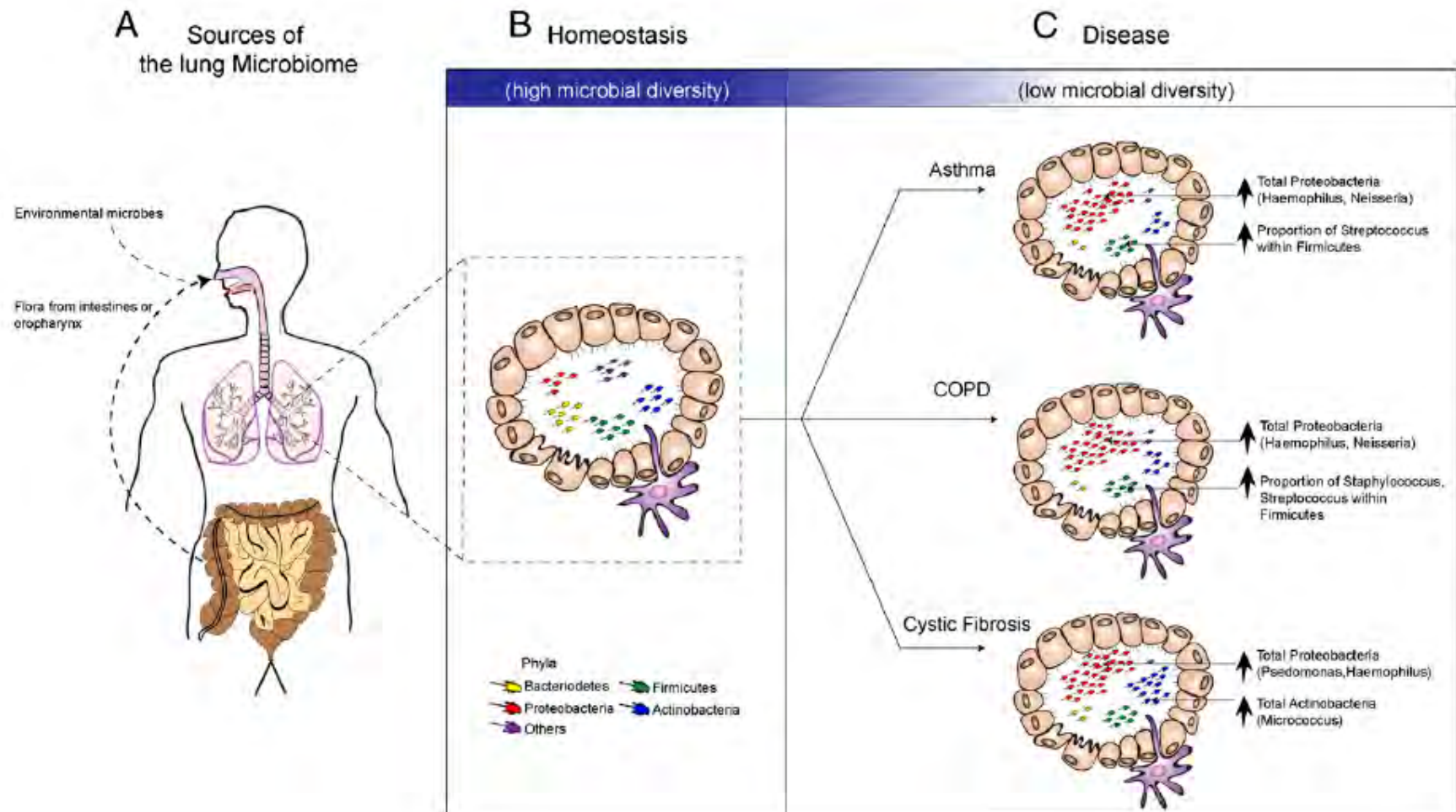


Explants pulmonaires:  
 8 non fumeurs  
 8 fumeurs  
 8 BPCO GOLD 4  
 8 CF

**MICROBIOME CF:  
 + ABONDANT  
 - DIVERS**

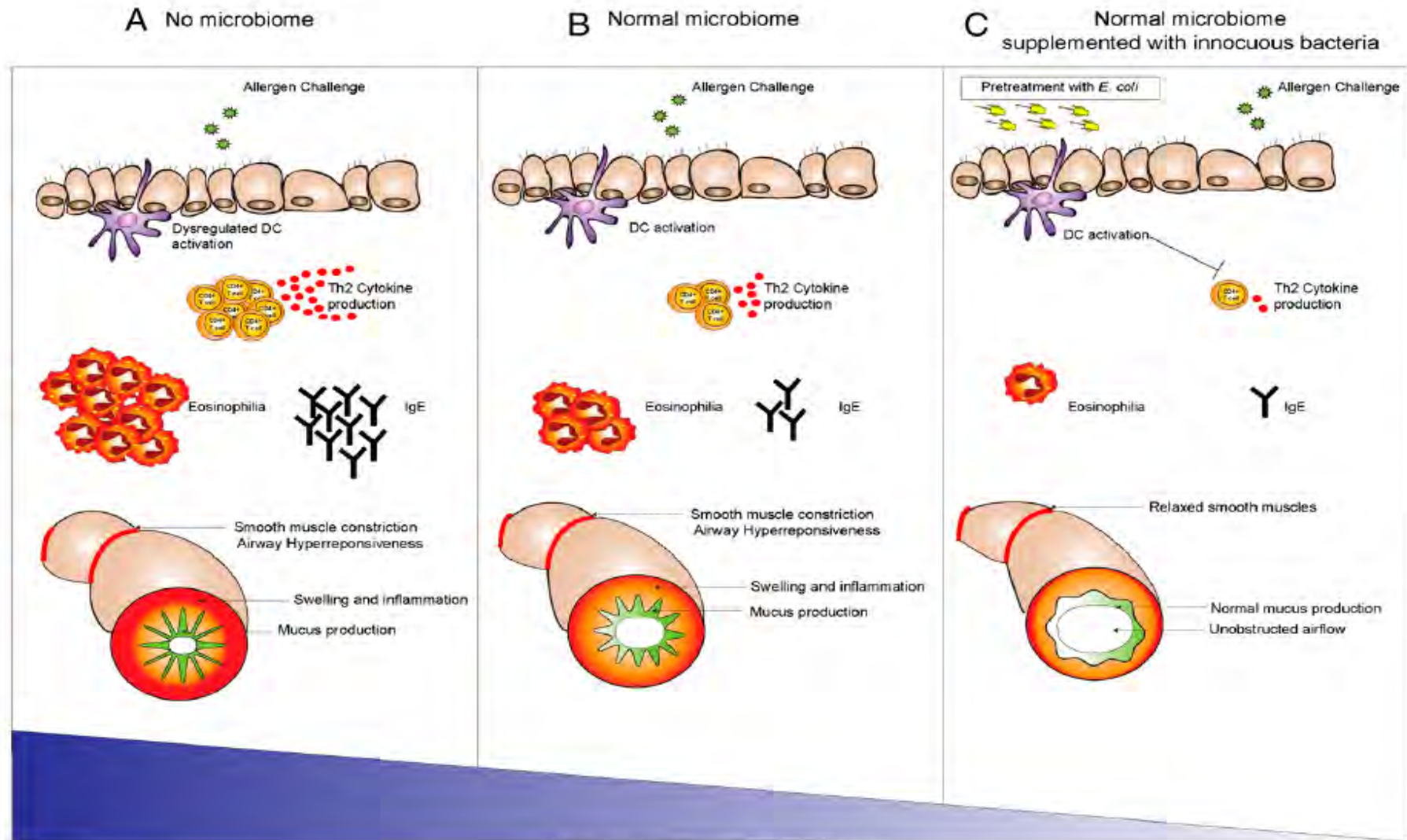


# Microbiome respiratoire humain: baisse de la diversité au cours des pathologies chroniques





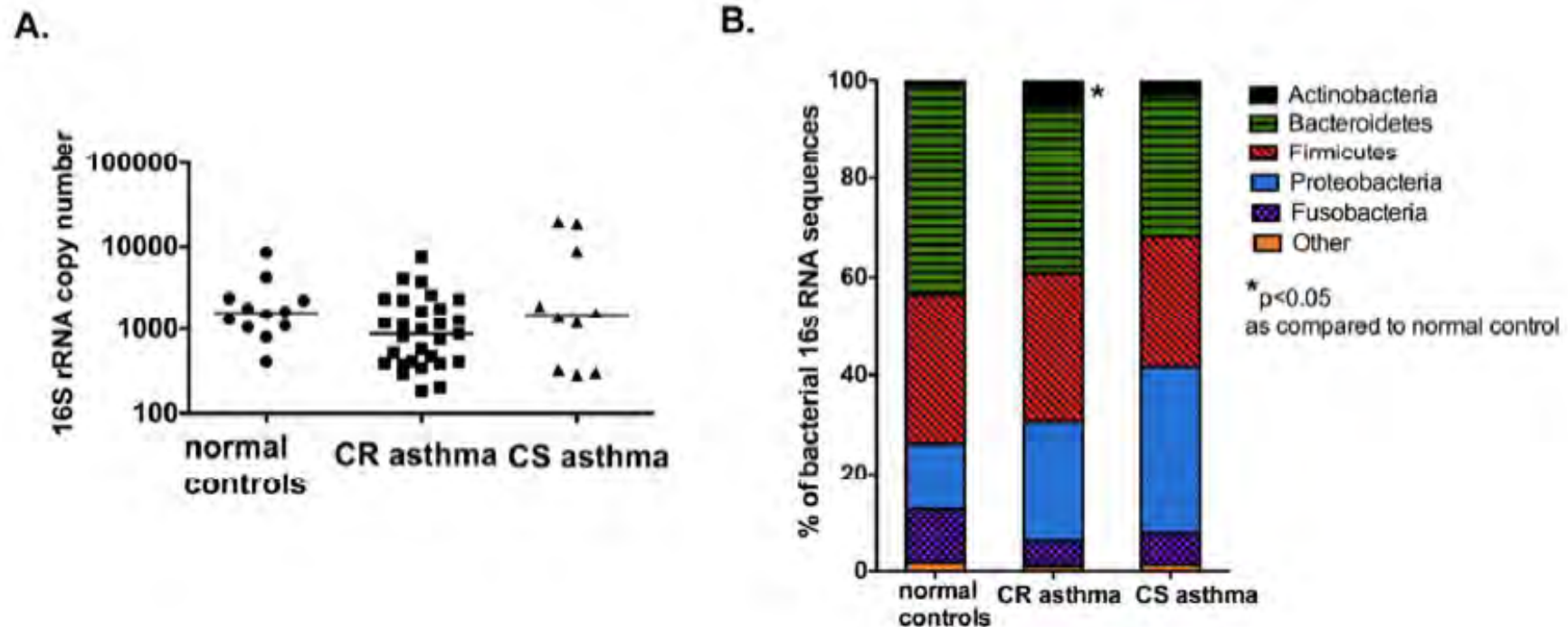
# Microbiome et réaction pulmonaire allergique chez la souris (avant 2012)



Severity of allergic airway response

# Rôle du microbiome dans la corticorésistance dans l'asthme (2013)

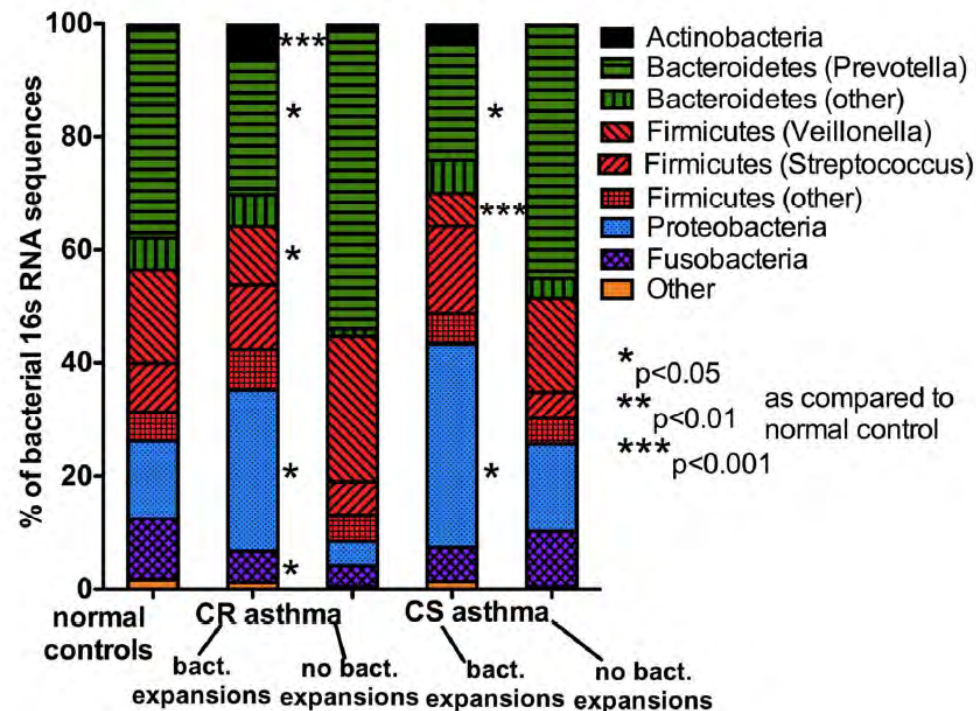
- Séquençage ARN16S dans le LBA de 39 asthmatiques (29 corticorésistants et 10 corticosensibles) et 12 sujets sains



Pas de différence quantitative ni de diversité bactérienne au niveau des phyla

# Rôle du microbiome dans la corticorésistance dans l'asthme

Expansion de certaines communautés bactériennes (proteobacteria) chez les certains asthmatiques: 24 sur 29 CR et 9 sur 10 CS





# Rôle du microbiome dans la corticorésistance dans l'asthme

Expansion sélective de bactéries chez certains asthmatiques

## Asthme corticorésistant

## Asthme corticosensible

**Table 3.** Unique microorganisms expanded in the airways of CR asthma patients\*

Types of organisms		Number of patients with bacterial expansions, n		Expanded microorganisms present in the airways of normal controls, Y/N (mean % sequences)
		CR asthma <sup>†,‡</sup>	CS asthma	
Phylum	Genus			
Actinobacteria:		1	0	
	<i>Tropheryma</i>	1	0	N
Firmicutes:		2	0	
	<i>Leuconostoc</i>	1	0	N
	<i>Megasphaera</i>	1	0	Y (1.2%)
Fusobacteria:		4	0	
	<i>Leptotrichia</i>	4	0	Y (4.2%)
Proteobacteria:		9	0	
β-proteobacteria	<i>Neisseria</i>	5	0	Y (6.0%)
	<i>Simonsiella</i>	1	0	Y (0.5%)
γ-proteobacteria	<i>Haemophilus</i>	2	0	Y (2.9%)
α-proteobacteria	<i>Campylobacter</i>	1	0	Y (3.2%)

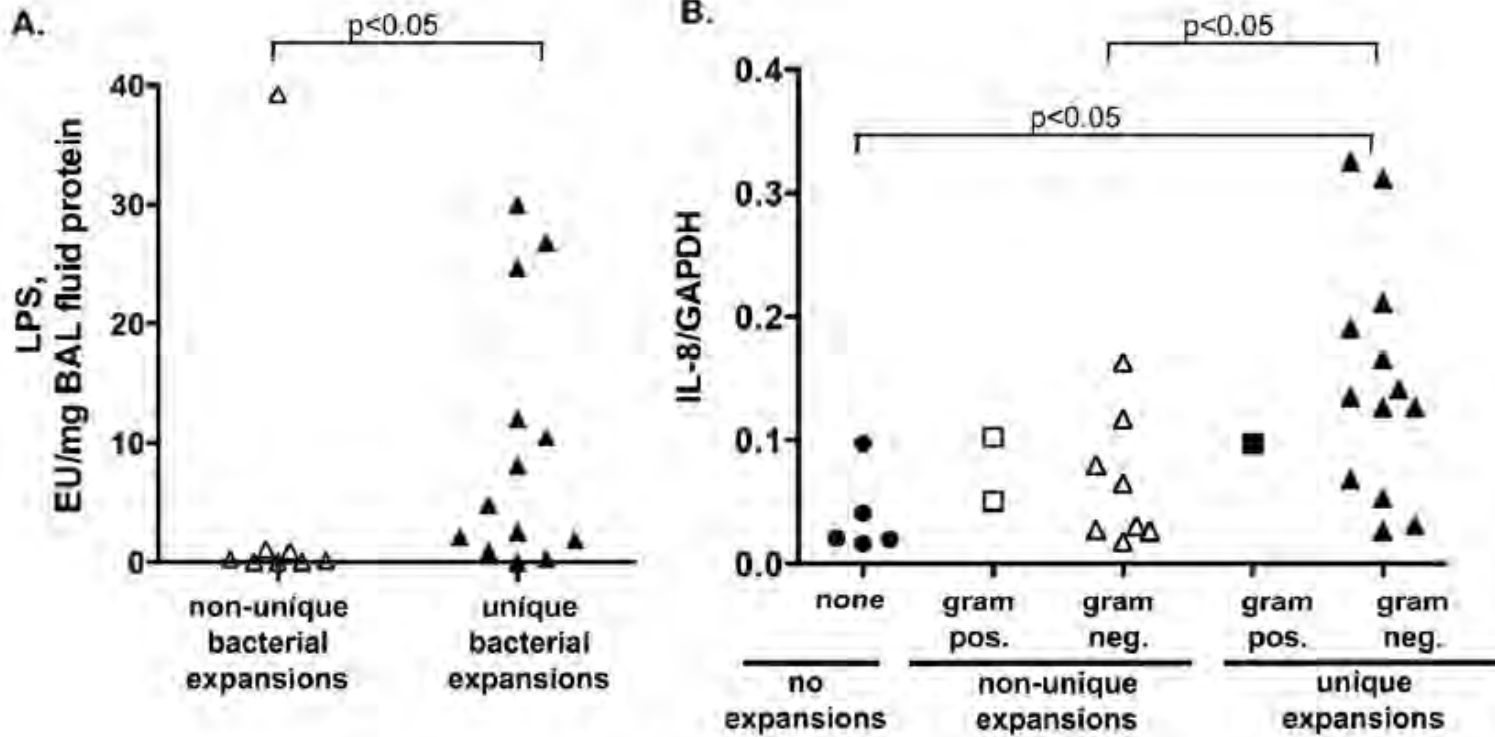
14/29 patients avec expansion sélective de bactéries non retrouvés chez corticosensibles

**Table 4.** Unique microorganisms expanded in the airways of CS asthma patients\*

Types of organisms		Number of patients with bacterial expansions, n		Expanded microorganisms present in the airways of normal controls, Y/N (% sequences)
		CR asthma	CS asthma <sup>†,‡</sup>	
Phylum	Genus			
Cyanobacteria:		0	1	
	<i>Streptophyta</i>	0	1	Y (0.4%)
Fusobacteria:		0	1	
	<i>Fusobacterium</i>	0	1	Y (6.3%)
Proteobacteria:		0	4	
α-proteobacteria	<i>Bradyrhizobium</i>	0	1	N
β-proteobacteria	<i>Aquabacterium</i>	0	1	N
	<i>Limnobacter</i>	0	1	N
γ-proteobacteria	<i>Pasteurella</i>	0	1	Y (0.6%)

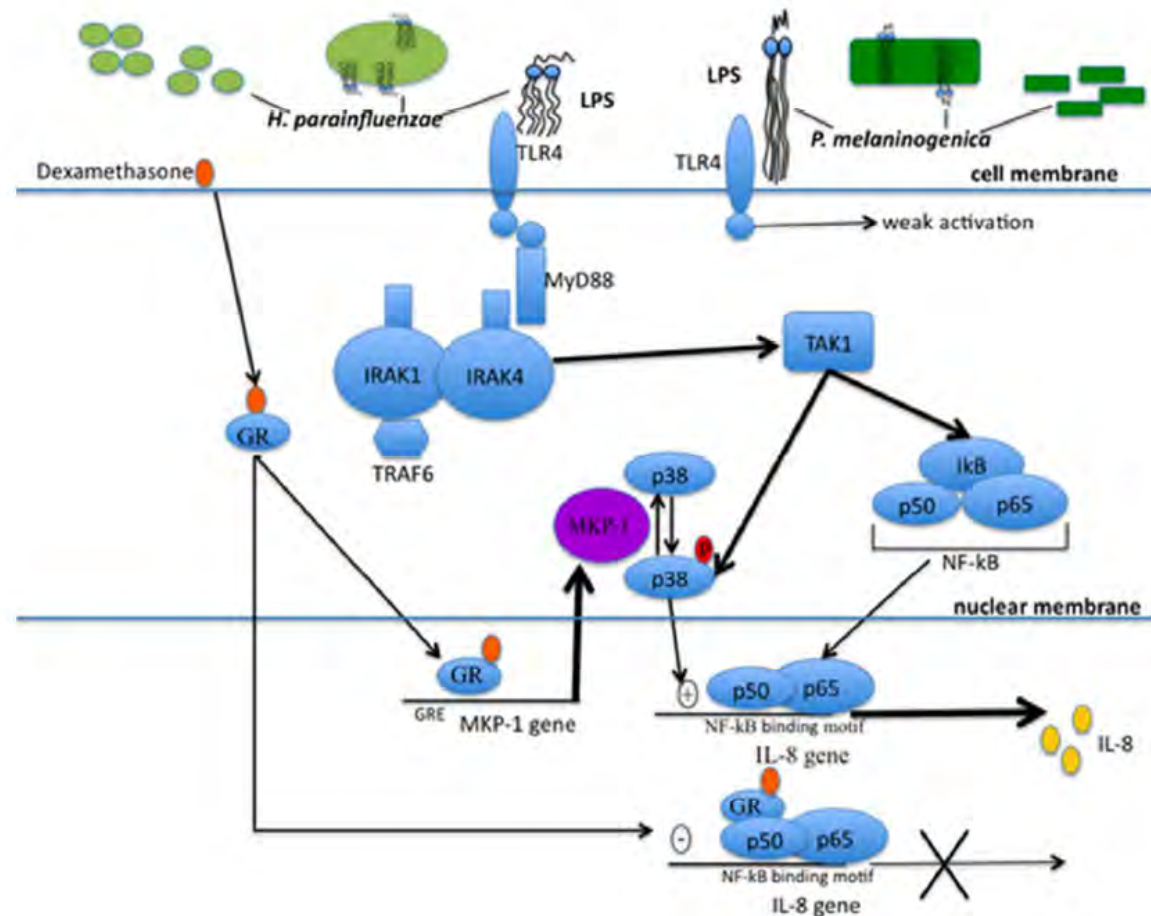
4/10 patients avec expansion sélective de bactéries non retrouvées chez corticorésistants

# Rôle du microbiome dans la corticorésistance dans l'asthme



# Rôle du microbiome dans la corticorésistance dans l'asthme

*H. parainfluenzae* (retrouvé uniquement chez corticorésistant), mais pas le commensal *Prevotella melaninogenica* induit la corticorésistance dans les macrophages pulmonaires de patients asthmatiques

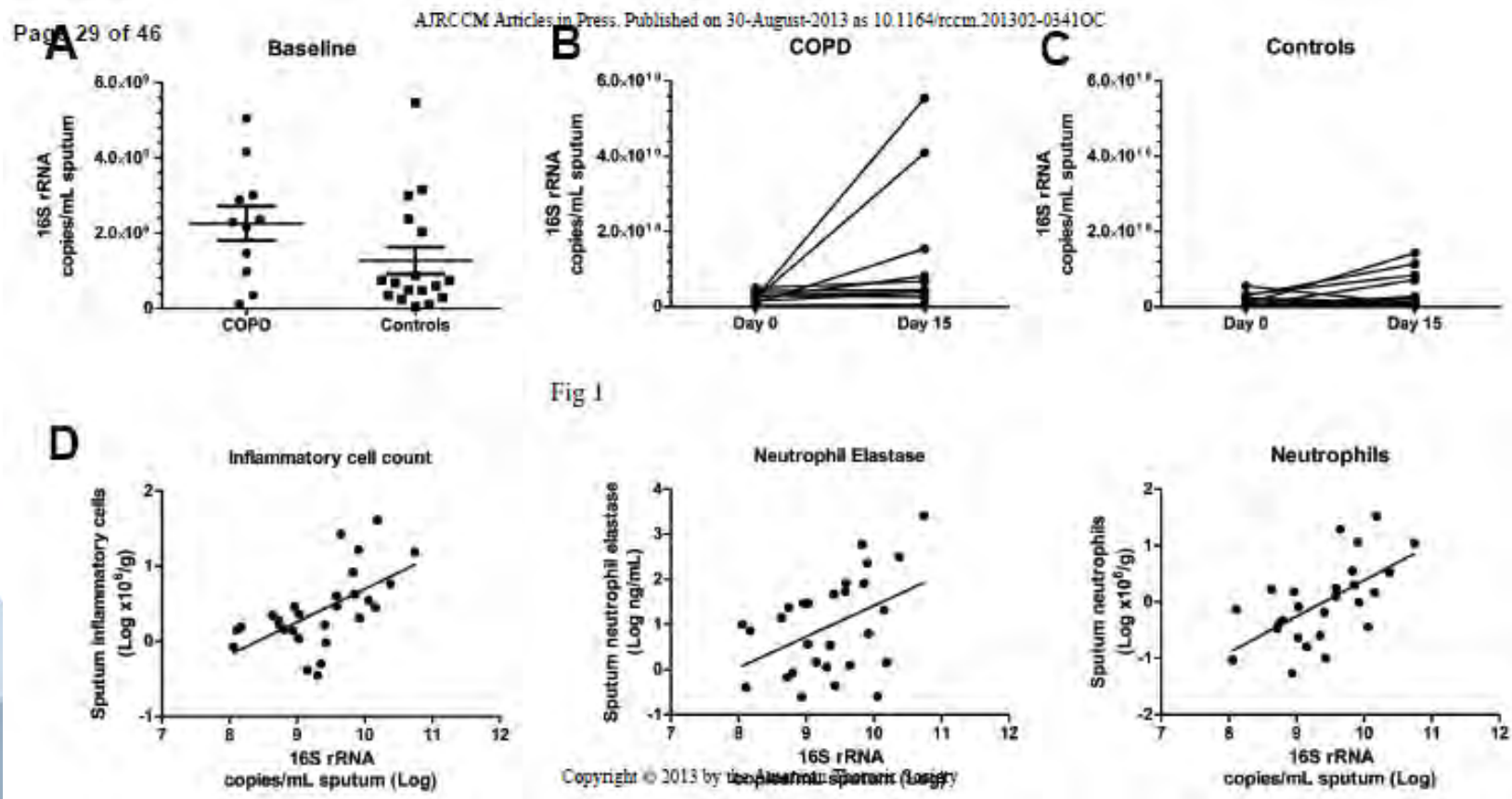




# Microbiome et infection expérimentale à rhinovirus chez le patient BPCO (2013)

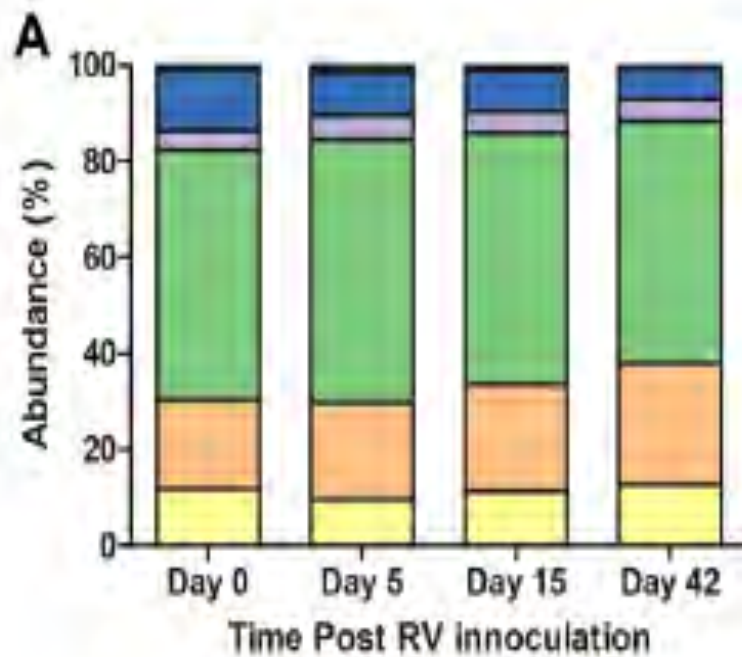
Infection bactérienne suite à une infection virale: infection de novo vs. expansion de clones bactériens pré-existants?

Sains  
n=17  
BPCO  
N=14

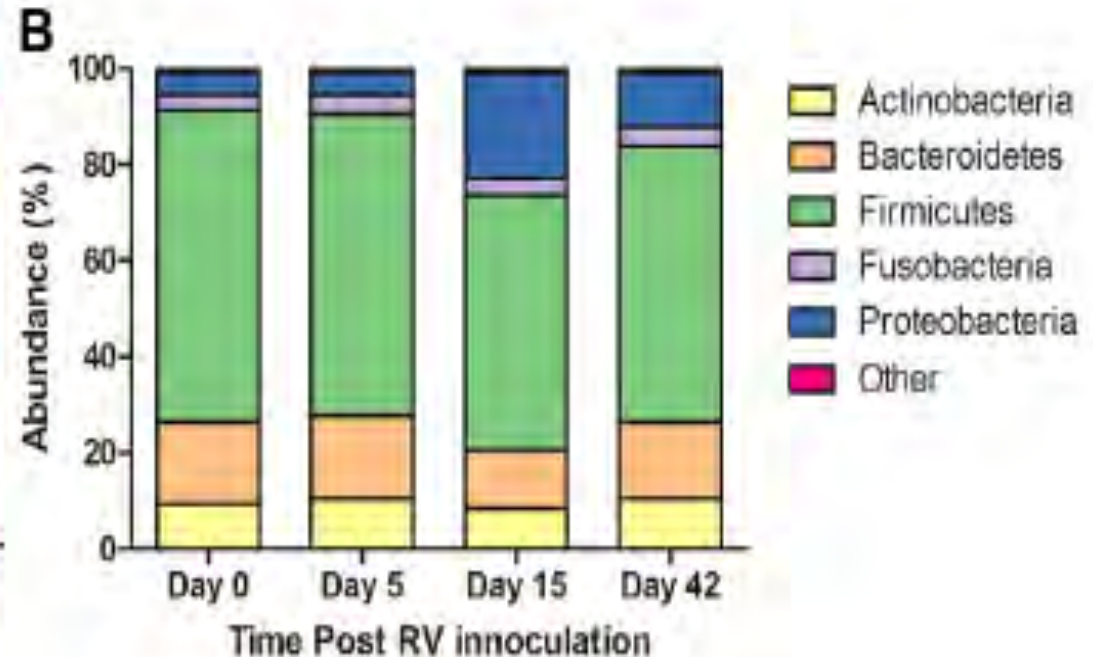


# Microbiome et infection à rhinovirus chez le patient BPCO

## Sujets sains±fumeurs

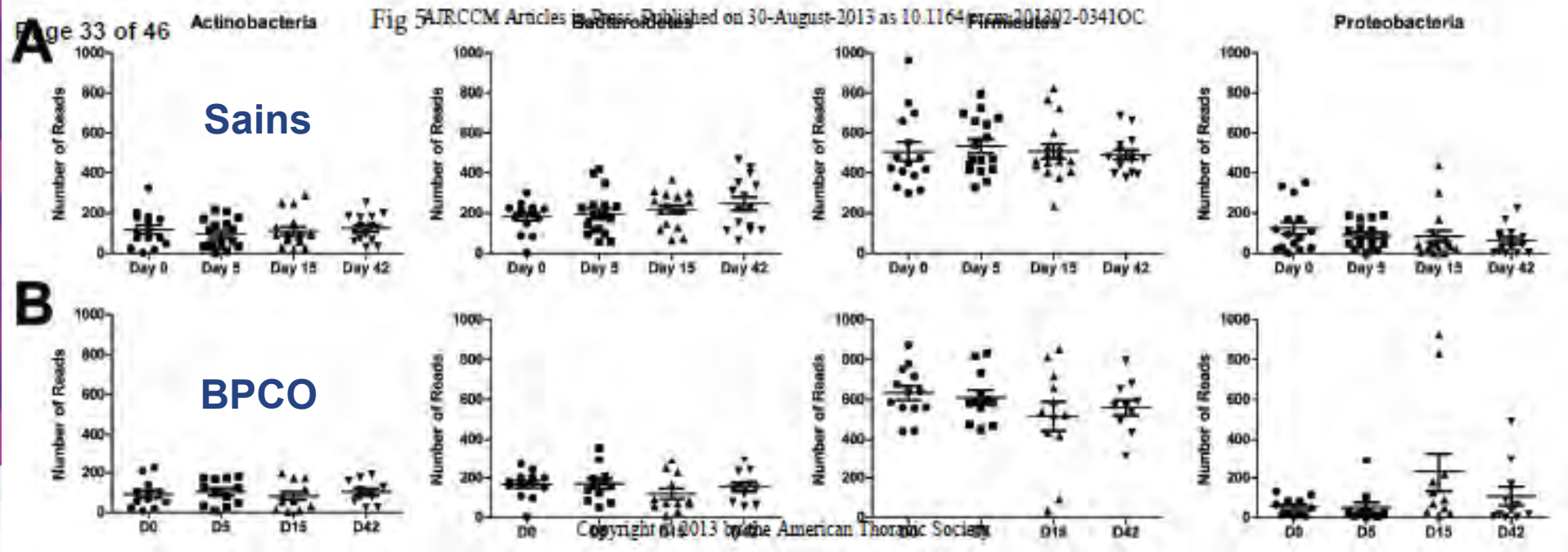


## BPCO



**Augmentation des proteobacteries à J15 chez le BPCO**

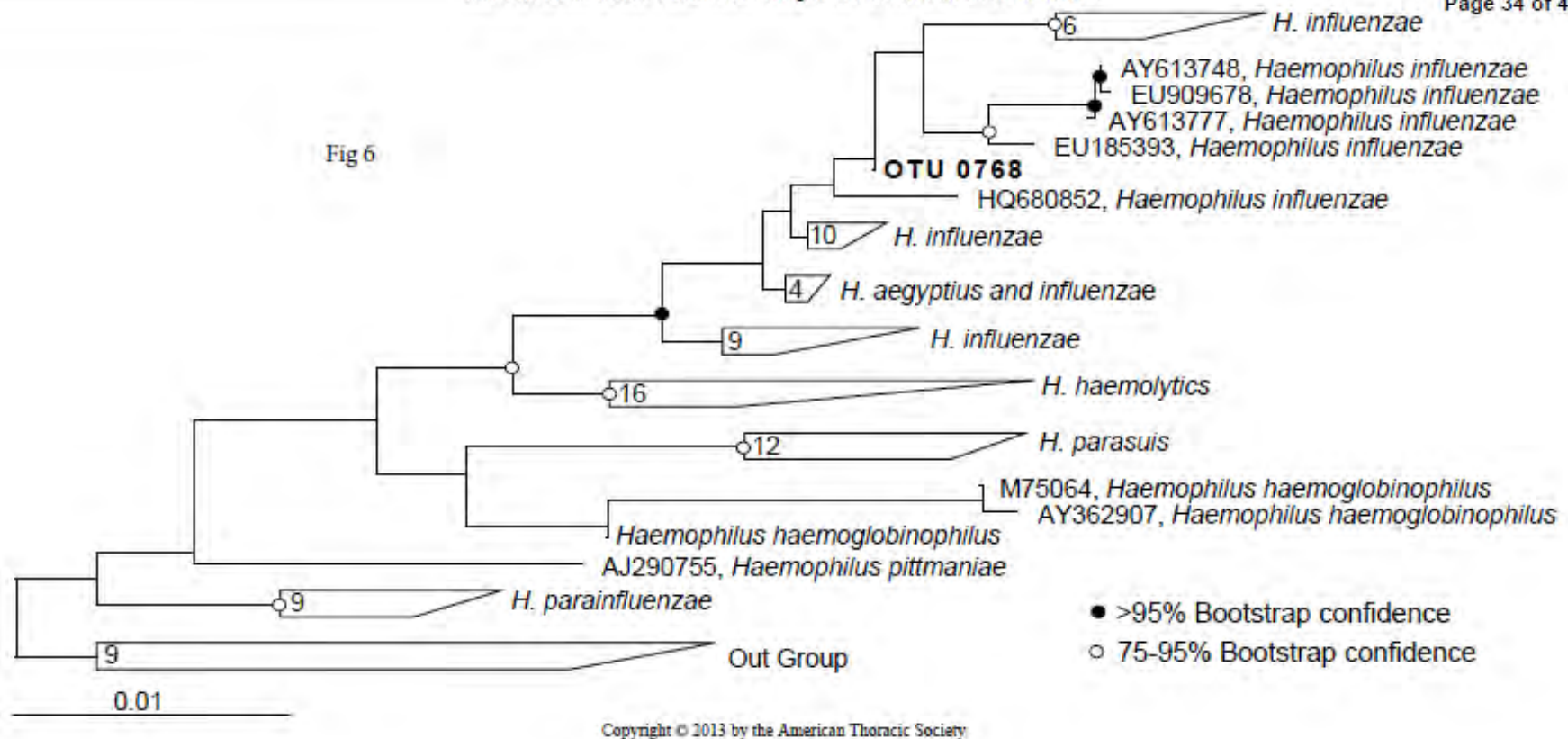
# Microbiome et infection à rhinovirus chez le patient BPCO



Augmentation des proteobacteries à J15 chez le BPCO mais hétérogène selon les patients

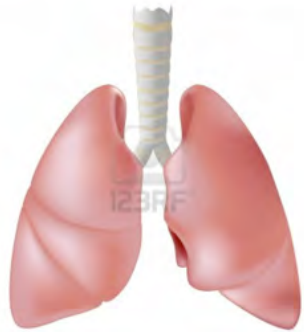


# Microbiome et infection à rhinovirus chez le patient BPCO



Augmentation des proteobacteria liée à *H. influenzae* qui sont présents avant l'infection virale en plus faible quantité (expansion de clones bactériens et pas infection de novo)

# Microbiome et transplantation pulmonaire



Expecto

29 TRANSPLANTATIONS



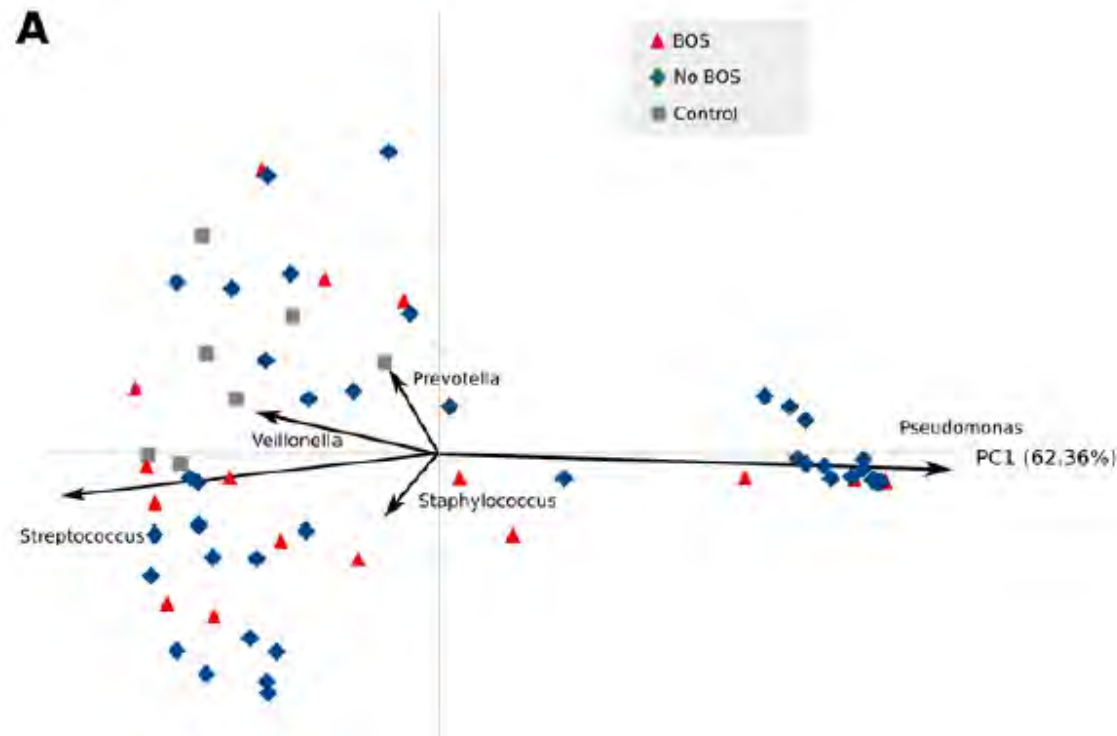
LBA répétés

Modifications importantes du microbiome dans les mois qui suivent la TP.

Transplantation pulmonaire =  
transplantation d'un organe contenant le microbiome pulmonaire du donneur

# Microbiome et transplantation pulmonaire

2 profils bactériens mutuellement exclusifs:  
Pseudomonas vs. Prevotella/Veillonella



Relation avec syndrome de bronchiolite oblitérante (BOS)



# Microbiome et transplantation pulmonaire

## « Re-colonisation » vs. « colonisation *de novo* »

- La fréquence de **BOS** diminue chez les patients dont le microbiome pulmonaire post-transplantation est comparable à celui pré-transplantation. (en particulier si *Pseudomonas* et mucoviscidose car moins virulent?)=**recolonisation du greffon par le microbiome du receveur**
- Association BOS avec un microbiome particulier veillonella/prevotella: L'apparition de *Pseudomonas de novo* est un facteur de survenue de BOS inversement de la re-colonisation.

**ROLE DU MICROBIOME DANS L'IMMUNOMODULATION ?**

# Conclusions

- 2013: année charnière avec l'apparition d'études explorant le rôle du microbiome dans la modulation des pathologies pulmonaires chroniques (asthme, BPCO, mucoviscidose, greffe)
- Aucune conséquence clinique à ce jour.....mais on approche!!!!
- Essai clinique antibiothérapie fondée sur les résultats du microbiome (mucoviscidose 2014)