

Microbiome des voies respiratoires dans la fibrose kystique



Aperçu

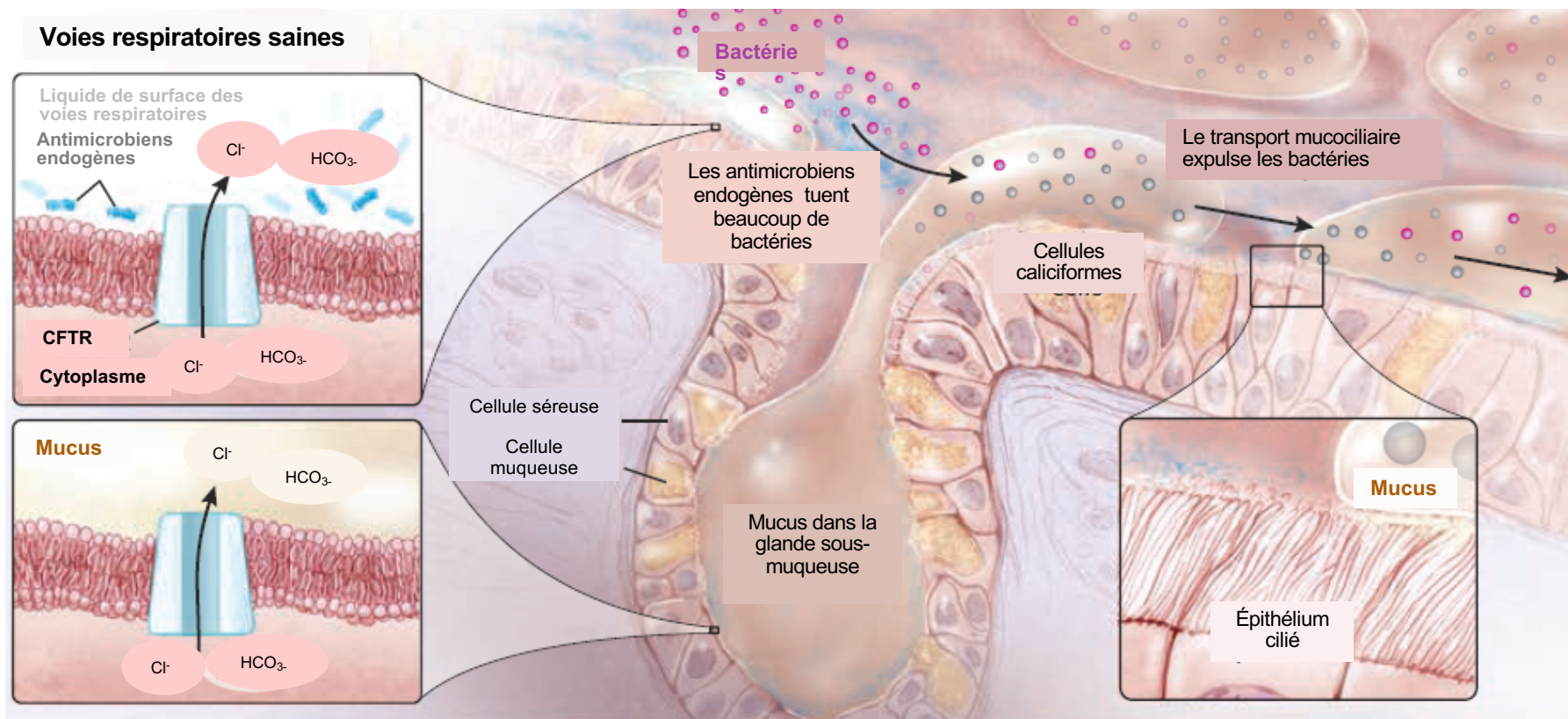
- Infections des voies respiratoires liées à la fibrose kystique (FK)
- Évaluation des infections des voies respiratoires liées à la FK
 - Prélèvement d'échantillons
 - Méthode sur culture vs méthode sans culture
 - Techniques de séquençage génétique
 - Identification et classification des taxons
- Caractérisation du microbiome
 - Description du microbiome : richesse, abondance, diversité, homogénéité
 - Paramètres d'évaluation des caractéristiques du microbiome
- Caractéristiques du microbiome des voies respiratoires d'une personne en bonne santé et d'un patient atteint de FK
- Marqueurs de résultats cliniques inférieurs
- Réponse du microbiome des voies respiratoires à l'antibiothérapie chez le patient atteint de FK

Infections des voies respiratoires liées à la FK

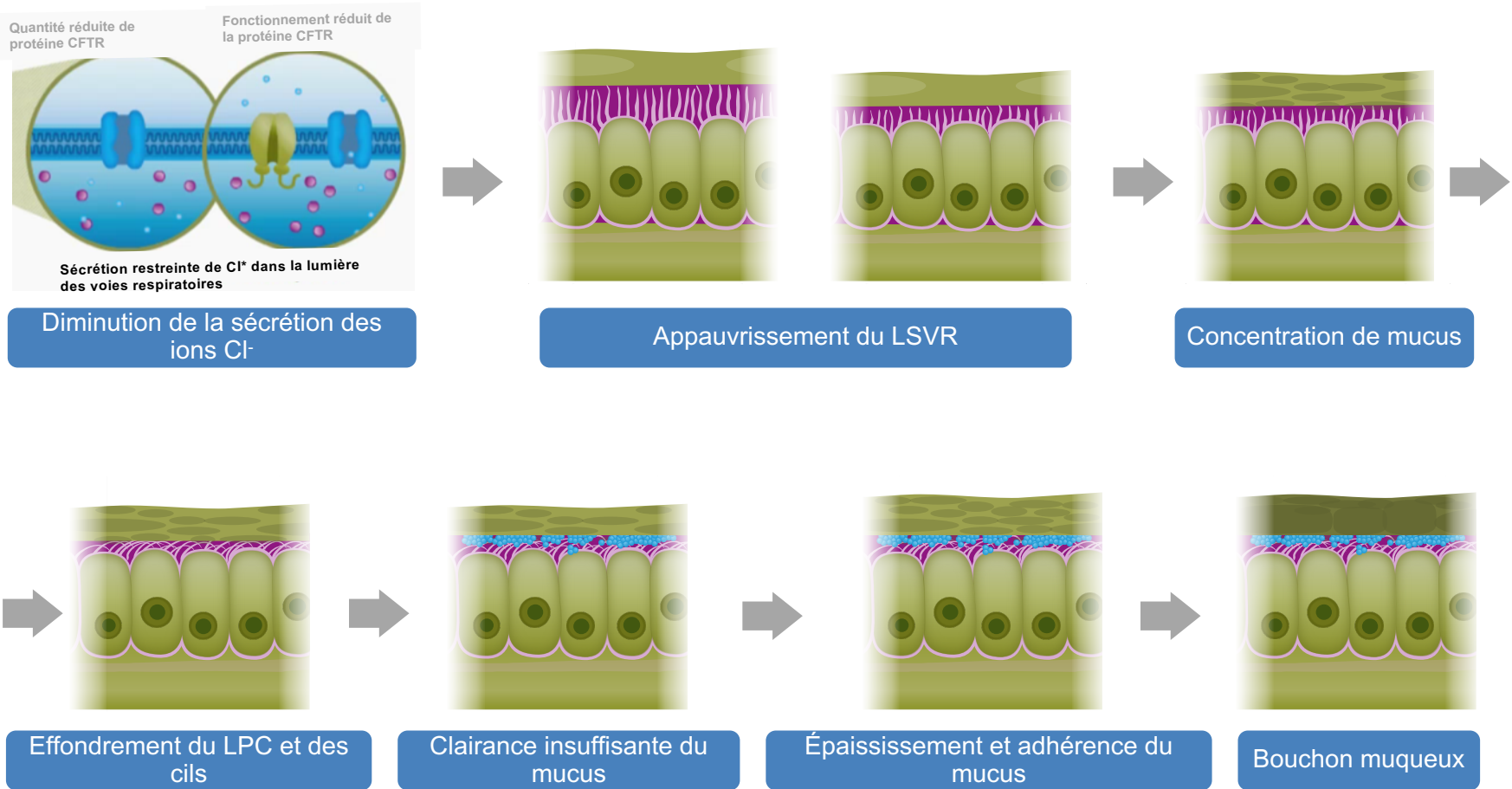


La clairance pulmonaire des voies respiratoires saines sans FK est un processus actif

Les mécanismes de la clairance pulmonaire reposent sur l'association du liquide de surface des voies respiratoires (LSVR), de la sécrétion et du transport de mucus, ainsi que de l'activité antimicrobienne qui, ensemble, préviennent les infections et la contamination.



Un transport altéré des ions Cl^- entraîne l'appauvrissement du LSVR et une insuffisance de la clairance du mucus



LSVR = liquide de surface des voies respiratoires; LPC = liquide périciliaire.
BUTTON, B. et coll. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013;3(8). pii: a009720. doi : 10.1101/cshperspect.a009720.

Une anomalie du gène *CFTR* contribue à l'augmentation de la viscosité et à la stase du mucus, à l'adhérence du mucus et à une agrégation bactérienne

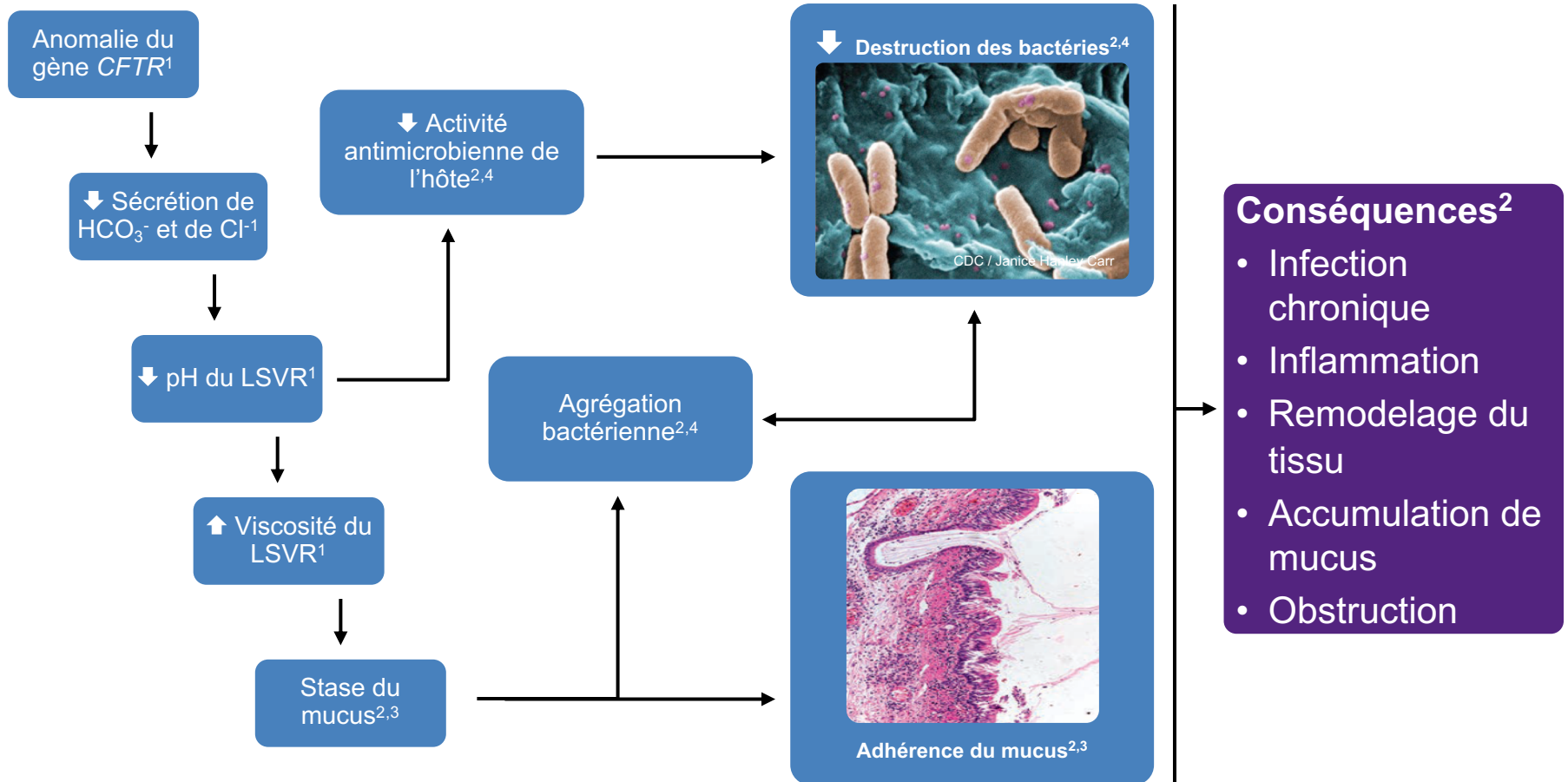
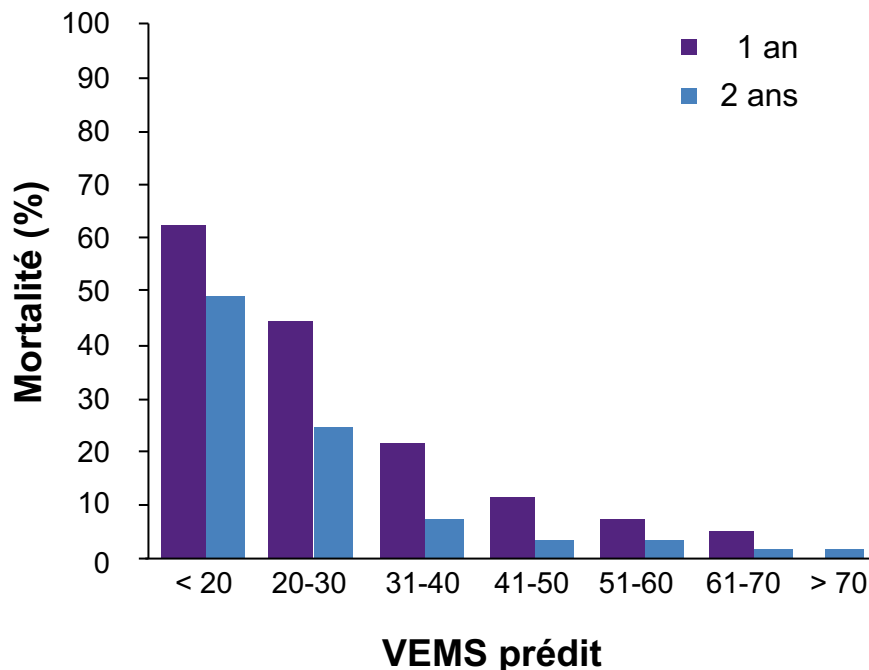


Image du bas tirée de *The New England Journal of Medicine*, STOLTZ, D. A., D. K Meyerholz. et M. J. Welsh. « Origins of cystic fibrosis lung disease », 372, 351-362. © 2015 Massachusetts Medical Society. Reproduit avec la permission de la Massachusetts Medical Society.
1. TANG, X. X. et coll. *J Clin Invest.* 2016;126(3):879-891. 2. STOLTZ, D. A. et coll. *N Engl J Med*, 2015;372(4):351-362. 3. HOEGGER, M. J. et coll. *Science*, 2014;345(6198):818-822. 4. STAUDINGER, B. J. et coll. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189(7):812-824.

La maladie pulmonaire est le plus important facteur prédictif de la mortalité chez les personnes atteintes de FK

Taux de mortalité par infection pulmonaire¹



Cause du décès chez les patients atteints de FK dans les registres des États-Unis et de l'UE^{2,3}

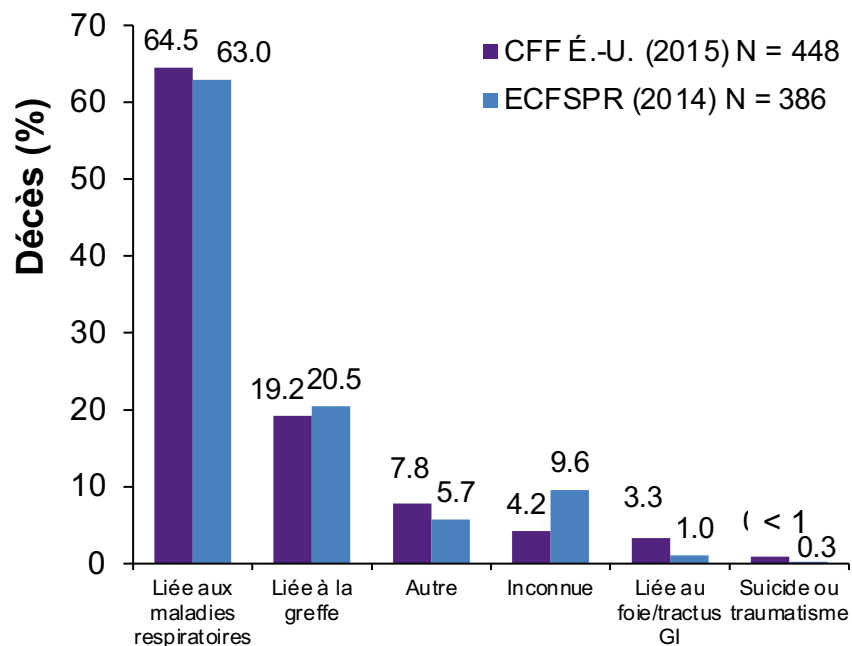


Figure de gauche tirée du *The New England Journal of Medicine*, KEREM, E. et coll. « Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis », 326:1187-1191. © 1992 Massachusetts Medical Society. Reproduit avec la permission de la Massachusetts Medical Society.

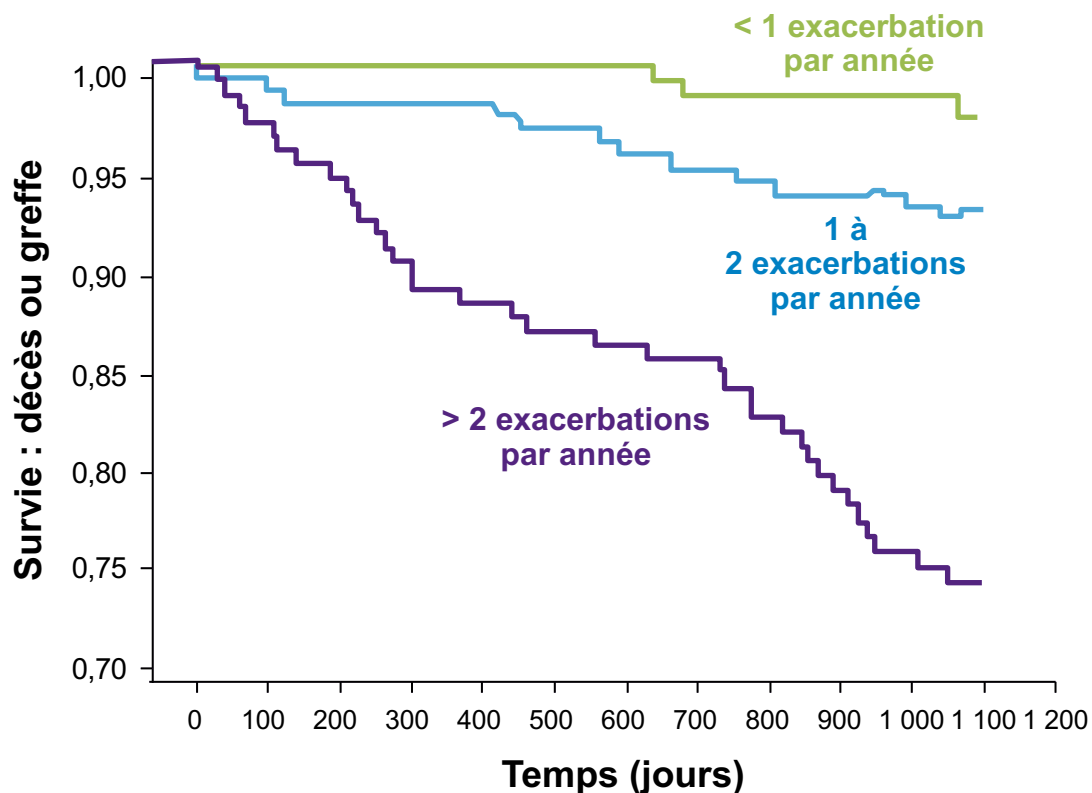
1. KEREM, E. et coll. *N Engl J Med*, 1992;324(18):1187-1191. 2. Rapport annuel de la Cystic Fibrosis Foundation sur les données du registre de patients, 2015, Bethesda (Maryland), © 2016. 3. ZOLIN, A. et coll. Rapport annuel de l'European Cystic Fibrosis Society Patient Registry, 2014, novembre 2016.



Les exacerbations pulmonaires exercent un effet cumulatif sur la détérioration de la fonction pulmonaire et le risque de décès

- Le risque de décès est 3 fois plus élevé en présence de 1 à 2 exacerbations/année¹
 - Le risque de décès est 4,5 fois plus élevé en présence d'au moins 3 exacerbations/année¹
- Le risque de décès ou de greffe pulmonaire est > 4 fois plus élevé sur 3 ans en présence de > 2 exacerbations/année vs en présence de < 1 exacerbation²
- Chaque exacerbation pulmonaire aiguë survenue pendant l'année a eu des conséquences d'une ampleur inattendue sur la survie après 5 ans équivalant à une diminution de 12 % du VEMS³.

Exacerbations pulmonaires^a et survie²



Reproduction de *Thorax*, DE BOER, K. et coll. 66, 680-685, © 2011, avec la permission de BMJ Publishing Group Ltd.

^a Exacerbations pulmonaires exigeant une antibiothérapie orale ou intraveineuse.

1. STEPHENSON, A. L. et coll. *Eur Respir J.* 2015;45(3):670-679. 2. DE BOER, K. et coll. *Thorax*, 2011;66(8):680-685. 3. LIU, T. G. et coll. *Am J Epidemiol*, 2001;153(4):345-352.

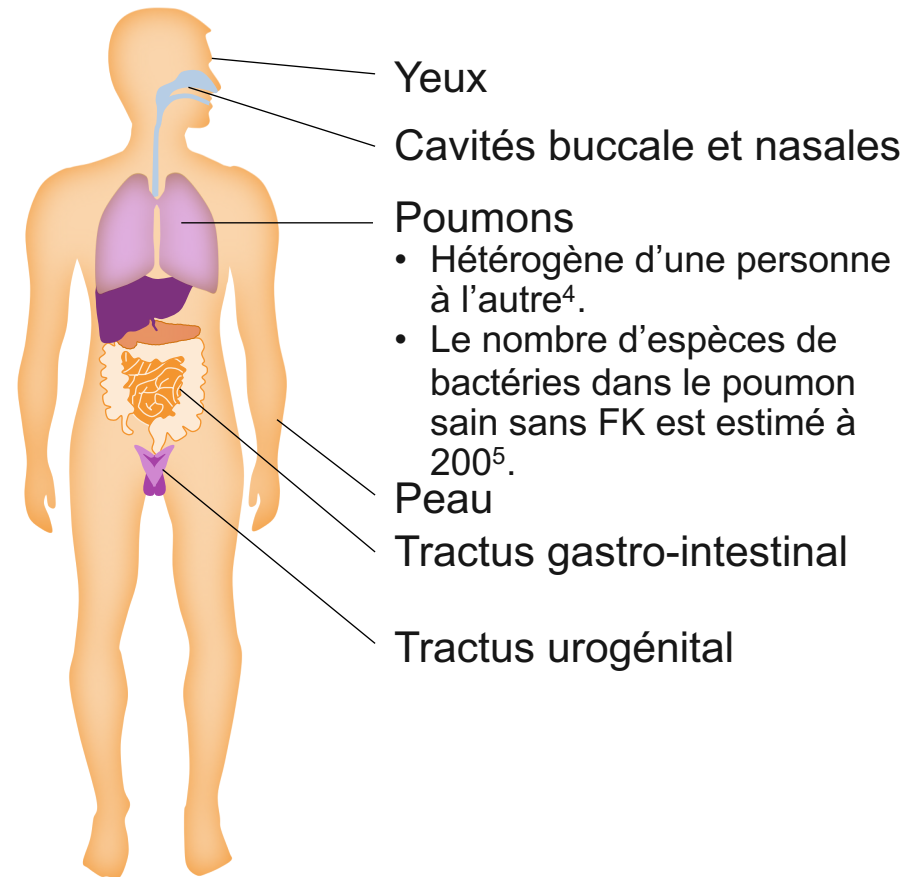
Évaluation des infections des voies respiratoires liées à la FK



Le microbiome

- L'abondance et la diversité des microbes qui se trouvent sur le corps humain et à l'intérieur de celui-ci sont collectivement appelées « microbiome »¹.
- Le microbiome joue un rôle important dans la santé humaine, surtout dans la digestion et l'immunité^{2,3}.
- Il comprend les bactéries, les champignons et les virus^{1,2}.
 - Peu de données sont disponibles sur les champignons et les virus

Lieux où se trouve le microbiome humain^{2,3}



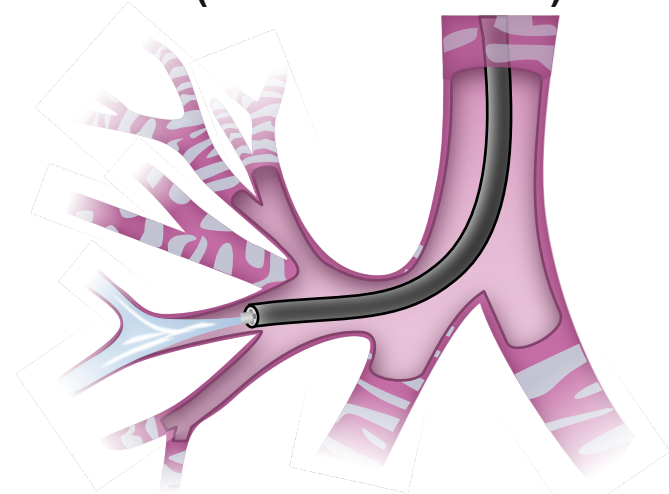
1. DICKSON, R. P. et coll. *Expert Rev Respir Med*, 2013;7(3):245-257. 2. LLOYDE-PRICE, J. et coll. *Genome Med*, 2016;8(1):51. 3. The Human Microbiome Project Consortium. *Nature*, 2012;486:207-214. 4. CHARSON, E. S. et coll. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011;184(8):957-963. 5. DICKSON, R. P. et coll. *Ann Am Thorac Soc*, 2015;12(6):821-830.

Des méthodes non effractives ou effractives sont utilisées pour prélever des échantillons du microbiome des voies respiratoires

Méthodes non effractives (plus courantes)

- Écouvillonnage pendant la toux¹
 - Écouvillonnage de l'oropharynx postérieur
 - Praticqué chez ceux qui sont incapables d'expectorer les sécrétions.
- Expectorations¹
 - Nécessite un volume suffisant d'expectorations pour l'analyse.
 - Méthode privilégiée²
- Induction des expectorations³
 - Expectorations provoquées par l'inhalation d'une solution saline en nébuliseur chez ceux qui sont incapables d'expectorer naturellement les sécrétions.

Méthodes effractives (moins courantes)



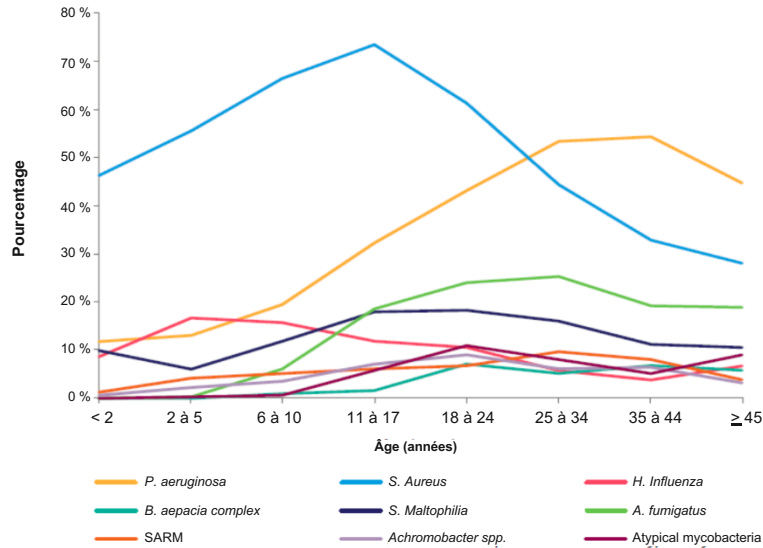
- Lavage bronchoalvéolaire (LBA)⁴
 - Un bronchoscope est introduit dans les poumons par la bouche ou le nez.
 - Une solution saline est introduite dans les poumons, puis recueillie.

- Les échantillons d'expectorations contenant > 20 % de cellules pavimenteuses sont considérés comme inadéquats en raison de leur contamination par la salive³.

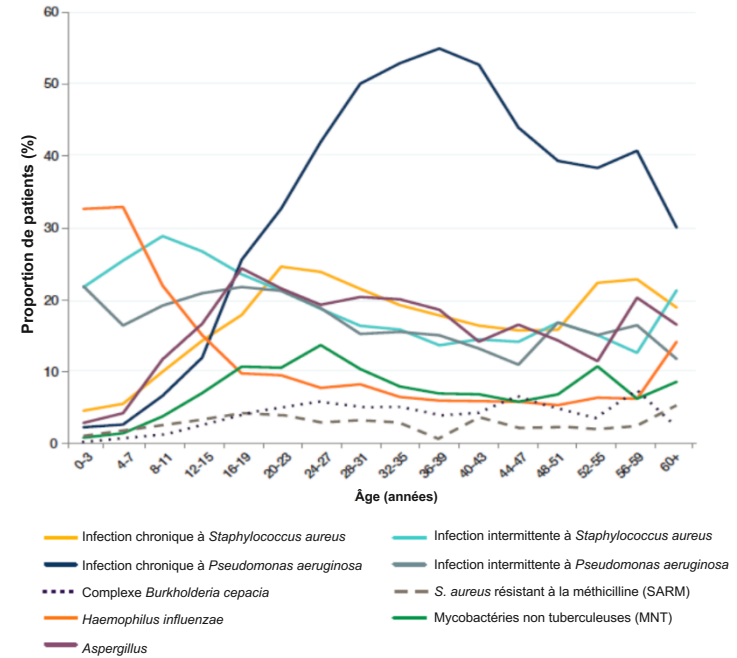
1. SEIDLER, D. et coll. *PLoS One*, 2016;11(10):e0164232. 2. GILLIGAN, P. H. et coll. 2006. *Cumetech 43, Cystic Fibrosis Microbiology*, coordonnateur de la révision, M. D. Appleman. ASM Press, Washington D.C. 3. WEISZHAR, Z. et I. Horvath. *Breathe*, 2013;9(4):301-306. 4. BAUGHMAN, R. P. *Sem Resp Crit Care Med*, 2007;28(5):475-485.

Les agents pathogènes liés aux infections pulmonaires changent avec l'âge

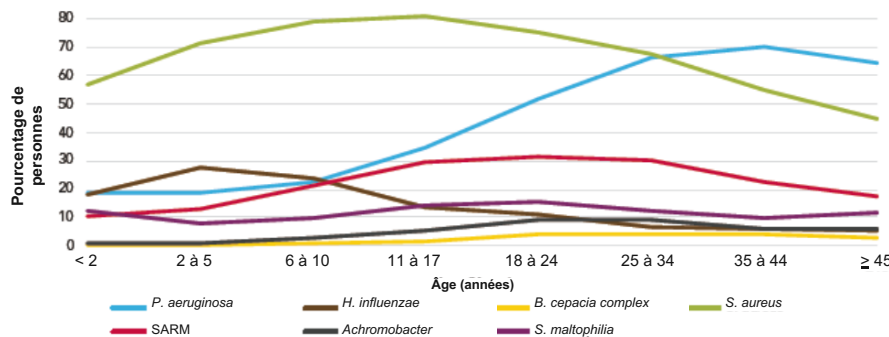
Prévalence selon l'âge des infections respiratoires chez les patients atteints de FK (données du Canada)¹



Prévalence selon l'âge des infections respiratoires chez les patients atteints de FK (données du R.-U.)³



Prévalence selon l'âge des infections respiratoires chez les patients atteints de FK (données des États-Unis)²



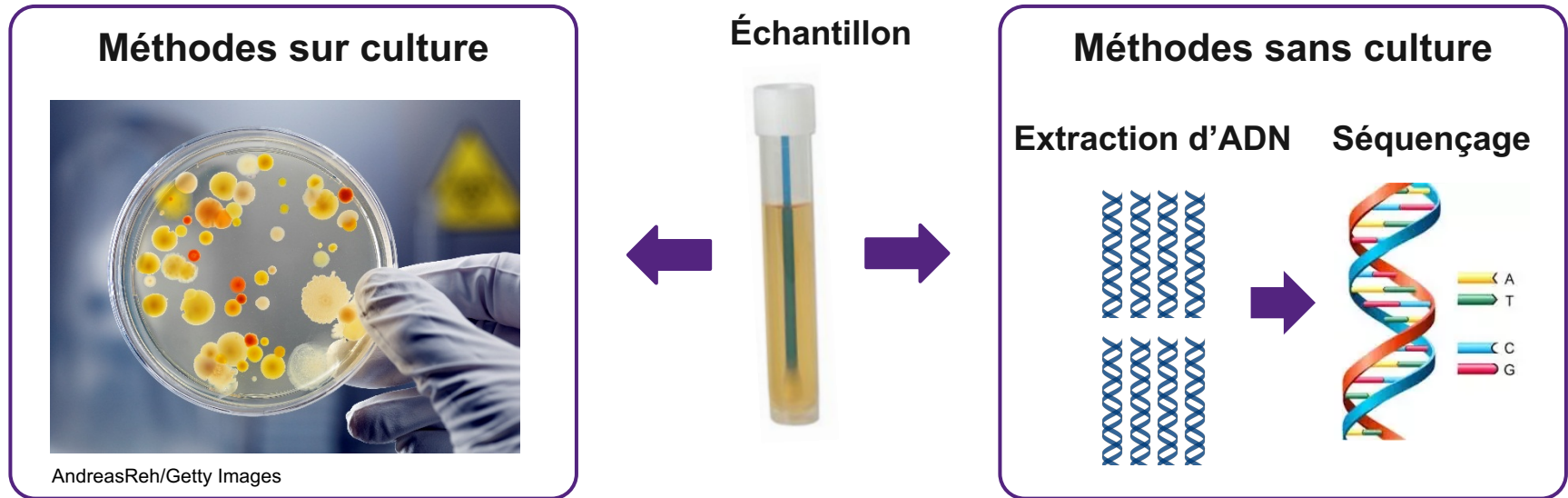
- L'infection par *S. aureus* est plus courante chez les jeunes patients^{1,2}, et l'infection par *P. aeruginosa* est plus courante chez les adultes¹⁻³
- Des formes résistantes aux médicaments de certains de ces agents pathogènes sont aussi décelées, et leur fréquence augmente avec l'âge¹⁻³

SARM = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

1. Registre canadien sur la fibrose kystique, rapport annuel 2018. 2. Registre de patients de la Cystic Fibrosis Foundation, rapport annuel 2018. Bethesda (Maryland). 3. Registre du Royaume-Uni sur la fibrose kystique, rapport annuel 2018. Publié en août 2019.



Des méthodes sur culture et des méthodes sans culture sont utilisées pour identifier les microbes présents dans le microbiome



- Les méthodes classiques sur culture permettent d'identifier individuellement les agents pathogènes^{1,2}.
- Les nouvelles techniques de séquençage génétique permettent d'identifier toutes les espèces de bactéries présentes et d'en déterminer l'abondance relative².

1. GILLIGAN, P. H. et coll. 2006. *Cumetech 43, Cystic Fibrosis Microbiology*, coordonnateur de la révision, M. D. Appleman. ASM Press, Washington D.C. 2. ROGERS, G. B. et coll. *Thorax*, 2015;70(1):74-81.

Les méthodes sur culture permettent d'identifier des microorganismes selon leurs caractéristiques et leur viabilité en culture

- Les microorganismes sont identifiés selon ce qui suit¹ :
 - Morphologie, couleur, taille
 - Composition de la paroi cellulaire
 - Produits sécrétés
 - Conditions de croissance requises
- Limitées aux espèces pouvant être cultivées²
- Plusieurs conditions de croissance peuvent augmenter le nombre d'espèces prélevées².

Identification des bactéries représentatives à l'aide d'un milieu de culture sélectif^{3,4}

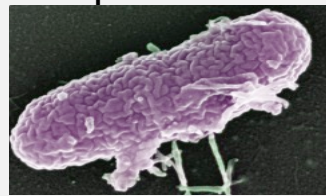
Pseudomonas aeruginosa



Gélose
MacConkey
Gélose chocolat
Gélose cétrimide

35-37 °C dans l'air, 12-72 h

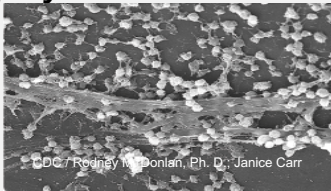
Complexe *Burkholderia cepacia*



Milieu C de Postgate
(PC)
Gélose sélective
Burkholderia cepacia
(BCSA)
Milieu MAST

35-37 °C dans l'air, 5 jours

Staphylococcus aureus



Gélose
mannitol-sel
CHROMagar

35-37 °C dans l'air, 12-24 h

Haemophilus influenzae



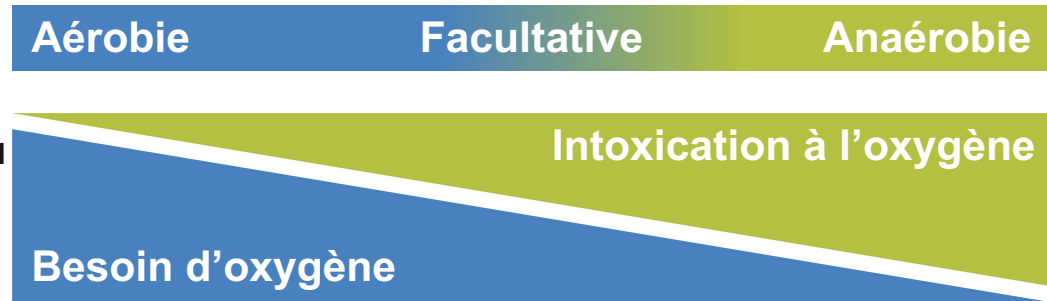
Gélose chocolat
Gélose au sang de
cheval

35-37 °C dans du CO₂ à 5 %, 12-24 h

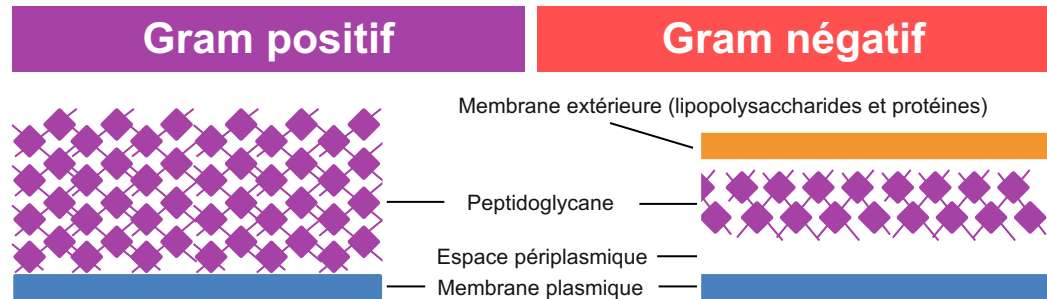
1. BISEN, P. S. « Microbial taxonomy », dans : *Microbes in Practice*, IK International, New Delhi, 2014. 2. HIERGEIST, A. et coll. *ILAR J*, 2015;56(2):228-240. 3. UK CF Trust Microbiology Laboratory Standards Working Group. 2010. 4. GILLIAN, P. H. et coll. 2006. *Cumetech 43, Cystic Fibrosis Microbiology*, coordonnateur de la révision, M. D. Appleman. ASM Press, Washington D.C.

Les principaux sous-types de bactéries sont classés selon leurs caractéristiques physiques et physiologiques

Classification selon l'utilisation de l'oxygène¹



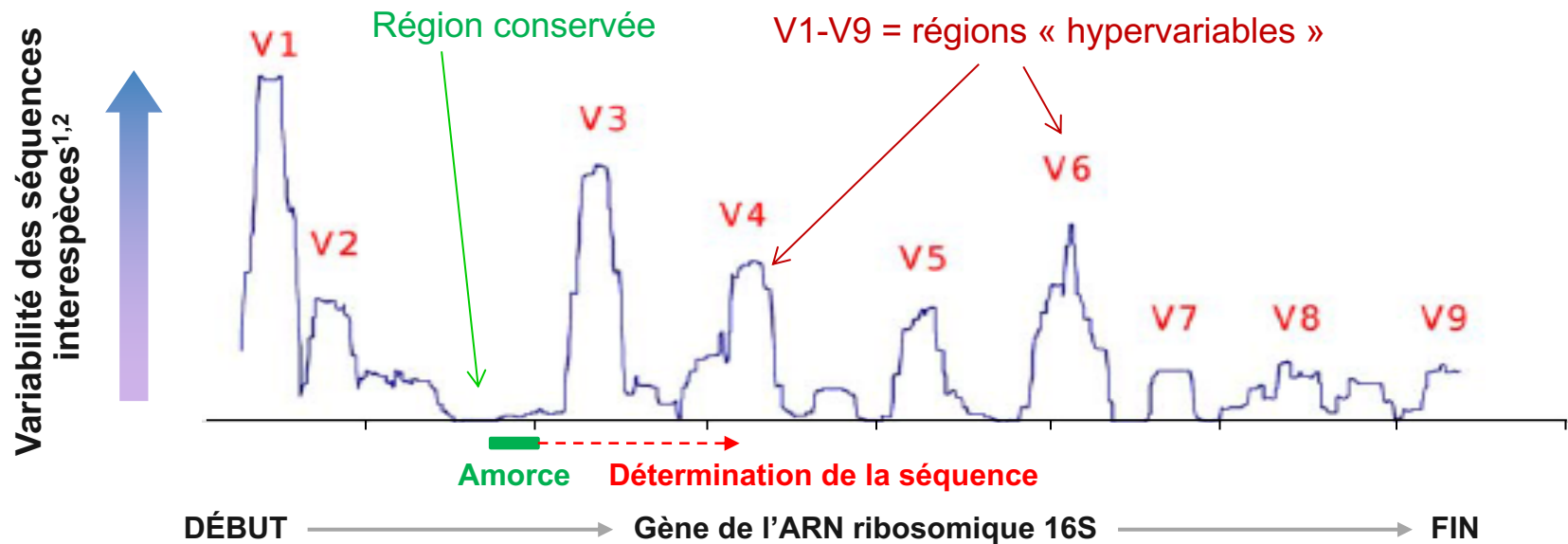
Classification selon la structure de la membrane extérieure²



1. HENTGES, D. L. *Med Microbiol*, 1996, 4^e édition, chapitre 17. 2. SILHAVY, T. J. et coll. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010;2(5):a000414.

Le séquençage s'appuie souvent sur la séquence du gène de l'ARN ribosomique 16S pour identifier les membres du microbiome

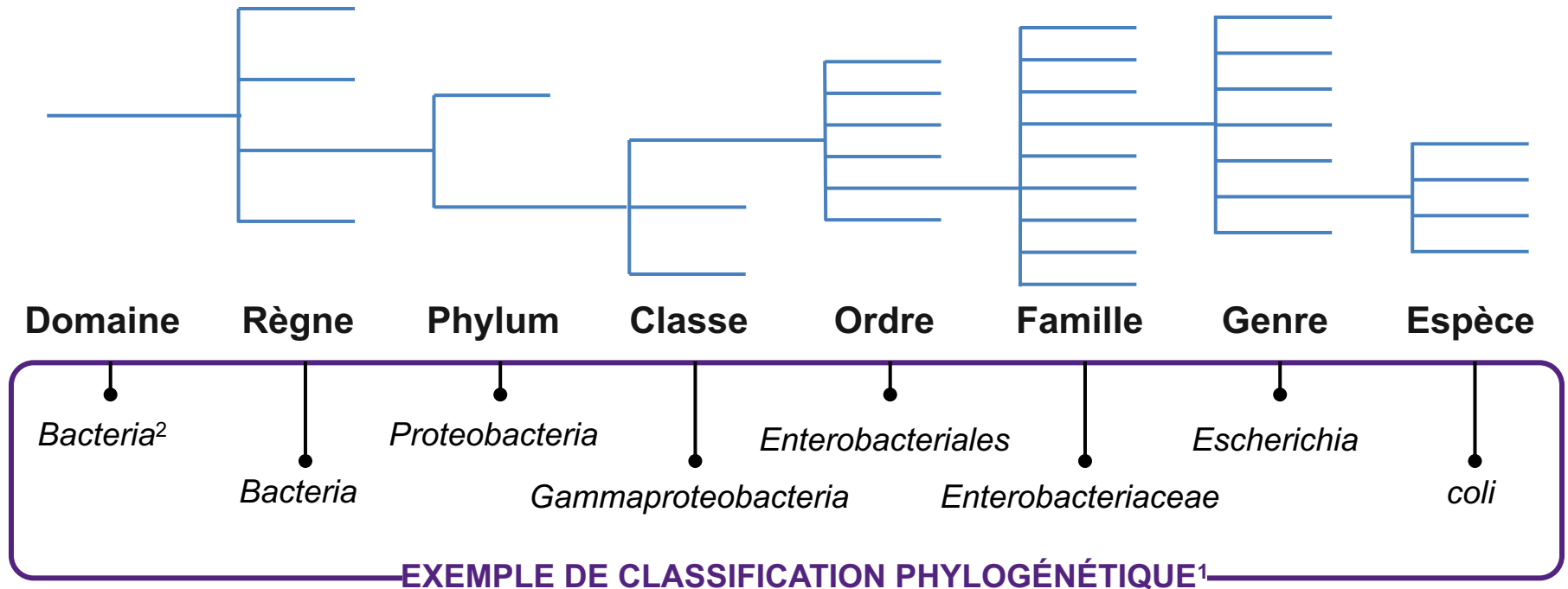
Le séquençage du gène de l'ARN ribosomique 16S est la méthode d'identification par excellence des membres du microbiome¹.



D'après BODILIS, J. et coll. *PLoS One*, 2012;7(4):e35647.

- Les amorces se liant aux régions conservées du gène de l'ARN ribosomique 16S sont utilisées pour séquencer les régions hypervariables flanquées qui distinguent les taxons à l'aide de techniques de séquençage à haut débit¹.

Des unités taxonomiques opérationnelles sont utilisées pour catégoriser les bactéries en fonction de leur similarité génétique



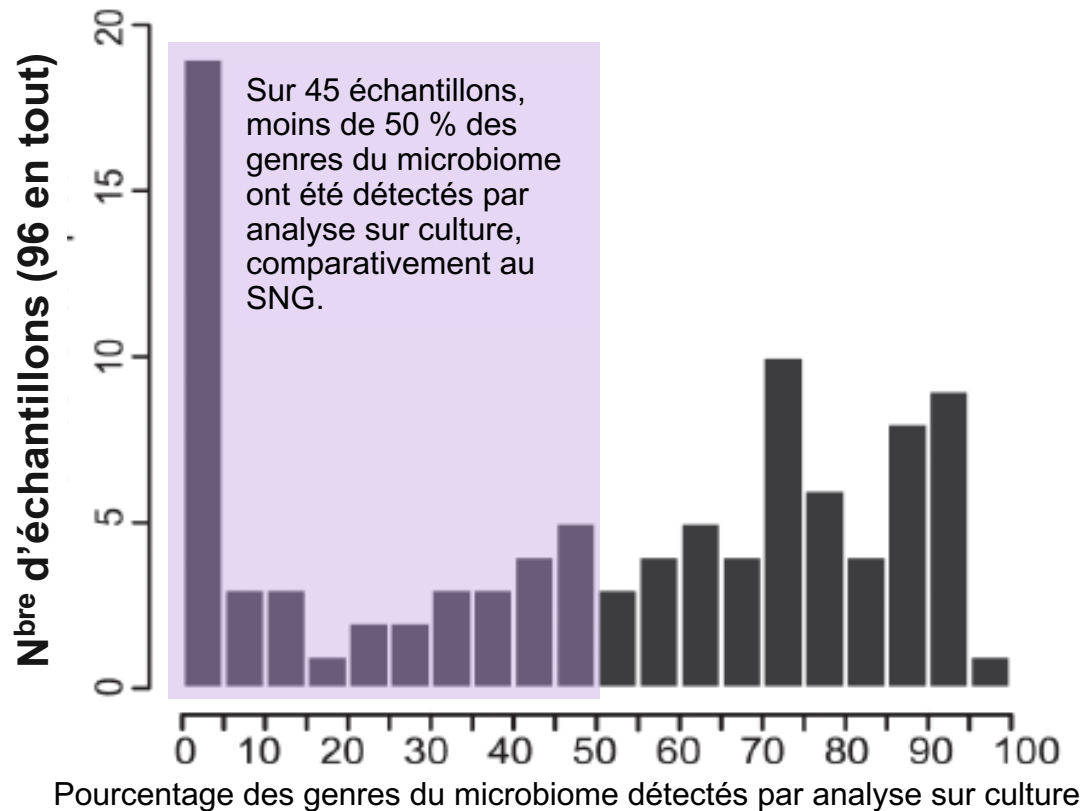
- La classification par unité taxonomique opérationnelle (UTO) repose sur la similarité entre la séquence des gènes et les séquences connues consignées dans une base de données de référence³.
- On utilise souvent ≥ 97 % de l'identité de la séquence, déterminée par séquençage du gène de l'ARN ribosomique 16S pour identifier une espèce^{3,4}.

1. Consulté en avril 2020 dans l'Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (<http://www.itis.gov>). 2. WOESE, C. R. et coll. *Proc Natl Acad Sci*, 1990;87:4576-4579. ROGERS, G. B. et coll. *Thorax*, 2015;70(1):74-81. 4. JANDA, J. M. et S. L. Abbott. *J Clin Microbiol*, 2007;45(9):2761-2764.

Les techniques de séquençage de nouvelle génération (SNG) permettent de détecter des microbes non identifiés par analyse sur culture

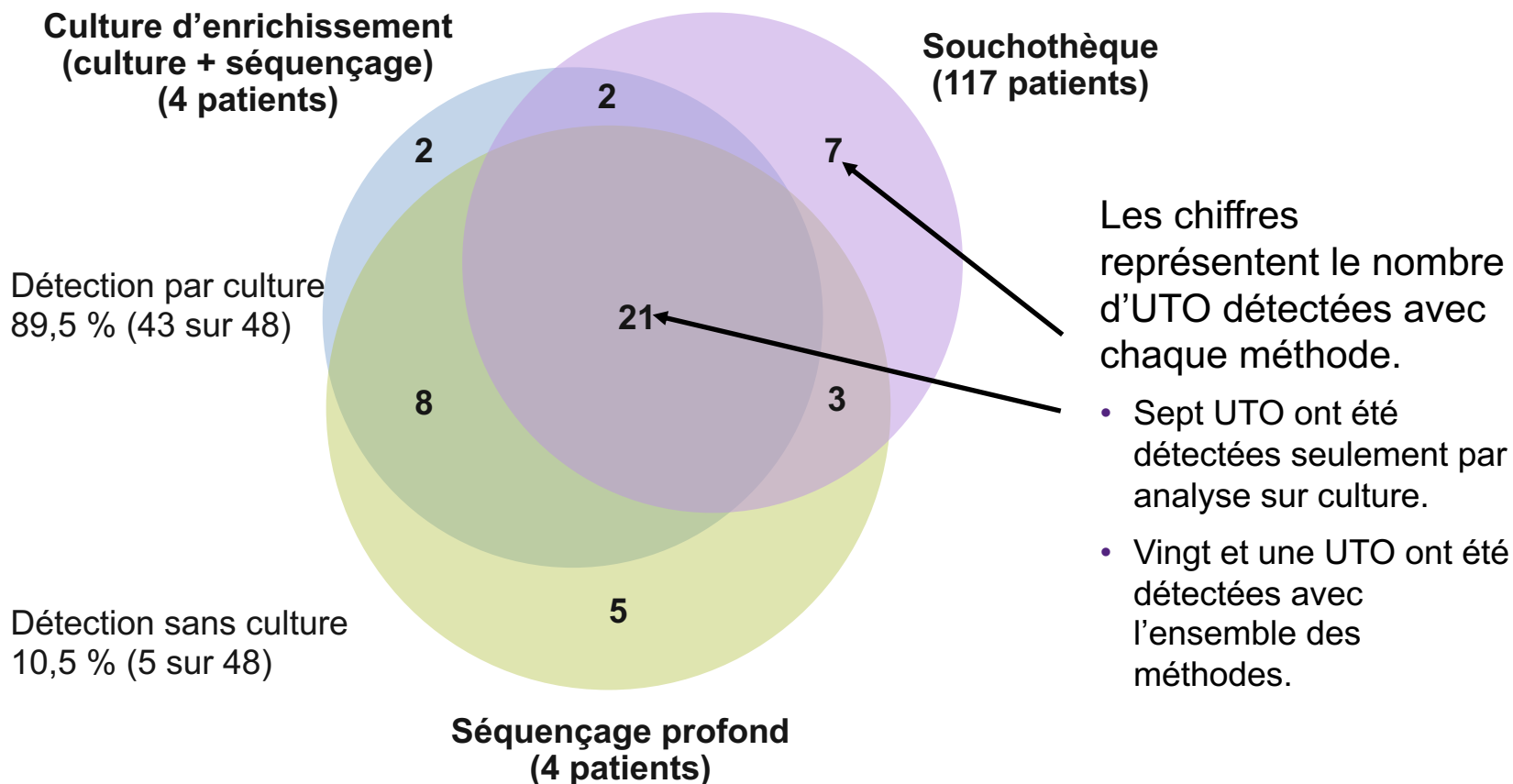
Comparaison du SNG à l'analyse sur culture

- Sur 96 échantillons*, 76 genres ont été relevés par SNG, comparativement à 18 par analyse sur culture.



* En tout, 98 échantillons (expectorations = 32, nez = 36, gorge = 30) de 20 patients atteints de FK ont été analysés par SNG et analyse sur culture. BOUTIN, S. et coll. *PLoS One*, 2015;10(1):e0116029.

Les techniques de culture améliorées plus le SNG augmentent la sensibilité

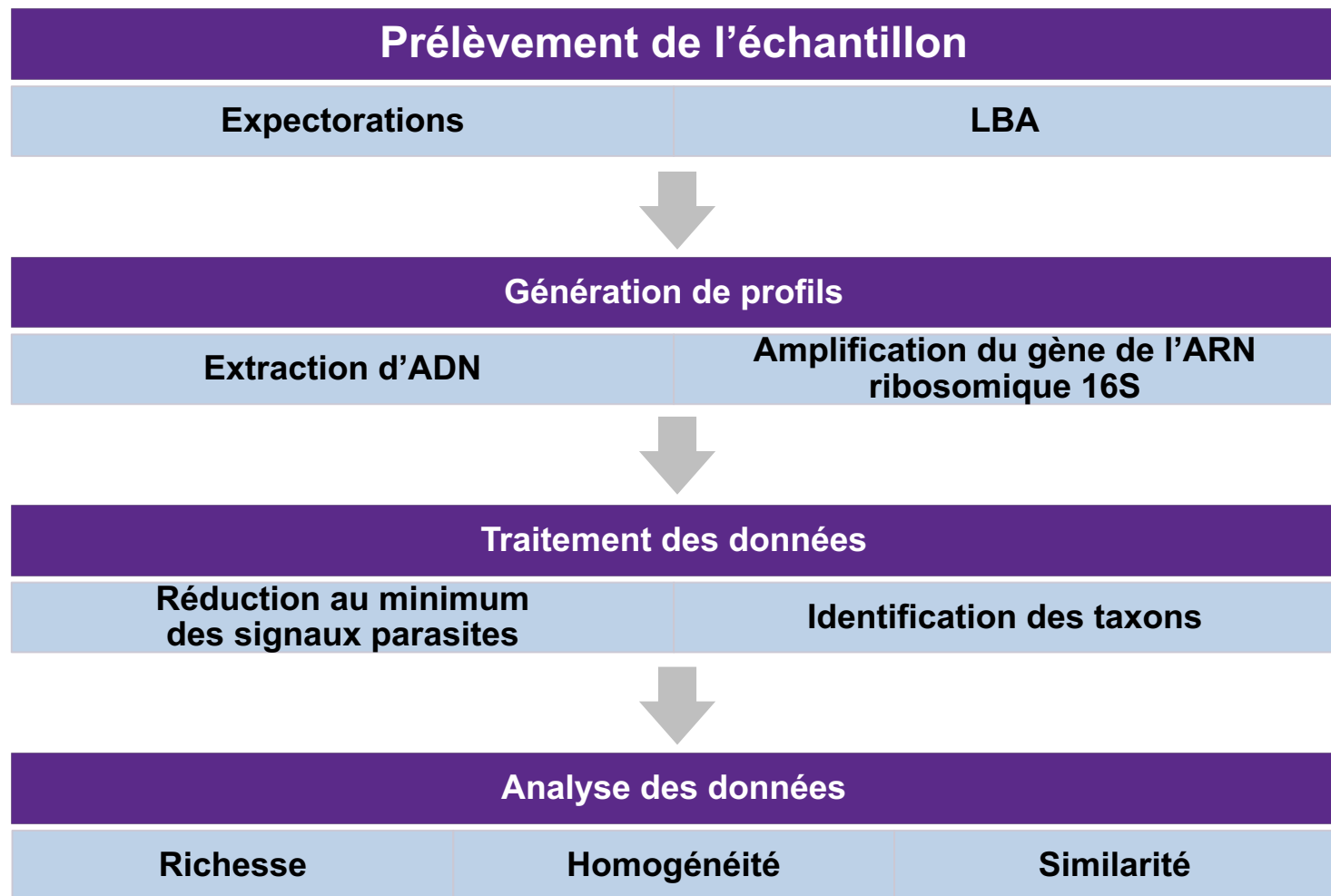


D'après SIBLEY, C. D. et coll. *PLoS One*, 2011;6(7):e22702.

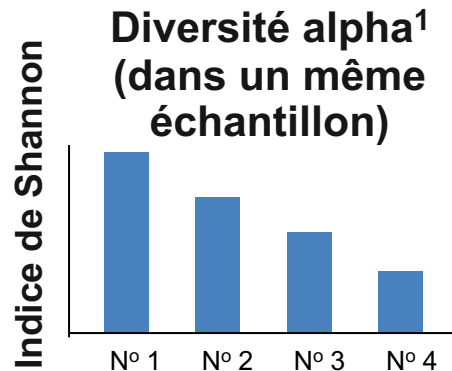
Caractérisation du microbiome

Plusieurs mesures sont utilisées pour décrire la communauté microbienne complexe se trouvant dans un échantillon ou pour comparer des échantillons.

Les nouvelles techniques de séquençage génétique permettent d'identifier et de classer les microorganismes selon leur ADN



Plusieurs mesures sont utilisées pour décrire le microbiome : caractéristiques dans un même échantillon



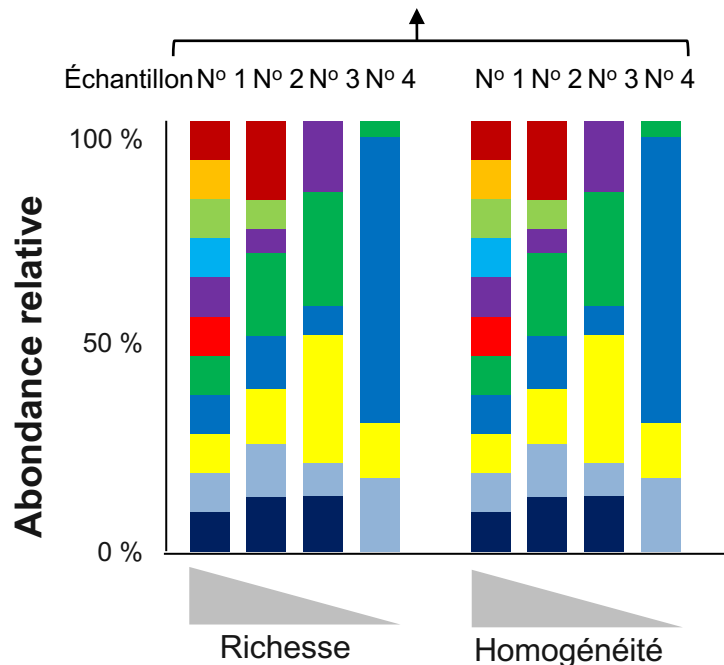
Diversité¹ : Nombre de types distincts de microorganismes (taxons)

Diversité alpha¹ : Diversité dans un même échantillon

Abondance relative : Pourcentage des microorganismes (taxons) composant l'échantillon

Richesse : Nombre de microorganismes (taxons) dans un échantillon

Homogénéité : Degré d'équivalence de chaque microorganisme (taxon) sur le plan de l'abondance



La diversité alpha est couramment calculée à l'aide de l'indice de Shannon ou de l'indice de Simpson¹.

Fourchette de l'indice de Shannon²

0 – 1 seul microorganisme (taxon)

Valeurs élevées pour chaque microorganisme (taxons) dont l'abondance est relativement faible

Fourchette de l'indice de Simpson²

0 – aucun microorganisme (taxon) n'a une abondance équivalente

1 – 1 microorganisme (taxon) dominant

1. MORGAN, X. C. et C. Huttenhower. *PLoS Comp Bio*, 2012;8(12):e1002808. 2. KIM, B. R., et coll. *J Microbiol Biotechnol*, 14 octobre 2017, doi: 10.4014/jmb.1709.09027.

Plusieurs mesures sont utilisées pour décrire le microbiome : comparaison d'échantillons

Diversité : Nombre de types distincts de microorganismes (taxons)¹

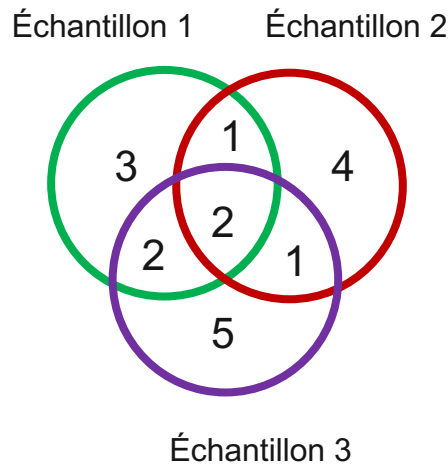
Diversité bêta : Degré de similarité ou de dissimilarité de différents échantillons¹

La diversité bêta peut être déterminée à l'aide de la méthode de Bray-Curtis¹.

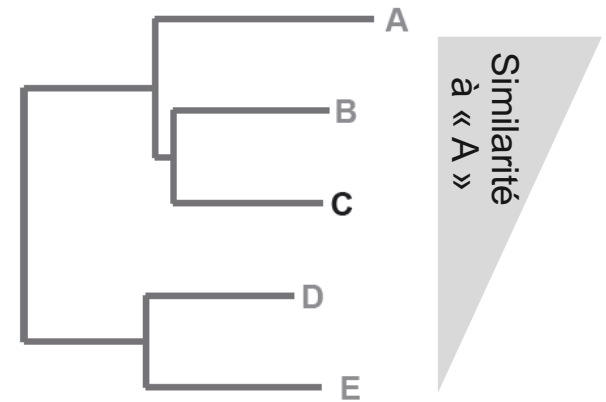
Permet d'identifier les groupes d'échantillons dont les communautés microbiennes sont similaires.

Diversité phylogénétique² : Distance phylogénétique entre des paires de membres d'une communauté

Diversité bêta¹ (entre les échantillons)



Diversité phylogénétique²



Exemple : indice de parenté net

Analyse d'échantillon : Analyse sur culture vs séquençage à haut débit des unités taxonomiques opérationnelles

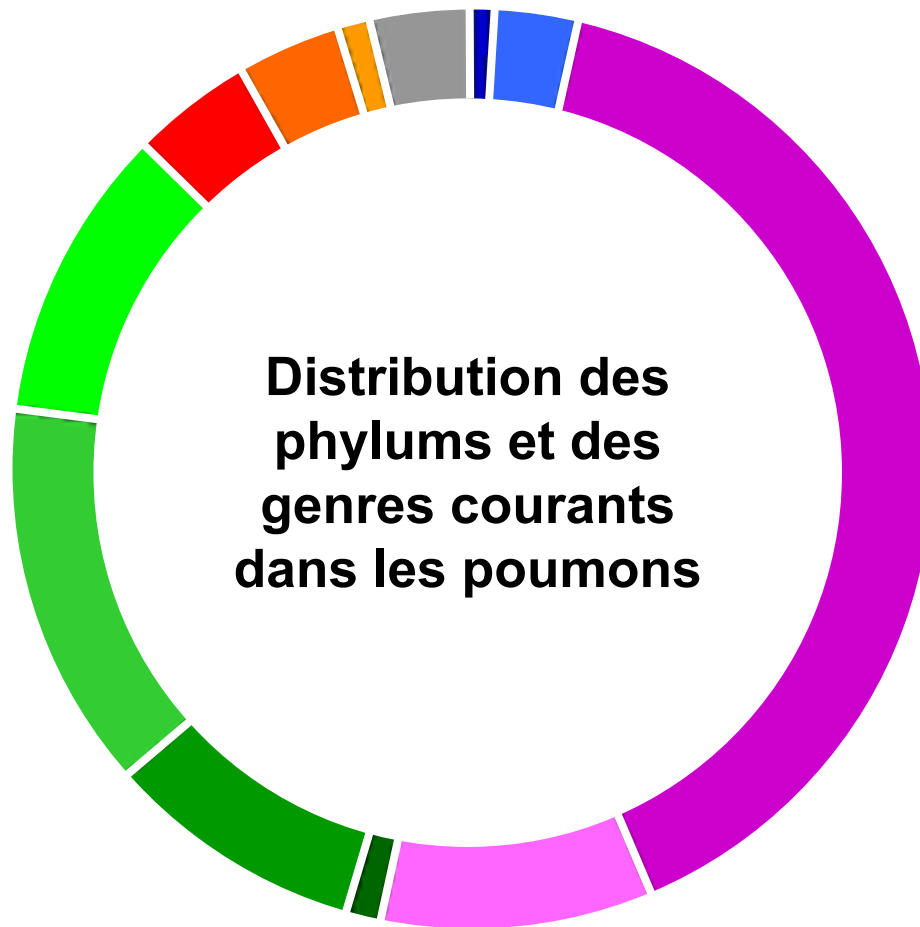
| Culture | SNG |
|--|--|
| Permet de détecter des microorganismes selon leur viabilité en culture ¹ . | Permet de détecter l'ADN des UTO de microorganismes viables ET non viables ¹ . |
| Moins de 20 % des taxons bactériens peuvent être cultivés dans un milieu de culture classique défini ² . | Permet de détecter les membres du microbiome cultivables et non cultivables ² . |
| Les microorganismes à croissance lente ou peu abondants peuvent être éclipsés, ce qui empêcherait leur identification ² . | Le prélèvement profond et le séquençage à haut débit permettent d'identifier tous les membres d'un microbiome ² . |
| Les techniques améliorées et la « culturomique » permet d'identifier et de cultiver un vaste éventail de bactéries ²⁻⁴ . | La rigueur de la classification taxonomique est limitée par la longueur de la séquence lue, le biais des bases de données et d'autres artefacts ⁵ . |
| Permet l'analyse des effets de la co-culture (p. ex. la protection) et la sensibilité aux antibiotiques ^{3,6} . | Le séquençage de l'ARN ribosomique 16S ne permet pas de détecter les variations intra-espèces ² . |
| La culture des échantillons provenant de patients atteints de FK demande beaucoup de travail ⁷ . | Le séquençage augmente la contamination de l'ADN par l'équipement, les réactifs et le personnel, ce qui nécessite des mesures correctives ⁸ . |

1. DICKSON. *Expert Rev Respir Med*, 2013;7(3):245-257. 2. HIERGEIST, A. et coll. *ILAR J*, 2015;56(2):228-240. 3. TUNNEY, M. M. et coll. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008;177(9):995-1001. 4. SIBLEY, C. D. et coll. *J Med Microbiol*, 2010;59(Pt 5):534-540. 5. PORETSKY, R. et coll. *PLoS One*, 2014;9(4):e93827. 6. SHERRARD, L. J. et coll. *Int J Antimicrob Agents*, 2016;47(2):140-145. 7. GILLIGAN, P. H. et coll. 2006. *Cumetech 43, Cystic Fibrosis Microbiology*, coordonnateur de la révision, M. D. Appleman. ASM Press, Washington D.C. 8. MILLAR, B. C., et coll. *J Clin Microbiol*, 2002;40(5):1575-1580.

Aperçu du microbiome des voies respiratoires d'une personne en bonne santé et d'un patient atteint de FK



Composition du microbiome des poumons sains sans FK



- Actinobacteria/*Corynebacterium*
- Autres Actinobacteria
- Bacteroidetes/*Prevotella*
- Autres Bacteroidetes
- Firmicutes/*Staphylococcus*
- Firmicutes/*Streptococcus*
- Firmicutes/*Veillonella*
- Autres Firmicutes
- Proteobacteria/*Haemophilus*
- Proteobacteria/*Neisseria*
- Autres Proteobacteria
- Fusobacteria/*Fusobacterium*

La composition du microbiome des poumons d'une personne en bonne santé repose sur 3 facteurs

Immigration¹

Essentiellement la microaspiration du microbiome buccal

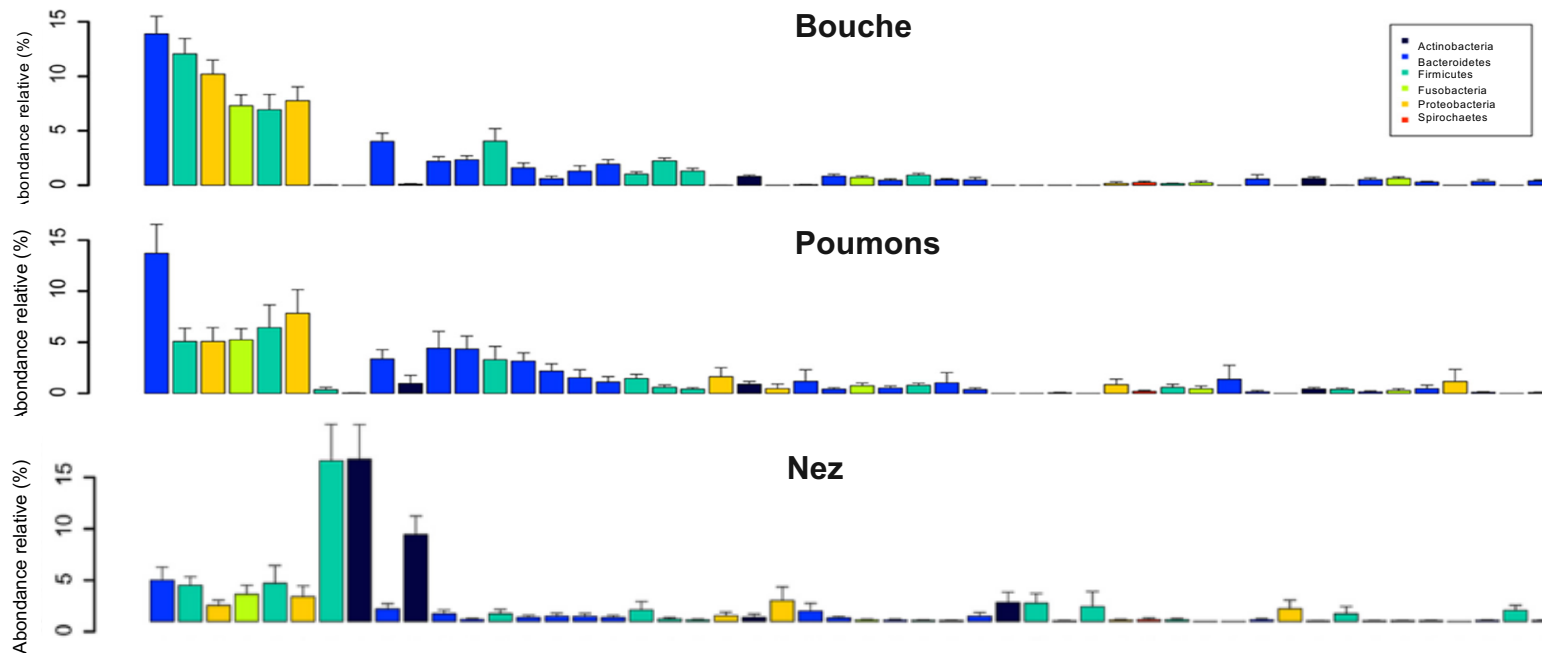
Conditions de croissance¹

Nutriments, oxygène, pH, température, compétition microbienne locale et interactions avec l'hôte

Élimination¹

Toux
Clairance mucociliaire
Défenses immunitaires

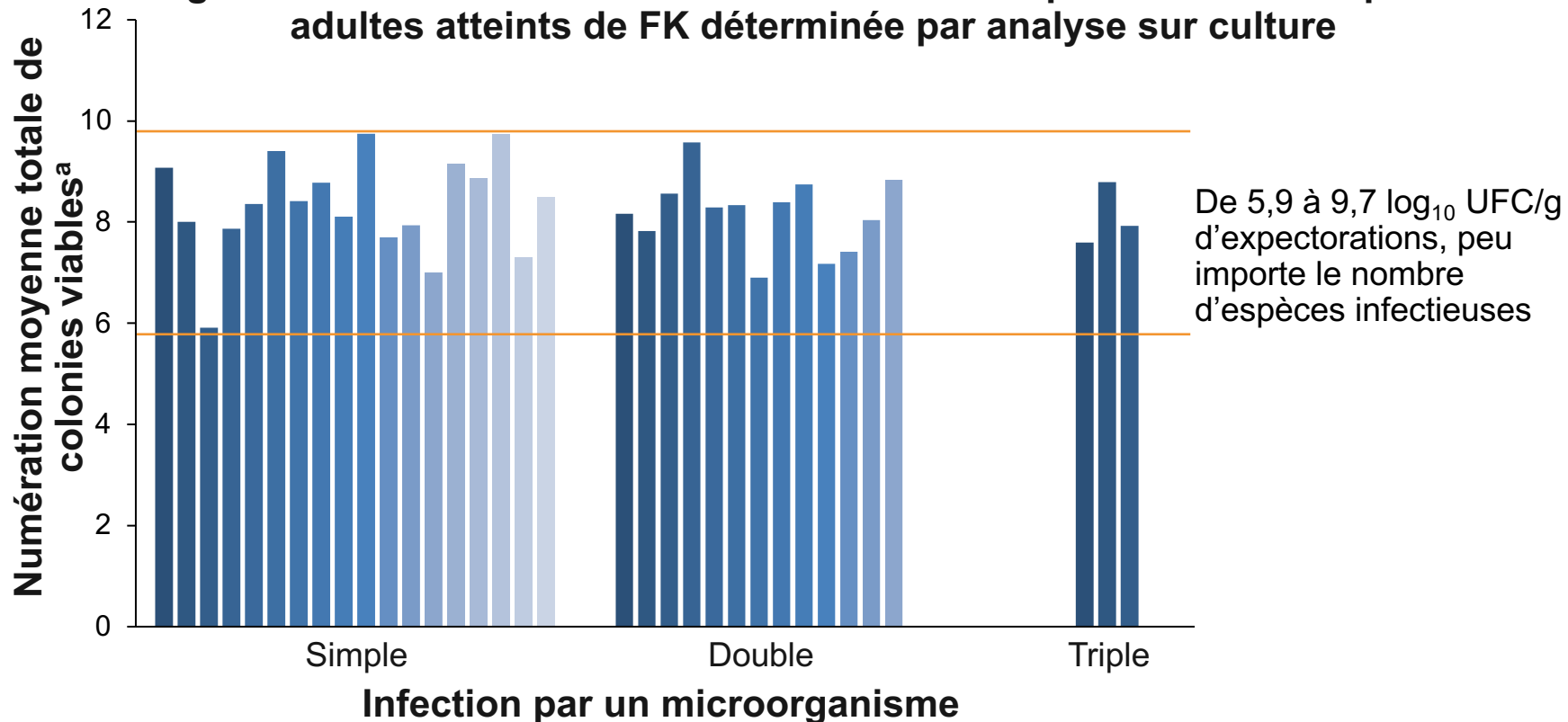
Les microbiomes buccal et pulmonaire ont un nombre significatif de membres communs qui ne se retrouvent pas dans le microbiome nasal².



1. DICKSON, R. P. et G. B. Huffnagle. *PLoS Pathogens*, 2015;11(7):e1004923. 2. BASSIS, C. M. et coll. *MBio*, 2015;6(2):e00037.

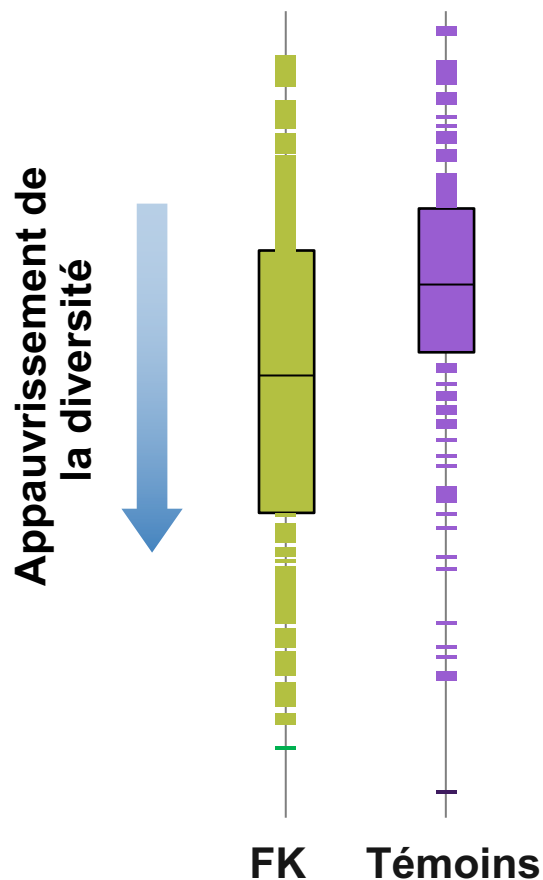
La quantification révèle une charge bactérienne importante dans les expectorations des patients adultes atteints de FK

Numération microbiologique quantitative totale de microflores de taxons à l'origine de co-infections/colonisations dans les expectorations des patients adultes atteints de FK déterminée par analyse sur culture

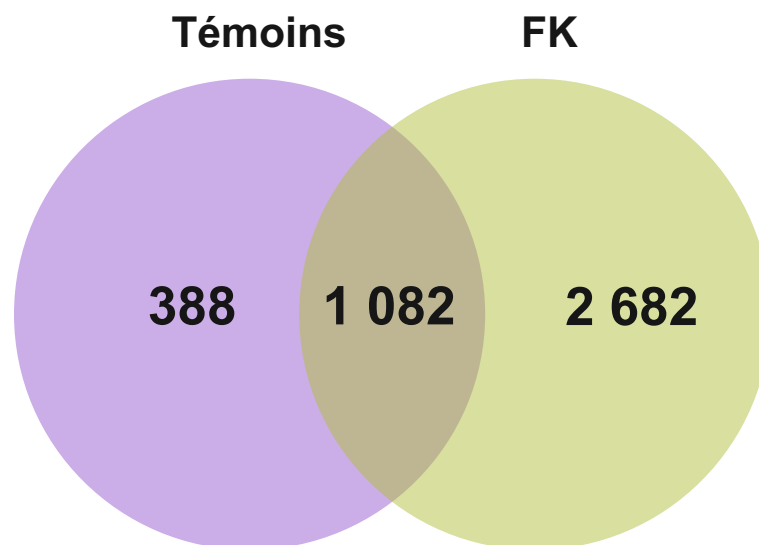


^a Les expectorations fraîchement prélevées chez 34 patients adultes atteints de FK ont été analysées pour y déceler des microflores à l'aide d'une base de gélose Columbia (Oxoid CM331). La numération totale des colonies viables a été exprimée en unités formatrices de colonies log₁₀ par gramme (UFC/g) d'expectorations d'origine.

Le microbiome des patients atteints de FK a une moins grande diversité et est plus riche que celui des témoins en bonne santé



Nombre d'UTO observées :
Richesse



Figures d'après Li et coll. *PLoS One*, 2016.

Diversité : Nombre de types distincts de microorganismes (taxons); Richesse : Nombre de microorganismes (taxons) dans un échantillon.

Li, J. et coll. *PLoS One*, 2016;11(10):e0164510.



Les bactéries présentes dans les poumons des patients atteints de FK peuvent être « principales » ou « satellites », selon leur prévalence chez le patient et dans l'ensemble des patients atteints de FK

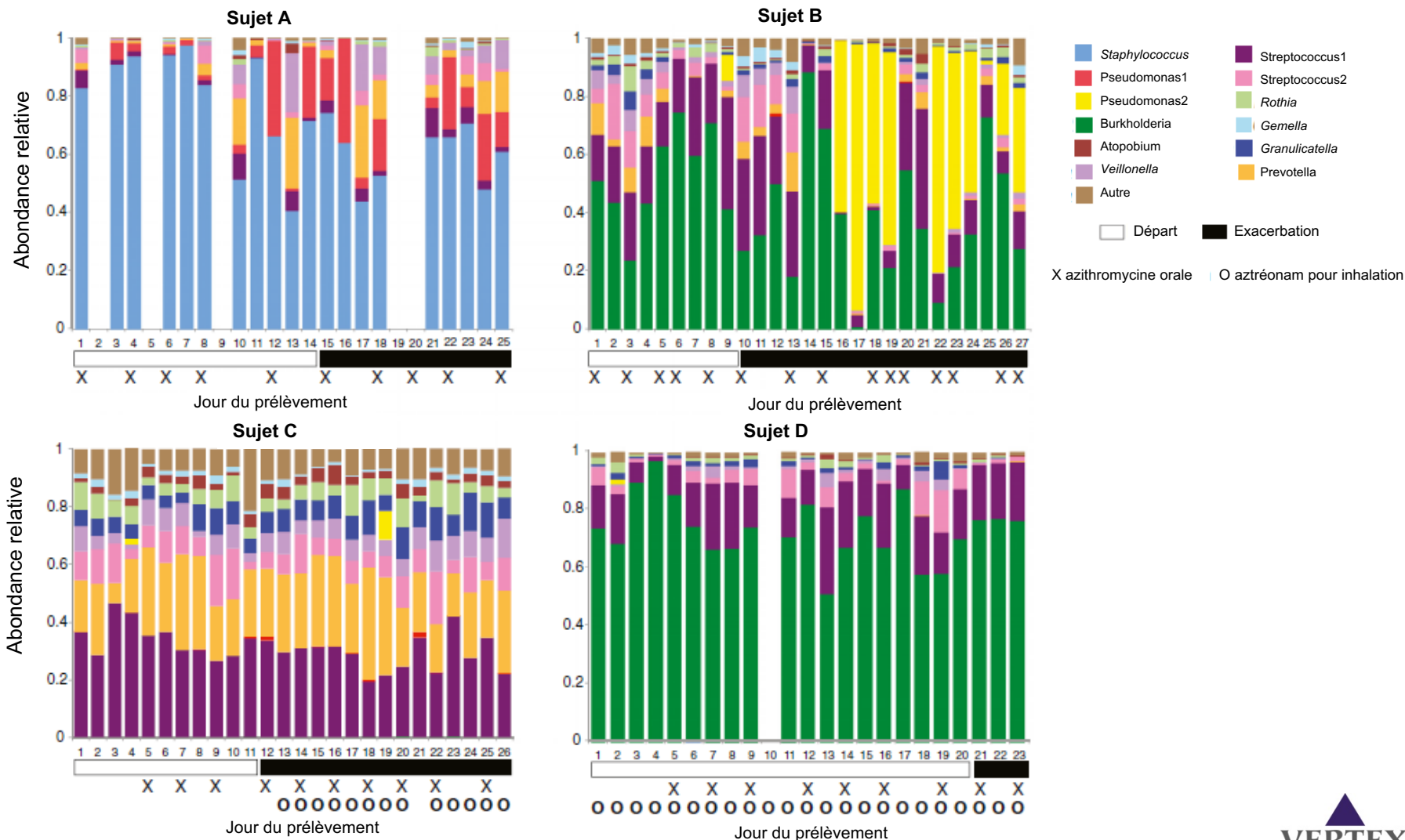
Taxons de bactéries « principales » prédominants dans les échantillons d'expectorations de 14 patients atteints de FK

| Famille | Nom du taxon | Utilisation de l'O ₂ | Bactéries buccales |
|--------------------|---|---------------------------------|--------------------|
| Porphyromonadaceae | <i>Porphyromonas catoniae</i> | Anaérobie | Oui |
| Prevotellaceae | <i>Prevotella melaninogenica</i> | Anaérobie | Oui |
| Prevotellaceae | <i>Prevotella oris</i> | Anaérobie | Oui |
| Prevotellaceae | <i>Prevotella salivae</i> | Anaérobie | Oui |
| Prevotellaceae | <i>Prevotella tanneriae</i> | Anaérobie | Oui |
| Prevotellaceae | <i>Prevotella veroralis</i> | Anaérobie | Oui |
| Streptococcaceae | <i>Streptococcus mitis/pneumoniae</i> | Aérobie | Oui |
| Streptococcaceae | <i>Streptococcus parasanguis</i> | Aérobie | Oui |
| Lachnospiraceae | <i>Catonella morbi</i> | Anaérobie | Oui |
| Veillonellaceae | <i>Veillonella atypica</i> | Anaérobie | Oui |
| Veillonellaceae | <i>Veillonella dispar</i> | Anaérobie | Oui |
| Veillonellaceae | <i>Veillonella parvula</i> | Anaérobie | Oui |
| Neisseriaceae | <i>Neisseria cinerea</i> | Aérobie | Oui |
| Neisseriaceae | <i>Neisseria flava/sicca/mucosa/pharyngis</i> | Aérobie | Oui |
| Pseudomonadaceae | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Aérobie | Non |

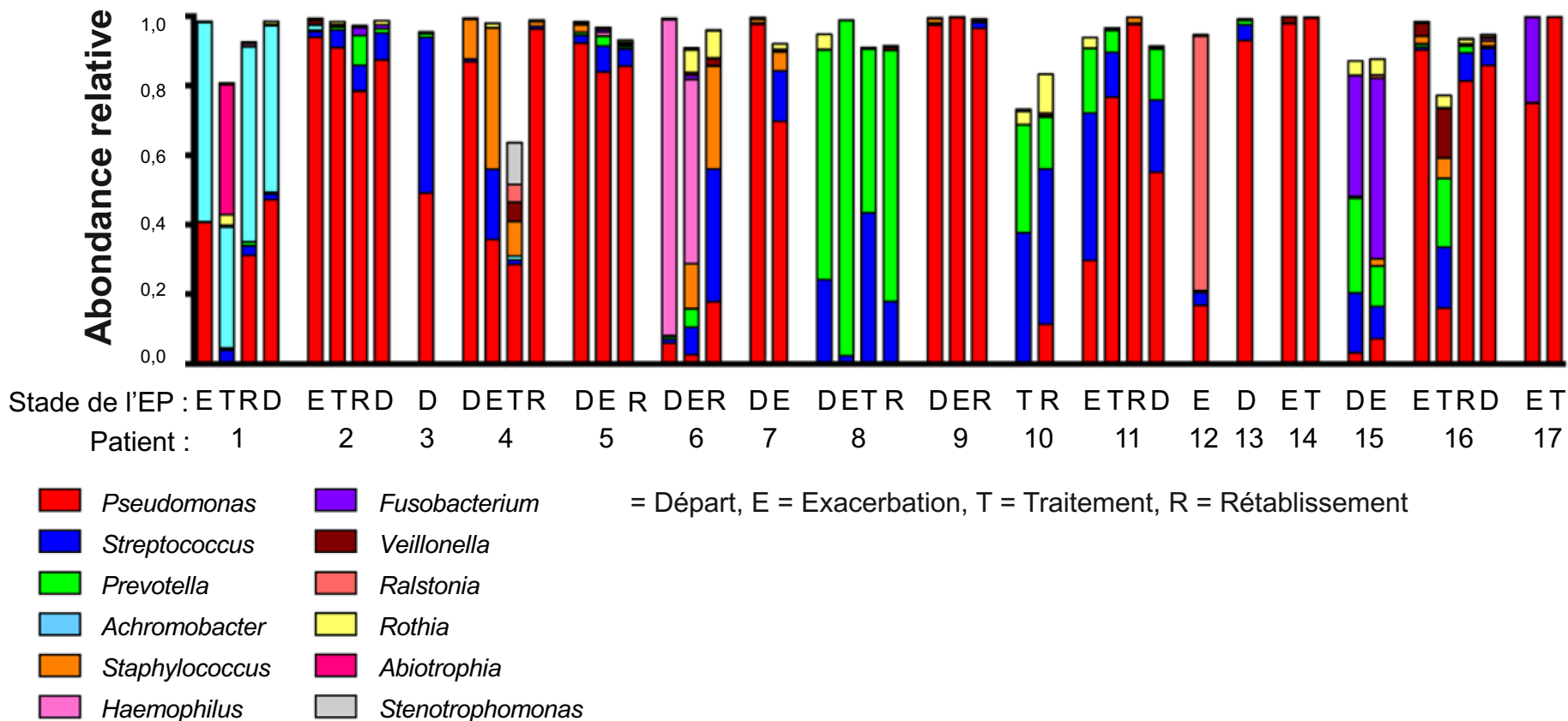
- *P. aeruginosa* représentait 70,6 % de l'abondance totale et était présente chez 13 patients sur 14.
- Moins prédominant, le groupe de bactéries « satellites », bien que formé de 67 taxons bactériens différents, ne représentait que 11,1 % de l'abondance totale et n'était présent que chez un sous-ensemble de patients.

La composition du microbiome de chaque personne atteinte de FK est unique

Abondance relative des principales unités taxonomiques opérationnelles (UTO) dans les échantillons quotidiens



La composition du microbiome de chaque personne est unique, peu importe le stade clinique



- Pendant une exacerbation, chaque personne a un microbiome qui ressemble davantage à celui qu'elle présente lorsque son état est stable qu'à celui d'une autre personne.

Marqueurs de résultats cliniques inférieurs



Certains changements du microbiome des voies respiratoires du patient atteint de FK sont associés à des résultats cliniques inférieurs

↓ Diversité microbienne

- Réduction de la fonction pulmonaire¹

Colonisation chronique par des agents pathogènes

- Réduction de la fonction pulmonaire¹
- Augmentation de l'inflammation²
- Augmentation de la mortalité³

Interactions hôte-microbes

- Augmentation de l'inflammation²

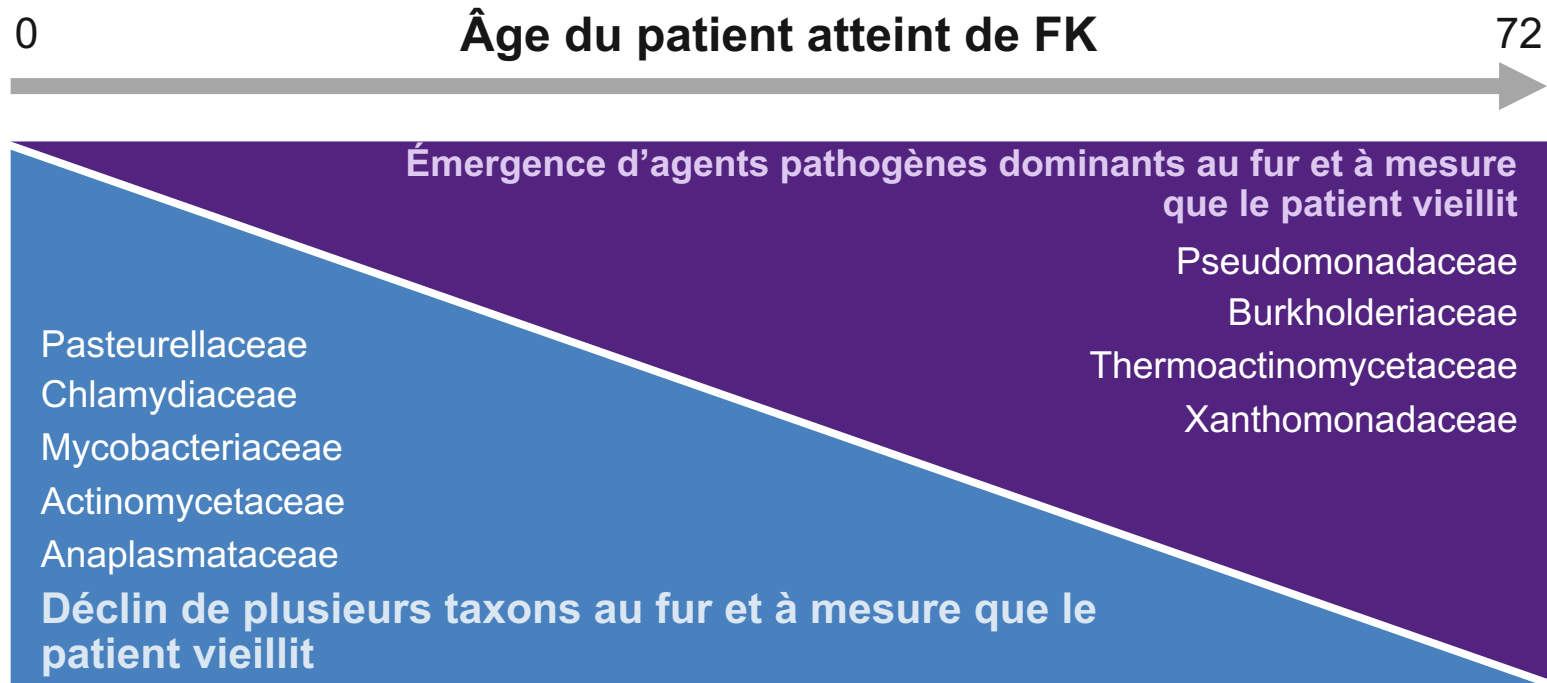
Interactions microbe-microbe*

- Détérioration de la fonction pulmonaire^{4,5}
- Augmentation de la fréquence des EP⁴
- Augmentation du taux de déclin de la fonction pulmonaire^{5,6}

* Co-infection chronique par des agents pathogènes particuliers.
EP : exacerbation pulmonaire.

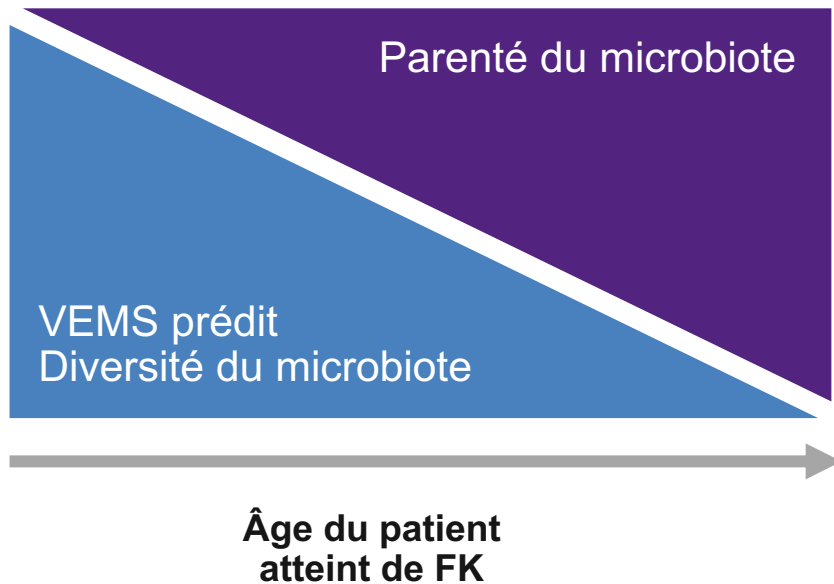
1. COX, M. J. et coll. *PLoS One*, 2010;5(6):e11044. 2. LUND-PALAU, H. et coll. *Exp Rev Respir Med*, 2016;10(6):685-697. 3. COURTNEY, J. M. et coll. *Pediatr Pulmonol*, 2007; 42:525-532. 4. LIMOLI, D. H. et coll. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016;35(6):947-953. 5. FOLESCU, T. W. et coll. *BMC Pulm Med*. 2015;15:158. doi: 10.1186/s12890-015-014. 6. MALINIAK, M. L. et coll. *J Cyst Fibros*, 2016;15:350-356.

La domination du microbiome par des agents pathogènes particuliers s'établit au fur et à mesure que le patient atteint de FK vieillit

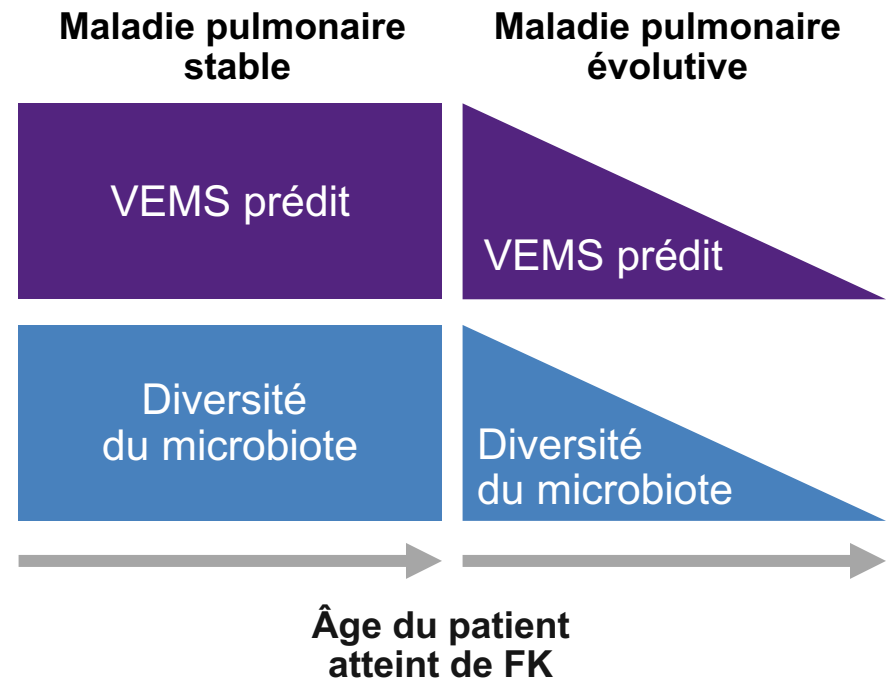


L'appauvrissement de la diversité microbienne au fur et à mesure que le patient atteint de FK vieillit est associé au déclin de la fonction pulmonaire

Changements globaux observés au fur et à mesure que le patient atteint de FK vieillit¹



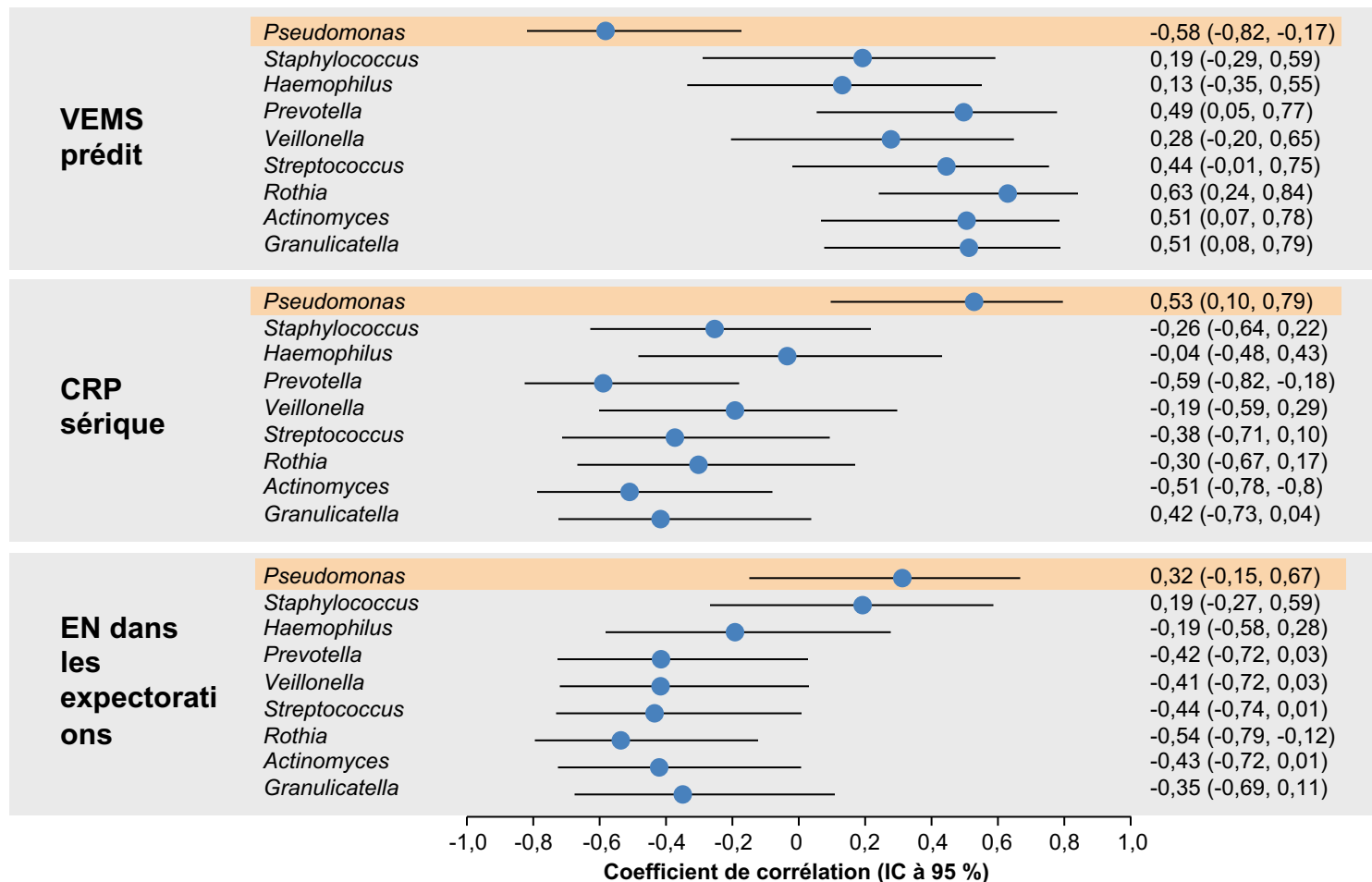
Changements observés au fur et à mesure que le patient atteint de FK vieillit, par phénotype de la maladie pulmonaire²



1. COX, M. J. et coll. *PLoS One*, 2010;5(6):e11044. 2. ZHAO, J. et coll. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(15):5809-5814.

La grande abondance relative de *P. aeruginosa* est corrélée à un VEMS prédit inférieur et à une augmentation de l'inflammation pendant les EP

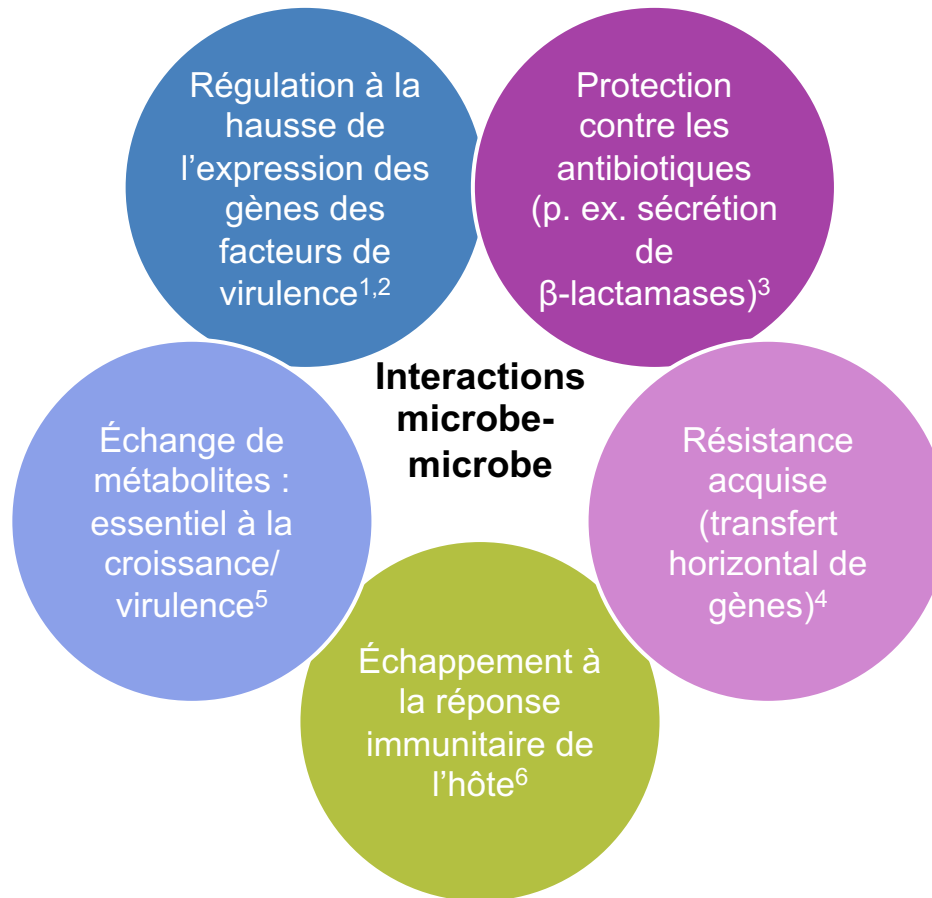
Lien entre l'abondance relative des genres, la fonction pulmonaire et les biomarqueurs d'inflammation au début du traitement des EP



CRP = protéine C réactive; EN = élastase neutrophile.
ZEMANICK E. T. et coll. *PLoS One*, 2013;8(4):e62917.



Types d'interactions microbe-microbe susceptibles d'empirer les résultats lors de co-infections chez les patients atteints de FK



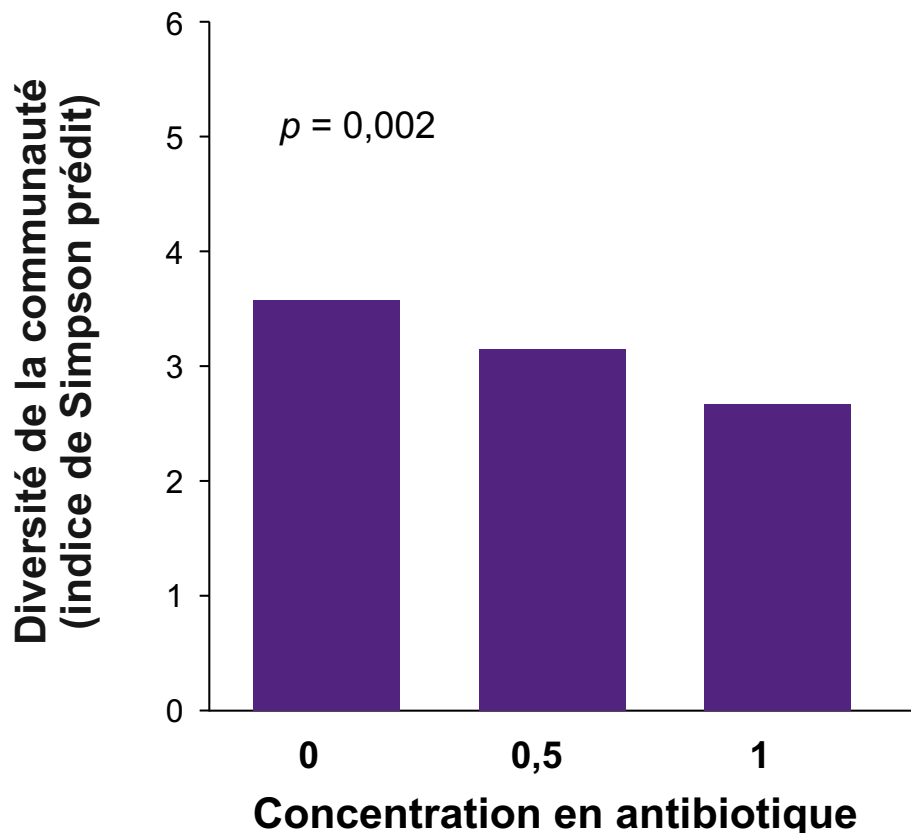
1. SIBLEY, C. D. et coll. *PLoS One*, 2008;4(10):e1000184. 2. DUAN, K. et coll. *Mol Microbiol*, 2003;50(5):1477-1491. 3. SHERRARD, L. J. et coll. *Int J Antimicrob Agents*, 2016;47(2):140-145. 4. MUNITA, J. M. et C. A. Arias. *Microbiol Spectr*, 2016;4(2). doi:10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. 5. HAMMER, N. D. et coll. *Cell Host Microbe*, 2014;16(4):531-537. 6. ARMBRUSTER, C. R. et coll. *MBio*, 2016;7(3):e00538-16. doi:10.1128/mBio.00538-16.

Réponse du microbiome pulmonaire du patient atteint de FK à l'antibiothérapie



Les antibiotiques sont associés à l'appauvrissement de la diversité microbienne dans les voies respiratoires

L'augmentation de la concentration en antibiotique est corrélée avec une moins grande diversité de la communauté bactérienne chez les patients atteints de FK.

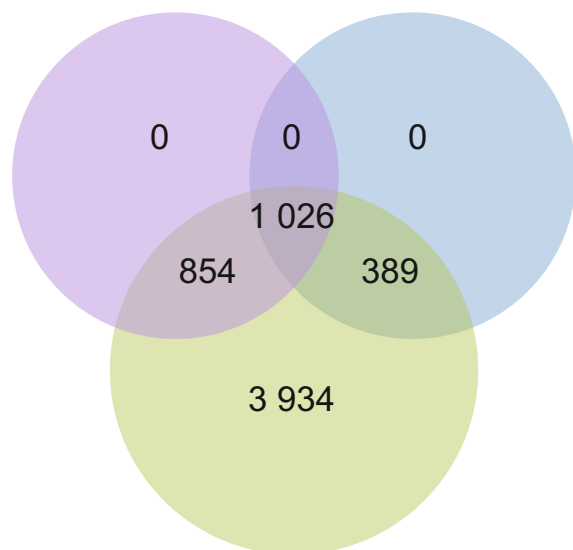


Trois composantes de la concentration en antibiotique

- Durée du traitement
- Moment de l'administration par rapport au moment du prélèvement
- Type d'antibiotique et voie d'administration

L'antibiothérapie a peu d'effets sur les bactéries opportunistes dominantes, mais elle a des effets significatifs sur les bactéries commensales

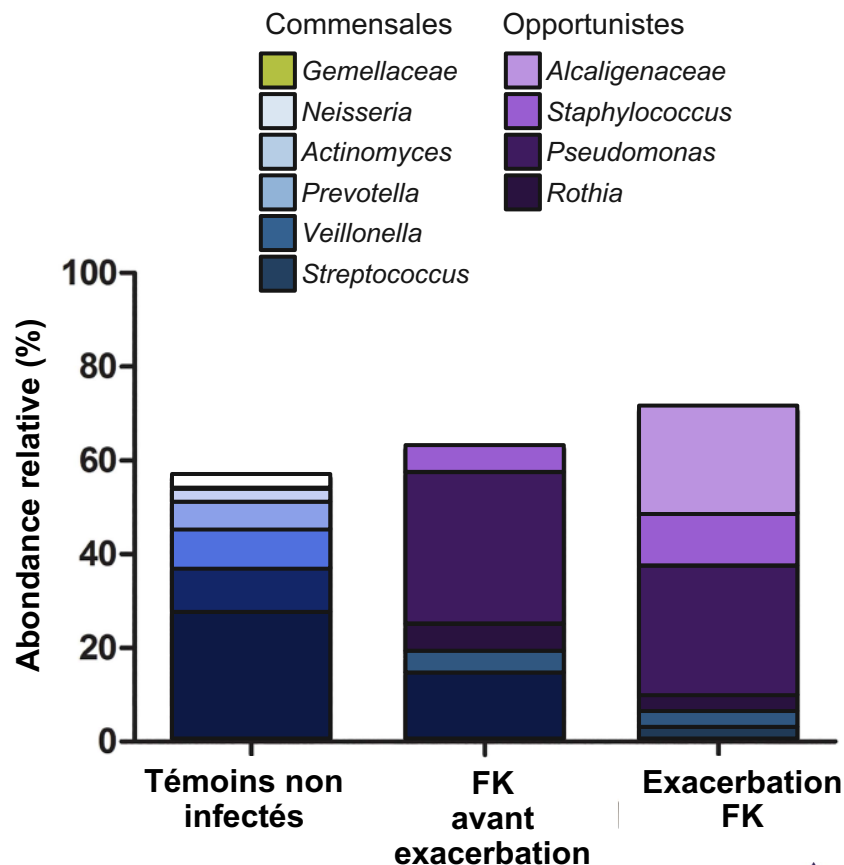
Avant le traitement Pendant le traitement



Après le traitement

- Des 3 394 taxons distincts relevés après le traitement antibiotique des EP :
 - 1,7 % (58 sur 3 394) étaient aussi présents chez les témoins en bonne santé;
 - 66,7 % (2 263 sur 3 394) étaient aussi présents chez les patients atteints de FK avant exacerbation.

Rang-abondance des bactéries dominantes dans le microbiote des personnes en bonne santé et des patients atteints de FK

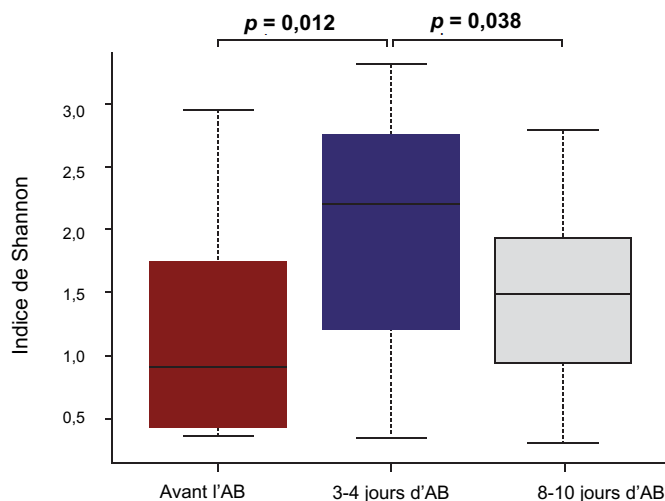


Les changements du microbiome des voies respiratoires du patient atteint de FK en réponse à l'antibiothérapie intraveineuse sont transitoires

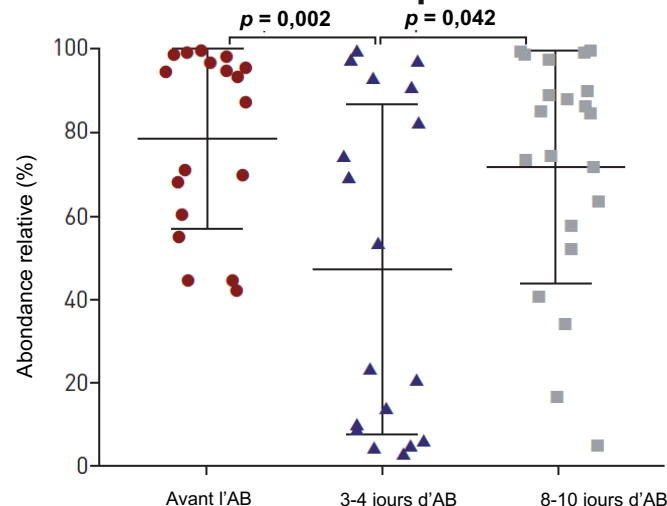
Changements du microbiote dans les expectorations du patient atteint de FK pendant une exacerbation pulmonaire



Changements de la diversité de la communauté pendant une exacerbation pulmonaire



Changements de l'abondance relative de *Pseudomonas* pendant une exacerbation pulmonaire



AB = antibiothérapie

Avertissement : Ces renseignements n'ont pas été revus avant leur publication; par conséquent, l'European Respiratory Society ne peut être tenue responsable des erreurs, des omissions ou des inexactitudes dans le contenu ni des conséquences en découlant. Reproduit avec la permission de © l'ERS, 2014. *European Respiratory Journal*, octobre 2014, 44 (4) 922-930; DOI: 10.1183/09031936.00203013.

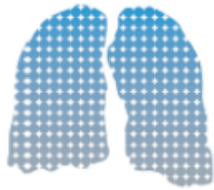


Orientations futures



Étude sur la médecine personnalisée de pointe fondée sur le microbiome des patients atteints de FK^{1,2}

CF MATTERS



Cystic Fibrosis Microbiome-determined Antibiotic Therapy Trial in Exacerbations: Results Stratified

Le microbiome des expectorations de chaque patient atteint de FK est analysé.

Traitement standard (ceftazidime + tobramycine)

Traitement standard + troisième antibiotique, selon les résultats de l'analyse du microbiome

Paramètre d'évaluation principal : variation en pourcentage du VEMS après rétablissement (post-exacerbation)

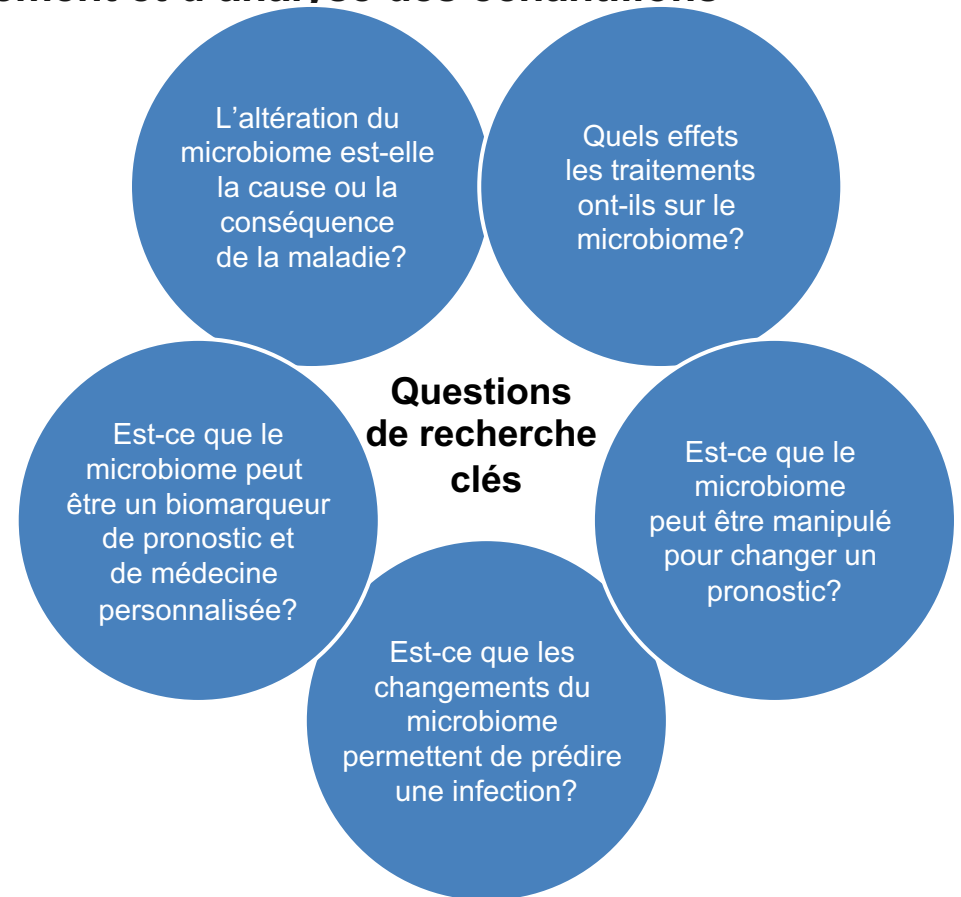
L'objectif est de réduire le recours aux antibiotiques et d'optimiser les stratégies liées à la posologie et à la durée du traitement. Les traitements sont adaptés aux besoins de chaque patient, ce qui réduit les effets indésirables et l'émergence d'une pharmacorésistance.

1. Clinicaltrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02526004>. Consulté en avril 2020. 2. CF Matters. Cystic Fibrosis Microbiome-Determined Antimicrobial Therapy Trial in Exacerbations: Results Stratified. <https://www.cfatters.eu>. Consulté en avril 2020.

Défi de l'intégration de l'analyse du microbiome à la prise en charge clinique courante

Normalisation des techniques de prélèvement et d'analyse des échantillons

| | |
|-------------------------------------|--|
| Prélèvement de l'échantillon | <ul style="list-style-type: none">• Expectorations• LBA |
| Génération de profils | <ul style="list-style-type: none">• Extraction d'ADN• Amplification du gène de l'ARN ribosomique 16S |
| Traitement des données | <ul style="list-style-type: none">• Réduction au minimum des signaux parasites• Identification des taxons |
| Analyse des données | <ul style="list-style-type: none">• Richesse• Homogénéité• Similarité |



Sommaire

- Les anomalies de la protéine CFTR entraînent un pH acide dans le liquide de surface des voies respiratoires, contribuant aux anomalies du mucus et de la clairance mucociliaire, à l'inflammation et à l'infection pulmonaire^{1,2}.
- La caractérisation du microbiome des voies respiratoires visant à identifier les agents pathogènes présents peut se faire à l'aide de méthodes sur culture ou de méthodes sans culture³.
- L'hétérogénéité du microbiome des voies respiratoires est significative d'une personne à l'autre, peu importe l'état de santé pulmonaire⁴.
- La diversité du microbiome des patients atteints de FK est moins grande que celle du microbiome des personnes en bonne santé sans FK⁵.
- La diversité du microbiome pulmonaire des patients atteints de FK s'appauvrit avec l'âge, et *P. aeruginosa* devient l'espèce dominante chez les patients plus âgés⁶.
- Les interactions hôte-microbes contribuent à l'inflammation et à la détérioration de la fonction pulmonaire⁷.
- Les interactions microbe-microbe influencent les résultats cliniques des patients atteints de FK⁸⁻¹⁰.
- Le microbiome peut servir de réservoir de résistance aux antibiotiques⁵.
- Les études sur le microbiome pourraient donner lieu à de meilleurs pronostics et à de meilleurs traitements¹¹.

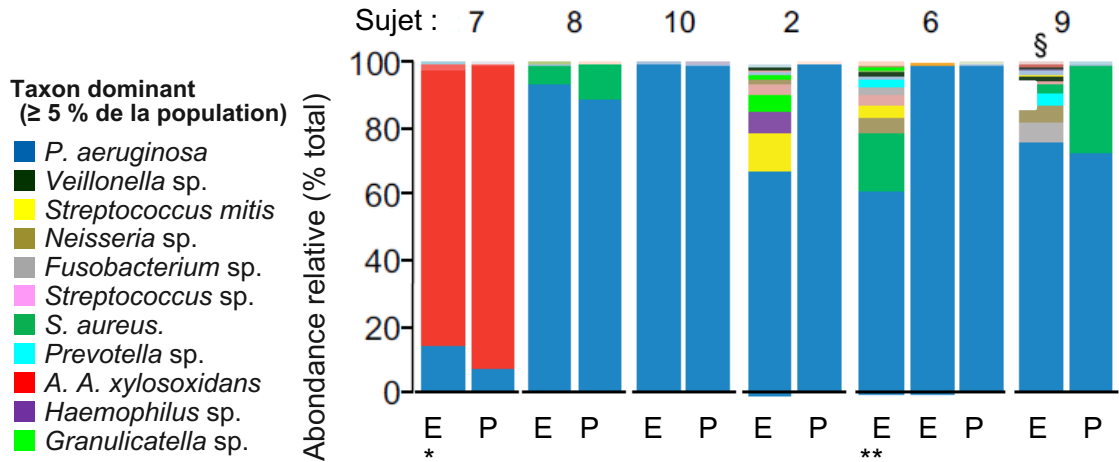
1. TANG, X. X. et coll. *J Clin Invest.* 2016;126(3):879-891. 2. STOLTZ, D. A. et coll. *N Engl J Med*, 2015;372:351-62. 3. SIBLEY, C. D. et coll. *PLoS One*, 2011;6(7):e22702. 4. PRICE, E. K. et coll. *Microbiome*, 2013;1:27. 5. LI, J. et coll. *PLoS One*, 2016;11(10):e0164510. 6. COX, M. J. et coll. *PLoS One*, 2010;5(6):e11044. 7. ZEMANICK E. T. et coll. *PLoS One*, 2013;8(4):e62917. 8. LIMOLI, D. H. et coll. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016;35(6):947-953. 9. FOLESCU, T. W. et coll. *BMC Pulm Med.* 2015;15:158. doi: 10.1186/s12890-015-014. 10. HUDSON, V. L. et coll. *J Pediatr*, 1993;122(6):854-860. 11. Clinicaltrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02526004>. Consulté le 15 décembre 2017.

Diapositives supplémentaires

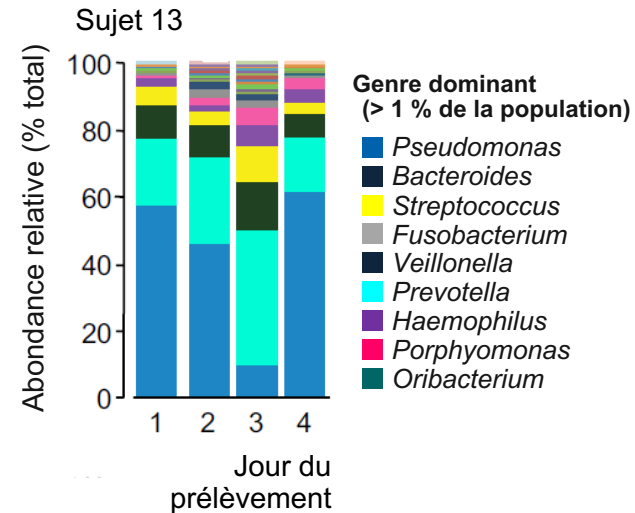


Les difficultés d'interprétation dans les études sur le microbiome découlent des sites de prélèvement et à la variabilité temporelle

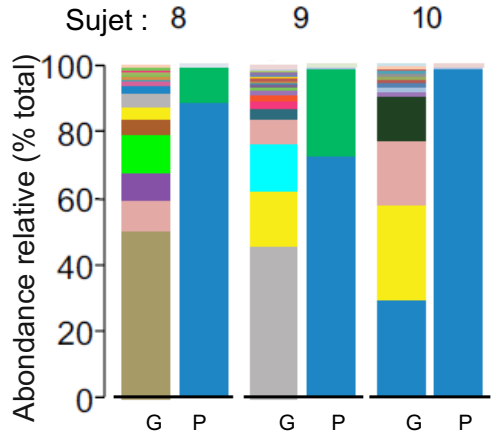
Les échantillons d'expectorations (E) permettent d'identifier les microorganismes dominants, mais leur analyse peut entraîner une surestimation de la diversité



La composition des échantillons d'expectorations varie chaque jour



Les échantillons prélevés de la gorge (G) ne reflètent pas bien le microbiome pulmonaire (P)



- Les échantillons de sécrétions de la gorge, d'expectorations et de sécrétions pulmonaires peuvent subir diverses formes de contamination oropharyngée.
- Dans une étude visant à comparer des échantillons prélevés directement dans les tissus pulmonaires (après une greffe) à des échantillons d'expectorations, 3 échantillons d'expectorations sur 7 contenaient un éventail de microorganismes atypiques.

GODDARD, A. F. et coll. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(34):13769-13774. © 2012 National Academy of Sciences.

