

ASSISTANCE  
PUBLIQUE

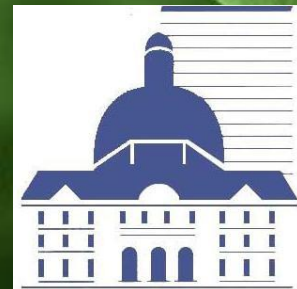
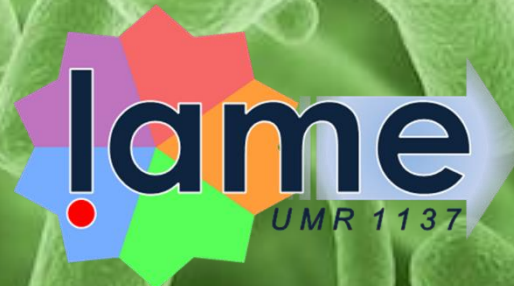


HÔPITAUX  
DE PARIS

Importance des microbiotes en transplantation d'organe

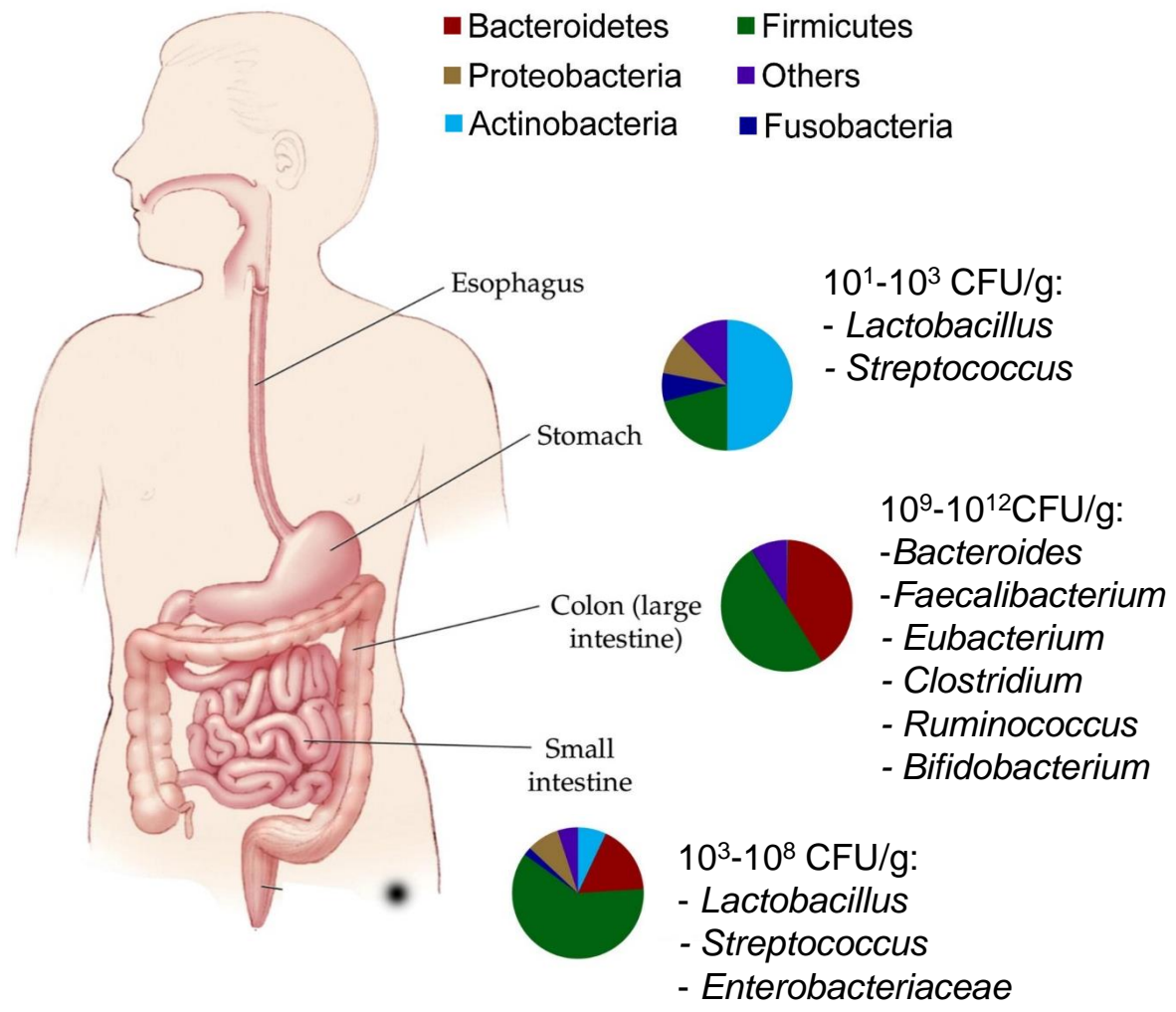
J. Turret-Arnaud

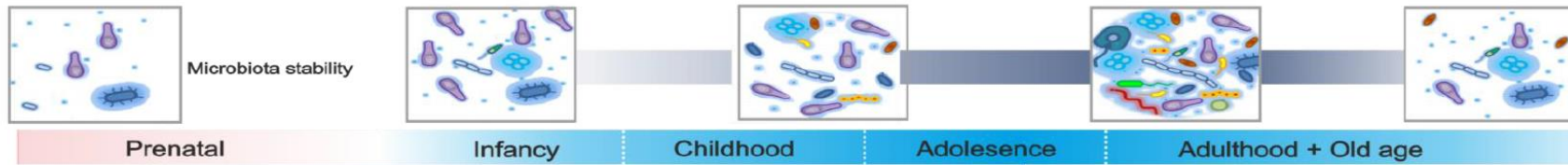
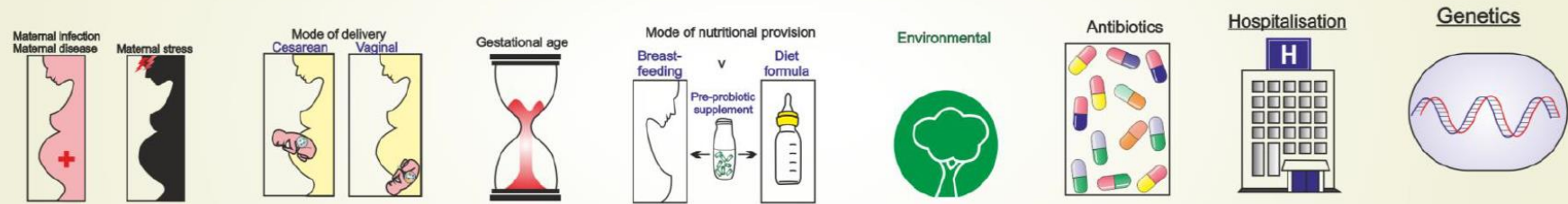
Département d'Urologie, Néphrologie et Transplantation  
GHPS



- Le microbiote grand contrôleur de l'immunité
- Les microbiotes en transplantation d'organe
- Microbiote intestinal et troubles métaboliques chez les sujets transplantés

# Microbiote : les acteurs bactériens

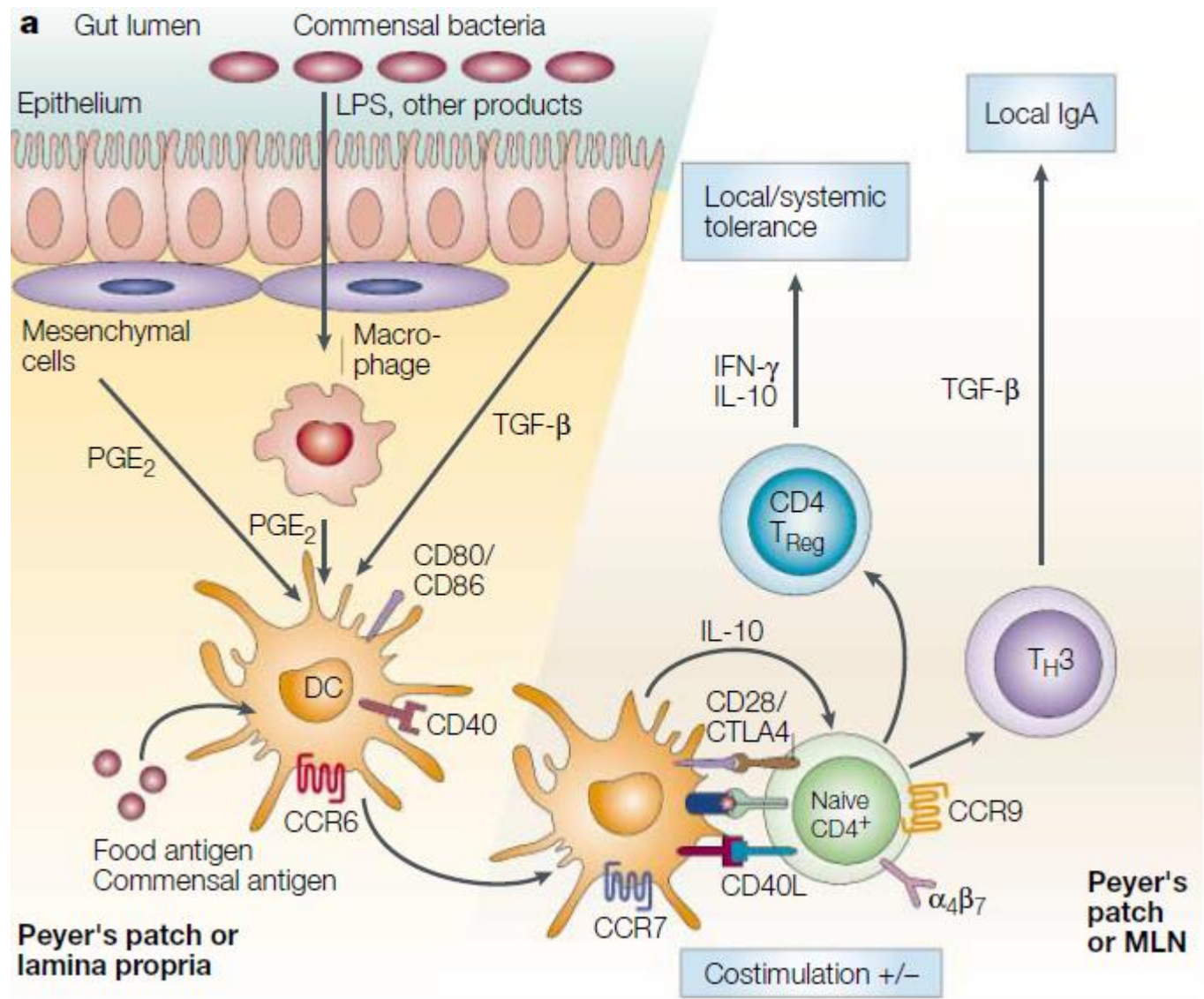


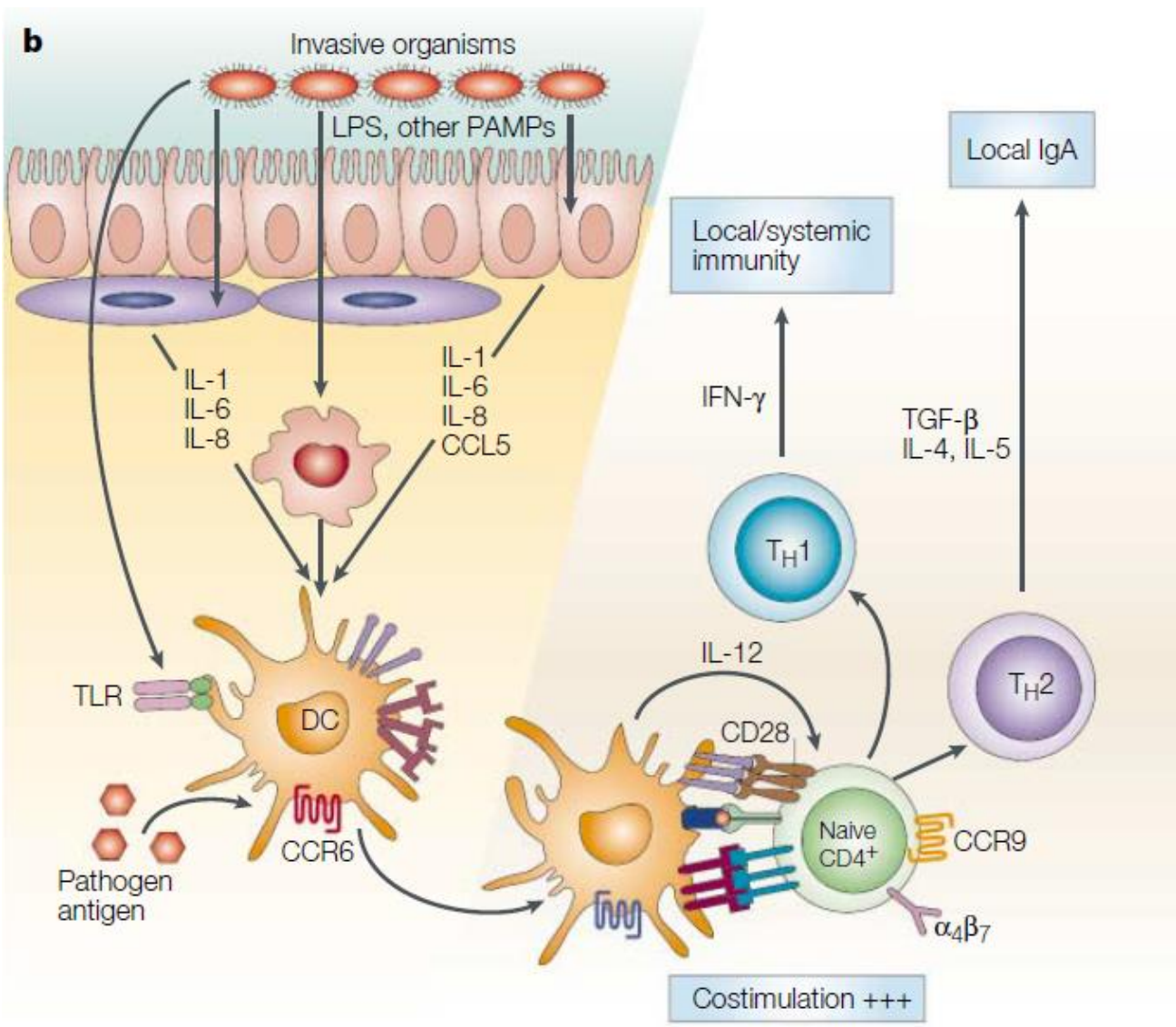


## Dynamique et résilience :

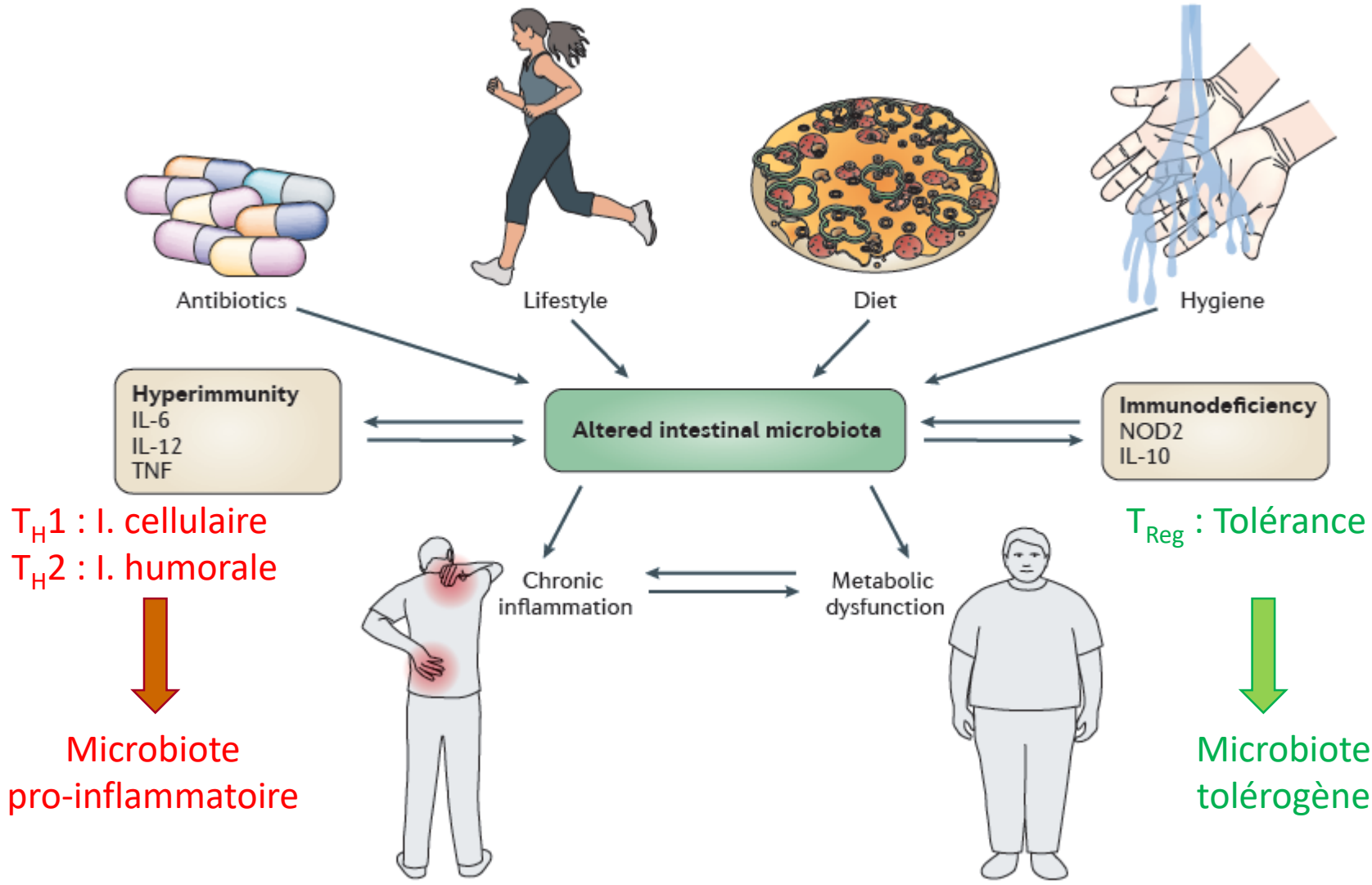
- Acquisition à la naissance
- Enrichissement (diversité) pendant l'enfance et l'adolescence
- Le plus divers à l'âge adulte
- Facteurs perturbateurs mais résilience
- Diminution de la diversité chez les séniors

# Microbiote et immunité : immunomodulation





Le microbiote : un réservoir d'antigènes jouant un rôle immunomodulateur



- **Échantillons**

80 échantillons de selles

37 échantillons urinaires

87 échantillons buccaux

- **Délais post-transplantation**

Avant la transplantation

M1

M6

- **Analyses moléculaires**

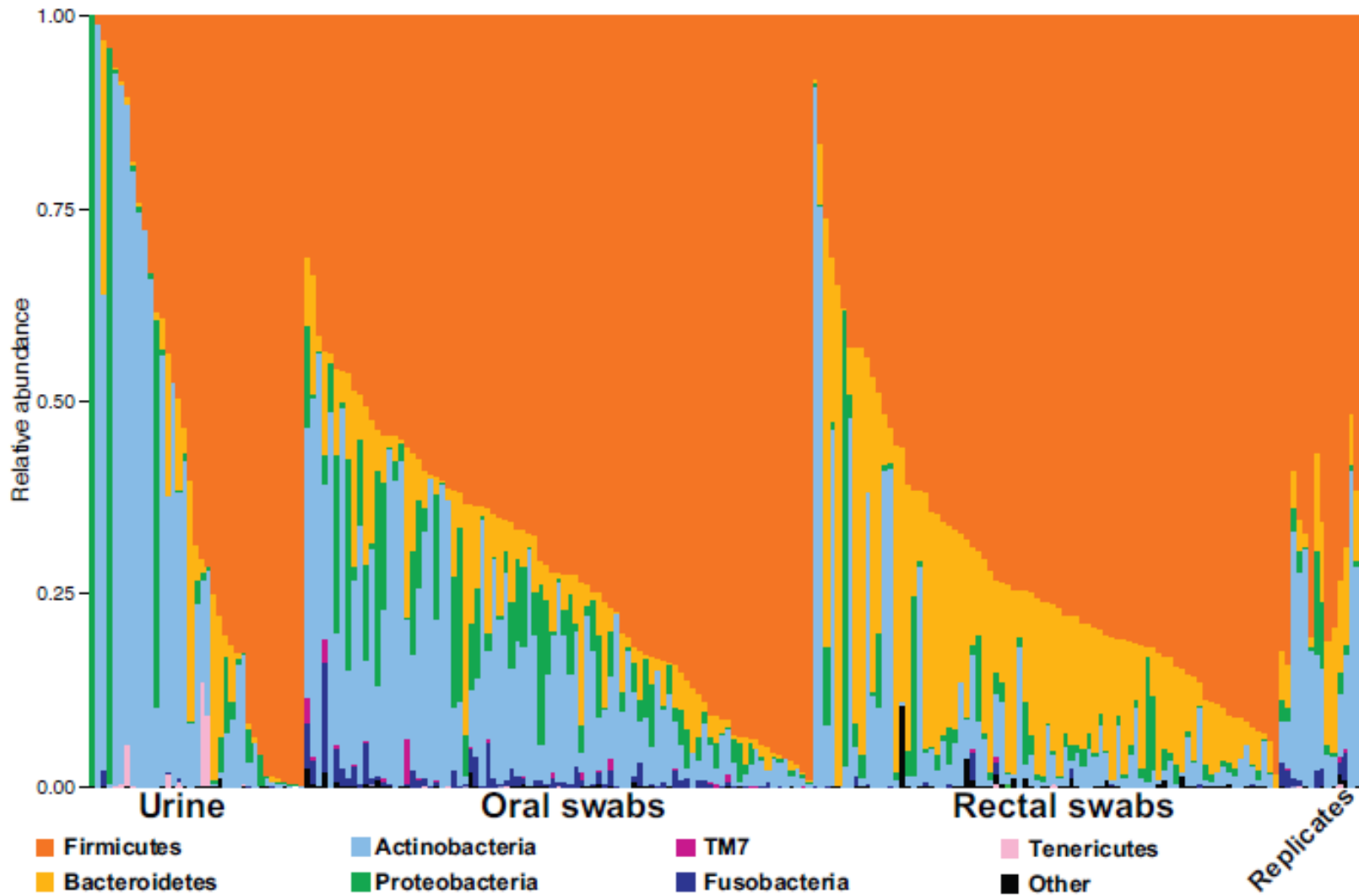
Extraction ADN bactérien

Amplifications gène ARN 16 S

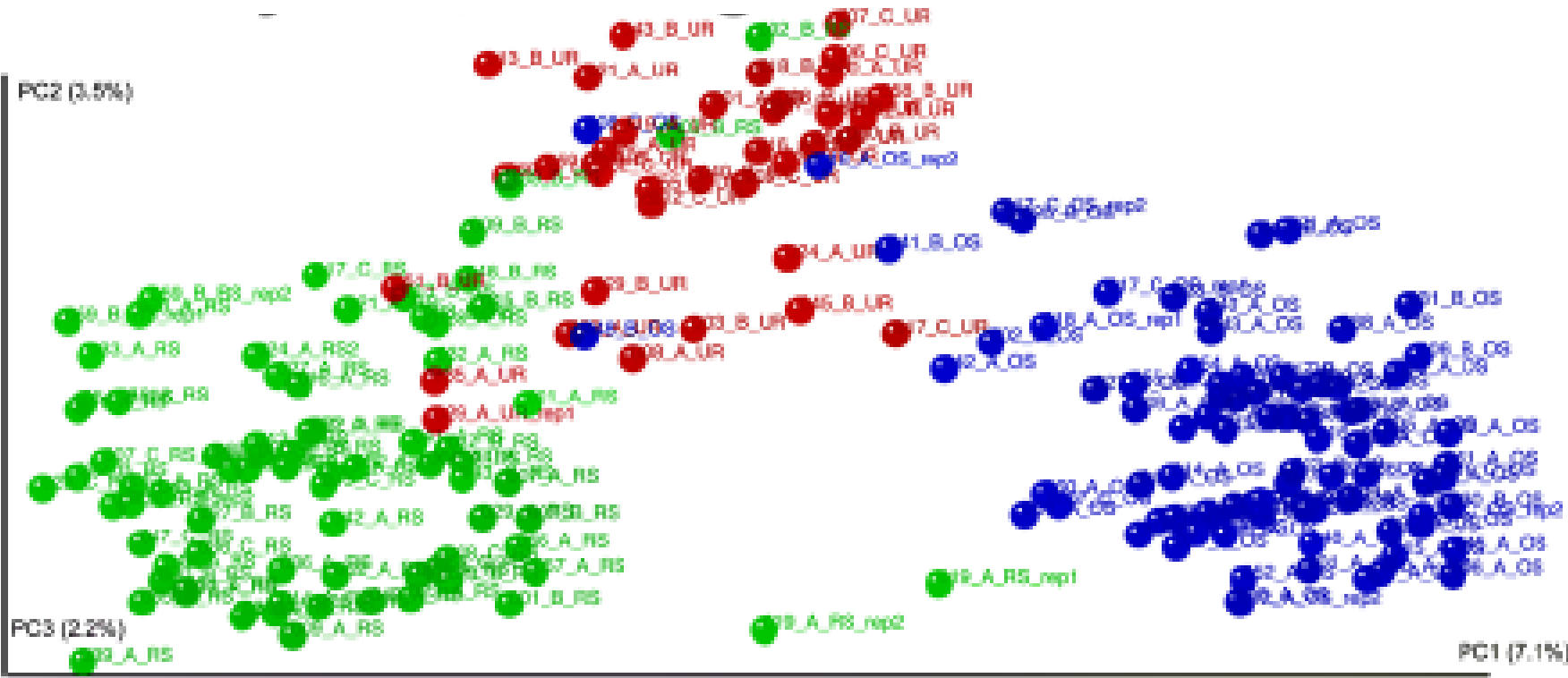
Séquençage par 454 (technique à haut débit)



Données brutes à l'échelle du phylum

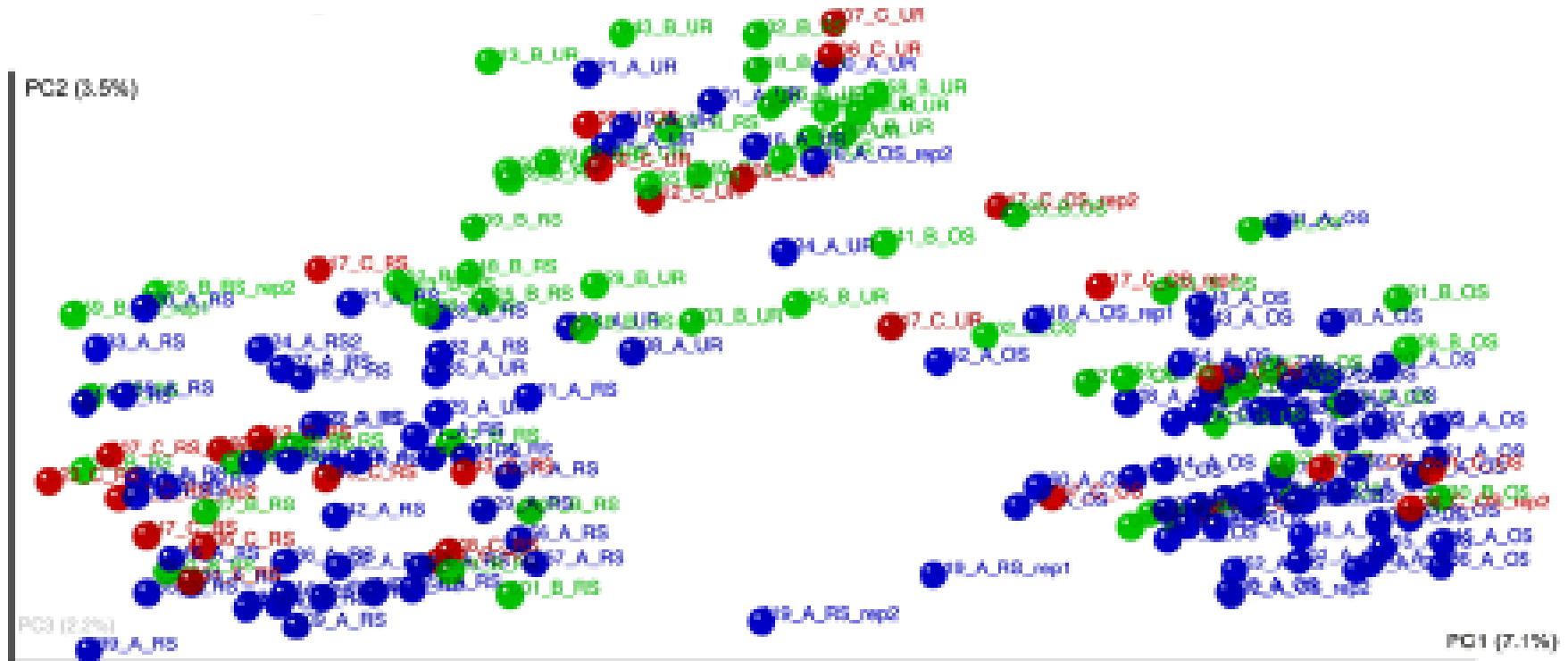


Analyse en coordonnées principales



- Écouvillon rectal
- Échantillon d'urine
- Écouvillon buccal

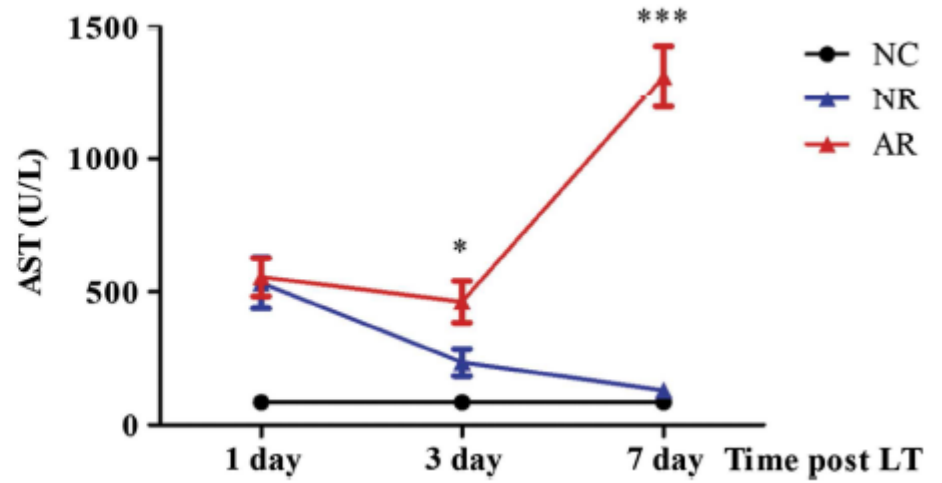
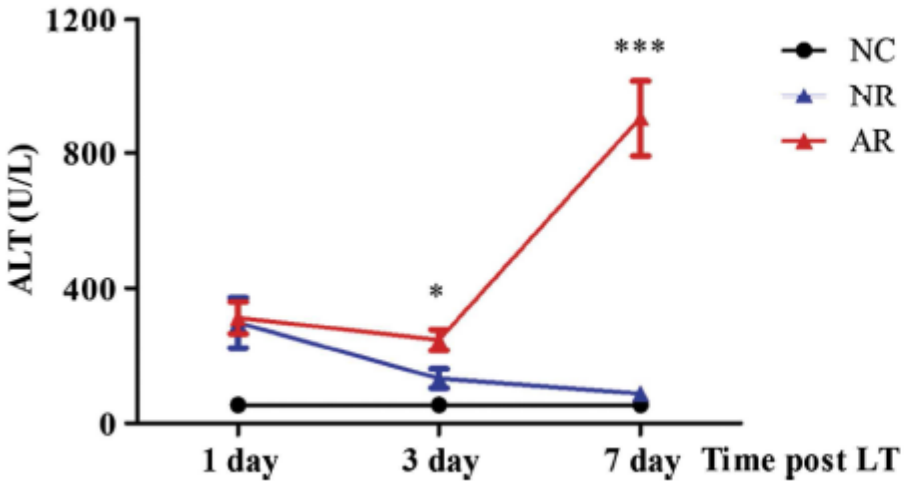
## Analyse en coordonnées principales



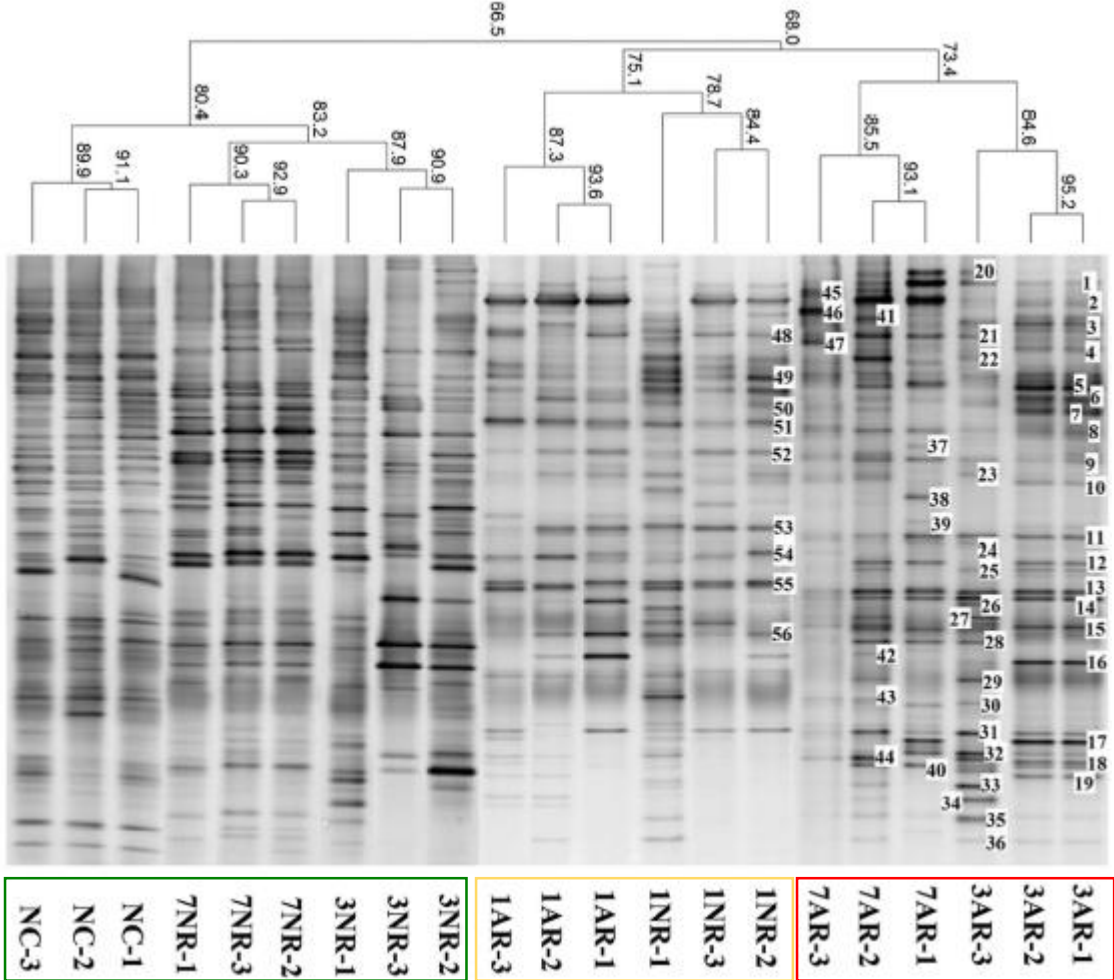
- Pré-transplantation
- M1
- M6

- Nombreuses modifications en fonction du temps pour un individu, mais pas de consensus trouvé inter-individus
- Pas de corrélation claire avec le rejet mais temps de collection inappropriés

- Modèle de transplantation orthotopique du foie chez le rat (n=3 dans chaque groupe)



- Modèle de transplantation orthotopique du foie chez le rat (n=3 dans chaque groupe)
- Étude du microbiote par électrophorèse sur gel en gradient dénaturant

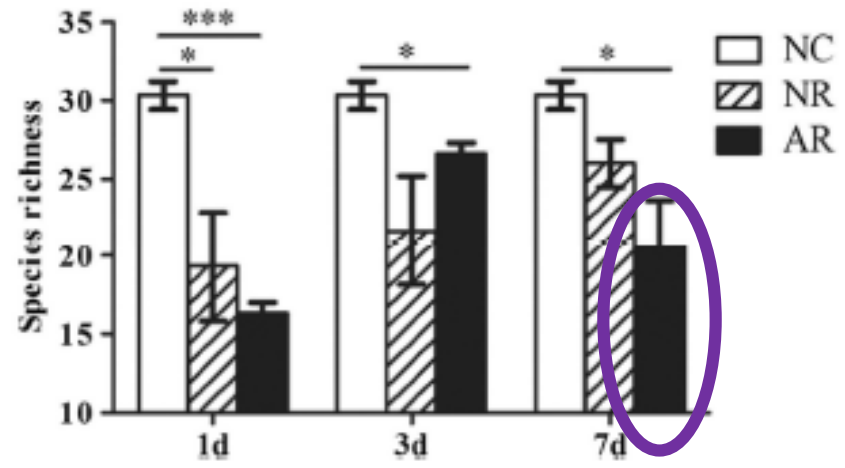
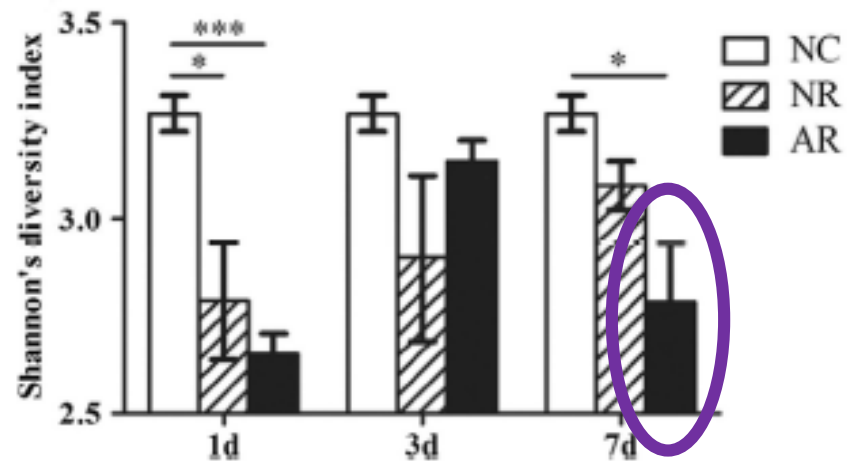


J3, J7 des compatibles

J1 : ischémie

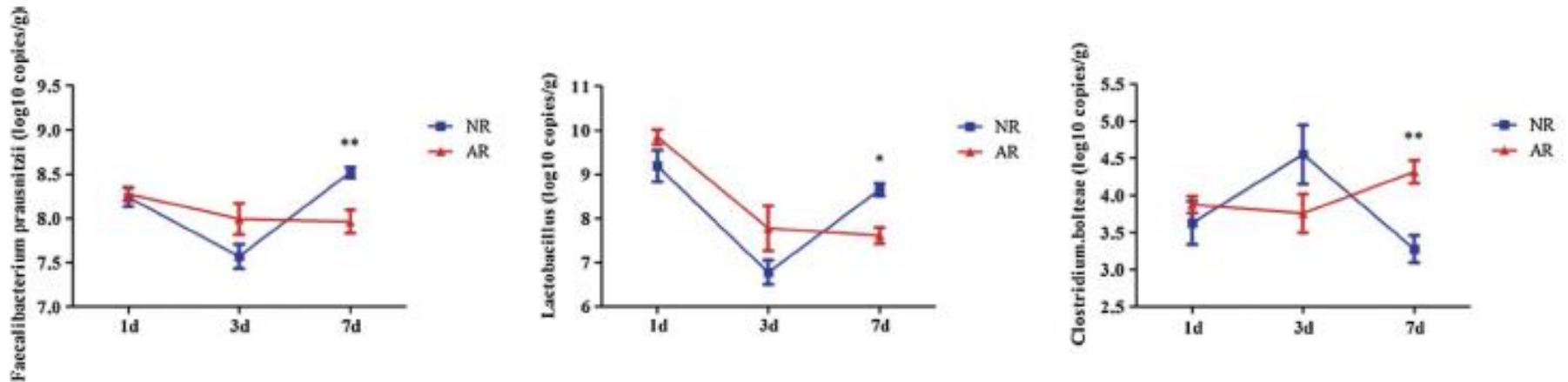
J3, J7 des rejets

- Modèle de transplantation orthotopique du foie chez le rat (n=3 dans chaque groupe)
- Étude du microbiote par électrophorèse sur gel en gradient dénaturant



- Moins de diversité et moins de richesses en espèces dans le microbiote de rejets à J7

- Modèle de transplantation orthotopique du foie chez le rat (n=3 dans chaque groupe)
- Étude du microbiote par électrophorèse sur gel en gradient dénaturant

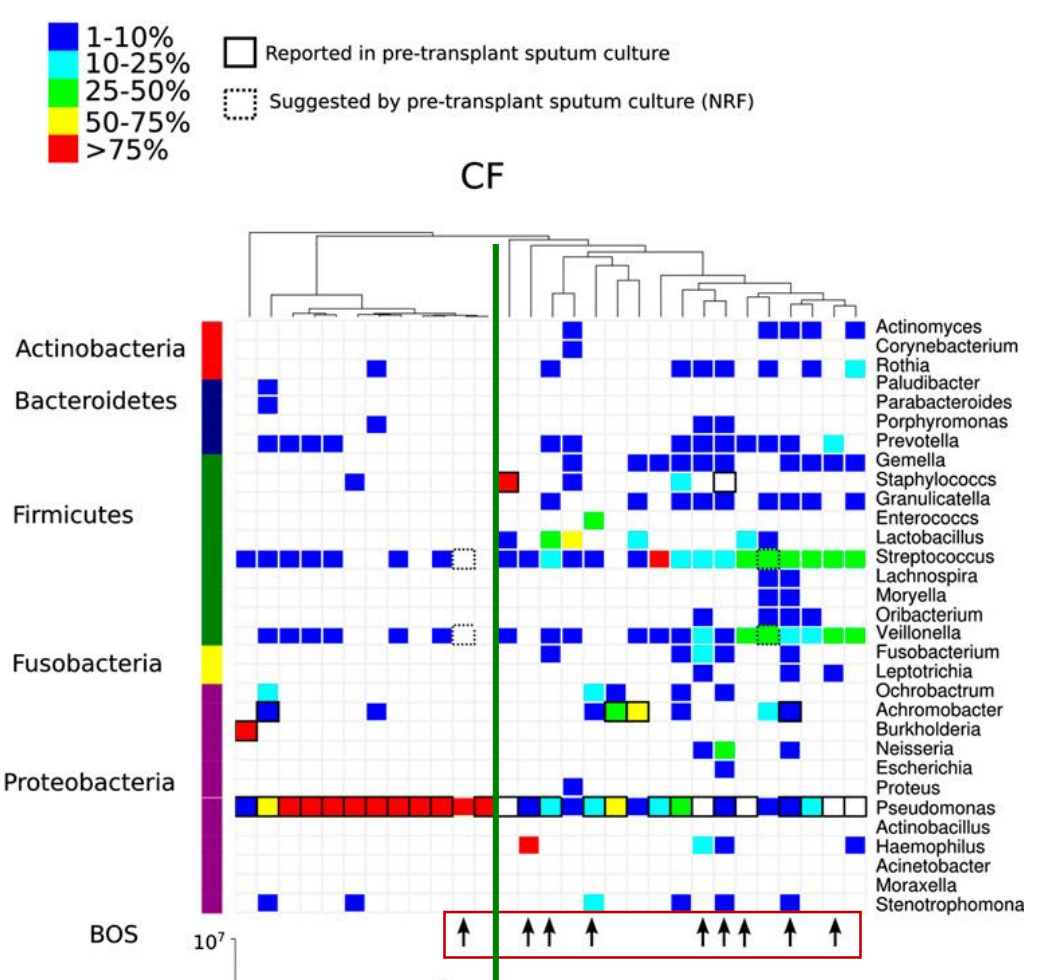


- Moins de *Faecalibacterium Prausnitzii* (comme dans le Crohn)
- Moins de *Lactobacili*
- Plus de *clostridium bolteae*

## Microbiote du LBA de 57 patients comparés à 8 contrôles (pyroséquençage)

	Transplant Patients ( <i>n</i> = 57)
Sex	30 (52.6%) male
Age	15–63 (42.3 ± 13.5) yrs
Age at transplant	20–64 (39.7 ± 13.7) yrs
Months post-transplant	0.23–130 (31.9 ± 39.2)
Type of transplant	
Bilateral	50 (87.7%)
Heart–lung	2 (3.5%)
Single	3 (5.3%)
Retransplant	2 (3.5%)
Pretransplant condition	
Cystic fibrosis	29 (50.9%)
Chronic obstructive pulmonary disease	7 (12.3%)
Idiopathic pulmonary fibrosis	7 (12.3%)
$\alpha_1$ -Antitrypsin	6 (10.5%)
Other	8 (14.0%)
History of A/B rejection	20 (35.1%)
Positive <i>Pseudomonas aeruginosa</i> culture	31 (54.4%)
Positive <i>Aspergillus</i> culture	10 (17.5%)
Positive viral polymerase chain reaction	4 (7.01%)
BOS	17 (30.0%)
Time to BOS in months, median (IQ range)	34.9 (18.9–50.5)





- Patients avec mucoviscidosiques**
- **BOS :** beaucoup de non pathogènes (*Strepto., Lactob., Enteroc., Neisseria, Haemophilus*)
  - **Sans BOS :** beaucoup de pathogènes (*Pseudomonas, Burkholderia, Staphylococcus*)

**Faible risque de BOS si *pseudomonas* domine OR = 0,37 [0,10-0,83]**

- Traitement immunosuppresseur et dysbiose
- Dysbiose et troubles métaboliques
- Dysbiose, troubles métaboliques en transplantation rénale

Traitement  
IS

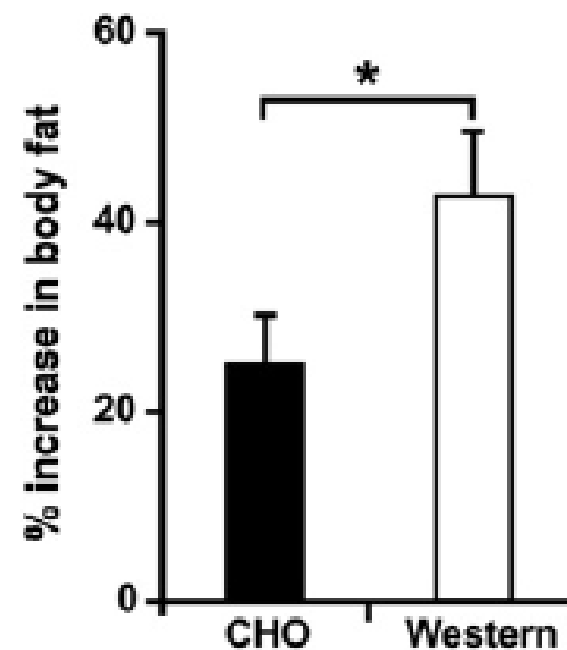
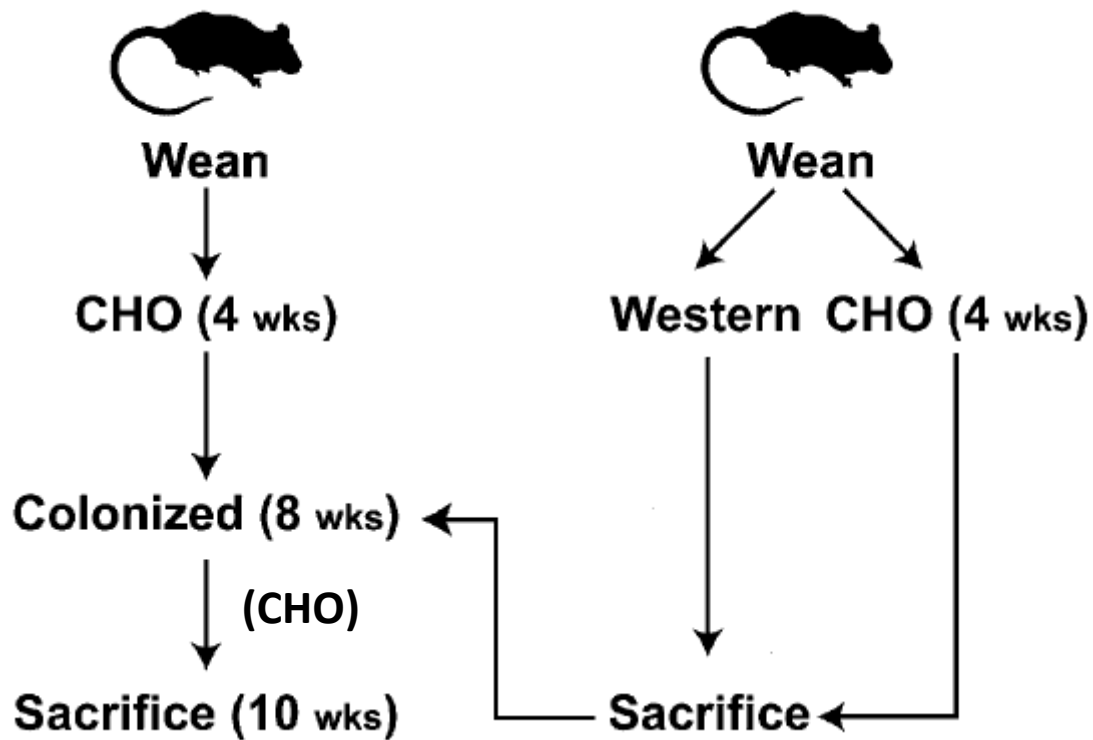
The diagram consists of three green circles of varying sizes and shades. The top circle is light green and contains the text 'Traitement IS'. The middle circle is a medium shade of green and contains the text 'Dysbiose'. The bottom circle is the darkest shade of green and is the largest, containing the text 'Diabète'. The circles are arranged in a descending staircase pattern from top-right to bottom-right.

Dysbiose

Diabète

**Germ-free recipient**

**CONV-R donor**



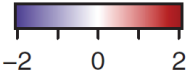
# Troubles métaboliques et microbiote

40 diabétiques de types 2 récemment diagnostiqués

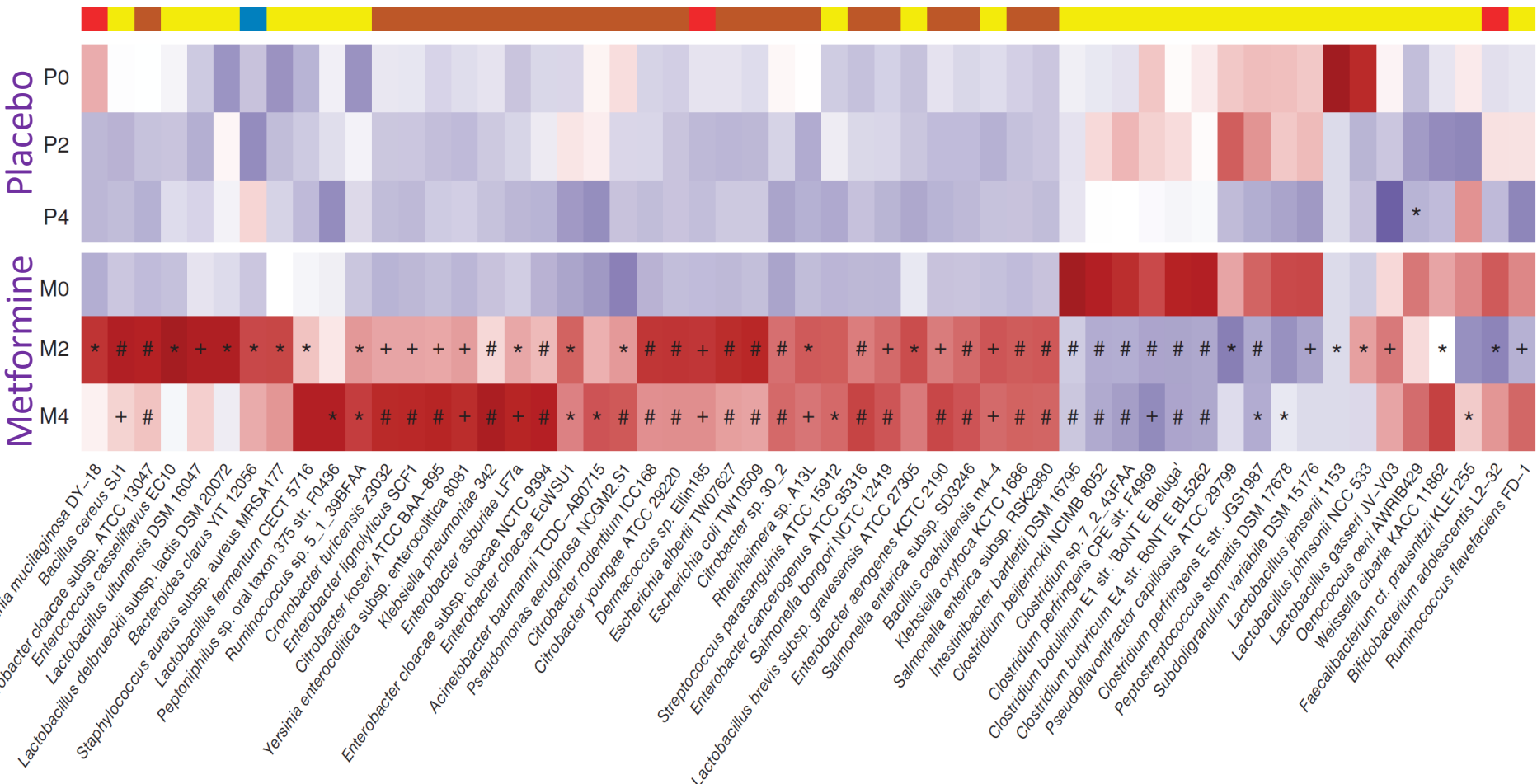
18 : placebo

22 : metformine 850 mg BID

Métagénome fécal :

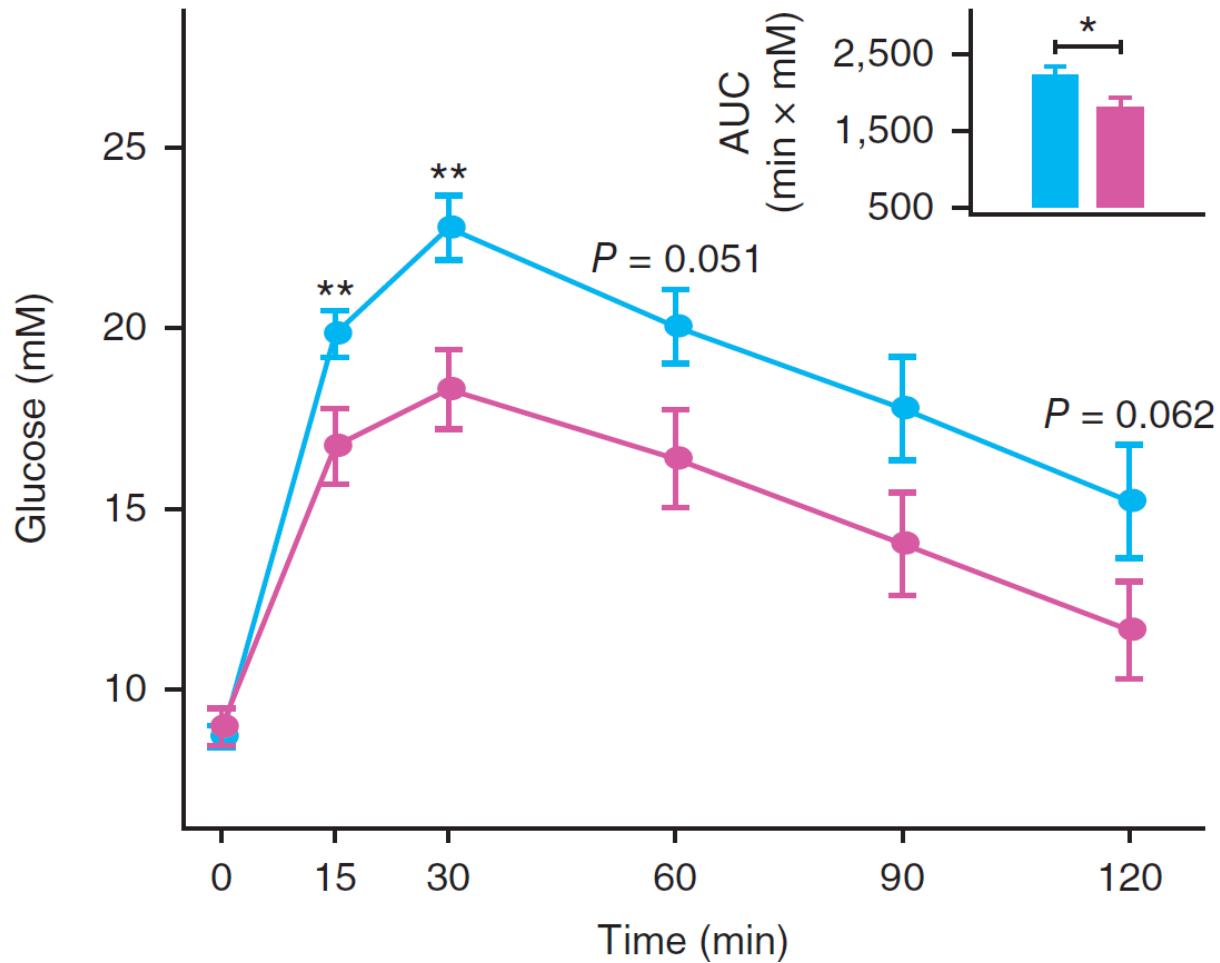


Actinobacteria Bacteroidetes Firmicutes Proteobacteria



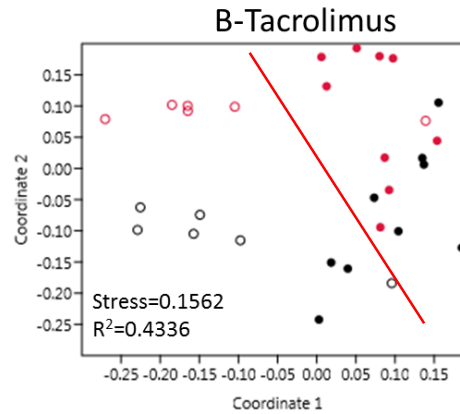
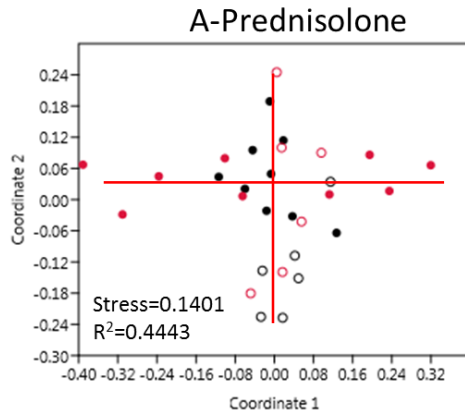
Effet du microbiote modifié sur la sensibilité à l'insuline

HGP intrapéritonéale chez souris axénique recevant le microbiote de sujets avant ou après traitement par metformine

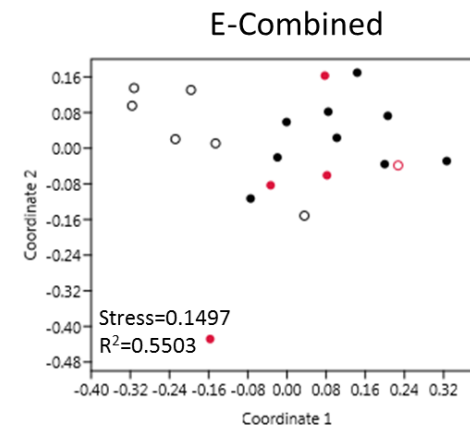
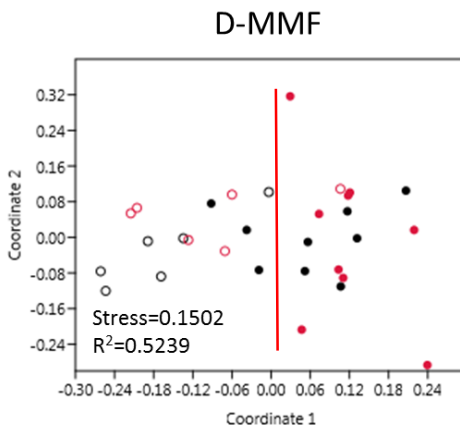
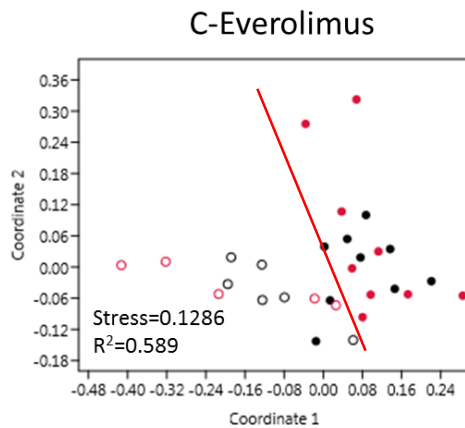


- Souris : gavage quotidien avec :
  - Eau (contrôles)
  - Prednisolone
  - Tacrolimus
  - Everolimus
  - MMF
  - Trithérapie : CS + Tac + MMF
- Collection de selles et d'organes après 14 jours de traitement

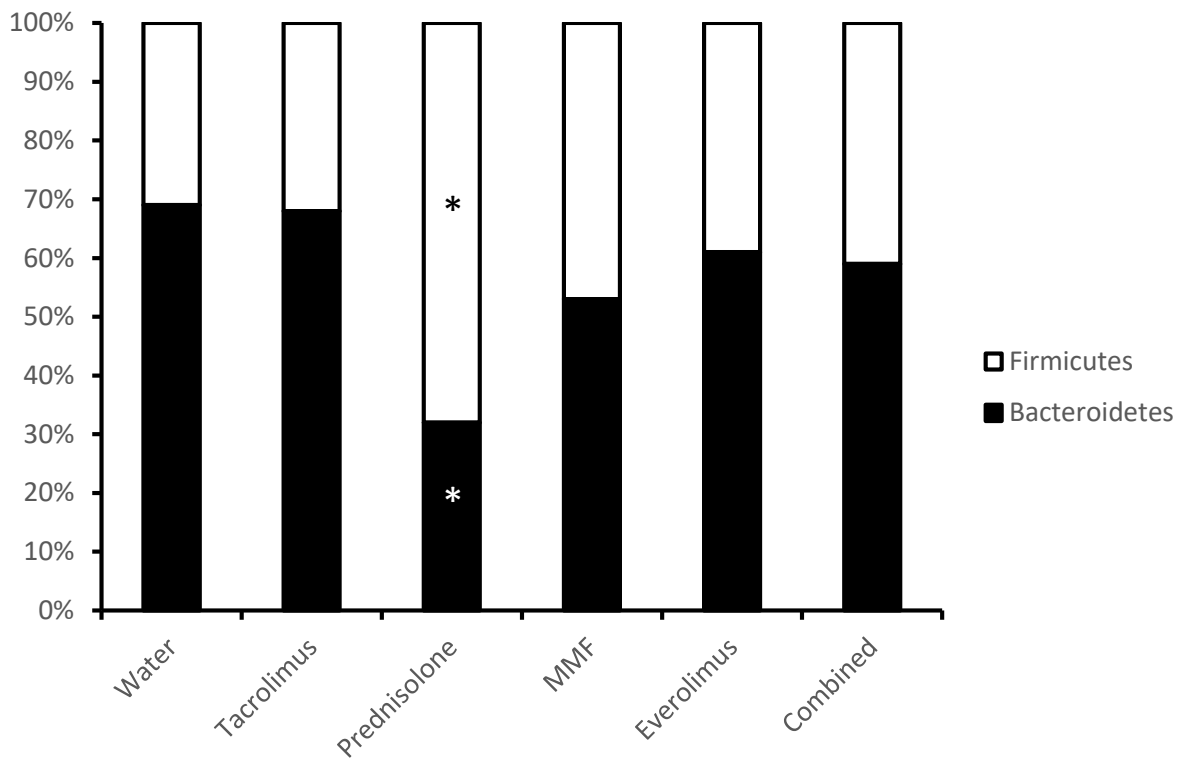
- Souris traités par IS ou eau (contrôle)
- Analyse de la distance entre les échantillons (selles)



- Eau avant traitement
- Eau après traitement
- IS avant traitement
- IS après traitement



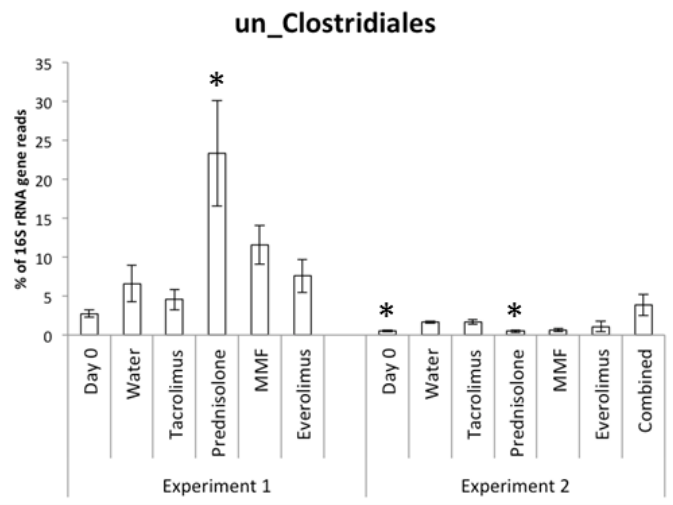
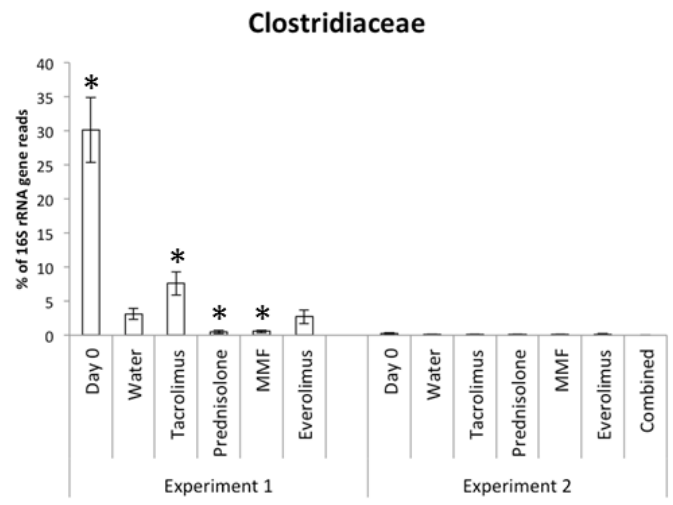
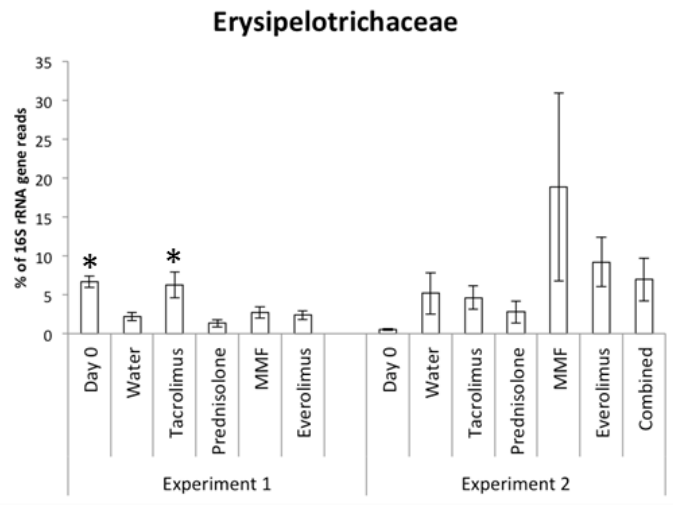
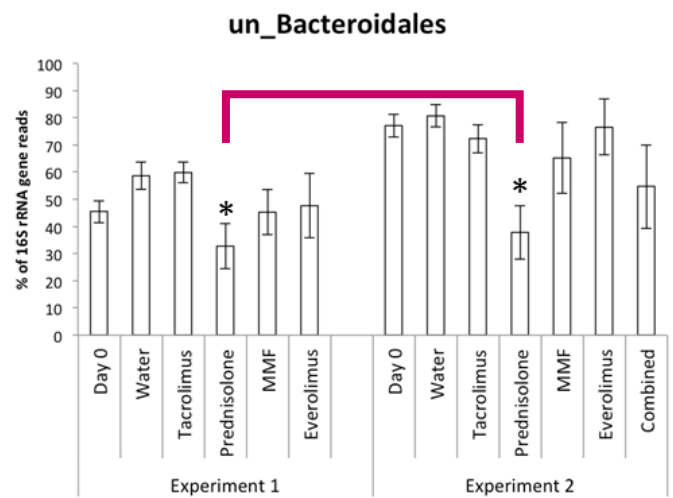
- Balance Firmicutes Bacteroidetes dans les selles





# Impact des traitements immunosuppresseurs sur le microbiote

- Microbiote fécal à l'échelle de la famille : des modifications non robustes
- Référence = 14 j de traitement placebo (eau)

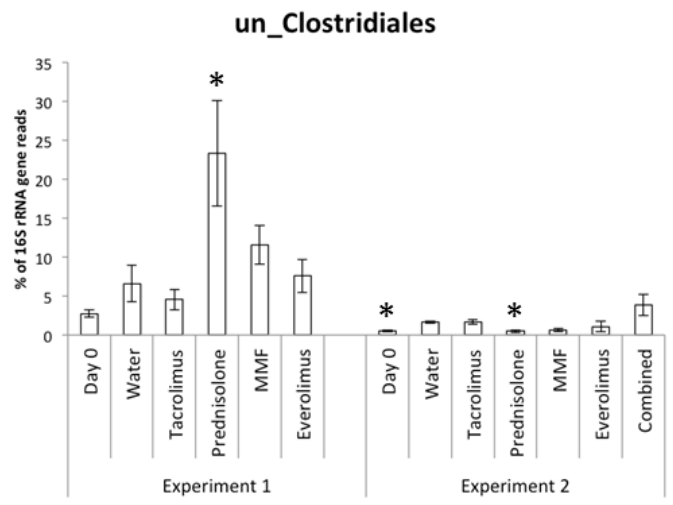
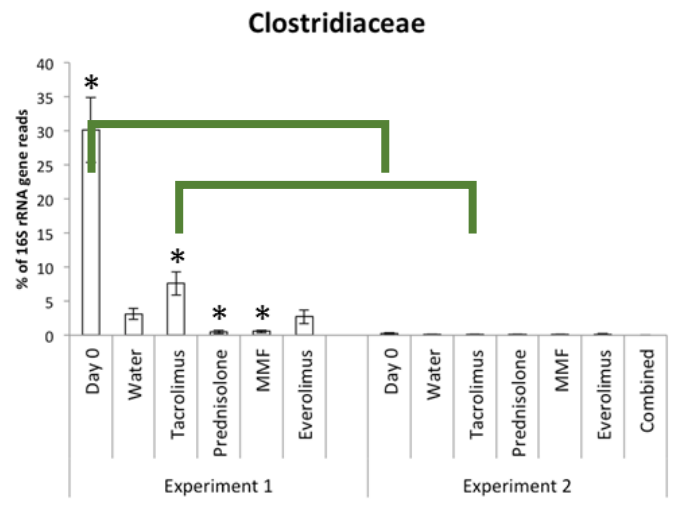
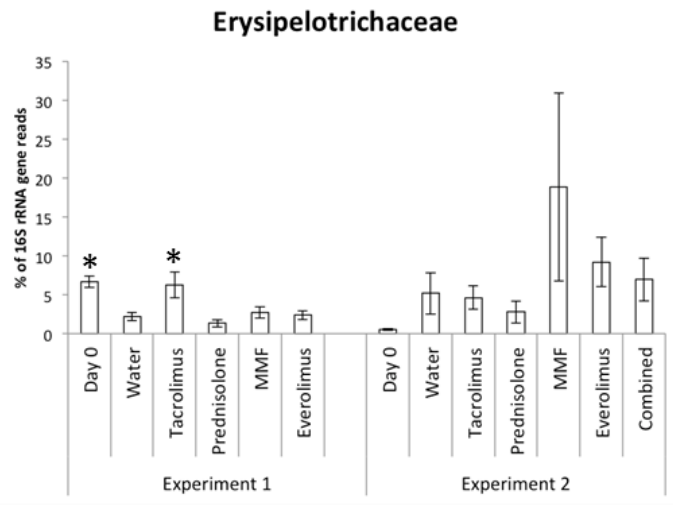
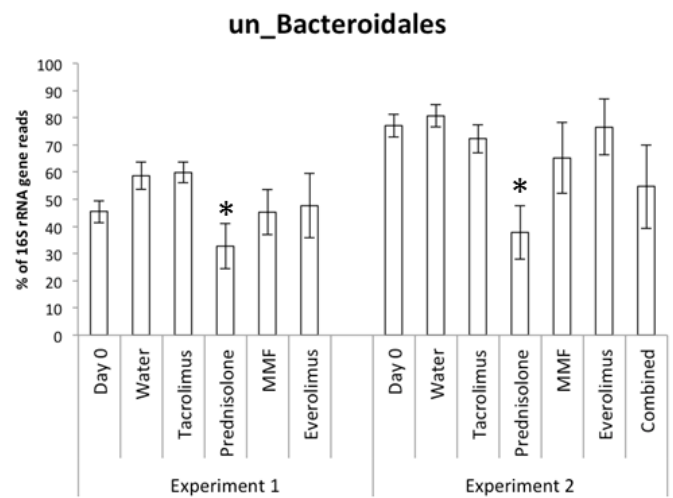


Lachnospiraceae

Ruminococcaceae

# Impact des traitements immunosuppresseurs sur le microbiote

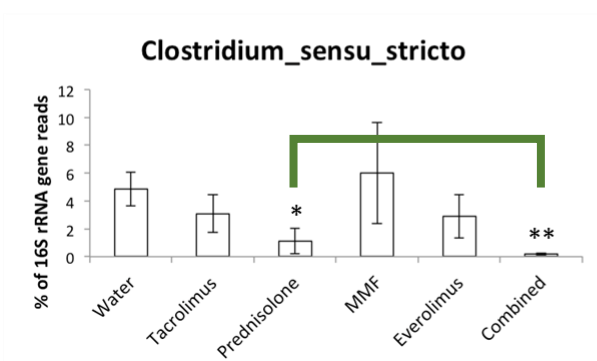
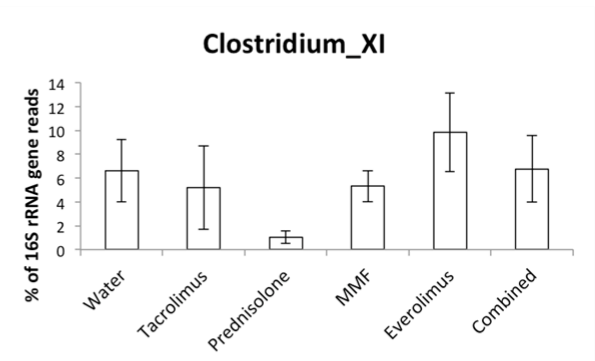
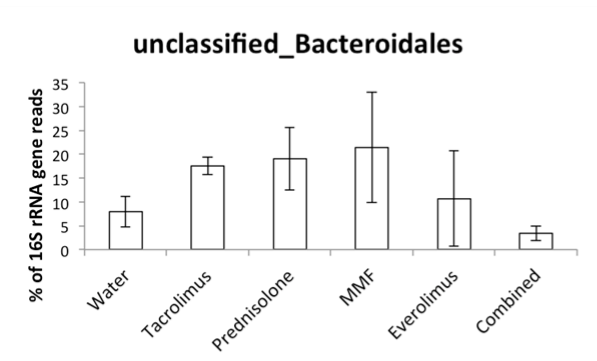
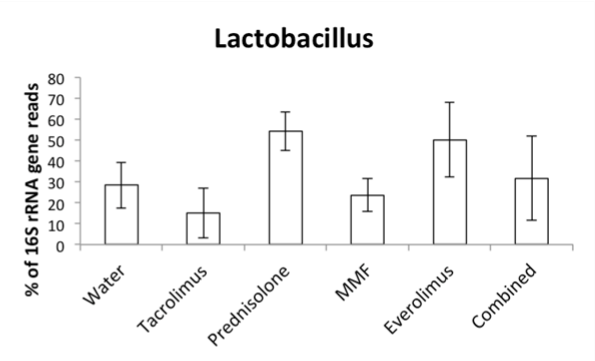
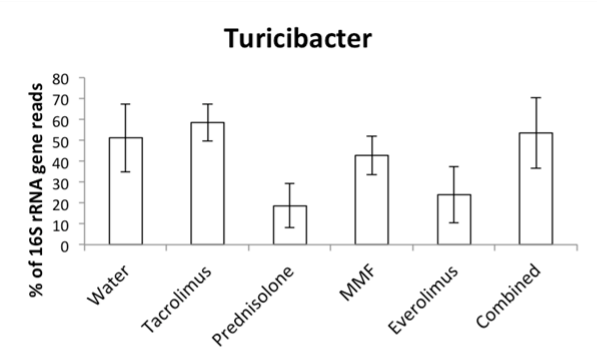
- Microbiote ileal à l'échelle de la famille : des modifications non robustes
- Référence = 14 j de traitement placebo (eau)



Lachnospiraceae

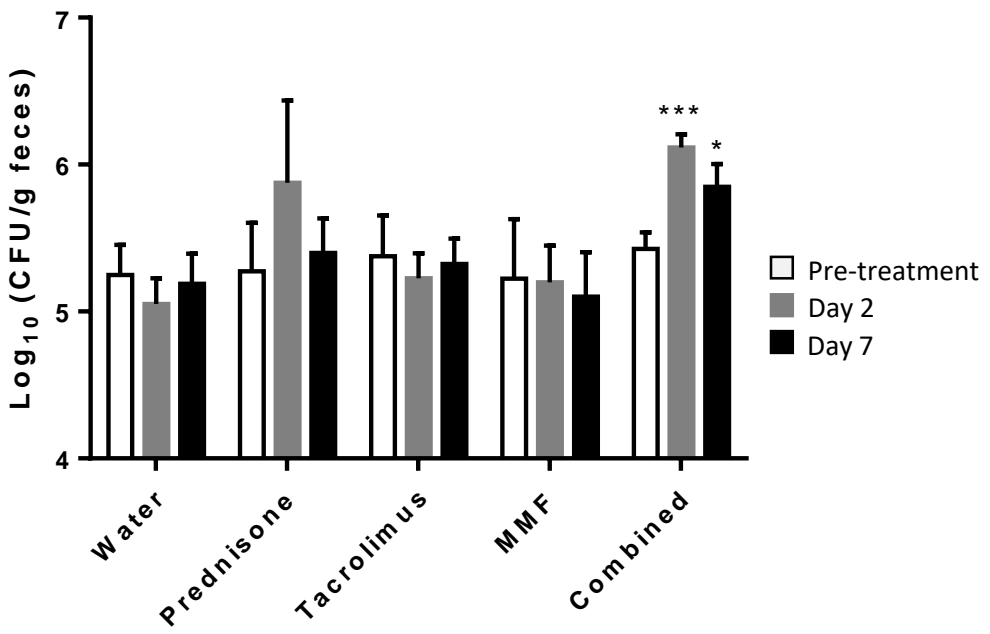
Ruminococcaceae

- Microbiote ileal à l'échelle du genre

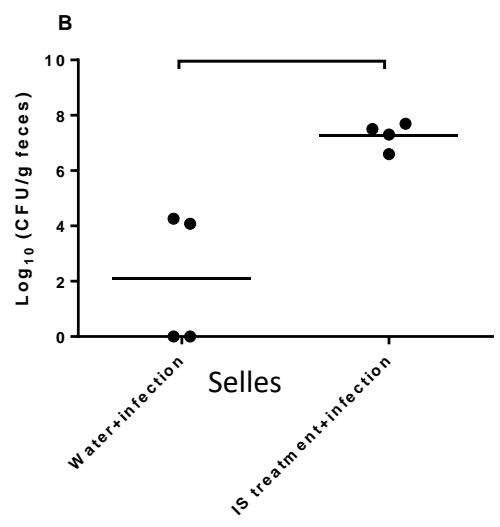
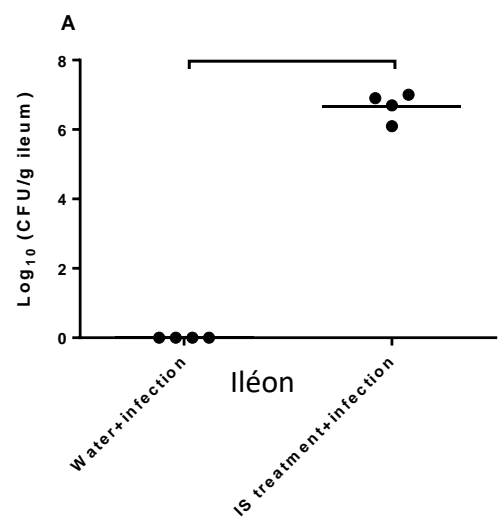


Bonne corrélation avec la sécrétion de peptides intestinaux antimicrobiens sous la dépendance de l'IL-22

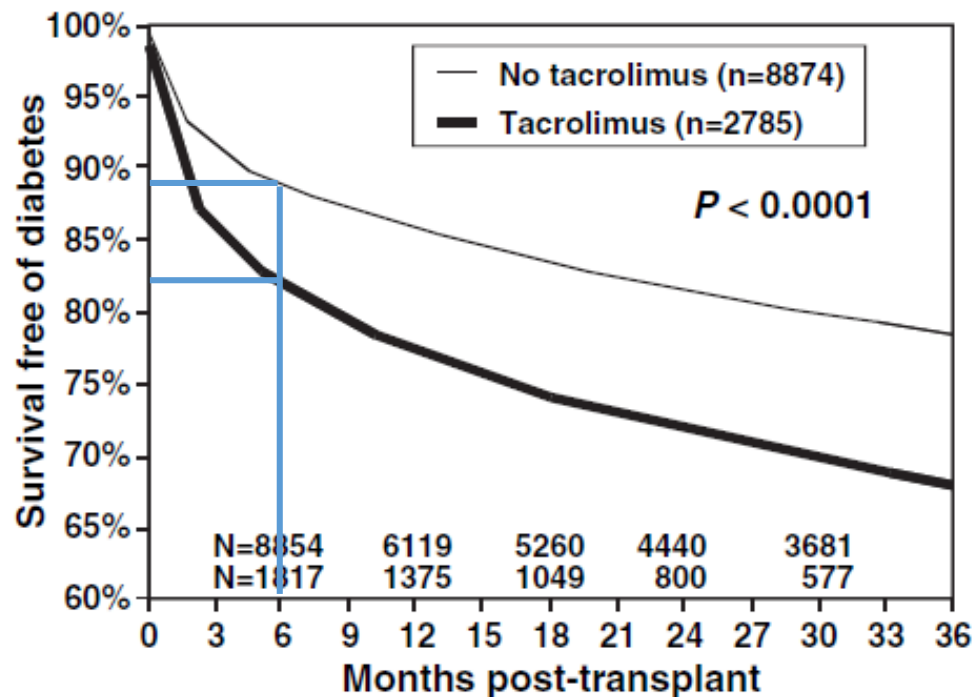
- IS et colonisation par des pathogènes opportunistes : *E. coli*



*E. coli* commensal endogène (Selles)



*E. coli* uropathogène (Iléon et selles)



## Facteurs de risque :

- Tacrolimus, stéroïdes > ciclosporine
- Noirs, hispaniques > blancs, asiatiques
- Âge
- Surcharge pondérale
- Antécédents familiaux
- Antécédent personnel d'intolérance
- HCV



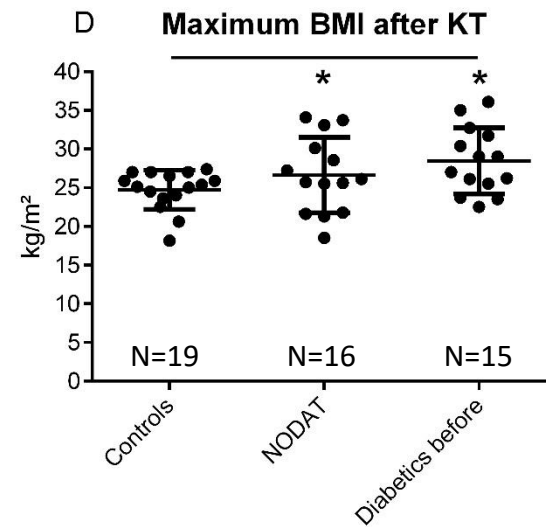
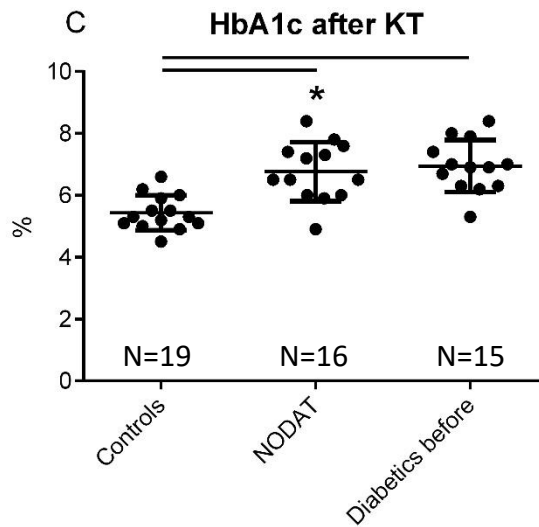
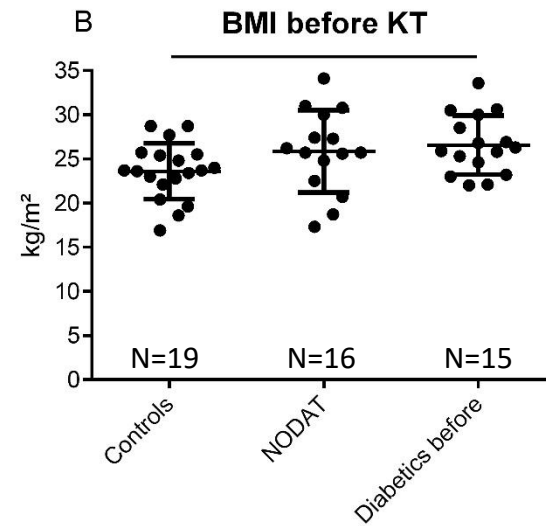
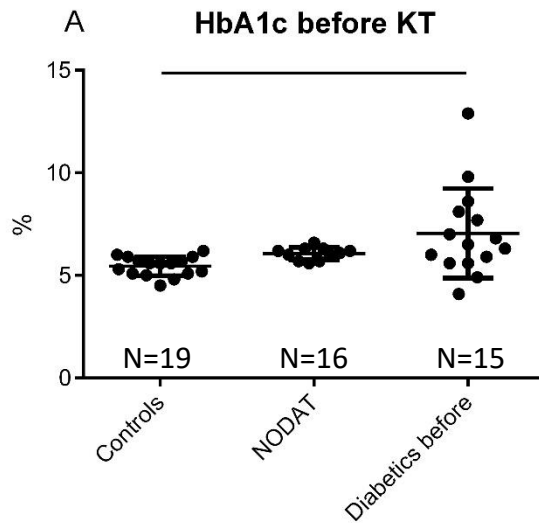
## Protocole Métabiote-TR : Prélèvement de selles avant TR et 3-9 mois après :

- **Contrôles** : patients indemnes sans diabète ni obésité, ni avant ni après la transplantation.
- **Diabétiques avant la greffe (« diabétiques préTR »)** : ATCD diabète avant la transplantation.
- **Diabétiques après la greffe (« NODAT »)** : patients qui développent un diabète après la transplantation.

- Extraction de l'ADN bactérien
- PCR quantitative en temps réel de bactéries ou groupes bactériens

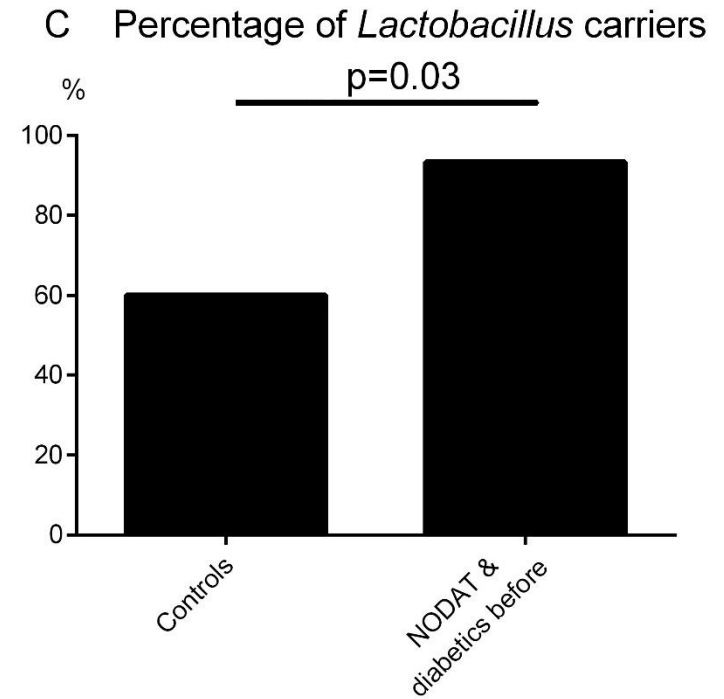
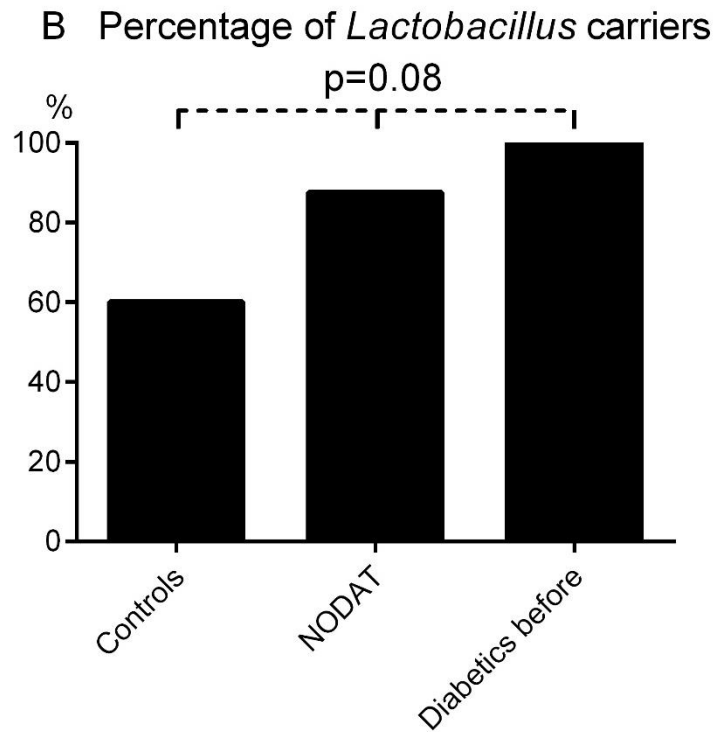
<b>Phylum</b>	<b>...</b>	<b>Genre</b>	<b>Espèce</b>
<b>Firmicutes</b>		<i>Clostridium</i>	<i>coccoides</i>
		<i>Clostridium</i>	<i>leptum</i>
		<i>Faecalibacterium</i>	<i>prausnitzii</i>
		<i>Lactobacillus</i>	
<b>Bacteroidetes</b>		<i>Bacteroides</i>	
		<i>Prevotella</i>	
Protéobactéries		<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>
Actinobacteria		<i>Bifidobacterium</i>	
Verrucomicrobia		<i>Akkermansia</i>	<i>muciniphila</i>

# Troubles métaboliques en transplantation d'organe



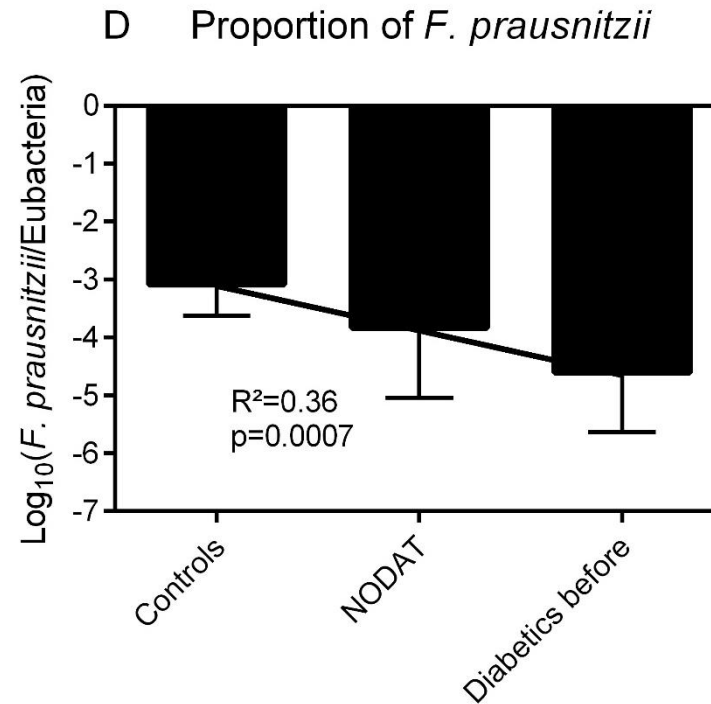


## À J0 : Corrélation entre statut diabétique et portage de *Lactobacillus*



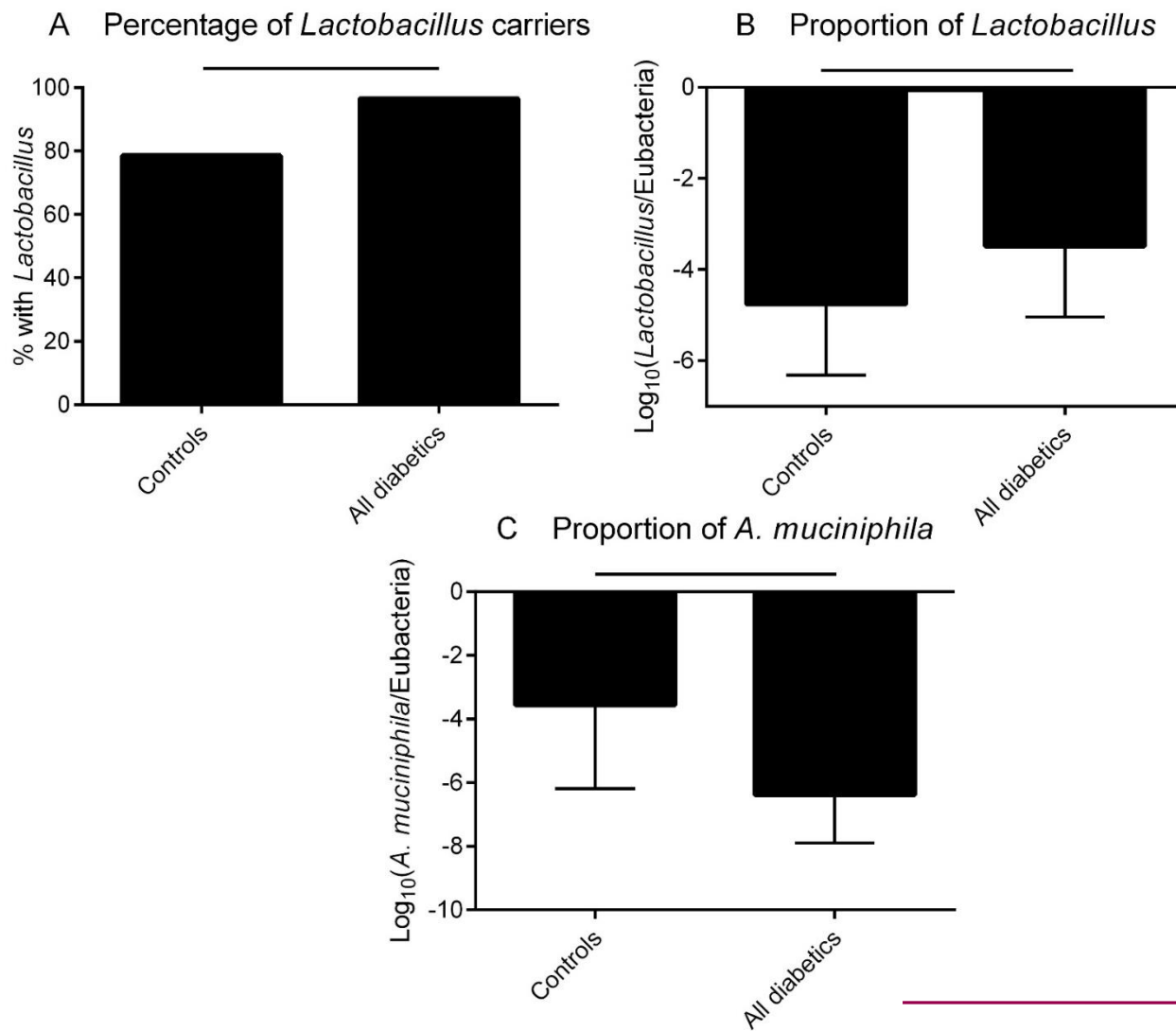
À J0 : *Faecalibacterium prausnitzii* est diminué chez les patients qui développeront un diabète

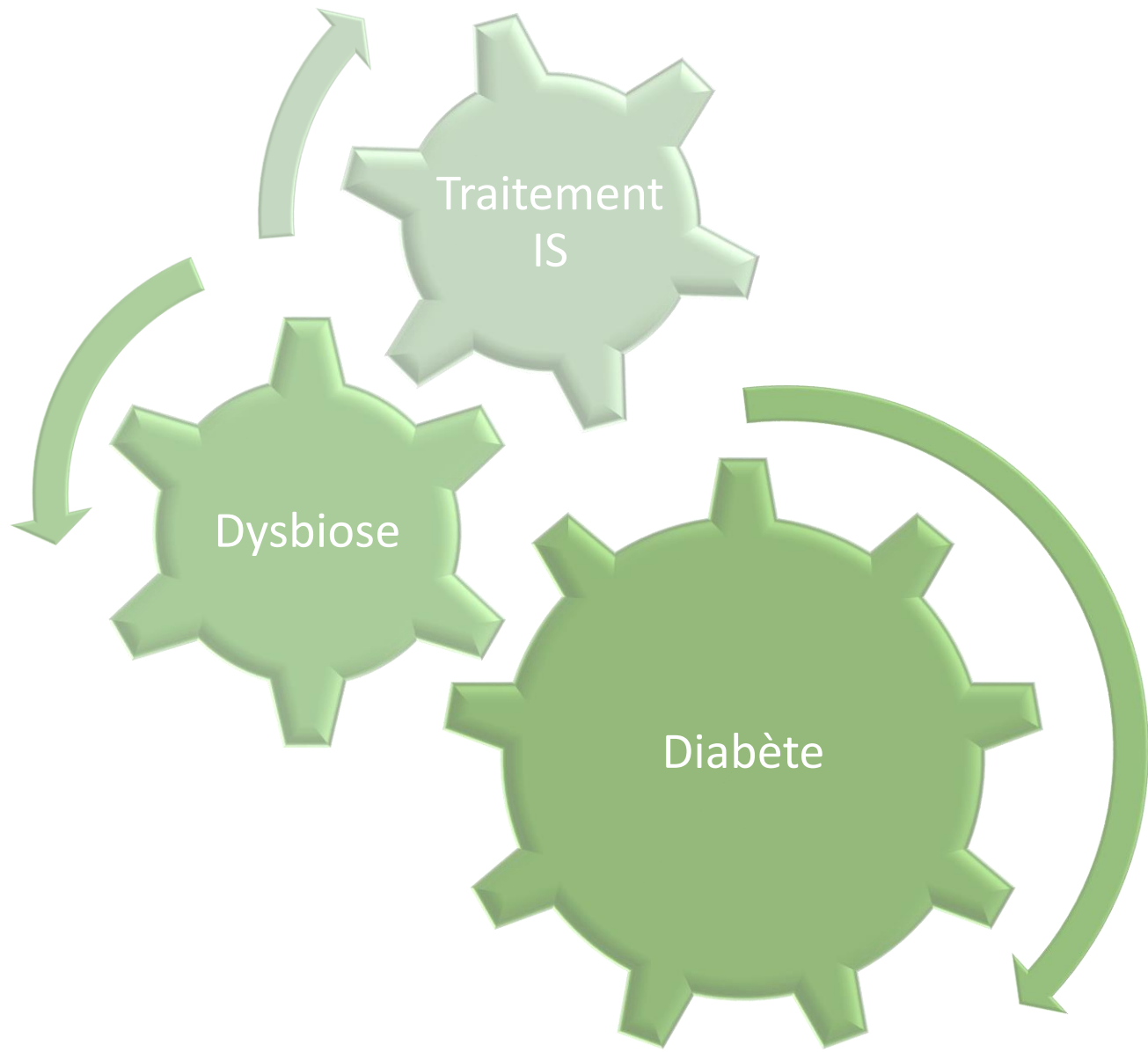
→ Notion de pré-dysbiose ?



À M6 : Majoration des anomalies de répartition de *Lactobacillus*  
Diminution de *Akkermansia muciniphila*

→ dysbiose





University of British Columbia,  
Vancouver, Canada



- B. Brett Finlay,
- Benjamin P. Willing
- Matthew Croxen

Facultés de Médecine Bichat  
Claude Bernard



- Erick Denamur
- Olivier Tenailon
- Sara Dion
- Parvine Tashk
- Marie Lecronier

GHPS et  
Univ. Pierre et Marie Curie



- Benoit Barrou
- Les infirmières du service

## Financements :

- Fondation du Rein, prix « Don de soi... Don de vie »
- Fondation pour la Recherche Médicale
- Société Francophone de Néphrologie, Dialyse et Transplantation