



Microbiote respiratoire et Pneumopathies Acquises sous Ventilation Mécanique (PAVM)

Olivier BARRAUD, MCU-PH

Faculté de Médecine, Université de Limoges

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges

UMR Inserm 1092 - Anti-infectieux : Supports moléculaires des résistances et innovations thérapeutiques



Déclaration de liens d'intérêt avec les industries de santé en rapport avec le thème de la présentation (loi du 04/03/2002) :

Intervenant : Barraud Olivier

Titre : Microbiote respiratoire et PAVM

L'orateur ne souhaite pas répondre 

-  Consultant ou membre d'un conseil scientifique
-  Conférencier ou auteur/rédacteur rémunéré d'articles ou documents
-  Prise en charge de frais de voyage, d'hébergement ou d'inscription à des congrès ou autres manifestations
-  Investigateur principal d'une recherche ou d'une étude clinique

OUI NON

OUI NON

OUI NON

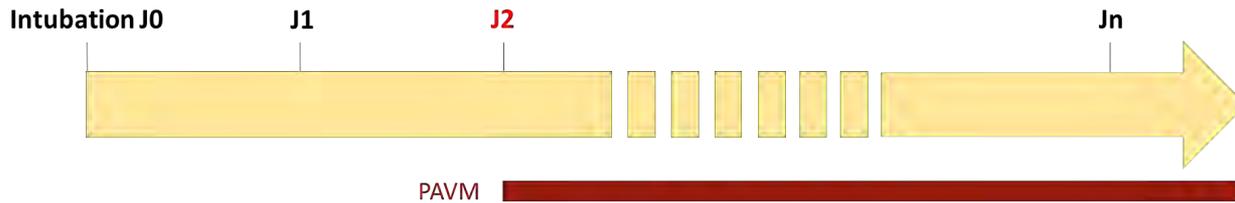
OUI NON



La Pneumopathie Acquisie sous Ventilation Mécanique (PAVM)

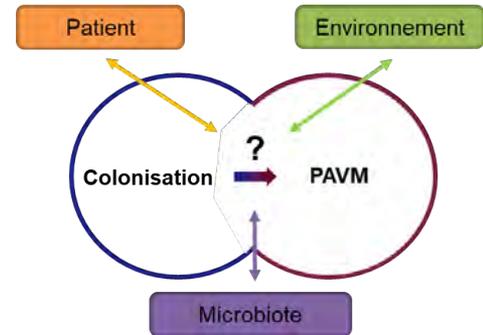
La Pneumopathie Acquisée sous Ventilation Mécanique (PAVM)

- Un processus dynamique de diagnostic difficile



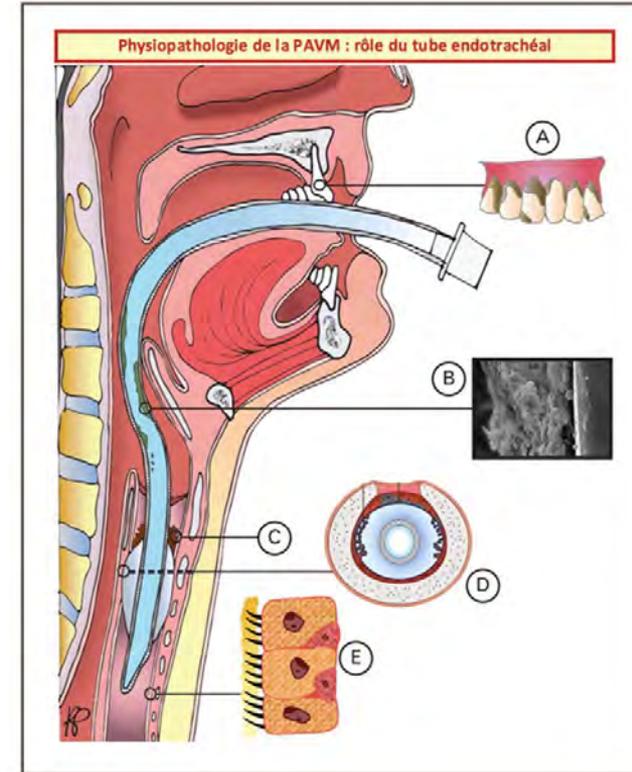
- 1^{ère} cause d'IAS en réanimation
- 10-25% des patients
- Durée d'hospitalisation, durée d'intubation, mortalité et coût significativement augmentés
- Diagnostic très difficile : éléments cliniques + radiologiques + microbiologiques

⇒ Histoire naturelle de la PAVM non élucidée



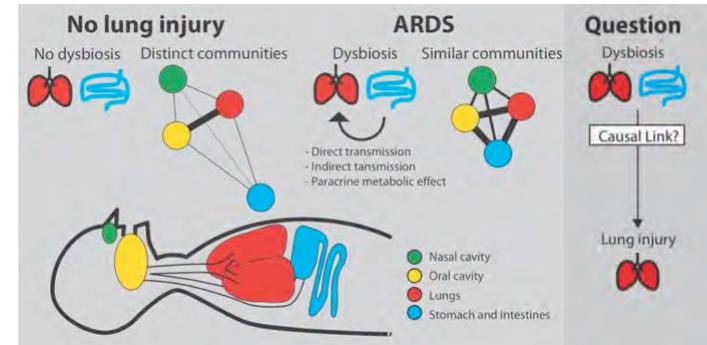
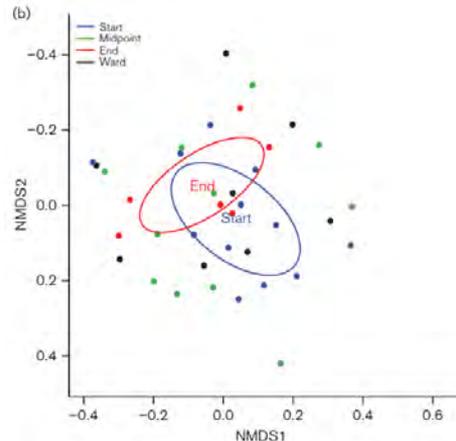
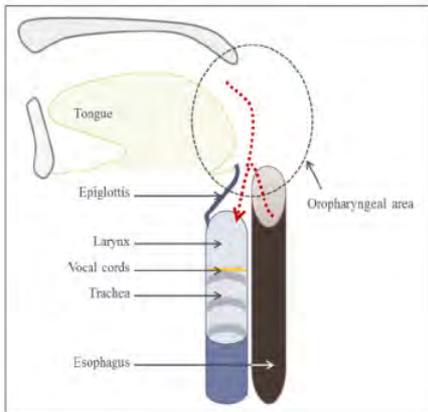
La Pneumopathie Acquisée sous Ventilation Mécanique (PAVM)

- Les étiologies bactériennes, une vision...
 - basée sur la culture conventionnelle
 - PAVM précoces (≤ 5 jours) : *S. aureus*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *B. catarrhalis*...
 - PAVM tardives (> 5 jours) : entérobactérales, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*...
 - avec des quantifications en UFC/mL... variables
 - des patients sans PAVM fortement colonisés
 - des patients avec PAVM faiblement colonisés
- Le tube endotrachéal
 - facilite l'entrée des bactéries dans les voies respiratoires basses
 - interfère avec les défenses immunitaires
 - sert de réservoir à des bactéries potentiellement pathogènes (biofilm)



Origine du microbiote respiratoire chez les patients intubés-ventilés ?

- Phénomène de « transcolonisation »
 1. modification de la flore oro-pharyngée et de la plaque dentaire remplacée progressivement par des bactéries originaire du sinus et du tube digestif = « dysbiose »
 2. inhalation de ces microorganismes au niveau trachéo-bronchique via le tube endotrachéal
- Facteurs de risque :
 - Intubation(s), position allongée du patient, nutrition entérale, traitements...



Sands *et al*, Journal of Medical Microbiology, 2016
Soussan *et al*, Journal of Critical Care, 2019
Martin-Loeches *et al*, Critical care, 2020



Le microbiote respiratoire

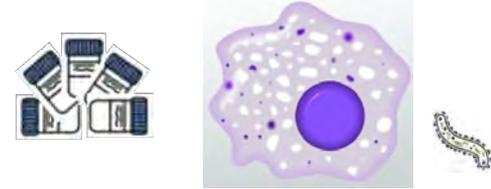
Etat des lieux des connaissances

- Un microbiote humain peu étudié
 - < 2000 publications *versus* près de 30 000 pour le microbiote digestif
 - des publications très récentes (depuis 5-6 ans environ)
- Un microbiote encore moins étudié chez les patients intubés-ventilés
 - <100 études
 - NGS utilisé depuis 2014
 - seulement quelques patients à quelques dizaines de patients analysés dans chaque étude
 - peu d'études multicentriques
 - peu de points de prélèvements
 - des résultats essentiellement descriptifs
 - une grande hétérogénéité des méthodologies employées



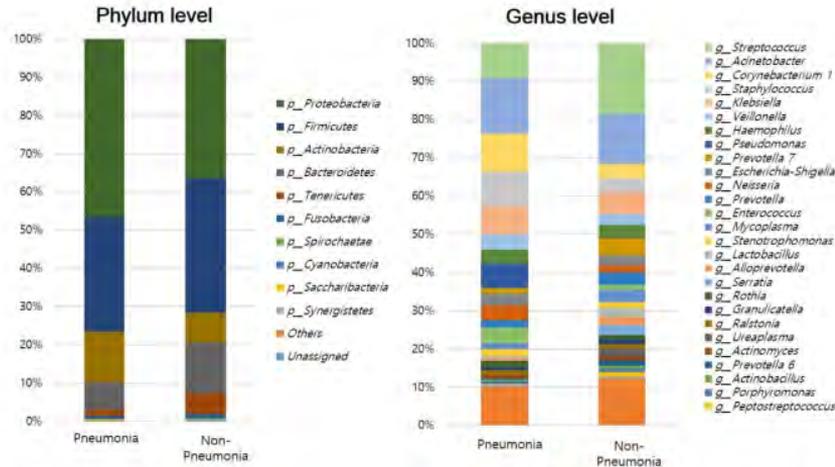
Contraintes préanalytiques et analytiques

- L'analyse NGS des échantillons respiratoires...
 - À partir de quels prélèvements faut-il travailler ? LBA, AET ?
 - Comment faut-il extraire l'ADN total ? Faut-il les déplerer de l'ADN humain ?
 - Quelle technologie NGS faut-il utiliser ?
 - Séquençage ADNr 16S ? Et si oui, quelle(s) région(s) variable(s) ?
 - *Whole Metagenome (shotgun) sequencing* ?
 - Quelle plateforme de séquençage ?
 - Quels témoins négatifs (et positifs ?) quid des contaminants ?
 -
 - Quelles analyses faut-il mener ? Avec quels outils bioinformatiques ?
 - Nombre de patients, nombre de prélèvements ?
 - Métadatas à recueillir ? Tests statistiques ?
 - A quel niveau taxonomique ?
 -



Composition du microbiote respiratoire

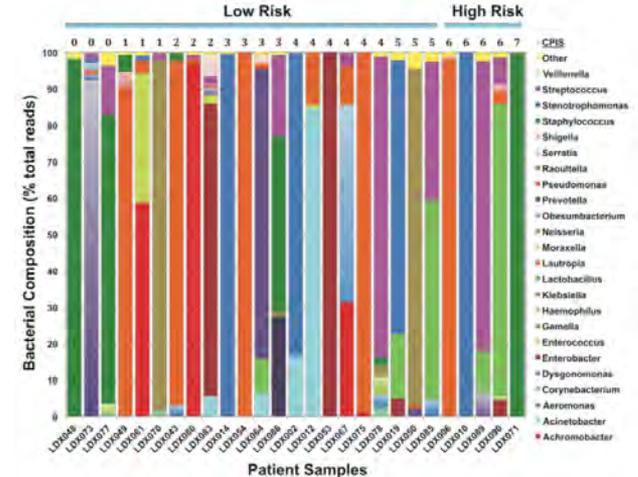
■ Exemple chez des patients à J1



Woo *et al*, Journal of Clinical Medicine, 2020

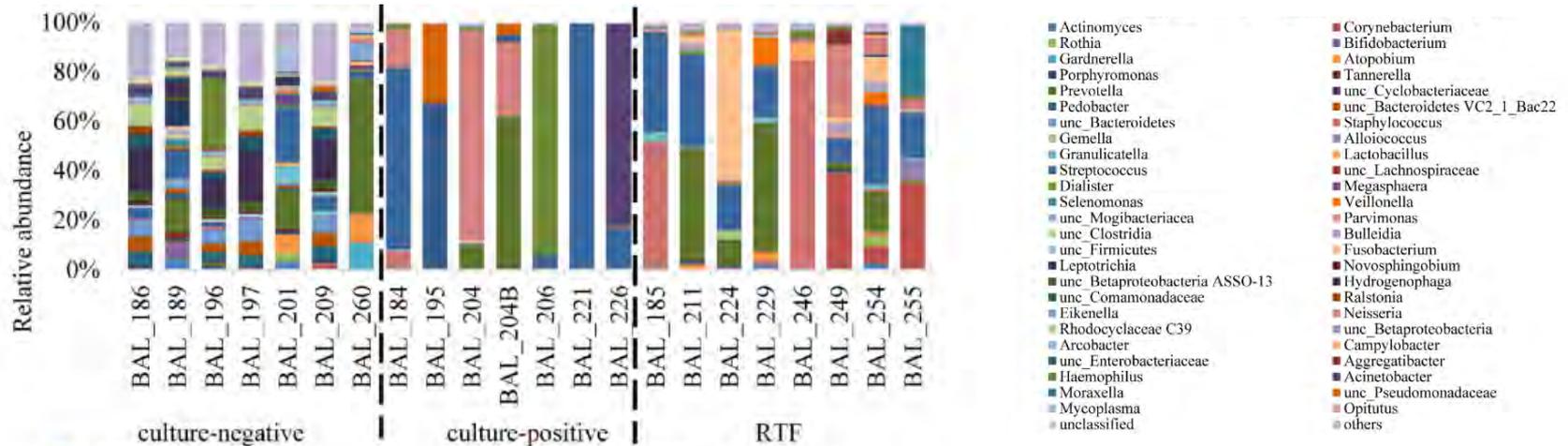
- ⇒ 4 Phyla principaux : Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria
- ⇒ Une grande hétérogénéité selon les patients avec en moyenne 10 à 20 genres bactériens par échantillon :
 - ⇒ « flore oropharyngée » : *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Actinomyces*, *Parvimonas*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Veillonella*...
 - ⇒ « pathogènes » : *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, « entérobactérales »...

■ Exemple chez des patients suspects de PAVM



Toma *et al*, Journal of Clinical Microbiology, 2014

Diversité microbienne en lien avec la culture conventionnelle



Huebinger *et al*, PLOS one, 2018

- Diversité maximale pour les LBA avec culture négative : présence d'anaérobies +++
- Diversité la plus faible pour les LBA avec culture positive
- Diversité intermédiaire pour les LBA avec une culture de flore oropharyngée

Rôle des bactéries anaérobies strictes dans la PAVM ?

- Un rôle peu étudié :

- Non retrouvées en culture car anaérobiose non recommandée [Remic, 2018](#)
- Non pris en compte dans les recommandations de traitement des PAVM [Kalil et al, Clinical Infectious Diseases, 2016](#)
- Quelques études anciennes avec des éléments d'imputabilité (*Prevotella*) [Robert et al, Journal of Critical Care, 1999](#)

- Qu'apporte le NGS ?

- Une exploration bien plus exhaustive que les rares études s'intéressant à la culture des anaérobies
- Une diminution de la proportion des anaérobies lors des premières heures de l'intubation
- Des bactéries souvent associées à des bactéries aérobies lors du diagnostic de la PAVM : rôle de facilitateur ?

Table 4. Outcome at Day 10 According or Not to Adapted Antibiotherapy Against Anaerobic Bacteria

	Adapted AB	Nonadapted AB
Improved	24	5
Nonimproved	5	5

Fisher's exact test ($P < .02$).

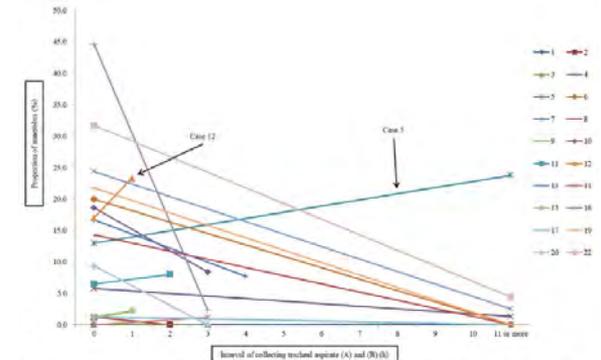


Fig. 3 Changes in proportion of anaerobes in tracheal aspirate from (A) to (B) during mechanical ventilation (individual cases). Proportion of anaerobes at '0' indicates proportion of anaerobes in tracheal aspirate (A). (A): samples collected within 2 h after intubation, (B): samples collected just before administration of antibiotics.

[Otsuji et al, BMC Pulmonary Medicine, 2019](#)

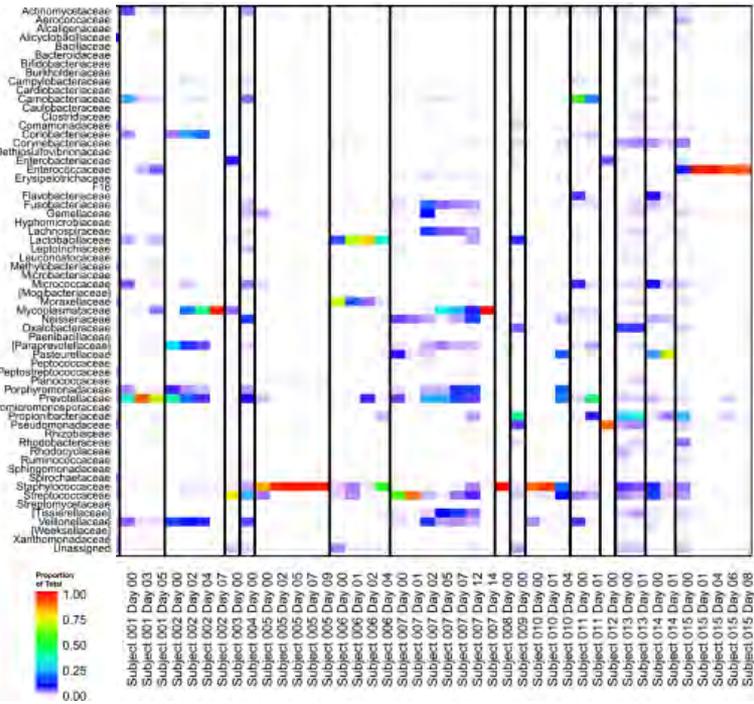
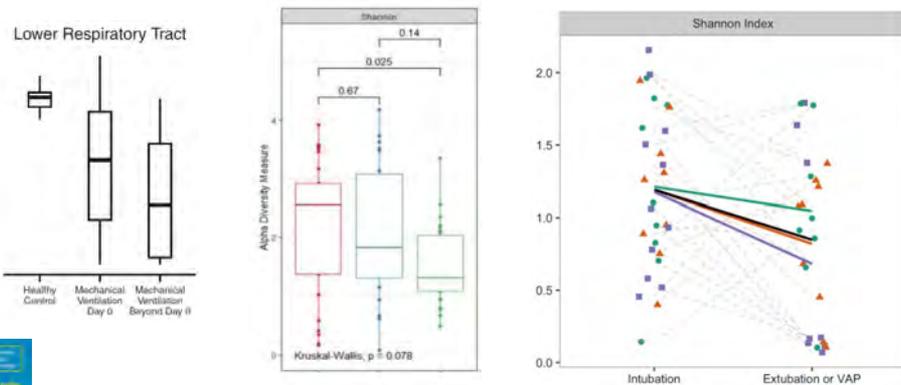
[Meyer et al, Revue Francophone des Laboratoires, 2020](#)



La dynamique d'évolution du microbiote respiratoire au cours de l'intubation

Dynamique d'évolution du microbiote au cours de l'intubation

- Une grande hétérogénéité entre les patients
- Une diminution de l' α -diversité (indice de Shanon)
 - disparition de certaines bactéries de la flore : *Streptococcus*, *Veillonella*, *Fusobacteria*... et apparition de bactéries aérobies potentiellement pathogènes: entérobactéries, *Pseudomonas*...
 - une diminution a priori plus marquée en cas de PAVM

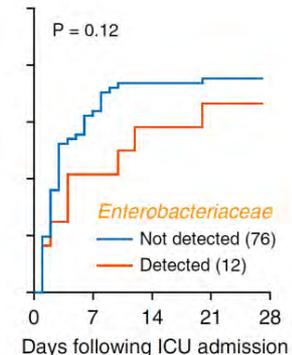
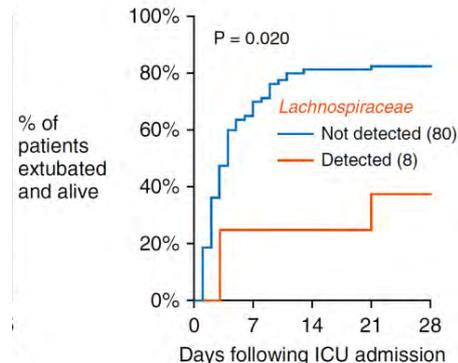
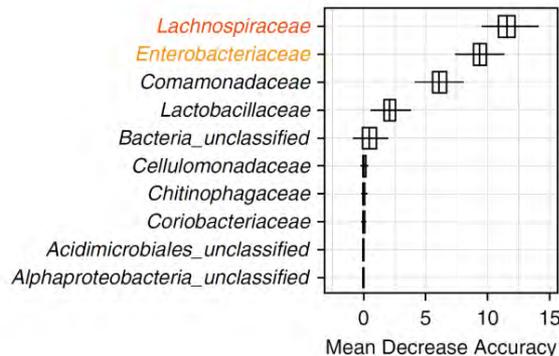
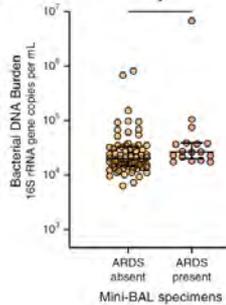


Kelly *et al*, Microbiome, 2016
 Zakharkina *et al*, Critical Care, 2017
 Woo *et al*, Journal of Clinical Medicine, 2018
 Sommerstein *et al*, Antimicrobial Resistance and Infection Control, 2019



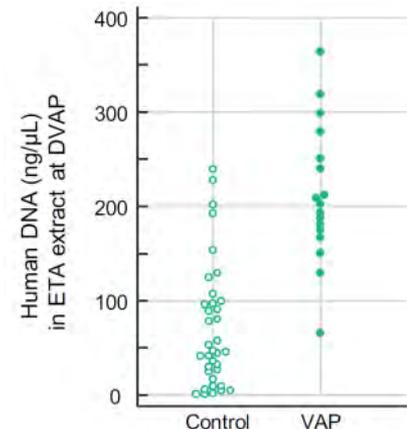
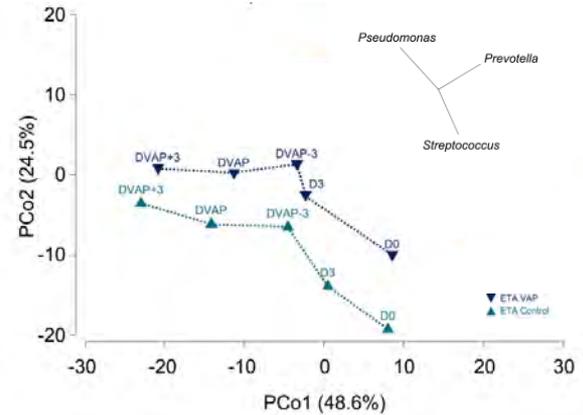
Des biomarqueurs microbiens de la PAVM ?

- Dickson *et al*, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2020
 - LBA recueillis chez 91 patients dans les 24h suivant leur admission, 17 avec SDRA
 - Concernant les patients développant un SDRA : une quantité initiale d'ADN bactérien >
 - Concernant le devenir des patients (nombre de jours sans ventilation à J28) :
 - Diversité initiale du microbiote (α -diversité) non prédictive du devenir
 - Composition initiale du microbiote prédictive du devenir : quantité > de Lachnospiraceae et Enterobacteriaceae
 - Prédicativité confirmée avec des modèles de simulation « random forest »



Des biomarqueurs microbiens de la PAVM ?

- Emonet *et al*, Intensive Care Medicine, 2019
 - AET prélevés chez 54 patients :
18 PAVM tardives, 36 contrôles : J_0 , J_3 , J_{PAVM-3} , J_{PAVM} et J_{PAVM+3}
 - Chez tous les patients :
 - augmentation des Proteobacteria, diminution des Firmicutes
 - diminution α -diversité
 - Patients avec une PAVM versus patients contrôle
 - à J_0 : quantité > de *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* et *Lactobacillus* chez les patients contrôle
 - à J_{PAVM-3} : quantité de Gammaprotéobactéries plus élevée chez les patients avec PAVM
 - à J_{PAVM} : quantité d'ADN humain > chez les patients avec PAVM





Etude pilote SCORPIUS



Représentation live



- Critères d'inclusion :
 - Patients adultes, sans antécédent respiratoire, bronchorrèique
 - Aucune antibiothérapie dans les 15 jours précédant l'inclusion ni durant la ventilation
- Recueil de 1 AET / jour, du jour de l'intubation jusqu'à J7 ou $J_{\text{extubation}}$ ou J_{PAVM}
- Séquençage ADNr 16S, région V3

• 12 patients, 62 AET



- 4 PAVM précoces à *S. aureus*
- 8 non PAVM (4 colonisés à *S. aureus*)

- Analyse à J1 : pas de différence
 - concernant les caractéristiques cliniques
 - concernant le microbiote (âge, IMC, sexe...)

Table 1: Patients enrolled in the study

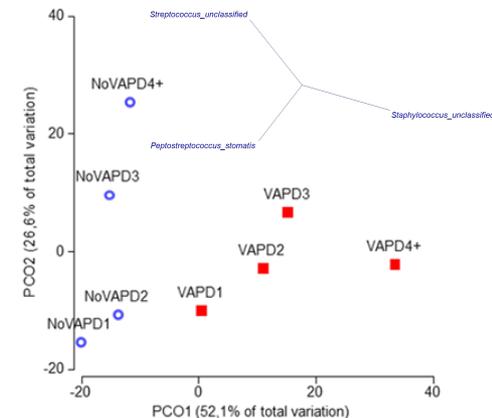
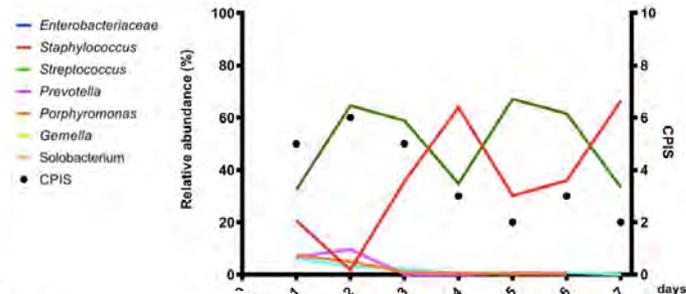
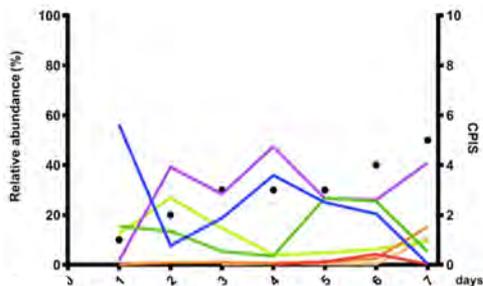
M: men; W:women; VAP: Ventilator-Associated Pneumonia; IGS: Indice de Gravité Simplifié

	Total (n=12)	No VAP (n=8)	VAP (n=4)	p-value
Sex ratio M/W	9 (75%) / 3 (25%)	5 (63%) / 3 (37%)	4 (100%) / 0 (0%)	0.480
Age	65.5 [63.8 - 70.3]	62.5 [59.8 - 70.3]	68.8 [65.8 - 71.0]	0.296
Admission				0.682
Cranial trauma	2 (17%)	1 (13%)	1 (25%)	
Haemorrhagic stroke	6 (50%)	4 (50%)	2 (50%)	
Meningeal haemorrhage	2 (17%)	1 (13%)	1 (25%)	
Insulin intoxication	2 (17%)	2 (25%)	0	
Prehospital intubation	5 (42%)	3 (38%)	2 (50%)	1
Charlson index	3.3 [2.0 - 4.3]	3.5 [1.8 - 5.3]	3.0 [2.8 - 3.3]	0.754
IGS II	52.3[45.8 - 58.5]	52.3 [46.5 - 58.5]	52.3 [45.8 - 54.5]	1
Glasgow index	7 [4 - 9]	7 [4 - 9]	8 [7 - 9]	0.702

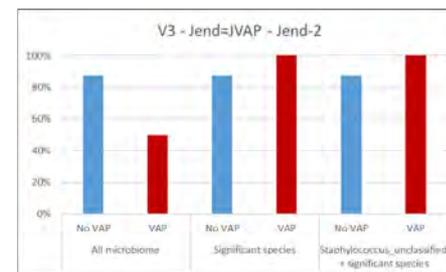
SCORPIUS – résultats microbiote



- Une grande hétérogénéité entre les patients dans la composition de leur microbiote
- Une concordance entre microbiote et culture
- Des variations importantes du microbiote d'un jour à l'autre



- Une évolution du microbiote différente entre les patients développant une PAVM et ceux qui n'en développent pas
- Prédiction possible 2 jours avant la PAVM (CAP)



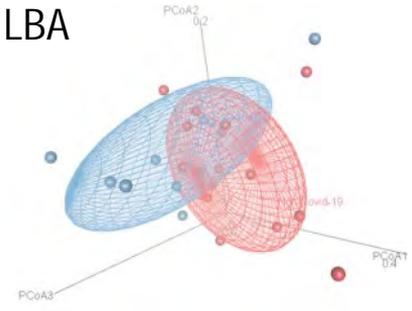
Augmentation	Catonella_morbi
Augmentation	Gemella_morbillorum
Augmentation	Neisseria_flavescens
Augmentation	Porphyromonas_unclassified
Augmentation	Prevotella_baronae
Augmentation	Prevotella_melanioigenica
Augmentation	Prevotellaceae_unclassified
Diminution	Rotbia_mucilaginis

Meyer *et al*, en préparation



Conclusion

- Un microbiote « jeune » encore très peu étudié dans cette indication
- Des études difficilement comparables : patients, types et dates de prélèvements, antibiothérapies, méthodologies, critère de jugements... → nécessité d'harmonisation
- Points princeps :
 - Une grande hétérogénéité intra et inter-individuel dans la composition du microbiote
 - Au global, une diminution de la diversité microbienne au cours de l'intubation
- Impact des autres agents infectieux ? Virus, champignons ? Très peu d'études...
 - 1^{ère} étude italienne PAVM à *S. aureus* +/- COVID-19 (n=120, 2:1), LBA
 - Chez les patients COVID-19+ :
 - communauté microbienne distincte
 - moindre diversité
 - enrichissement avec *S. aureus*, *S. anginosus* et *Olsenella*



Conclusion

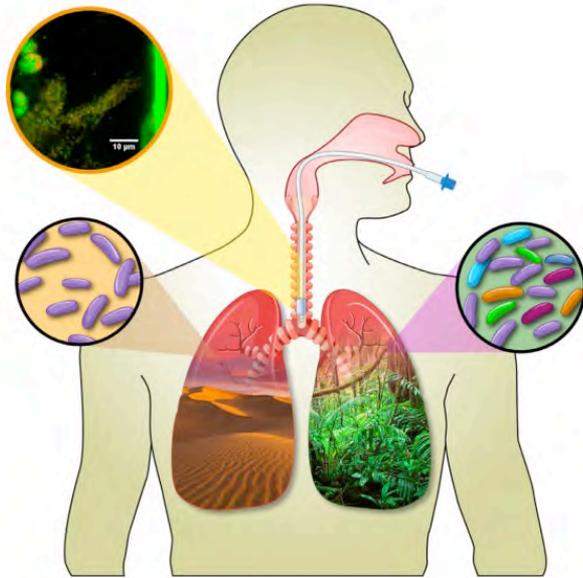


Fig. 1. a. Traditional versus The New Paradigm of Ventilator-associated Pneumonia

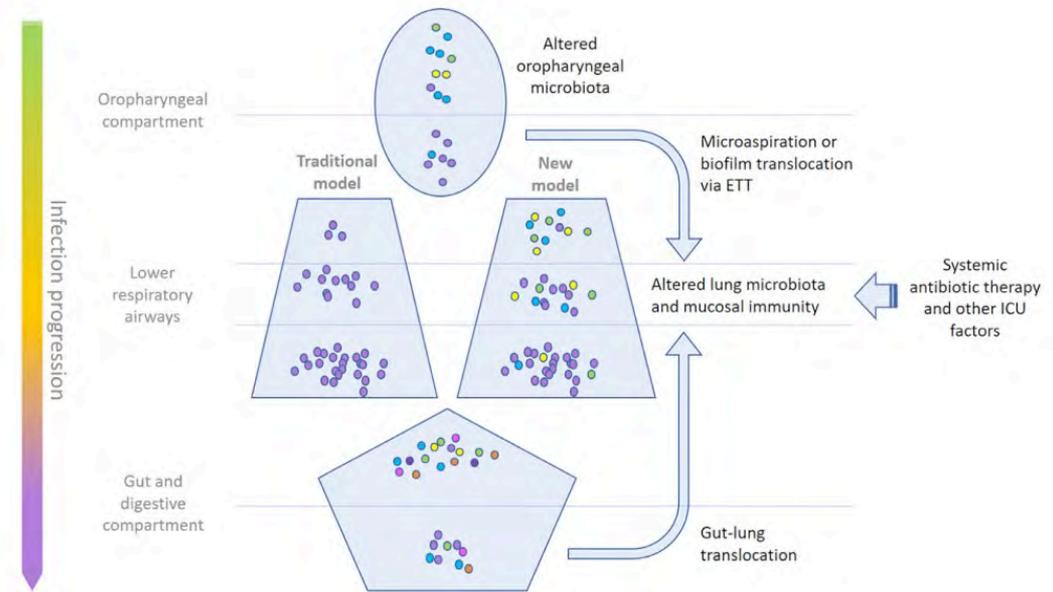


Fig. 1 Continued.

Fernandez-Barat *et al*, EBioMedicine, 2020

Remerciements

- Sylvain Meyer
- Delphine Chainier
- Marie-Cécile Ploy

- Bruno François
- Thomas Daix
- Philippe Vignon

- Nadia Gaïa
- Vladimir Lazarevic
- Jacques Schrenzel





Microbiote respiratoire et Pneumopathies Acquises sous Ventilation Mécanique (PAVM)

Olivier BARRAUD, MCU-PH

Faculté de Médecine, Université de Limoges

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges

UMR Inserm 1092 - Anti-infectieux : Supports moléculaires des résistances et innovations thérapeutiques