

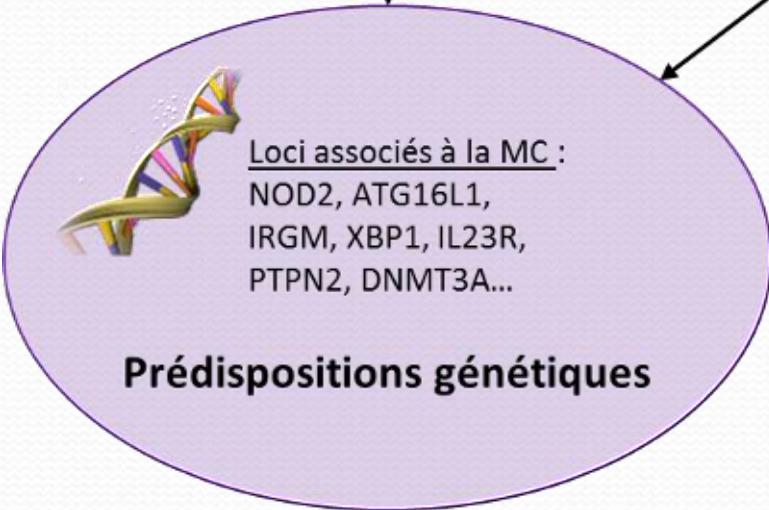
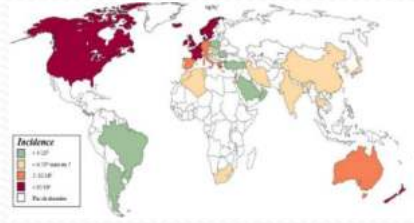


Microbiote et AIEC dans le post-opératoire : témoins ou acteurs ?



Pr. Nicolas Barnich

Etiologie de la maladie de Crohn



Maladie de Crohn

Réponse immunitaire aberrante



Etiologie de la maladie de Crohn



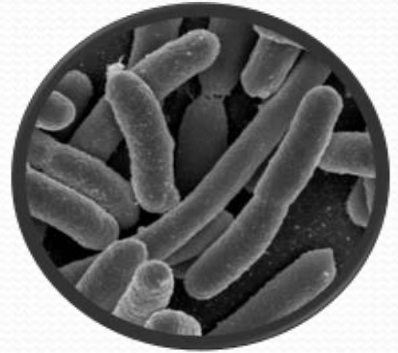
Tabac, stress, détergents, polluants,
régime alimentaire riche en graisses
et en sucres...

Environnement

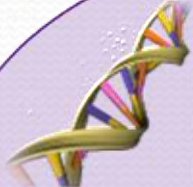


Virus, levures, *E. coli*, *Listeria*, *Yersinia*,
MAP, déséquilibre de la flore...

Microbiote intestinal



**Microbiote et AIEC :
témoins ou acteurs ?**



Loci associés à la MC :
NOD2, ATG16L1,
IRGM, XBP1, IL23R,
PTPN2, DNMT3A...

Prédispositions génétiques



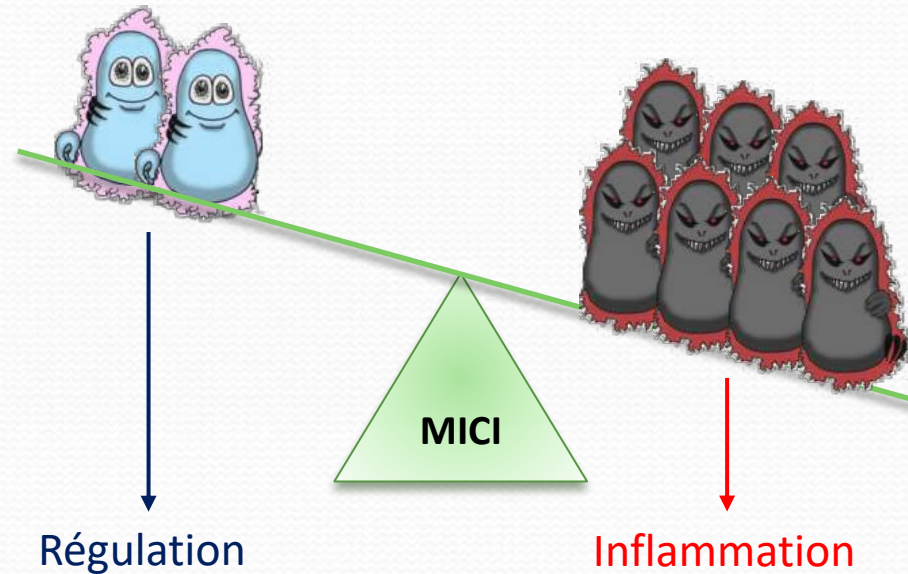
**Maladie de
Crohn**

Réponse immunitaire
aberrante



Rôle du microbiote – pathobiontes

- Augmentation du nombre de bactéries associées à la muqueuse chez les patients atteints de MC
- Existence d'une **dysbiose** chez les patients atteints de MC



Rôle du microbiote – pathobiontes

Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients

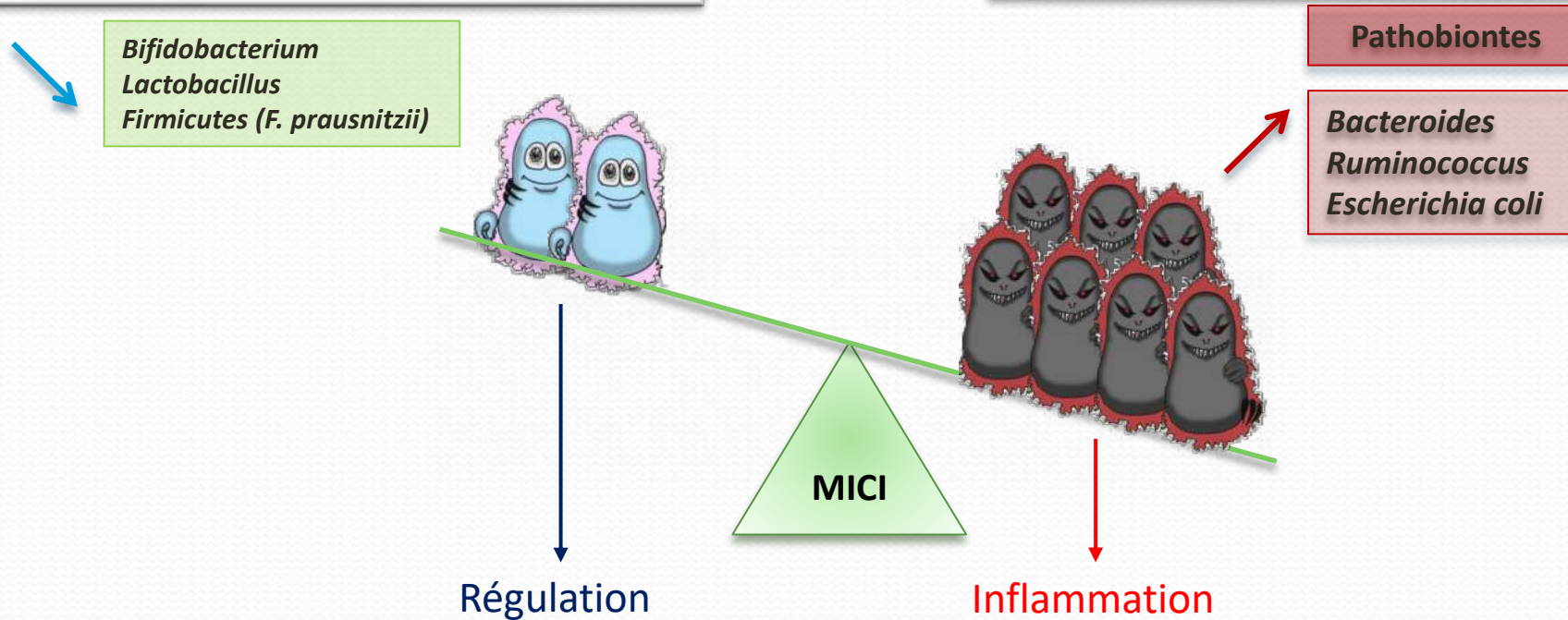
Harry Sokol^{1*}, Bénédicte Pigneur^{1*}, Laurie Watterlot^{1*}, Omar Lakhdari^{1*}, Luis G. Bermúdez-Humarán^{1*}, Jean-Jacques Gratadoux^{1*}, Sébastien Blugeon^{1*}, Chantal Bridonneau^{1*}, Jean-Pierre Furet^{1*}, Gérard Corthier^{1*}, Corinne Grangette^{1*}, Nadia Vasquez^{2*}, Philippe Pochart^{3*}, Germain Trugnan^{2*}, Ginette Thomas^{2*}, Hervé M. Blottière^{1*}, Joël Doré^{1*}, Philippe Marteau^{1*}, Philippe Seksik^{1**††}, and Philippe Langella^{1***††}

Presence of Adherent *Escherichia coli* Strains in Ileal Mucosa of Patients With Crohn's Disease

ARLETTE DARFEUILLE-MICHAUD,^{*} CHRISTEL NEUT,[†] NICOLAS BARNICH,^{*} EMMANUEL LEDERMAN,[§] PATRICK DI MARTINO,^{*} PIERRE DESREUMAUX,[§] LUC GAMBIEZ,[‡] BERNARD JOLY,^{*} ANTOINE CORTOT,[§] and JEAN-FRÉDÉRIC COLOMBEL[§]

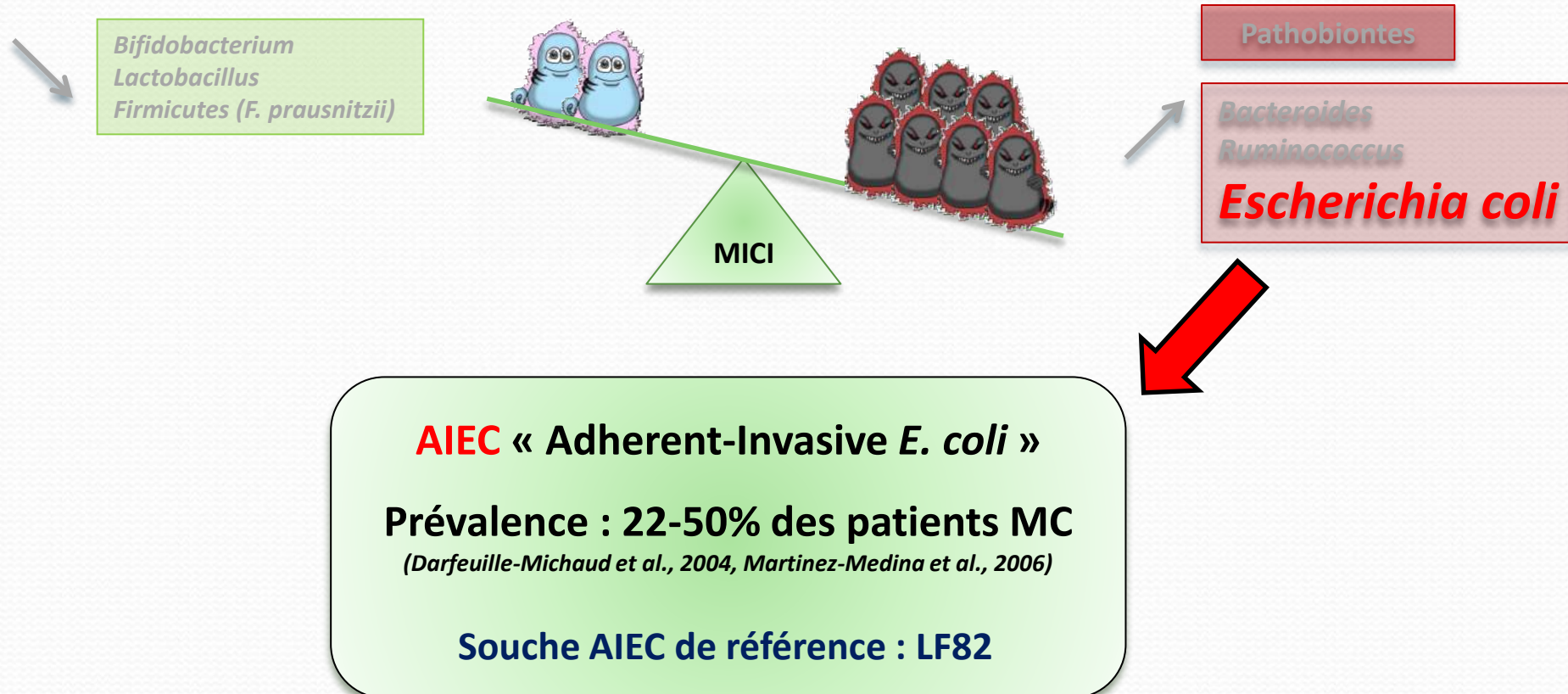
^{*}Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, Clermont-Ferrand; [†]Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, Lille; [‡]Laboratoire de Recherche sur les Maladies Inflammatoires de l'Intestin, Centre Hospitalier Universitaire, Lille; and [§]Service de Chirurgie Adulte Ouest, Hôpital Huriez, Centre Hospitalier Universitaire Lille, France

†ASTROENTEROLOGY 1998;115:1405-1413



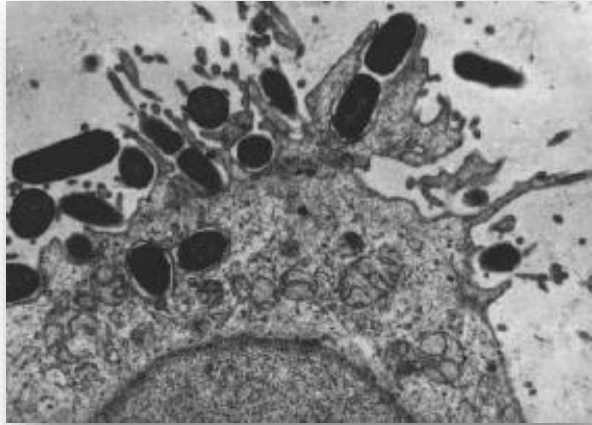
Rôle du microbiote – pathobiontes

- Augmentation du nombre de bactéries associées à la muqueuse chez les patients atteints de MC
- Existence d'une **dysbiose** chez les patients atteints de MC

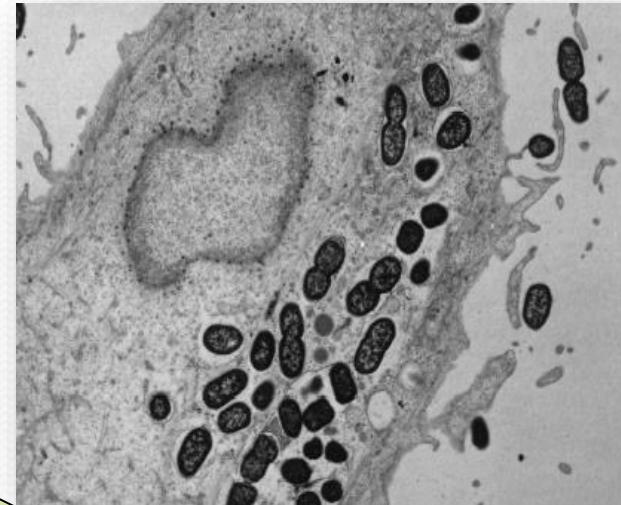


AIEC et maladie de Crohn

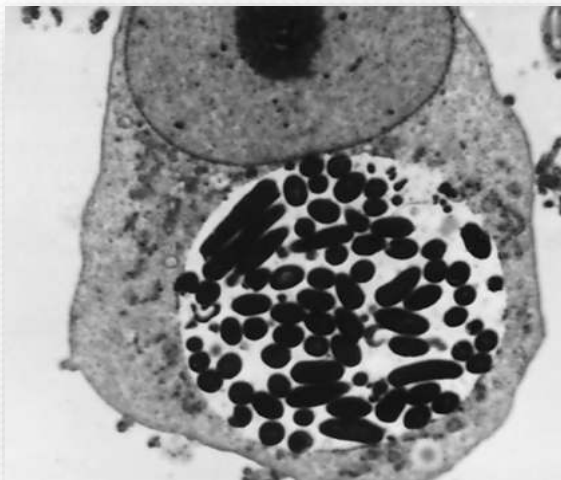
1- Adhésion aux cellules épithéliales intestinales
(Darfeuille-Michaud et al., 1998)



2- Invasion (Boudeau et al. 1999)



3- Survie et multiplication en macrophages et forte
sécrétion de TNF- α (Glasser et al., 2001)

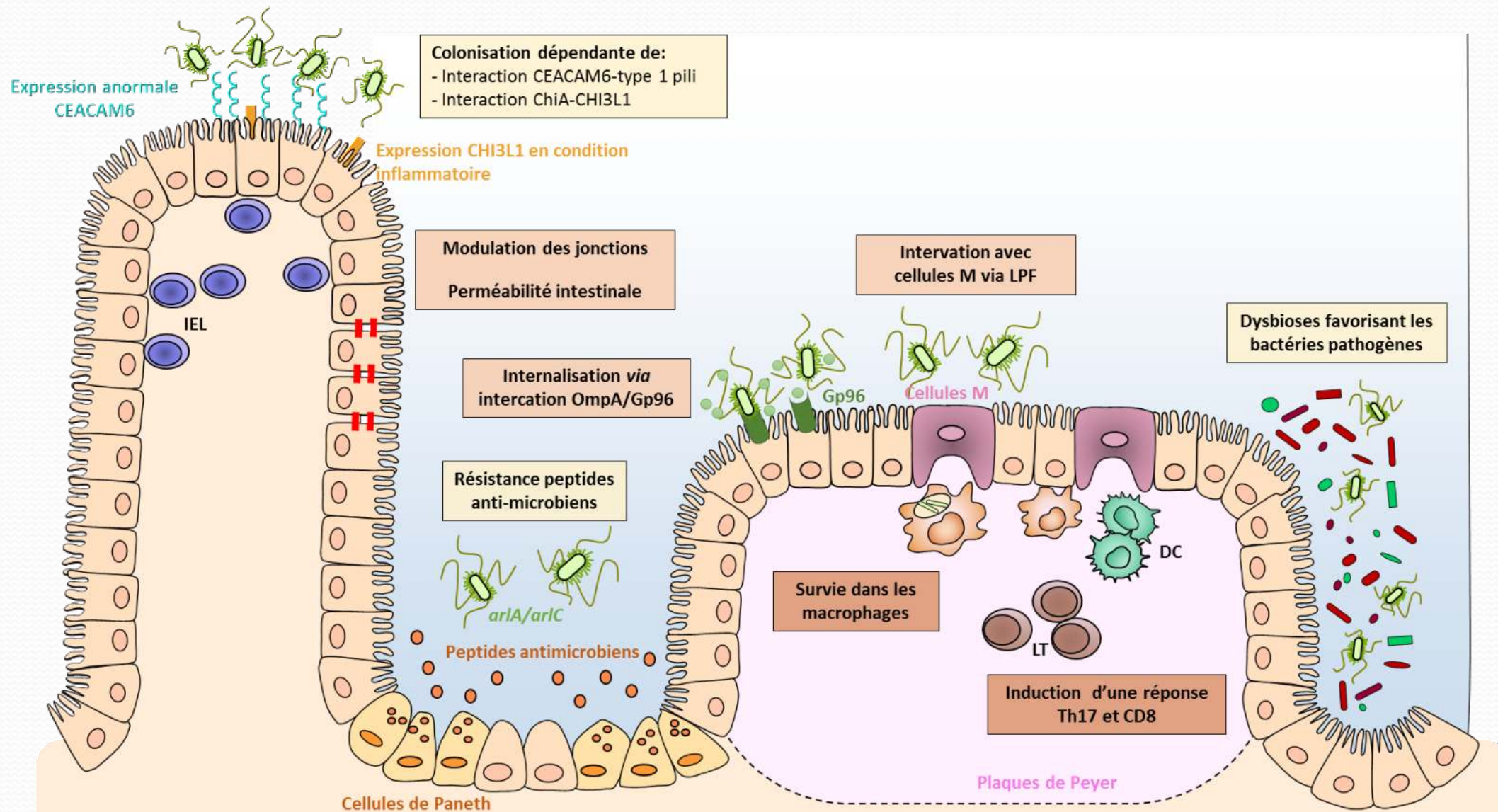


AIEC

(Adherent invasive Escherichia coli)

Prévalence des AIEC: chez 36-50% des
patients atteints de MC (Darfeuille-Michaud et al.,
2004, Martinez-Medina et al., 2006)

AIEC et maladie de Crohn



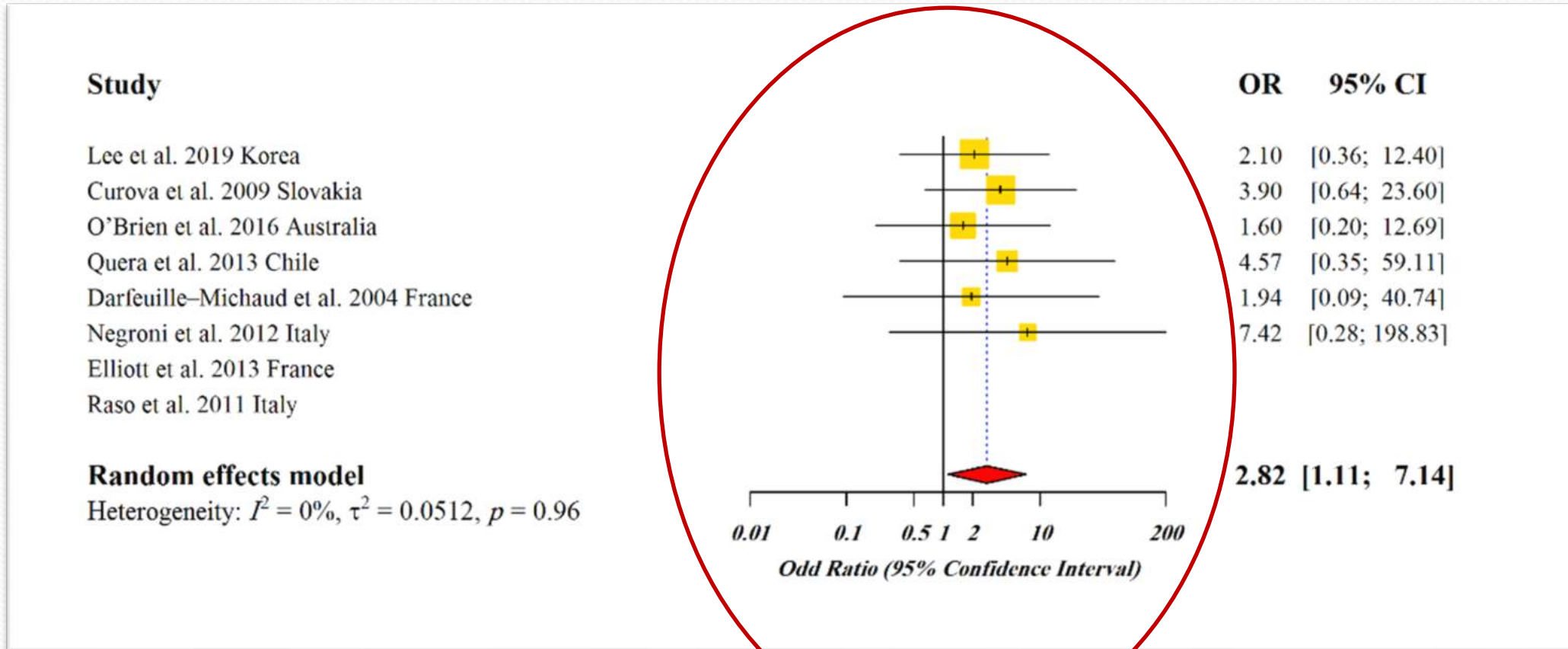
AIEC et maladie de Crohn

Table 2 Prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) in patients with IBD and controls from different geographical origins

Reference	Country	Sample type	Number of patients			AIEC prevalence (%)		
			CD	UC	Non-IBD controls	CD	UC	Non-IBD controls
Adult population								
Darfeuille-Michaud <i>et al</i> ¹⁷	France	Ileal biopsies	63	–	16	▶ Chronic lesions: 21.7 ▶ CD early: 36.4 ▶ CD healthy mucosa: 22.2	–	6.2
		Colonic biopsies	27	8	102	3.7	0	1.9
Baumgart <i>et al</i> ¹⁶	USA	Ileal biopsies	21 (13 ICD, 8 CCD)	–	7	▶ ICD 38.5 ▶ CCD 37.5	–	14.3
Martinez-Medina <i>et al</i> ⁴¹	Spain	Ileal biopsies	11	–	17	54.5	–	17.6
		Colonic biopsies	16	–	19	50	–	15.8
Raso <i>et al</i> ²³	Italy	Colonic and ileocolonic anastomosis biopsies	8	6	4	62.5	0	0
Dogan <i>et al</i> ¹⁶⁰	USA	Ileal biopsies	32	–	28	25	–	19
Paediatric population								
Negrone <i>et al</i> ²⁷	Italy	Ileal and colonic biopsies	17	10	23	6	10	0
Conte <i>et al</i> ³³	Italy	Ileal biopsies	4	–	4	75	–	50

CCD, colonic Crohn's disease; CD, Crohn's disease; ICD, ileal Crohn's disease.

Association AIEC et maladie de Crohn – méta-analyse



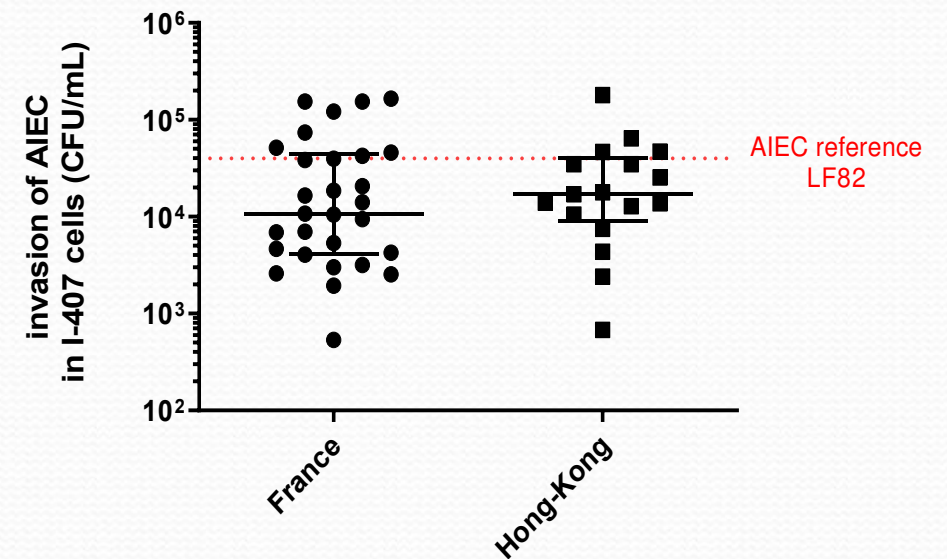
AIEC et maladie de Crohn dans le monde ??

PACIFIC: Prevalence, characteristics and genetics of adherent-invasive *Escherichia coli* in Crohn's disease patients: comparative study between France and Hong-Kong

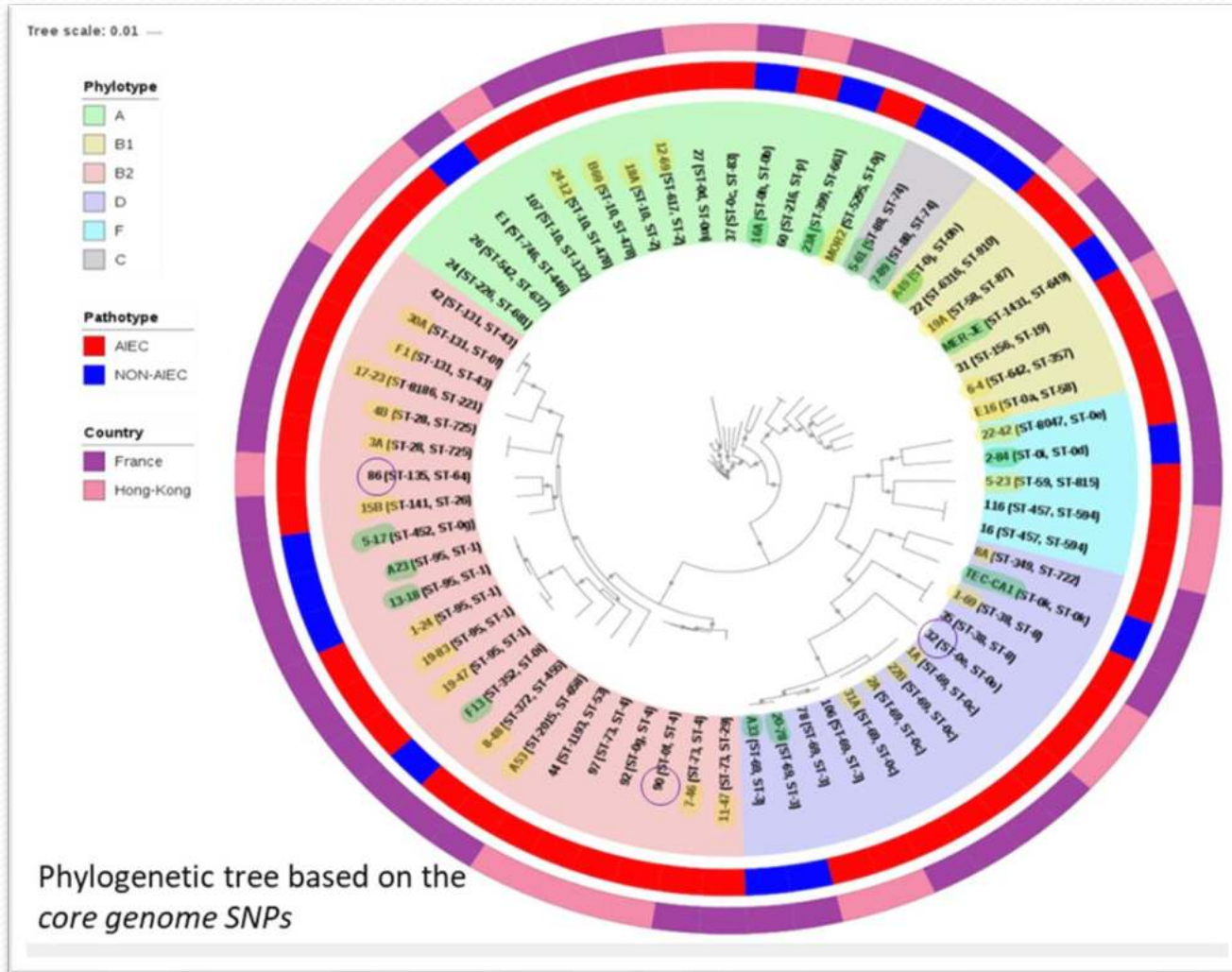


Prévalence des AIEC

France (24.5%, 25/102) et Hong-Kong (30.0%, 18/60)
($p=0.44$)



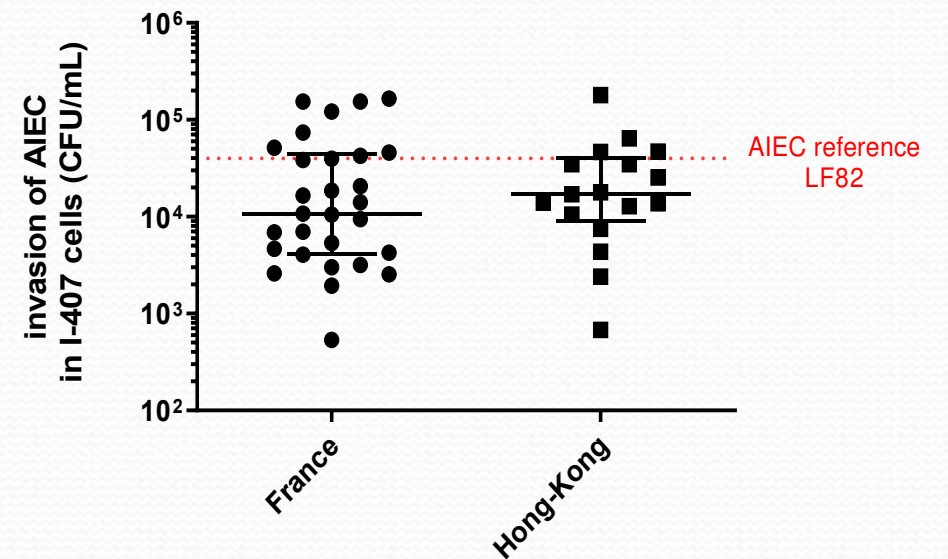
AIEC et maladie de Crohn dans le monde ??



PACIFIC: Prevalence, characteristics and genetics of adherent-invasive *Escherichia coli* in Crohn's disease patients: comparative study between France and Hong-Kong

Prévalence des AIEC

France (24.5%, 25/102) et Hong-Kong (30.0%, 18/60)
(p=0.44)



AIEC et maladie de Crohn

- Parmi les anomalies du microbiote, le rôle des *Escherichia coli* adherents et invasives (AIEC) est fortement suspecté dans la maladie de Crohn^{1,2}
- Plusieurs groupes indépendants ont confirmé l'association entre AIEC et maladie de Crohn³
- Mais mécanisme par lequel les AIEC contribuent au développement de la maladie de Crohn reste encore mal compris.....

1 Darfeuille-Michaud et al, Gastroenterology 1998

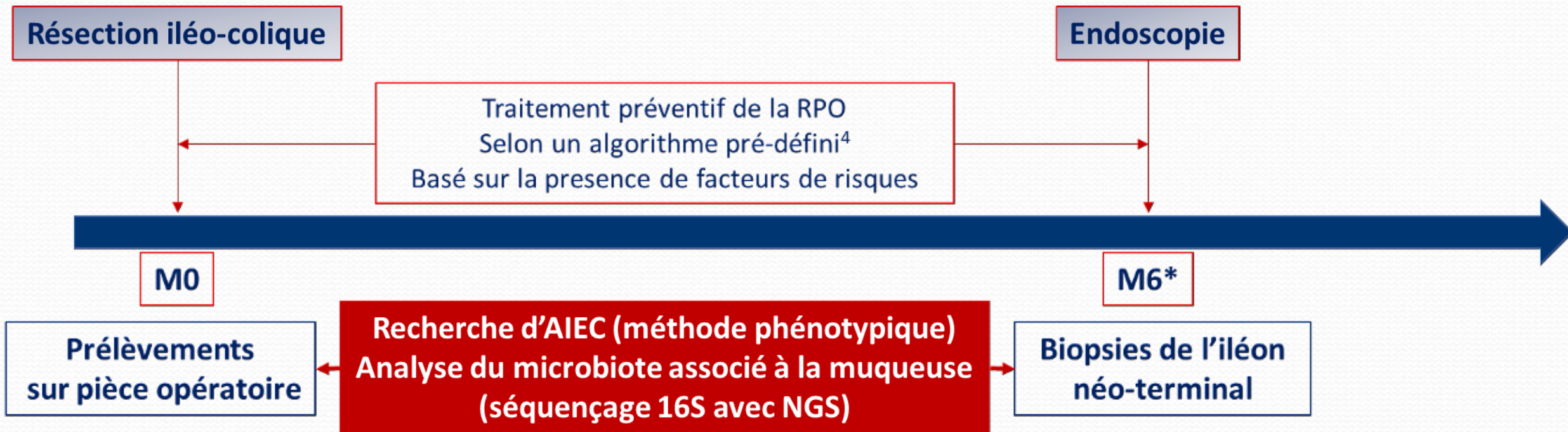
2 Darfeuille-Michaud et al, Gastroenterology 2004

3 Nadalian B, et al, J Gastroenterol Hepatol 2021

Objectif :

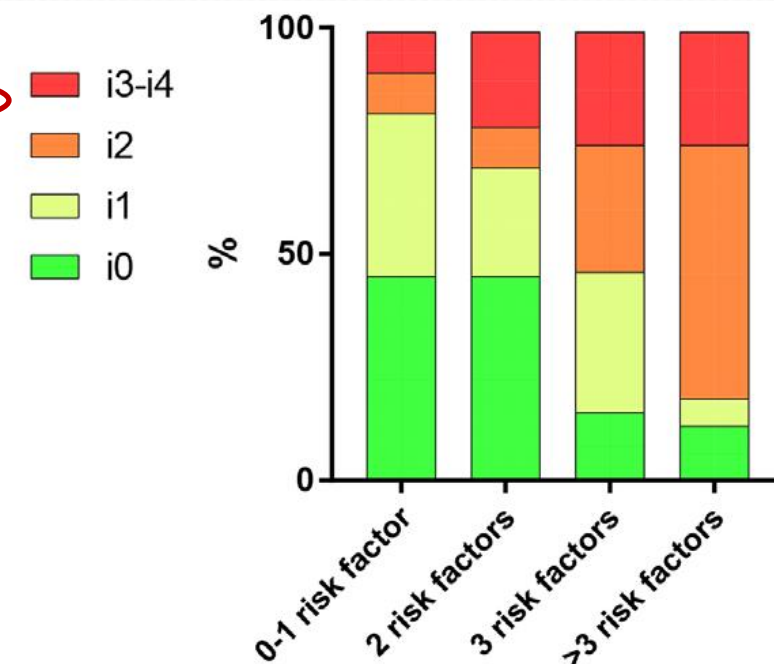
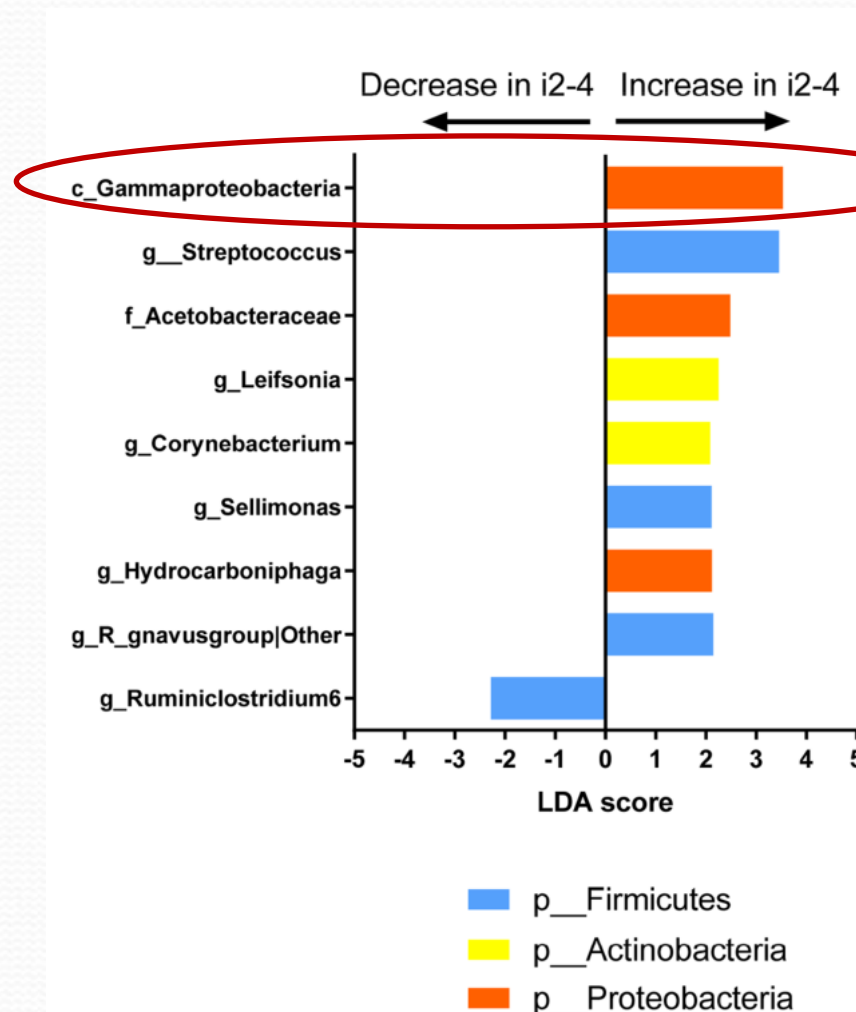
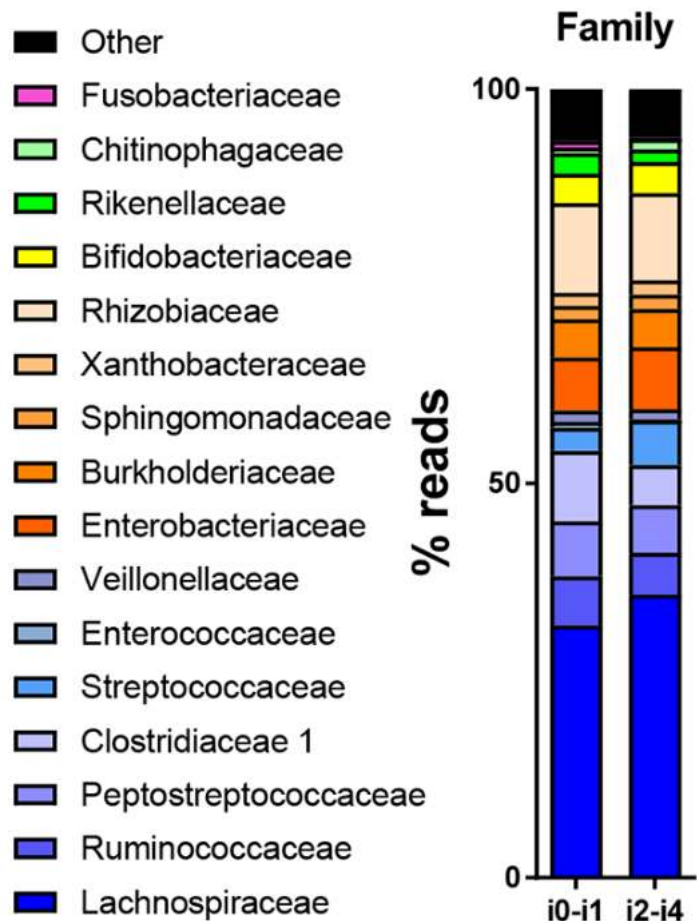
Mieux comprendre le rôle des bactéries (**microbiote et/ou AIEC**) dans les phases précoces de la maladie à partir d'une large cohorte prospective de patients ayant eu une résection iléo-caecale pour MC (modèle de la récurrence post-opératoire).

Schéma de l'étude

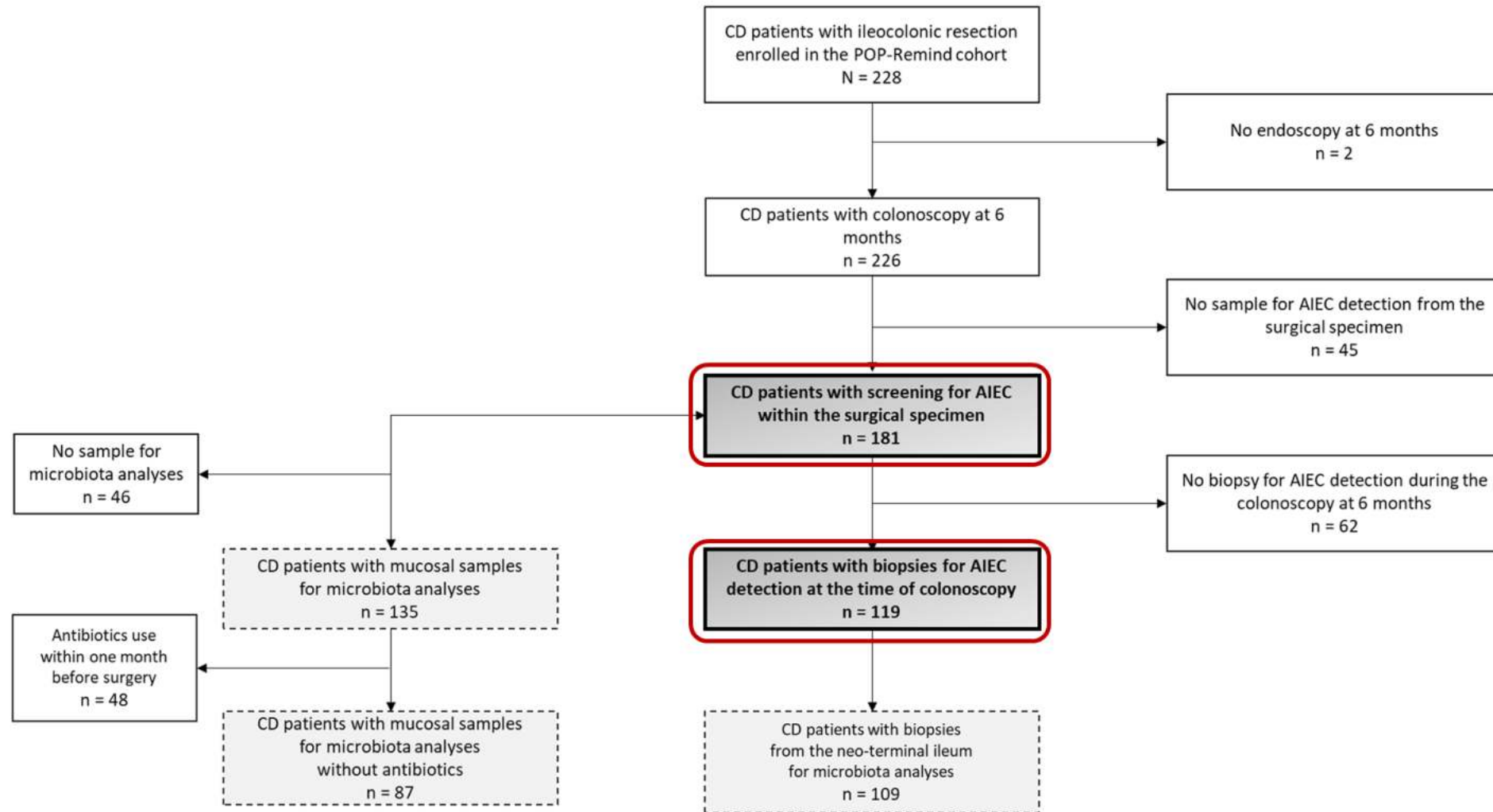


*M6 : 6 mois après chirurgie ou rétablissement de continuité

Microbiote intestinal bactérien à M0 comme prédicteur de récurrence endoscopique postopératoire



Focus sur le rôle des bactéries AIEC : diagramme de flux de l'étude

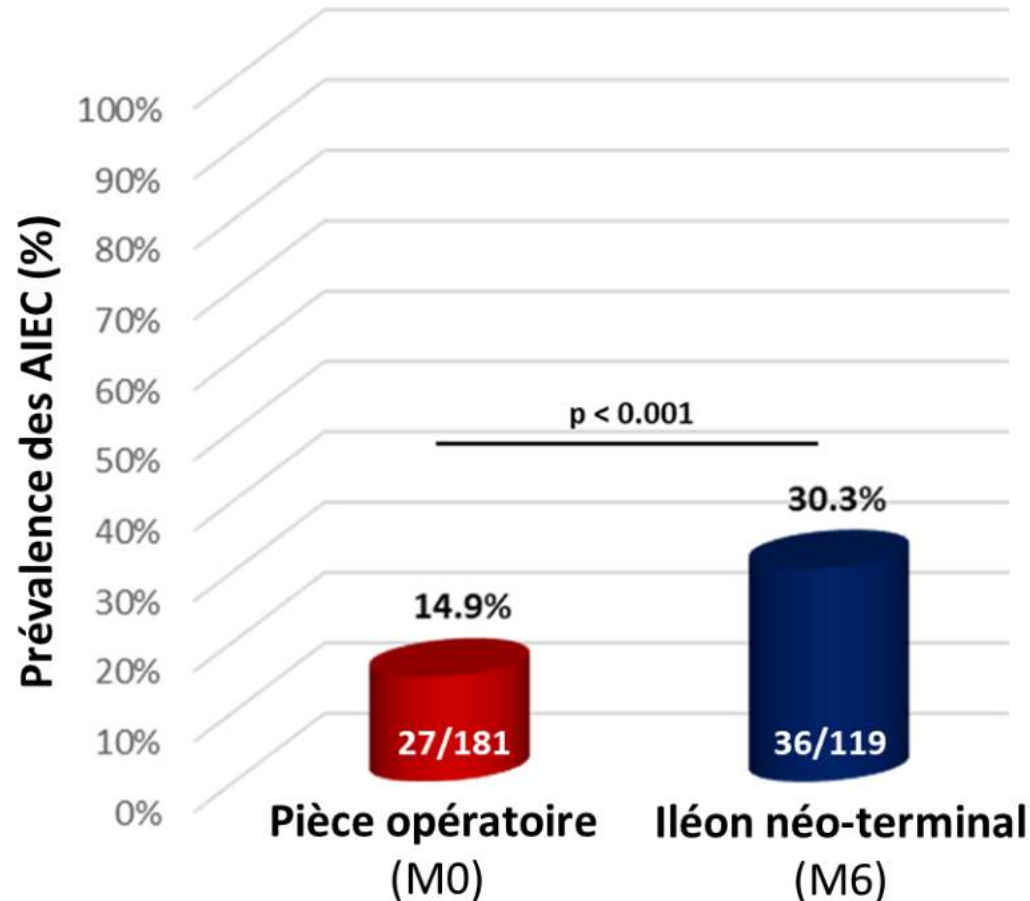


Population de l'étude

	N = 181 patients	N = 119 patients
Age au moment de la chirurgie (moyenne ± sd)	34,2 ± 12,4 ans	34,1 ± 12,7 ans
Durée d'évolution de la MC (médiane, IQR)	5,0 [1,0-12,0] ans	5,0 [1,0-11,0] ans
Genre féminin (n, %)	93 (51,4%)	60 (50,4%)
Tabagisme actif (n, %)	58 (32,0%)	43 (36,1%)
Classification de Montréal		
Localisation		
L1 (n, %)	111 (61,3%)	70 (58,8%)
L2 (n, %)	1 (0,5%)	1 (0,8%)
L3 (n, %)	69 (38,1%)	47 (39,5%)
L4 (n, %)	2 (1,1%)	1 (0,8%)
Lésions ano-périnéales (n, %)	40 (22,1%)	28 (23,5%)
Phénotype		
B1 (n, %)	31 (17,1%)	22 (18,5%)
B2 (n, %)	86 (47,5%)	59 (49,6%)
B3 (n, %)	64 (35,4%)	38 (31,9%)
ATCD resection intestinale (n, %)	35 (19,3%)	25 (21,0%)
Antibiotiques dans les 4 semaines avant chirurgie	61 (33,7%)	40 (33,6%)
Indication de la chirurgie		
Echec traitement médical (n, %)	27 (14,9%)	17 (14,3%)
Sténose (n, %)	115 (63,5%)	79 (66,4%)
Fistule/abcès (n, %)	71 (39,2%)	44 (37,0%)

	N = 181 patients	N = 119 patients
Traitements après chirurgie		
Aucun traitement (n, %)	84 (46,4%)	50 (42,0%)
Thiopurines (n, %)	44 (24,3%)	27 (22,7%)
Anti-TNF (n, %)	44 (24,3%)	33 (27,7%)
Infliximab (n, %)	10 (5,5%)	6 (5,5%)
Adalimumab (n, %)	33 (18,2%)	26 (21,8%)
Golimumab (n, %)	1 (0,5%)	1 (0,8%)
Anti-TNF + thiopurines (n, %)	7 (3,9%)	4 (3,4%)
Vedolizumab (n, %)	1 (0,5%)	1 (0,8%)
Ustekinumab (n, %)	2 (1,1%)	2 (1,7%)
Indice de Rutgeerts à 6 mois		
i0	57 (31,5%)	35 (29,4%)
i1	39 (21,5%)	24 (20,2%)
i2a	18 (9,9%)	13 (10,9%)
i2b	29 (16,0%)	21 (17,7%)
i3	18 (9,9%)	13 (10,9%)
i4	20 (11,0%)	13 (10,9%)

La colonisation iléale par les AIEC est associée aux phases précoces de la maladie



Pas de différence concernant la colonisation par les entérobactéries:
42,5% (77/181) à M0
Et **47,0%** (56/119) à M6

**Confirmé par analyses de sensibilité prenant en compte l'utilisation pré- ou péri-opératoire d'antibiotiques*

La colonisation iléale par les AIEC est associée aux phases précoces de la maladie

GASTROENTEROLOGY 2004;127:412-421

Darfeuille-Michaud et al., *Gastroenterology* 2004

High Prevalence of Adherent-Invasive *Escherichia coli* Associated With Ileal Mucosa in Crohn's Disease

ARLETTE DARFEUILLE-MICHAUD,* JÉRÔME BOUDEAU,* PHILIPPE BULOIS,† CHRISTEL NEUT,§ ANNE-LISE GLASSER,* NICOLAS BARNICH,* MARIE-AGNÈS BRINGER,* ALEXANDER SWIDSINSKI,¶ LAURENT BEAUGERIE,|| and JEAN-FRÉDÉRIC COLOMBEL*

*Pathogénie Bactérienne Intestinale, Laboratoire de Bactériologie, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France; †Laboratoire de Recherche sur les Maladies Inflammatoires de l'Intestin, INSERM EPI 0114, Centre Hospitalier Universitaire, Lille, France; §Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, Lille, France; ¶Gastroenterologie, Innere Klinik, Charite Humboldt Universität, Berlin, Germany; ||Service de Gastroentérologie et Nutrition, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

Table 3. Prevalence of Invasive *E. coli* Strains Associated With the Ileal and Colonic Mucosa of Patients With CD and of Controls

Origin of the strains	Total no. of subjects	No. of subjects (%) positive		P value ^c
		Invasive <i>E. coli</i> ^a	AIEC ^b	
Ileal specimens of				
CD patients with chronic lesion	23	7 (30.4)	5 (21.7)	0.196
CD patients with early lesion	22	8 (36.4)	8 (36.4)	0.034 ^d
CD patients with healthy mucosa	18	4 (22.2)	4 (22.2)	0.206
Controls	16	1 (6.2)	1 (6.2)	
Colonic specimens of				
CD patients	27	1 (3.7)	1 (3.7)	0.508
UC patients	8	1 (12.5)	0 (0)	0.859
Controls	102	4 (3.9)	2 (1.9)	

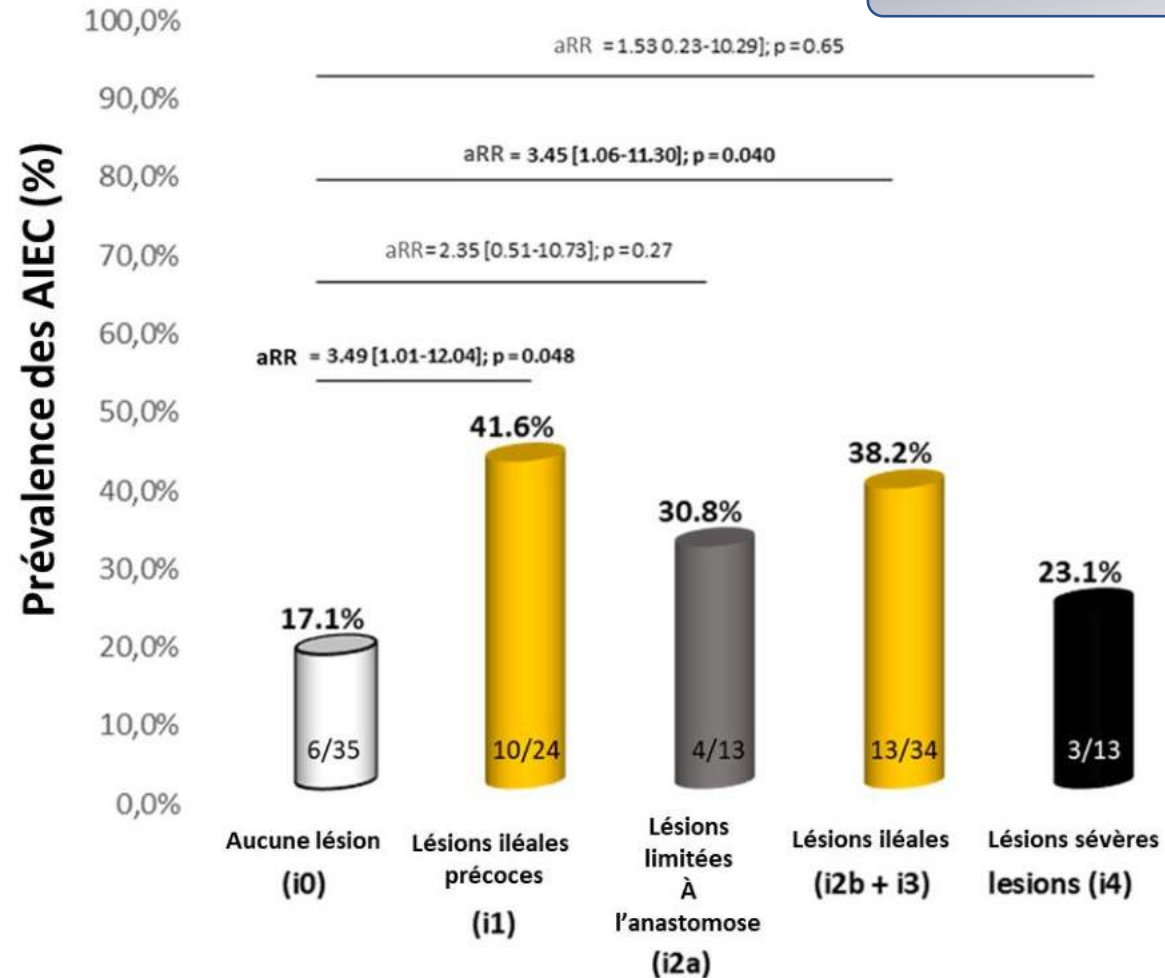
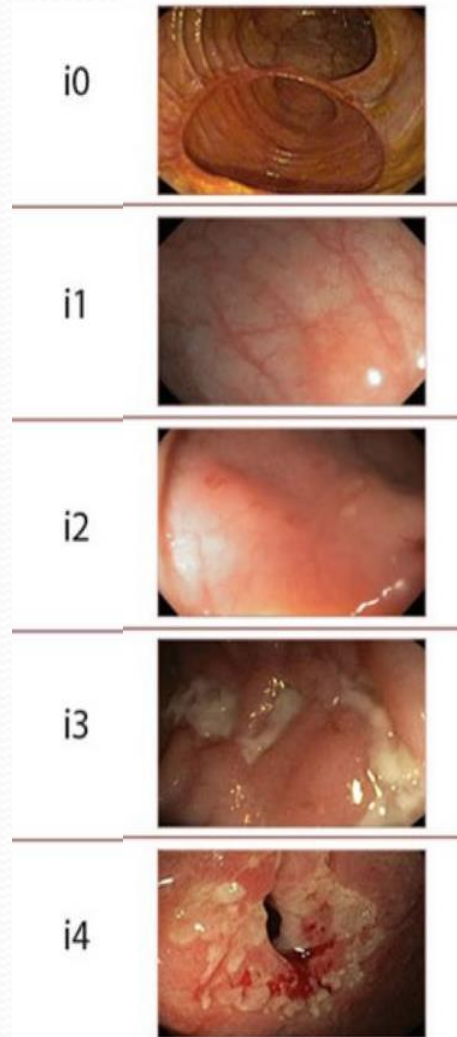
^a*E. coli* strain was defined as invasive when a mean percentage superior or equal to 0.1% of the original inoculum was recovered after 1 hour of gentamicin treatment.

^bAIEC were defined as described in the Materials and Methods section.

^cStatistical analysis of the prevalence of AIEC in ileal or colonic specimens of CD patients and in controls.

^dSignificant higher prevalence of AIEC in early ileal lesions of CD patients compared with controls.

La colonisation par les AIEC à M6 est associée à la récurrence post-opératoire iléale de la MC



*Analyses multivariées ajustées sur le genre, l'ATCD de resection intestinale et le tabagisme actif, réalisées en comparaison à l'absence de lésion (i0)

La colonisation de la pièce opératoire par les AIEC est associée à la récurrence post-opératoire de la MC à M6

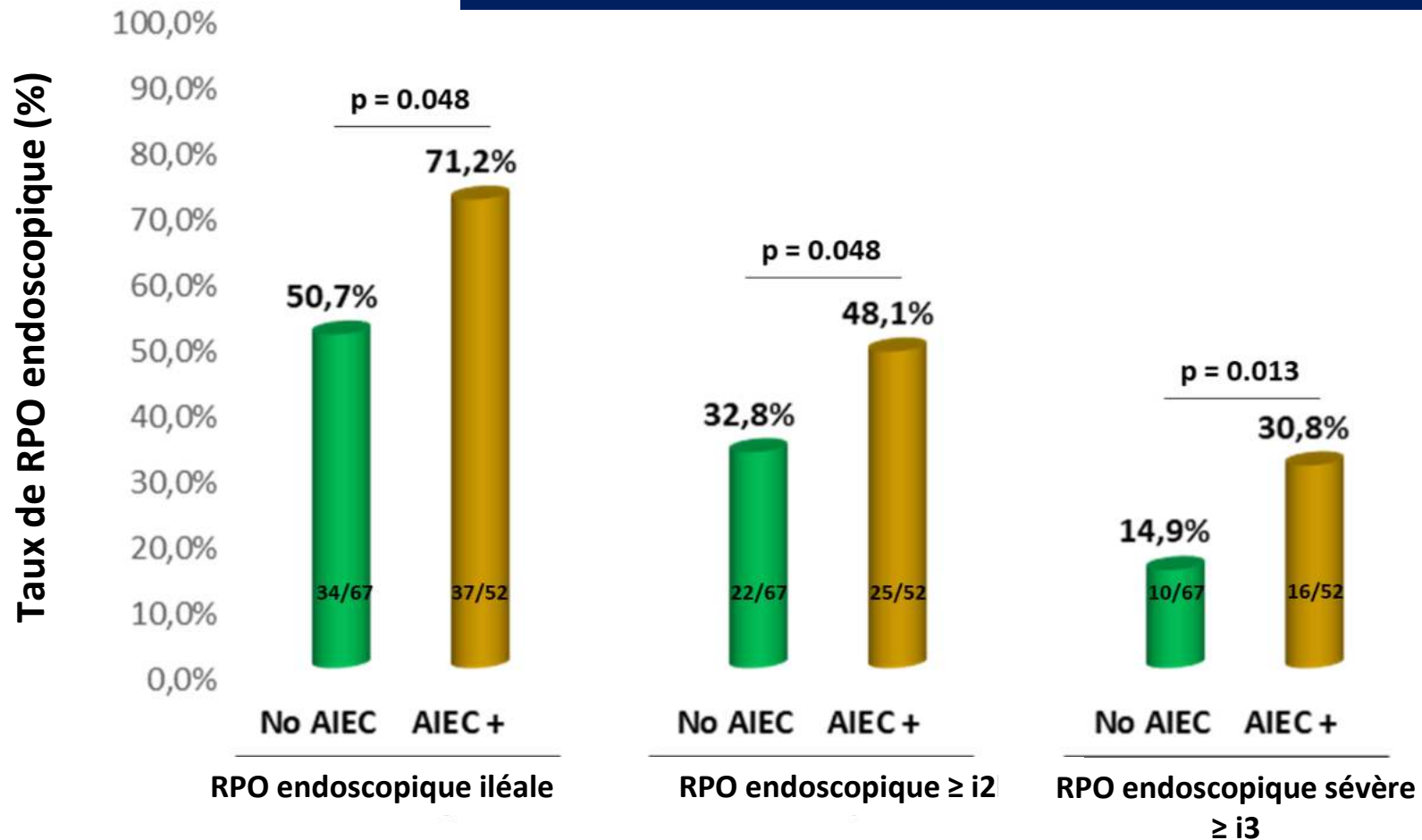
N = 181 patients

Multivariable analyses	i2b-endoscopic POR	Severe endoscopic POR (\geq i3)
AIEC sur la pièce opératoire	2.54 [1.01-6.44]	3.36 [1.25-9.06]
Genre féminin	0.54 [0.28-1.07]	1.13 [0.51-2.48]
Tabagisme actif	2.60 [1.29-5.24]	2.75 [1.20-6.31]
Durée d'évolution de la MC < 10 ans	1.19 [0.33-4.27]	0.31 [0.07-1.41]
Antibiotiques Antibiothérapie au moment de la chirurgie	2.98 [0.58-15.31]	1.61 [0.26-9.71]
Infliximab en prévention de la RPO endoscopique	0.57 [0.12-2.64]	0.92 [0.18-4.72]
Adalimumab en prévention de la RPO endoscopique	0.54 [0.21-1.34]	0.60 [0.21-1.71]
ATCD resection intestinale	3.60 [1.24-10.42]	4.46 [1.40-14.17]
Chirurgie pour MC réfractaire aux traitements médicaux	2.17 [0.68-6.99]	1.85 [0.68-5.04]
Granulome	0.74 [0.32-1.72]	0.65 [0.26-1.65]

Recherche d'AIEC positive à M0 et/ou M6 est un facteur de risque de RPO endoscopique

N = 119 patients

AIEC détectées à M0 et M6: 5,0% (6/119)
AIEC détectées à M0 ou M6: 43,7% (52/119)

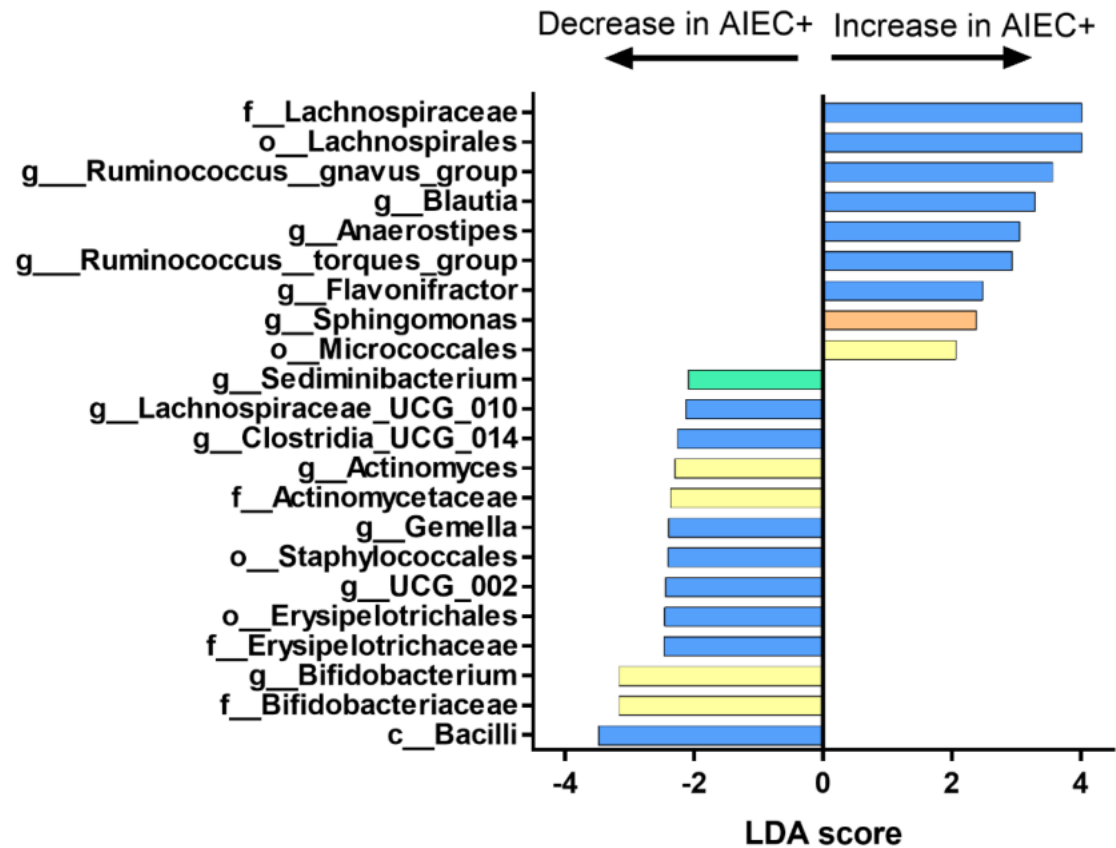


Aucun facteur clinique ou génétique n'est associé au portage d'AIEC

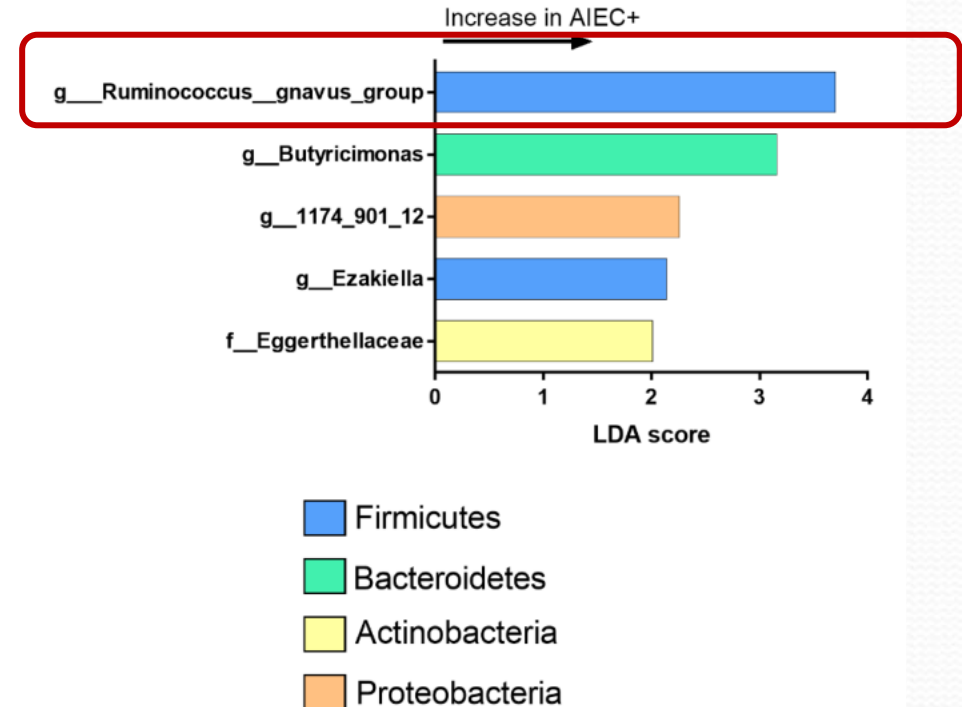
Pas d'association entre présence d'AIEC à M0 et/ou M6 et:

- Paramètres cliniques
- Paramètres génétiques
 - polymorphismes NOD2 (snp8, snp12 and snp13), ATG16L1 and IRGM
- Données transcriptomiques:
 - Expression des genes SOX 9 (cellules souches), MUC2 (cellules caliciformes), EPCAM (epithelium) et des biomarqueurs des cellules de Paneth LYS (lysozyme) and REG3A (défensine)

La colonisation par les AIEC est associée à une signature spécifique du microbiote

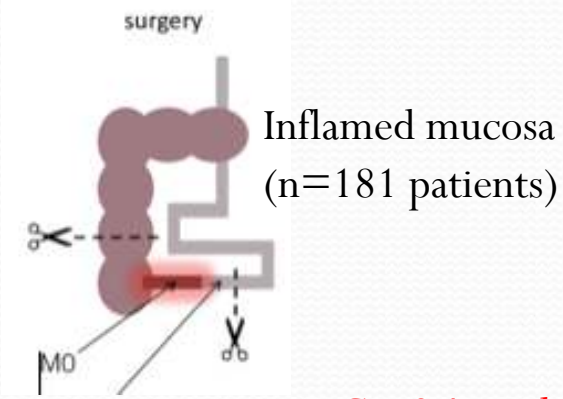


M0 sans antibiotiques (n=87) et M6 (n=109)

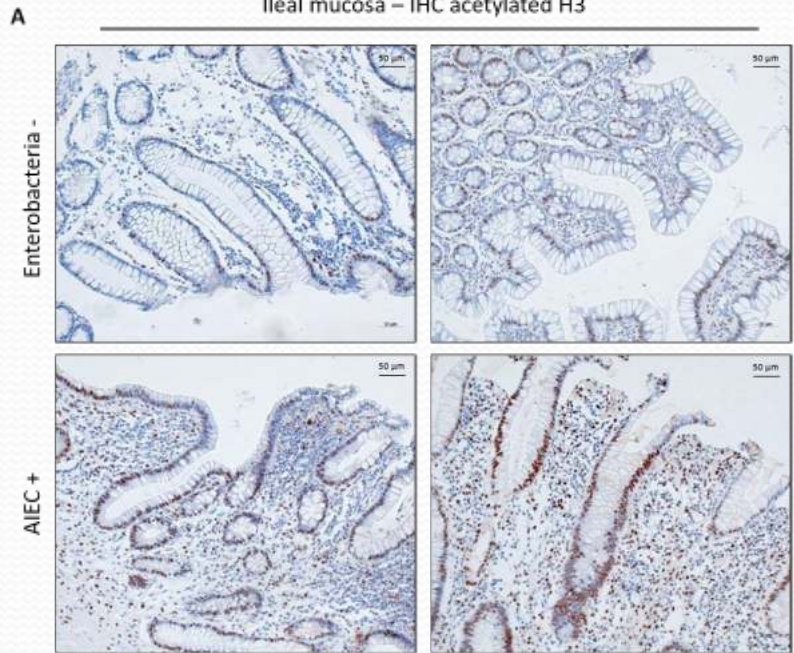
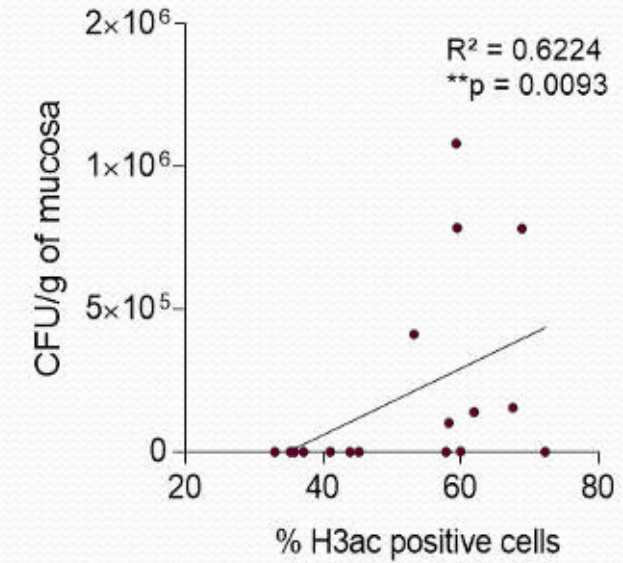
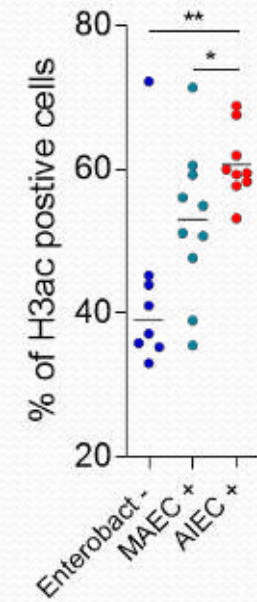
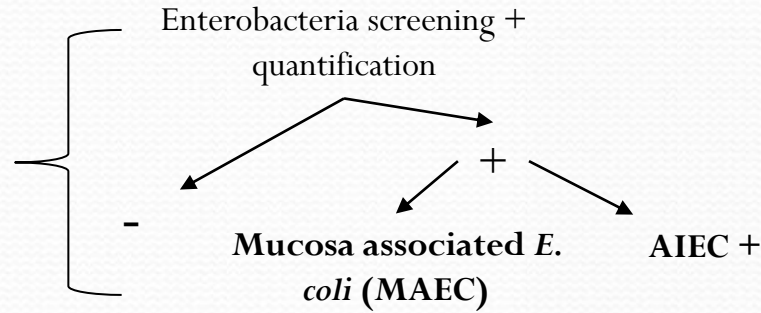


M6 (n=109)

Existe-t-il un lien entre la colonisation par les AIEC et le statut d'acétylation des histones chez les patients atteints de la MC ?



IHC H3 Acetyl



- Les patients atteints de la MC AIEC+ présentent une hyperacétylation de H3 dans les cellules épithéliales intestinales.
- L'acétylation de H3 est en corrélation positive avec la charge en entérobactéries associée à leur iléon.

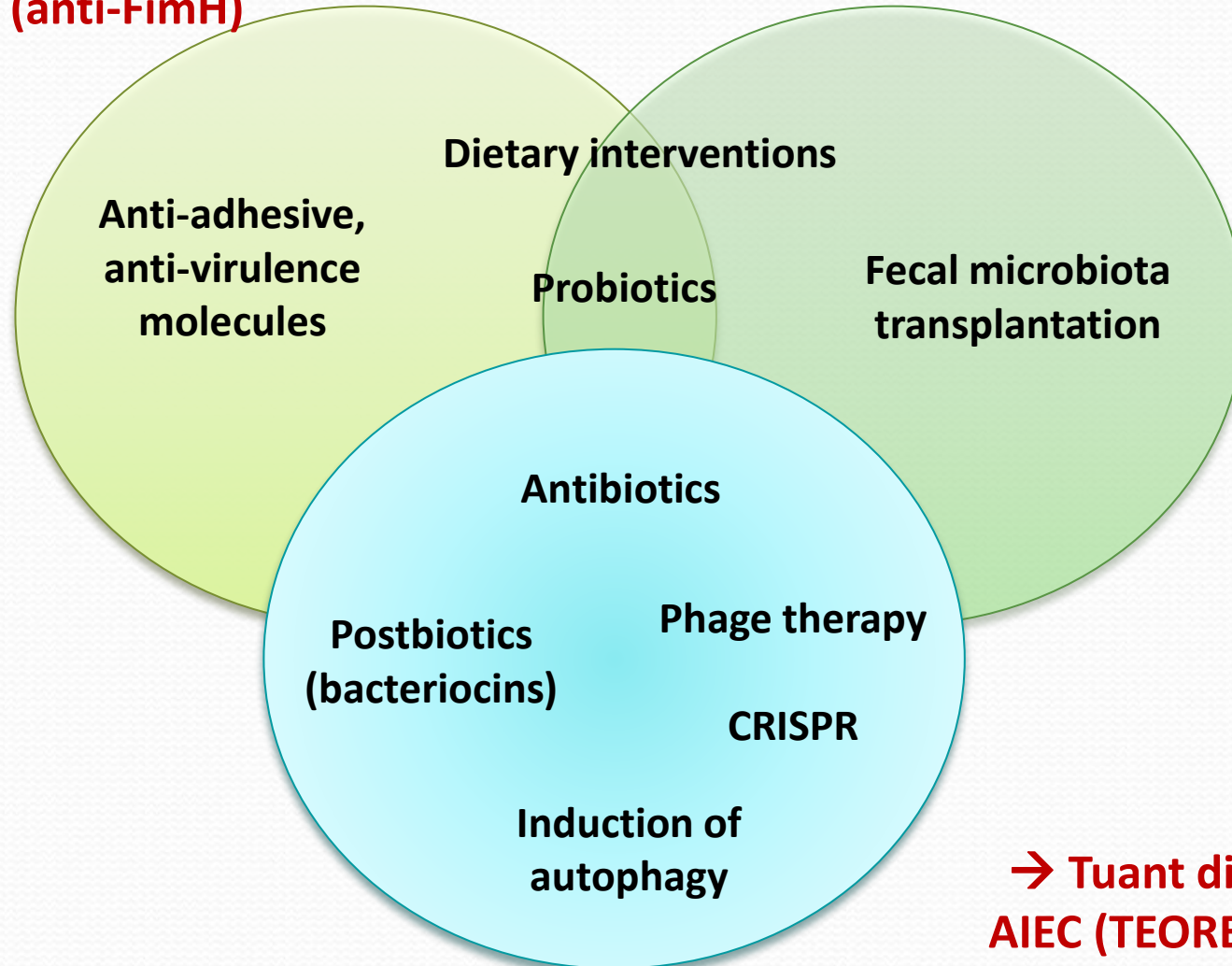
L'hyperacétylation de H3 favorise-t-elle la colonisation par les AIEC ? Rôle des HDAC ?

Conclusion

- Les **AIEC** sont **associés** aux **stades précoces des lésions iléales** de MC
- La **colonisation à M0 et/ou M6** par les AIEC est associée à une **augmentation du risque de RPO endoscopique** à 6 mois
- La **colonisation de la pièce opératoire** est un **facteur de risque de RPO endoscopique**
- La **colonisation iléale par les AIEC** est associée à une **signature spécifique du microbiote** (*Ruminococcus gnavus*+++) et à une **modification de marques épigénétiques**
- Nos données **renforcent** les initiatives en cours concernant les **essais cliniques ciblant les AIEC pour traiter la MC.**

AIEC : pathobionte à cibler ?

→ Agissant sur virulence des AIEC (anti-FimH)



→ Modulant composition du microbiote (TMF)

**Microbiote et AIEC :
témoins ou acteurs ?**



**Modèles animaux :
Rôle au moins contribuant**



**Résultats des premiers
essais cliniques ??**

→ Tuant directement les AIEC (TEOREM, ECOActive)

ReMind

- **REMIND Study Group Investigators:** Saint-Louis, Paris: Pierre Cattan, Mircea Chirica, Nicolas Munoz-Bongrand, Hélène Corte, Jean-Marc Gornet, Clotilde Baudry, Nelson Lourenco, Mariane Maillet, My-Linh Tran-Minh, Andrée Nisard; Saint-Antoine, Paris: Laurent Beaugerie, Anne Bourrier, Isabelle Nion-Larmurier, Cecilia Landman, Julien Kirchgesner, , Xavier Dray, Ulrika Chaput, Marine Camus, Philippe Marteau, Loic Brot, Najim Chafai, Jeremie H. Lefevre, Clotilde Debove, Yann Parc, Magali Svreck, Nadia Hoyau-Idrissi; Beaujon, Clichy: Nathalie Guedj, Yves Panis, Leon Maggiorri, Mariane Ferron, Yoram Bouhnik, Olivier Corcos;; Clermont-Ferrand: Gilles Bommelaer, Marion Goutte, Anne Dubois, Caroline Chevarin, Marie Dodel, Dilek Coban; Lille: Pierre Desreumaux, Philippe Zerbib, Coralie Sommeville, Virginie Suffys; Amiens: Jean-Louis Dupas, Franck Brazier, Clara Yzet, Denis Chatelain, Christophe Attencourt, Charles Sabbagh, Martine Leconte; Lyon: Bernard Flouri e, Yves François, Eddy Cotte, Anne-Laure Charlois, Peggy Falgon, Driffa Moussata, Marion Chauvenet, Sarah Boyer; Nice: Jérome Filippi, Paul Hofmann; REMIND: Carole Margalef, Patricia Detre.



MSD, Association François Aupetit, Helmsley Charitable Trust, Takeda...

Ministère de la Recherche et de la Technologie; Inserm (UMR 1071); INRAE (USC-2018), projet IDEX-I-SITE 16-IDEX-0001 (CAP 20-25),

Université Clermont Auvergne; Programmme "Microbiote" de l'Inserm



3 et 4 novembre 2023 25 ans des AIEC, New York



1998



Presence of Adherent *Escherichia coli* Strains in Ileal Mucosa of Patients With Crohn's Disease

ARLETTE DARFEUILLE-MICHAUD,* CHRISTEL NEUT,† NICOLAS BARNICH,* EMMANUEL LEDERMAN,§ PATRICK DI MARTINO,* PIERRE DESREUMAUX,§ LUC GAMBIEZ,|| BERNARD JOLY,* ANTOINE CORTOT,§ and JEAN-FRÉDÉRIC COLOMBEL§

*Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, Clermont-Ferrand; †Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, Lille; §Laboratoire de Recherche sur les Maladies Inflammatoires de l'Intestin, Centre Hospitalier Universitaire, Lille; and ||Service de Chirurgie Adulte Ouest, Hôpital Huriez, Centre Hospitalier Universitaire Lille, France



Adherent Invasive *E. coli* (AIEC):
Past, Present and Future
New York City, November 3rd and 4th 2023

Friday, November 3rd. 9am-5pm

Welcome

Session 1: What are AIEC?

- AIEC: the beginning (15min)
- AIEC where are we now?
 - Phylogeny, clonality, *E. coli* pangenome (20min)
 - Adhesion and invasion of epithelial cells (20min)

Posters / break 10-11 am

- Survival and replication in macrophages (20min)
- Re-defining AIEC for the future: panel discussion/working group consensus (30 min)

Lunch noon-1pm

Session 2 : AIEC in IBD: epidemiology, risk factors, natural history of AIEC in CD, progression to cancer

- Who does AIEC Colonize?: Epidemiology- including IBD phenotype and genotype and sample type (mucosa vs stool etc) (30mins?)
- Clinical implications of AIEC: disease / severity/ outcome/recurrence (30 mins)
- Cancer: ?UC to CRC / other : ?patient and AIEC factors-e.g. AIEC cytolomodulins - (30 mins?)

Posters / break 2.30pm-3.30pm

Session 3: Intestinal colonization and overgrowth

- When do AIEC colonize and where do they live ? neonatal and paediatric (30 mins)
- Impact of the luminal environment on AIEC colonization and growth: microbiome and metabolome /hypoxia (30 mins)
- Diet and AIEC colonization proliferation (30 mins)

25th Anniversary Dinner :7pm

Saturday, November 4th. 8.30-noon

Session 4: How do AIEC induce intestinal inflammation? (in vivo/ex-vivo, AIEC: host?)

- Mucosal interactions: epithelium, Peyer's patches, dendritic cells (adhesion, Invasion, TLR/NFkB,AP-1) (30 mins)
- Exploiting CD defects to persist in macrophages / granulomas : autophagy/killing/ERstress/ mitochondrial stress (30 mins)
- Linking AIEC metabolism to immunity (symbiosis and disease) (30 mins)

Posters / break 10-10.50

Session 5: Opportunities for therapeutic intervention.

- Bacteriophage (20min)
- Blocking epithelial adhesion and invasion (20 min)
- Small molecules vs. AIEC growth and metabolism (20 min)
- Reducing active inflammation: anti-TNF, diet / ? Transfaunation (20 mins)

Farewell reception 12.30-1.30

