Avis de Soutenance

Madame Linda ABOU CHACRA

Biologie-Santé - Spécialité Maladies Infectieuses

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

Microbiote vaginal, de la flore normale à la dysbiose : Caractérisations, diagnostics et impacts

dirigés par Madame Florence FENOLLAR

Thèse soutenue le ***vendredi 08 décembre 2023*** à 12h00
Lieu : 19-21 Bd Jean Moulin, 13005 Marseille
Salle : 8

Composition du jury proposé

Mme Florence FENOLLAR	Aix Marseille Université	Directrice de thèse
M. jean-christophe LAGIER	Aix Marseille Université	Président
Mme Virginie MOLLE	Université de Montpellier	Rapporteure
M. Eid AZAR	Hôpital Saint Georges-CHU	Rapporteur

Mots-clés : Vagin,Flore normale,Dysbiose,,

Résumé :

Le microbiote vaginal a pendant longtemps était considéré comme composé majoritairement par les lactobacilles, bactéries acidophiles protectrices maintenant l'équilibre et la santé du système reproducteur féminin ; le microbiote endométrial était lui considéré comme quasi-stérile. Les progrès technologiques récents ont suscité un intérêt croissant pour l'étude des microbiotes montrant que ces considérations étaient trop simplistes. La vaginose bactérienne (VB) est une dysbiose caractérisée par une diminution des lactobacilles et une augmentation de la diversité bactérienne. Sa prévalence varie (allant de 4% à 50%) selon la population étudiée et la sexualité. Sa pathogénèse demeure mal comprise. Les patientes peuvent être asymptomatiques ou présentées des écoulements malodorants. Outre ces désagréments, la VB aurait un impact sur la santé reproductive. Les taux de rechute sont élevés malgré un traitement antibiotique. Les stratégies diagnostiques de la VB sont hétérogènes. Nos travaux ont montré qu'il n'était pas possible de se baser sur la présence d'écoulements vaginaux et l'augmentation du pH vaginal ou sur les critères de type Amsel pour établir un diagnostic de VB par manque de spécificité. Le score de Nugent basée sur la coloration de Gram peut être une alternative diagnostique peu onéreuse, mais une partie de la flore vaginale est inclassable. L'outil moléculaire ciblant la quantification de Fannyhessea vaginae et Gardnerella vaginalis s'est avéré être le meilleur outil diagnostique, ses principales limites étant son coût et sa disponibilité. La spectrométrie de masse MALDI-TOF, utilisée pour la première fois, semble être une stratégie intéressante à explorer. L'origine de la VB est inconnue. Nos travaux montrent une corrélation entre la VB et les infections sexuellement transmissibles (IST) avec une augmentation significative des IST chez les patientes avec une VB. Il semble donc exister un lien

entre VB et rapports sexuels. La plupart des données sur le microbiote féminin ont été obtenues par métagénomique. Nous avons voulu enrichir nos connaissances sur ce dernier par culturomique. L'analyse d'un prélèvement de flore vaginale normale avec 35 conditions de cultures différentes a révélé que le microbiote vaginal était riche, allant au-delà de la simple dominance des lactobacilles et en abritant une grande richesse bactérienne, avec 206 bactéries isolées, dont une nouvelle espèce (Porphyromonas vaginalis sp. nov.). En se basant sur ce travail, nous avons sélectionné les quatre meilleures conditions afin de réaliser une caractérisation des microbiote vaginal et endométrial, notamment, chez des femmes souffrant de fausses couches récurrentes, d'échecs de FIV et de succès de FIV. Notre approche couplant culturomique/métagénomique a mis en évidence une richesse bactérienne accrue au niveau du vagin et de l'endomètre chez les patientes présentant des fausses couches récurrentes et des échecs de FIV, avec notamment une augmentation d'espèces telles que G. vaginalis, F. vaginae et de procaryotes sensibles à l'oxygène. Nos travaux de culturomique ont aussi permis d'enrichir nos connaissances sur le microbiote grâce à l'isolement de trois nouvelles espèces bactériennes, Anaerococcus ihuae sp. nov., Peptoniphilus genitalis sp. nov., Mobiluncus massiliensis sp. nov. et un nouveau genre, Mediannikoviicoccus vaginalis gen. nov., sp. nov, du microbiote vaginal ainsi qu'une nouvelle espèce, Cellulomonas endometrii sp. nov., du microbiote endométrial. Nos travaux de thèse ont permis de proposer un diagnostic rationnel et fiable de la VB, de confirmer le lien entre VB et IST, de souligner la richesse du microbiote vaginal et du microbiote endométrial avec un impact de ces derniers sur la reproduction, et d'enrichir le répertoire des bactéries humaines, soulignant l'importance de la culturomique. Mots clés : Microbiote vaginal, Microbiote endométrial, Vaginose bactérienne, Culturomique, Métagenomique

LE DOYEN

Georges LEONETTI

Résumé

Le microbiote vaginal a pendant longtemps était considéré comme composé majoritairement par les lactobacilles, bactéries acidophiles protectrices maintenant l'équilibre et la santé du système reproducteur féminin ; le microbiote endométrial était lui considéré comme quasi-stérile. Les progrès technologiques récents ont suscité un intérêt croissant pour l'étude des microbiotes montrant que ces considérations étaient trop simplistes.

La vaginose bactérienne (VB) est une dysbiose caractérisée par une diminution des lactobacilles et une augmentation de la diversité bactérienne. Sa prévalence varie (allant de 4% à 50%) selon la population étudiée et la sexualité. Sa pathogénèse demeure mal comprise. Les patientes peuvent être asymptomatiques ou présentées des écoulements malodorants. Outre ces désagréments, la VB aurait un impact sur la santé reproductive. Les taux de rechute sont élevés malgré un traitement antibiotique. Les stratégies diagnostiques de la VB sont hétérogènes. Nos travaux ont montré qu'il n'était pas possible de se baser sur la présence d'écoulements vaginaux et l'augmentation du pH vaginal ou sur les critères de type Amsel pour établir un diagnostic de VB par manque de spécificité. Le score de Nugent basée sur la coloration de Gram peut être une alternative diagnostique peu onéreuse, mais une partie de la flore vaginale est inclassable. L'outil moléculaire ciblant la quantification de *Fannyhessea vaginae* et *Gardnerella vaginalis* s'est avéré être le meilleur outil diagnostique, ses principales limites étant son coût et sa disponibilité. La spectrométrie de masse MALDI-TOF, utilisée pour la première fois, semble être une stratégie intéressante à explorer. L'origine de la VB est inconnue. Nos travaux montrent une corrélation entre la VB et les infections sexuellement transmissibles (IST) avec une augmentation significative des IST chez les patientes avec une VB. Il semble donc exister un lien entre VB et rapports sexuels.

La plupart des données sur le microbiote féminin ont été obtenues par métagénomique. Nous avons voulu enrichir nos connaissances sur ce dernier par culturomique. L'analyse d'un prélèvement de flore vaginale normale avec 35 conditions de cultures différentes a révélé que le microbiote vaginal était riche, allant au-delà de la simple dominance des lactobacilles et en abritant une grande richesse bactérienne, avec 206 bactéries isolées, dont une nouvelle espèce (*Porphyromonas vaginalis* sp. nov.). En se basant sur ce travail, nous avons sélectionné les quatre meilleures conditions afin de réaliser une caractérisation des microbiote vaginal et endométrial, notamment, chez des femmes souffrant de fausses couches récurrentes, d'échecs de FIV et de succès de FIV. Notre approche couplant culturomique/métagénomique a mis en évidence une richesse bactérienne accrue au niveau du vagin et de l'endomètre chez les patientes présentant des fausses couches récurrentes et des échecs de FIV, avec notamment une augmentation d'espèces telles que *G. vaginalis*, *F. vaginae* et de procaryotes sensibles à l'oxygène. Nos travaux de culturomique ont aussi permis d'enrichir nos connaissances sur le microbiote grâce à l'isolement de trois nouvelles espèces bactériennes, *Anaerococcus ihuae* sp. nov., *Peptoniphilus genitalis* sp. nov., *Mobiluncus massiliensis* sp. nov. et un nouveau genre, *Mediannikoviicoccus vaginalis* gen. nov., sp. nov, du microbiote vaginal ainsi qu'une nouvelle espèce, *Cellulomonas endometrii* sp. nov., du microbiote endométrial.

Nos travaux de thèse ont permis de proposer un diagnostic rationnel et fiable de la VB, de confirmer le lien entre VB et IST, de souligner la richesse du microbiote vaginal et du microbiote endométrial avec un impact de ces derniers sur la reproduction, et d'enrichir le répertoire des bactéries humaines, soulignant l'importance de la culturomique.

Mots clés : Microbiote vaginal, Microbiote endométrial, Vaginose bactérienne, Culturomique, Métagenomique

Abstract

For a long time, the vaginal microbiota was considered to be composed mainly of lactobacilli, acidophilic bacteria that maintain the balance and health of the female reproductive system, while the endometrial microbiota was considered to be almost sterile. Recent technological advances have sparked growing interest in the study of microbiota, showing that these considerations were too simplistic.

Bacterial vaginosis (BV) is a dysbiosis characterized by a decrease in lactobacilli and an increase in bacterial diversity. Its prevalence varies (from 4% to 50%) depending on the population studied and sexuality. Its pathogenesis remains poorly understood. Patients may be asymptomatic or present with foul-smelling discharge. In addition to these inconveniences, BV is thought to have an impact on reproductive health. Relapse rates are high despite antibiotic treatment. Diagnostic strategies for BV are heterogeneous. Our work has shown that it is not possible to base a diagnosis of BV on the presence of vaginal discharge and increased vaginal pH, or on Amsel-type criteria, due to lack of specificity. The Nugent score based on Gram staining may be an inexpensive diagnostic alternative, but part of the vaginal flora is unclassifiable. The molecular tool targeting quantification of *Fannyhessea vaginae* and *Gardnerella vaginalis* proved to be the best diagnostic tool, its main limitations being cost and availability. MALDI-TOF mass spectrometry, used for the first time, seems an interesting strategy to explore. The origin of BV is unknown. Our work shows a correlation between BV and sexually transmitted infections (STIs), with a significant increase in STIs in patients with BV. There therefore appears to be a link between BV and sexual intercourse.

Most data on the female microbiota have been obtained using metagenomics. We wanted to enrich our knowledge of this microbiota by culturomics. Analysis of a single sample of normal vaginal flora with 35 different culture conditions revealed that the vaginal microbiota was rich, going beyond the simple dominance of lactobacilli and harboring great bacterial richness, with 206 bacteria isolated, including one new species (*Porphyromonas vaginalis* sp. nov.). Based on this work, we selected the four best conditions to characterize vaginal and endometrial microbiota, in particular, in women suffering from recurrent miscarriage, IVF failure and IVF success. Our combined culturomics/metagenomics approach revealed increased bacterial richness in the vagina and endometrium of patients with recurrent miscarriages and IVF failures, including an increase in species such as *G. vaginalis, F. vaginae* and oxygen-sensitive prokaryotes.

Our culturomics work has also enriched our knowledge of the microbiota with the isolation of three new bacterial species, *Anaerococcus ihuae* sp. nov., *Peptoniphilus genitalis* sp. nov, M*obiluncus massiliensis* sp. nov. and a new genus, *Mediannikoviicoccus vaginalis* gen. nov. sp. nov, from the vaginal microbiota and a new species, *Cellulomonas endometrii* sp. nov. from the endometrial microbiota.

Our thesis work enabled us to propose a rational and reliable diagnosis of BV, to confirm the link between BV and STIs, to highlight the richness of the vaginal and endometrial microbiota, with their impact on reproduction, and to enrich the repertoire of human bacteria, underlining the importance of culturomics.

Keywords : Vaginal microbiota, Endometrial microbiota, Bacterial vaginosis, Culturomics, Metagenomics