



Les Biologistes
Médicaux

BIO MED · **2021**
LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA BIOLOGIE MÉDICALE

16 & 17 septembre - ASIEM, Paris

www.congres-biomedj.fr

Microbiome vaginal : applications pratiques

Le point de vue du clinicien

Dr Jean-Marc BOHBOT Institut FOURNIER PARIS

- Inconfort vaginal: sécheresse, dyspareunie...
- Risque d'infections:

Candidose



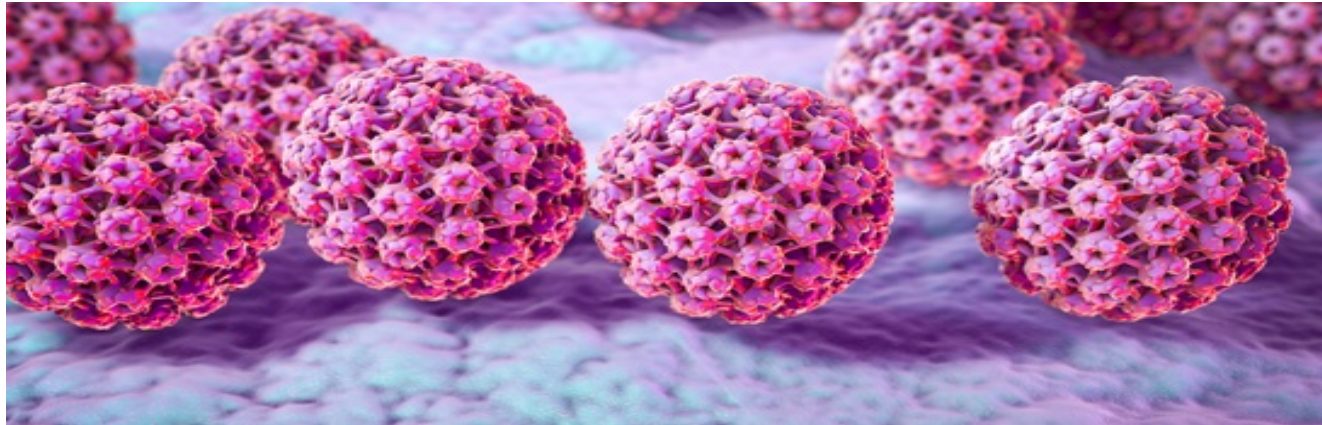
Infection urinaire



Vaginose



DYSBIOSE ET INFECTION HPV



Microbiome vaginal et HPV



- Clearance HPV plus tardive en cas de dysbiose vaginale¹
- *L. gasseri* : clearance plus rapide et progression plus lente des lésions cervicales²
- Vaginose bactérienne associée à plus grande sévérité des lésions cervicales³⁻⁴
- *L. crispatus* : action cyto-toxique vis-à-vis de cellules Hela cervicales infectées par HPV 18⁵
- *Gardnerella vaginalis* est associé à une progression plus fréquente et plus rapide vers un CIN II⁶

1. Kero K, et al Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017 Jul 5
2. Mitra A, et al The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome.* 2016;4:58.
3. de Castro-Sobrinho JM, et al Bacterial vaginosis and inflammatory response showed association with severity of cervical neoplasia in HPV-positive women. *Diagn Cytopathol.* 2016 Feb;44(2):80-6.
4. Mitra A, et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci Rep.* 2015;5:16865. doi: 10.1038/srep16865.
5. Motevaseli E, et al. Normal and tumour cervical cells respond differently to vaginal lactobacilli, independent of pH and lactate. *J Med Microbiol.* 2013;62(PART7):1065–1072.
6. Usyk M,, et al. Cervicovaginal microbiome and natural history of HPV in a longitudinal study. *PLoS Pathog.* 2020;16(3):e1008376. Published 2020 Mar 26.



Les Biologistes
Médicaux

BIO MED · j 2021
LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE
LA BIOLOGIE MÉDICALE

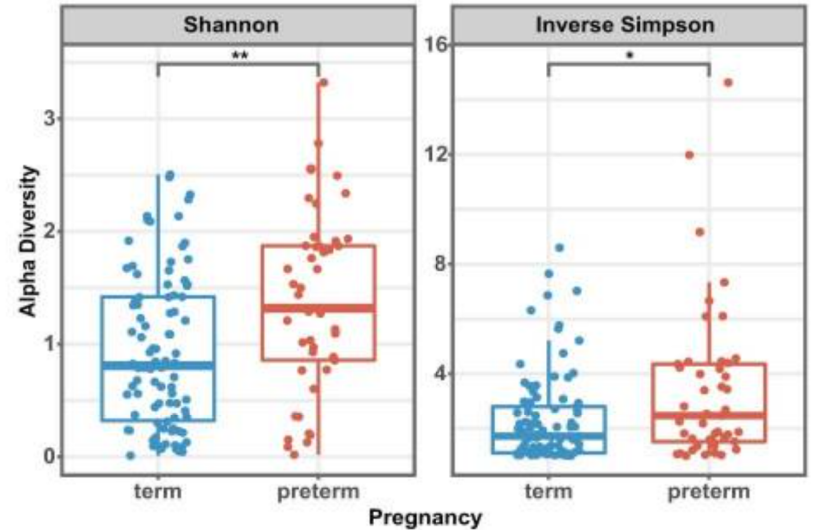


MICROBIOME VAGINAL ET GROSSESSE

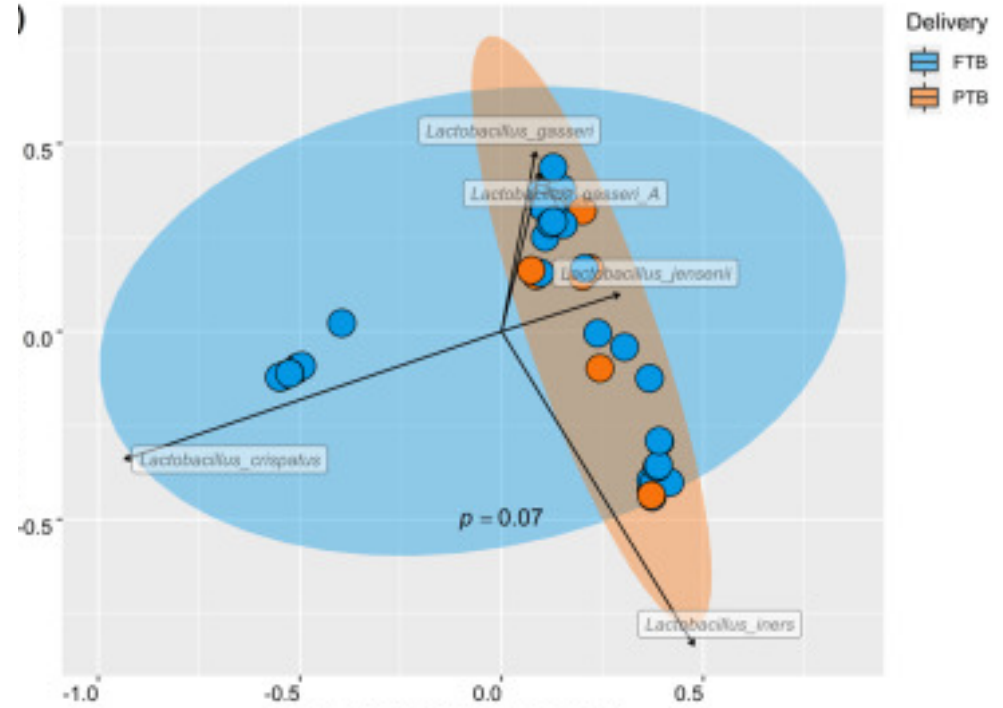
Microbiome vaginal et prématurité



- Etude faisant partie du Human Microbiome Project (12 000 échantillons de microbiotes)
- 45 femmes avec prématurité et 90 femmes avec naissance à terme
- Plus grande diversité du microbiome dans le 1^{er} groupe
- Diminution de la proportion de Lactobacilles et augmentation de la proportion de bactéries associées à la vaginose dans le 1^{er} groupe



- Etude par séquençage shotgun comparant le microbiome vaginal de femmes à haut-risque de prématurité et femmes à faible risque
- La présence de *Lactobacillus crispatus* est associée à des naissances à terme





Les Biologistes
Médicaux

BIO MED 2021
LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE
LA BIOLOGIE MÉDICALE

MICROBIOMES GÉNITAUX ET FIV



Microbiome endométrial (ME)



- Il semble acquis que la cavité utérine de femmes saines héberge un microbiome spécifique 100 à 10 000 fois moins riche que le vagin¹
- La faible biomasse de ce microbiome a fait discuter l'existence de bactéries vivantes au sein de ce microbiome
- Une étude récente semble confirmer que le microbiome endométrial est bien composé de bactéries vivantes et que sa composition évolue avec les phases du cycle menstruel

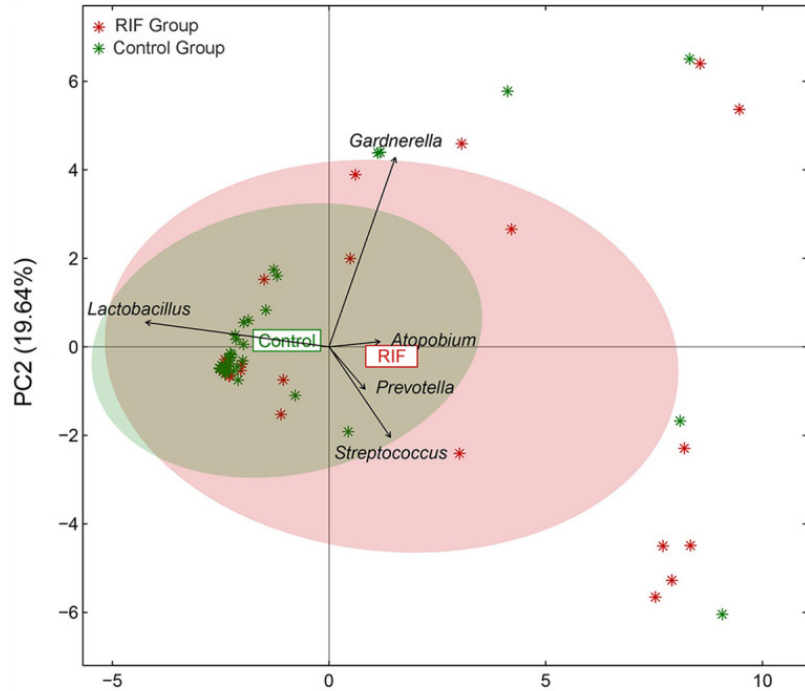
1. Fang R-L, et al *Barcoded sequencing reveals diverse intrauterine microbiomes in patients suffering with endometrial polyps. American Journal of Translational Research.* 2016;8(3):1581-1592.
2. Sola-Leyva A, et al. *Mapping the entire functionally active endometrial microbiota. Hum Reprod.* 2021 Mar 18;36(4):1021-1031. doi: 10.1093/humrep/deaa372. PMID: 33598714.



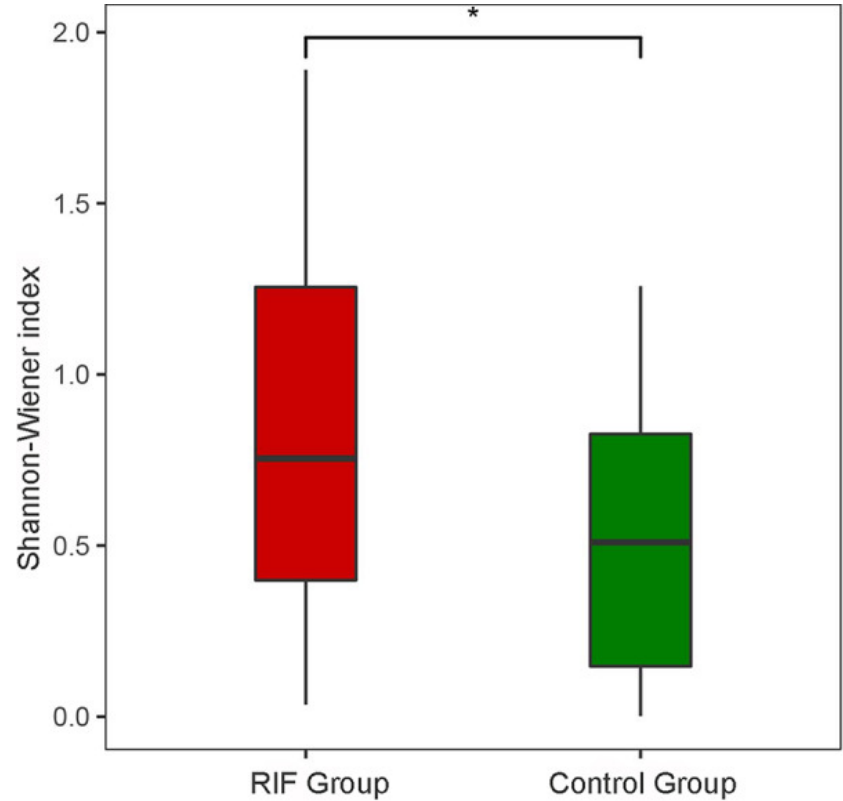
- La microbiologie classique ou les techniques « omiques » se heurtent à de nombreux écueils techniques pour évaluer le microbiome endométrial
- Face aux difficultés techniques de l'évaluation du microbiome de l'endomètre, des équipes ont étudié le rapport entre dysbiose vaginale et échecs d'implantation
- Des études¹⁻² ont montré que la diminution du nombre de lactobacilles vaginaux et l'augmentation de l' α diversité étaient prédictifs d'un faible risque d'implantation

1. Koedoodeer R, et al. *The vaginal microbiome as a predictor for outcome of in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection: a prospective study [published correction appears in Hum Reprod. 2019 Oct 2;34(10):2091-2092]. Hum Reprod. 2019;34(6):1042-1054.*
2. Fu M, et al *Alterations in Vaginal Microbiota and Associated Metabolome in Women with Recurrent Implantation Failure. mBio. 2020 Jun 2;11(3):e03242-19.*

Diversité du MV et échecs de FIV



Fu M, et al Alterations in Vaginal Microbiota and Associated Metabolome in Women with Recurrent Implantation Failure. *mBio*. 2020;11(3):e03242-19. Published 2020 Jun 2.



α -diversité du microbiote vaginal et échecs d'implantation récurrents



- La dysbiose vaginale peut induire une dysbiose endométriale en altérant la barrière cervicale
- Des études¹ ont montré que des bactéries comme *L. iners* ou *Gardnerella vaginalis* augmentaient la perméabilité cervicale alors que *L. crispatus* avait un effet protecteur
- Donc la recherche d'une dysbiose vaginale, même asymptomatique, peut être intéressante en cas d'échec de FIV

1. Anton L, Sierra LJ, DeVine A, et al. Common Cervicovaginal Microbial Supernatants Alter Cervical Epithelial Function: Mechanisms by Which *Lactobacillus crispatus* Contributes to Cervical Health. *Front Microbiol.* 2018;9:2181. Published 2018 Oct 8. doi:10.3389/fmicb.2018.02181

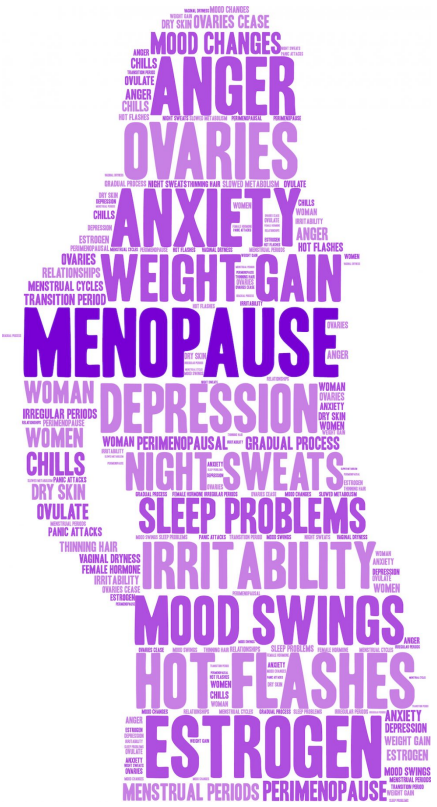


- Depuis la mise en évidence du ME, plusieurs auteurs l'ont impliqué dans des pathologies diverses¹ :
 - Endométrite chronique
 - Endométriose
 - Infertilité
 - Métrorragies
 - Cancer de l'endomètre...

1. Molina NM, et al New Opportunities for Endometrial Health by Modifying Uterine Microbial Composition: Present or Future? *Biomolecules*. 2020 Apr 11;10(4):593. doi: 10.3390/biom10040593. PMID: 32290428; PMCID: PMC7226034.



MICROBIOME VAGINAL ET SGUM





- Le syndrome génito-urinaire de la ménopause (SGUM) a été défini en 2014¹ en remplacement des dénominations : atrophie vulvo-vaginale, atrophie uro-génitale, vaginite atrophique...
- Le SGUM est lié à l'hypo-oestrogénie
- Le SGUM touche 40 à 60 % des femmes ménopausées² mais peut débuter en pré-ménopause

1. Portman DJ, Gass ML; Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and the North American Menopause Society. *Menopause* 2014; 21(10):1063–1068
2. Parish SJ, Nappi RE, Krychman ML, et al Impact of vulvovaginal health on postmenopausal women: a review of surveys on symptoms of vulvovaginal atrophy. *Int J Womens Health* 2013; 5:437–447.



- Les modifications du microbiome vaginal sont très variables d'une femme ménopausée à l'autre.
- Etude sur 88 femmes ménopausées¹ :
 - 58 % ont une présence de lactobacilles
 - 38 % ont un microbiote dominé par les lactobacilles
- Etude sur 67 femmes ménopausées² :
 - 55,2 % ont des lactobacilles > 50 % du microbiote total
 - Avec grande stabilité au cours du temps

1. Mitchell CM et al Vaginal microbiota and genitourinary menopausal symptoms: a cross-sectional analysis. *Menopause*. 2017 Oct;24(10):1160-1166

2. Shen J, et al. Effects of low dose estrogen therapy on the vaginal microbiomes of women with atrophic vaginitis. *Scientific Reports*. 2016;6:24380.

	CST I (crispatus)	CST II (gasseri)	CST III (iners)	CST IV A	CST IV B
ATROPHIE					
nulle	84 %	100 %	91,3 %	22,2 %	61,5 %
légère	12 %	0	8,7 %	33,3 %	30,8 %
modérée	4 %	0	0	44,4 %	7,7 %
SECHERESSE					
nulle	92 %	100 %	91,3 %	55,6 %	66,7 %
légère	4 %	0	8,7 %	0	33,3 %
modérée	4 %	0	0	44,4 %	0
sévère	0	0	0	0	0

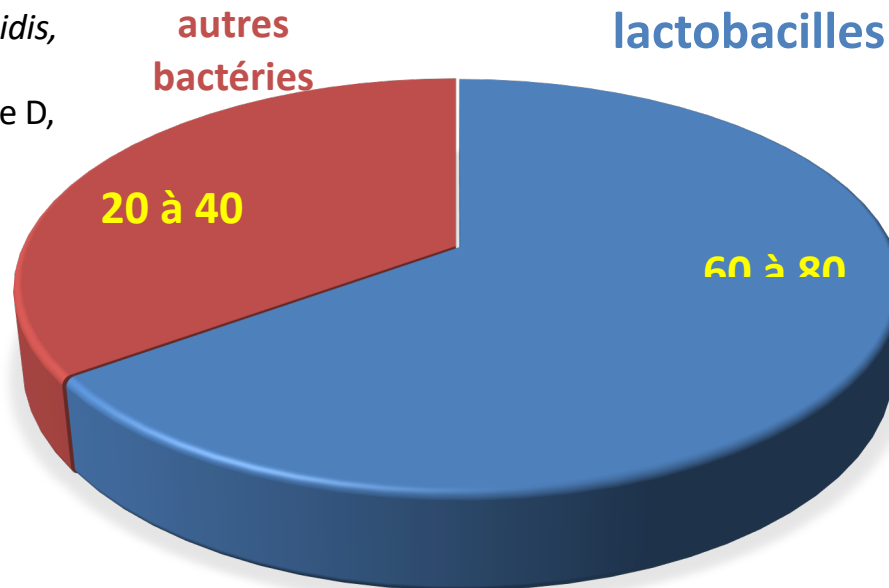


Evaluation du microbiome vaginal

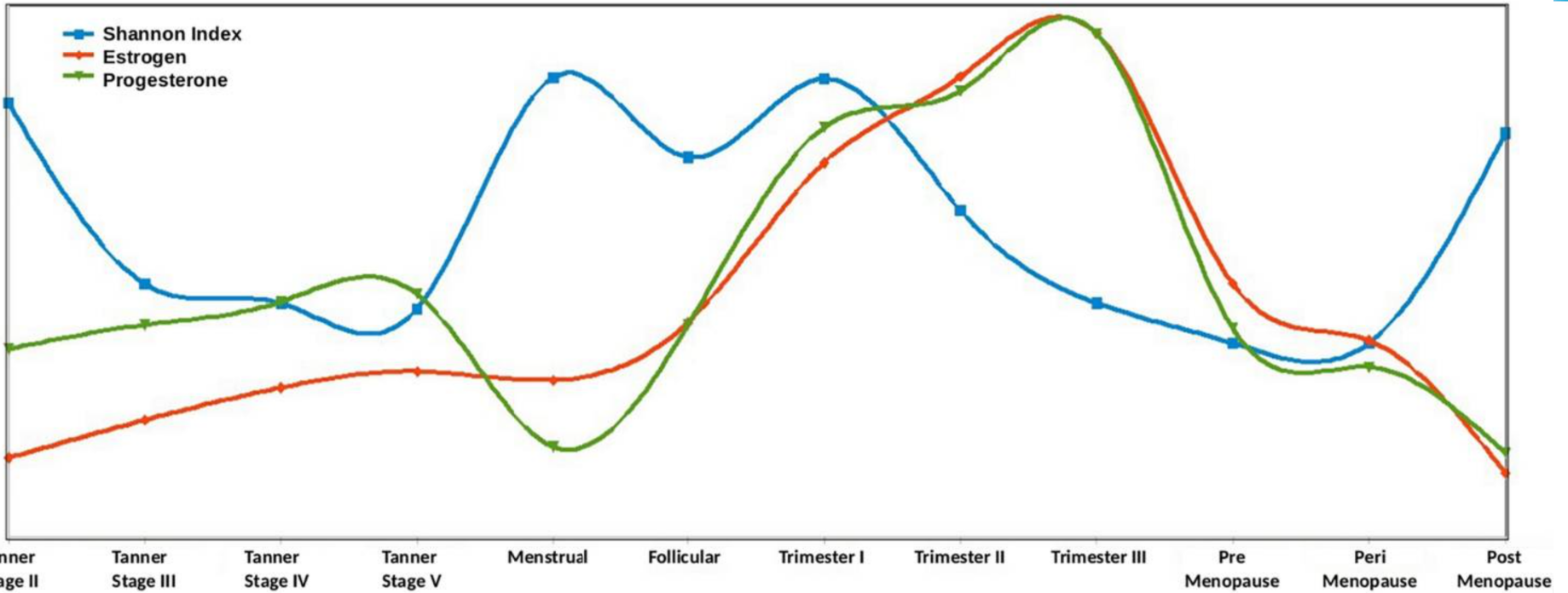
2 à 5 fois plus de germes anaérobies que de germes aérobies

Gardnerella vaginalis,
peptostreptococci,
Prevotella bivia,
disiens
autres *Prevotella*
spp,
Bacteroides spp,
Eubacterium spp

Staphylococcus epidermidis,
Staphylococcus aureus,
Streptococcus du groupe D,
Streptococcus β -hémol.
autres espèces
Streptocoques,
Escherichia coli,
Proteus,
Klebsiella...

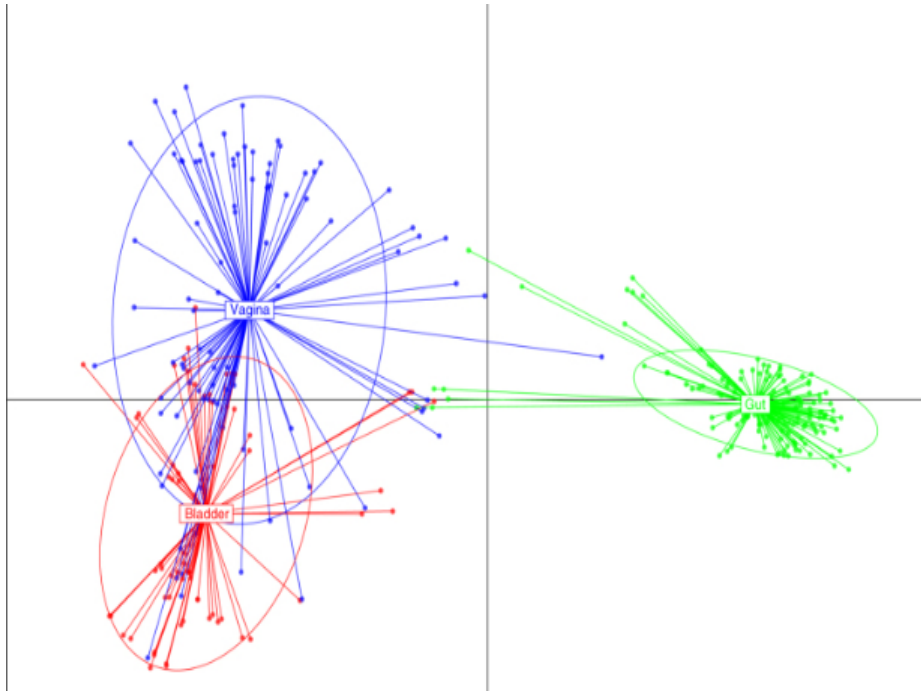


L. crispatus
L. gasseri
L. jensenii
L. iners
L. acidophilus
L. rhamnosus
L. helveticus
L. Plantarum
L. acidophilus
L. fermentum
L. reuteri
L. casei...

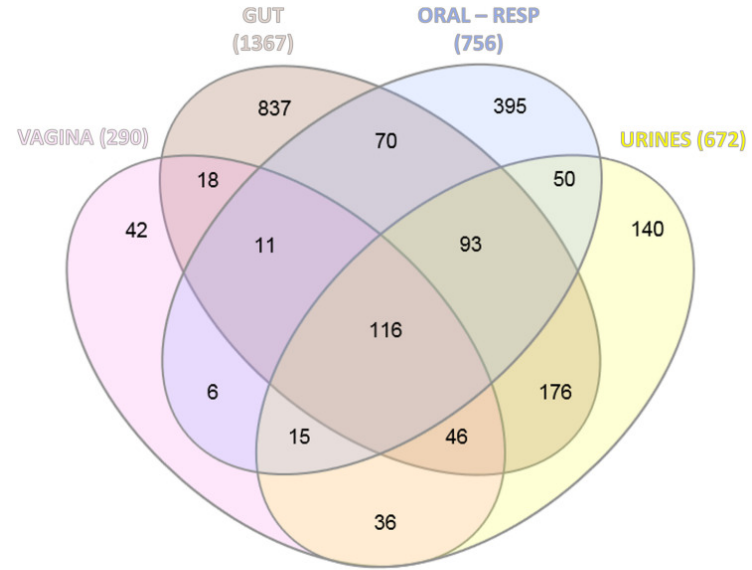


Le microbiome vaginal est peu diversifié, dynamique et résilient

Le Microbiome Vésical



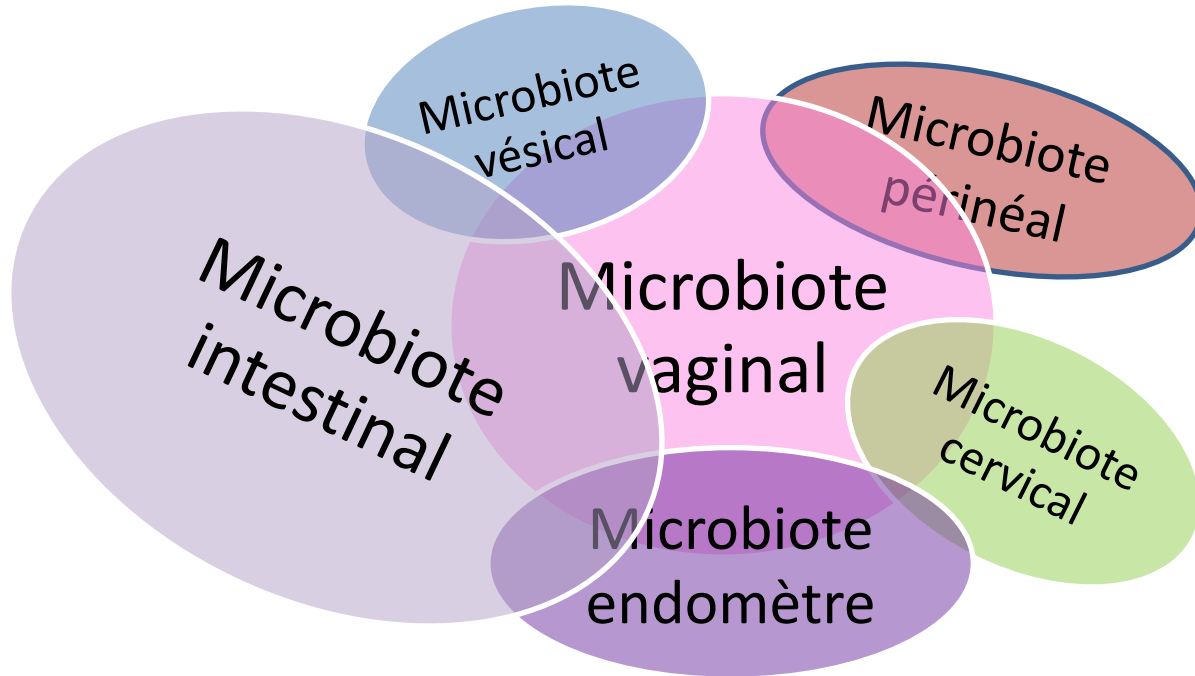
Thomas-White K et al Culturing of female bladder bacteria reveals an interconnected urogenital microbiota. *Nat Commun.* 2018 Apr 19;9(1):1557.



Species cultured from urines : 672

- Shared with gut : 431 (64.1%)
- Shared with vagina : 213 (31.7%)
- Shared with oral-respiratory tract : 276 (40%)

Dubourg G, et al Deciphering the Urinary Microbiota Repertoire by Culturomics Reveals Mostly Anaerobic Bacteria From the Gut. *Front Microbiol.* 2020 Oct 16;11:513305.



Score de Nugent



Sous score	Morphotype Lactobacillus	Morphotype Gardnerella vaginalis	Morphotype Mobiluncus spp
	Nb de bacilles Gram + par champ	Nb de petits bacilles Gram – ou gram + par champ	Nb de bacilles incurvés Gram variable par champ
0	>30	0	0
1	5-30	<1	1-5
2	1-4	1 -4	>5
3	<1	5-30	
4	0	>30	

0-3 : flore normale, 4-6 : flore intermédiaire, 7-10 : vaginose

Limites du Nugent



- 1^{er} écueil : cet examen est très observateur dépendant
- **Score de 7 à 10 :**
 - vaginose bactérienne symptomatique ou pas
 - Prise en charge classique : anti-infectieux +/- probiotiques (ou synbiotiques)
- **Score de 0 à 3 :**
 - Microbiote normal sauf si lacto « faux frères » (rare)
- **Score de 4 à 7 :**
 - Zone grise : priorité à la clinique
 - Si femme asymptomatique mais nécessitant un dépistage précis de la dysbiose, le score de Nugent n'est pas contributif



- Un nombre important de bactéries présentes dans le vagin ne sont pas cultivables
- L'attention se focalise donc sur certaines bactéries cultivables avec risque de traitement soit excessif soit inapproprié
- La décision du traitement peut se fonder sur l'association : présence bactérienne en quantité importante et réaction inflammatoire (polynucléaires nombreux);
 - Exemple : Strepto B +++ avec PN nombreux et altérés = antibiothérapie
StreptoB +++ sans PN = dysbiose
- Mais pour la majorité des flores dysbiosiques : pas de réaction inflammatoire

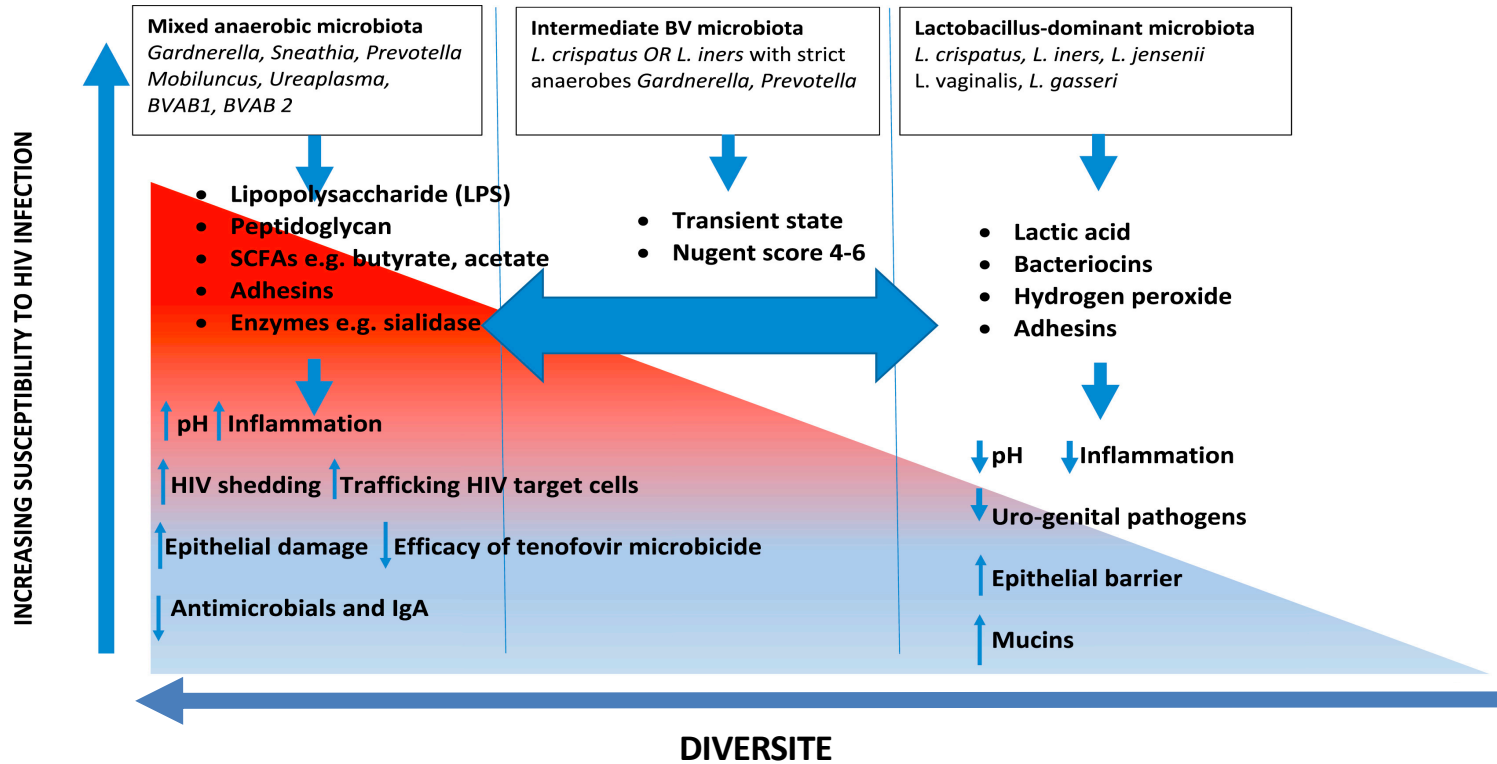


- Tests PCR « multi-cartes »
- Permettent la détection par PCR de bactéries peu ou pas cultivables mais aussi des levures
- Surtout utiles pour les IST et certaines bactéries associées à la VB
- Une étude sur 233 femmes¹ avec un Multiplex pouvant détecter jusqu'à 13 bactéries associées à la VB* a montré une sensibilité, spécificité et VPP de 100 % ainsi qu'une VPN de 97 %
- Certaines des bactéries non cultivables étaient les seules identifiées dans les sécrétions vaginales : optimisation du diagnostic de VB
- Cette technique ne permet cependant pas de quantifier le nombre de bactéries détectées

**Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus curtisii*, *Mobiluncus mulieris*, *Bacteroides fragilis*, *Mycoplasma hominis*, *Atopobium vaginae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Megasphaera type I*, BVAB 1, BVAB 2, BVAB 3, *Sneathia sanguinegens*, et *Mycoplasma genitalium*

1. Malaguti N, Bahls LD, Uchimura NS, Gimenes F, Consolaro ME. Sensitive Detection of Thirteen Bacterial Vaginosis-Associated Agents Using Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Biomed Res Int.* 2015;2015:645853. doi:10.1155/2015/645853

Diversité du MV et risque infectieux



Au total



- L'évaluation de la qualité du microbiome vaginal est de plus en plus utile dans nombre de situations cliniques
- Cette évaluation du microbiome vaginal repose encore généralement sur le score de Nugent
- Ce test connaît des limites et la priorité reste la clinique en cas de discordance clinico-biologique
- Les tests Multiplex seront plus (trop) sensibles et spécifiques mais avec un risque de sur-traitement
- L'évaluation de la diversité du microbiome est un bon indicateur de l'état de dysbiose