



# LES APPLICATIONS DES TECHNIQUES DE NGS (NEXT GENERATION SEQUENCING) EN INFECTIOLOGIE

Soirée Innovation en Infectiologie

Jeudi 9 décembre 2021, Nice

Dr HAIM-BOUKOBZA Stéphanie, responsable du pôle Infectiologie  
[stephanie.haim-boukobza@lab-cerba.com](mailto:stephanie.haim-boukobza@lab-cerba.com)

RAPPELS  
TECHNIQUES  
NGS

INVESTIGUER  
UNE ÉPIDÉMIE

ETUDIER LA  
RÉSISTANCE  
AUX AGENTS  
ANTI-  
INFECTIEUX

RECHERCHER  
LA PRÉSENCE  
D'UN  
PATHOGÈNE  
SOUS TOUTES  
SES FORMES

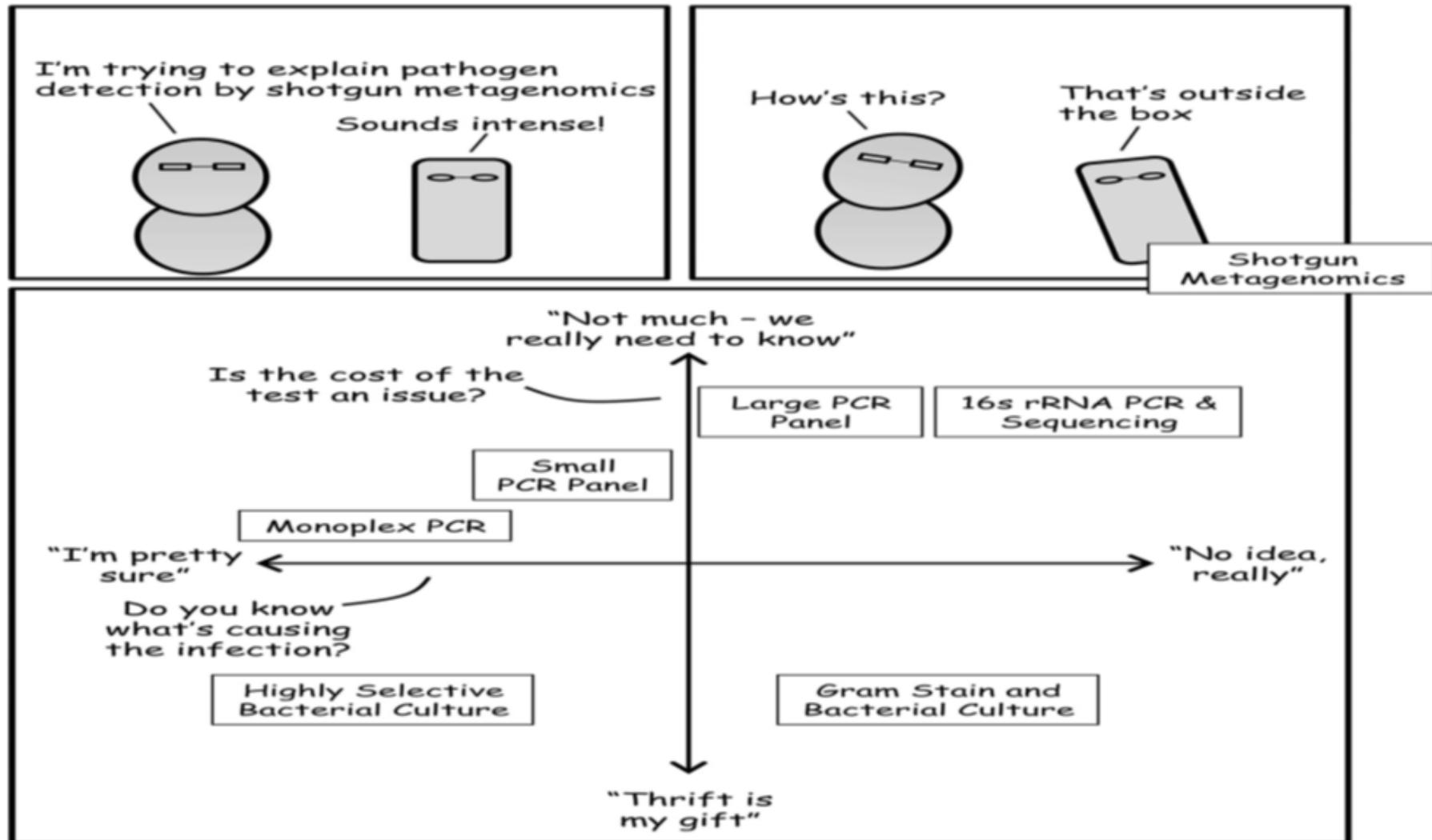
ETUDIER LES  
MICROBIOTES

RAPPELS  
TECHNIQUES  
NGS

# LES TECHNIQUES DIRECTES EN INFECTIOLOGIE: AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS

- **Les techniques microscopiques:** examens directs identification de la présence d'agents bactériens, fongiques et parasitaires, coût réduit, sensibilité médiocre.
- **Culture:** temps long, coût faible – agents bactériens, fongiques et certains virus, pas les parasites
- **Tests chromatographiques:** sensibilité/spécificité +/- , coût faible
- **Tests moléculaires:** PCR « monoplexes » spécificité et sensibilité, coût +/-
- **Panels multiplexes:** approches syndromiques, coût, temps de rendu++, permet le tri des patients, permet d'éliminer les négatifs (panel digestif), économie journées d'hospitalisation, ou baisse de la consommation des ATB.
- **Techniques de NGS:** coûts++, indications en cours, applications multiples.

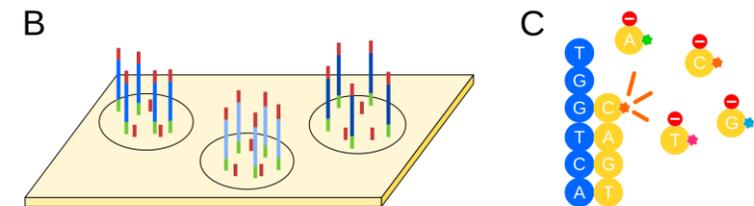
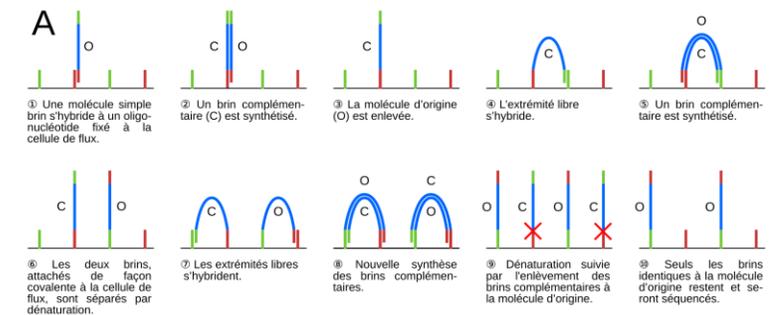
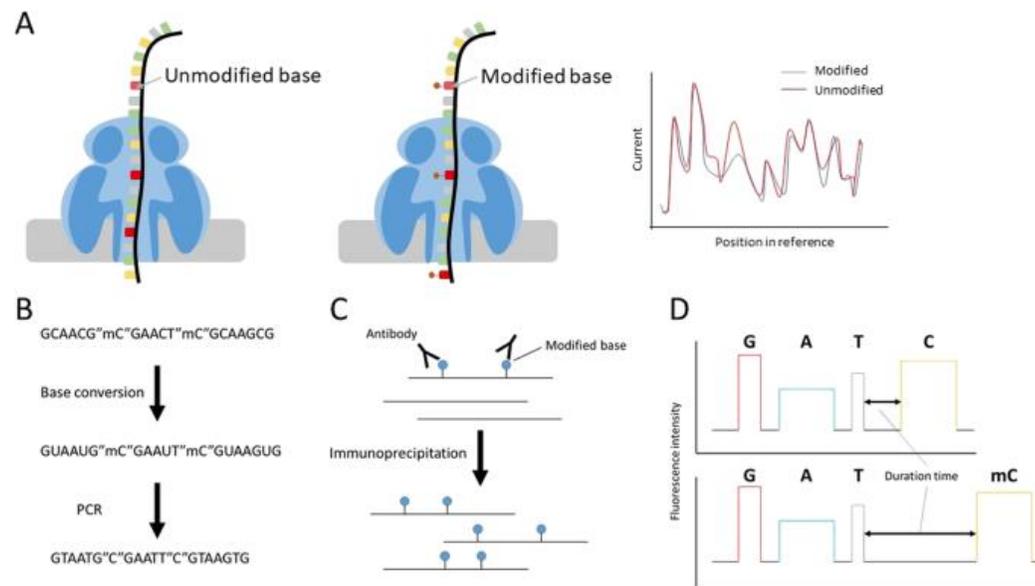
# QUELLE TECHNIQUE DE RECHERCHE DIRECTE CHOISIR ?



# RAPPELS: TECHNIQUES DE NGS - SÉQUENÇAGE :

Différentes techniques de séquençage:

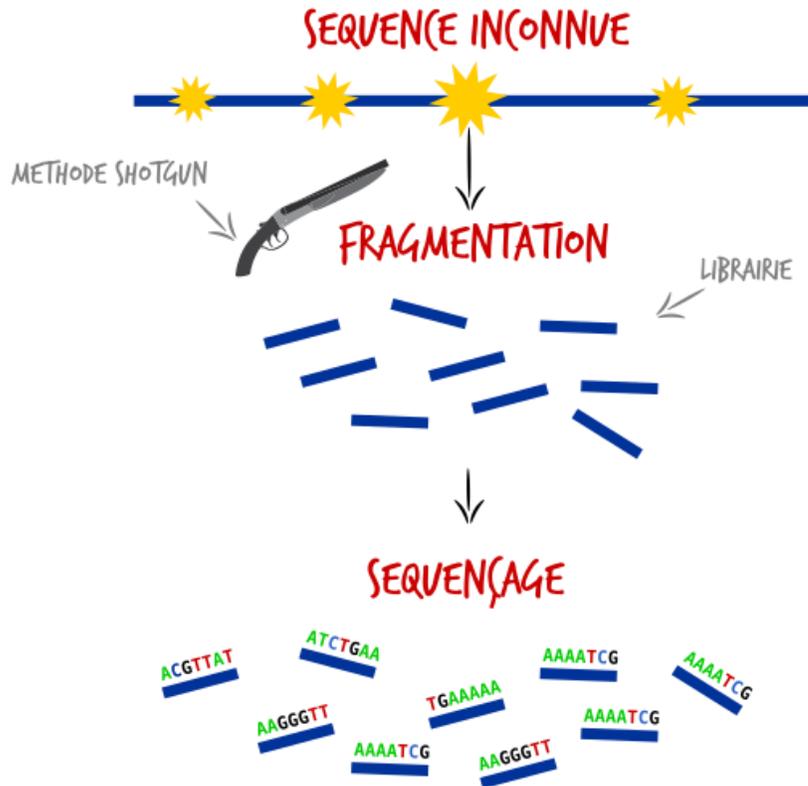
- Le séquençage par synthèse (Illumina).
- Le pyroséquençage (Roche 454).
- La ligation (SOLid Thermofisher).
- La détection des ions H<sup>+</sup> (Proton Thermofisher).



# RAPPELS: TECHNIQUES DE NGS - SHOTGUN

Plusieurs méthodes existent pour fragmenter l'ADN:

- Fragmentation par sonication
- Fragmentation enzymatique



<http://dridk.me/ngs.html>

↓

Séquençage dans un ordre aléatoire => analyse bioinformatique assemble les fragments génomiques par chevauchement des séquences communes.

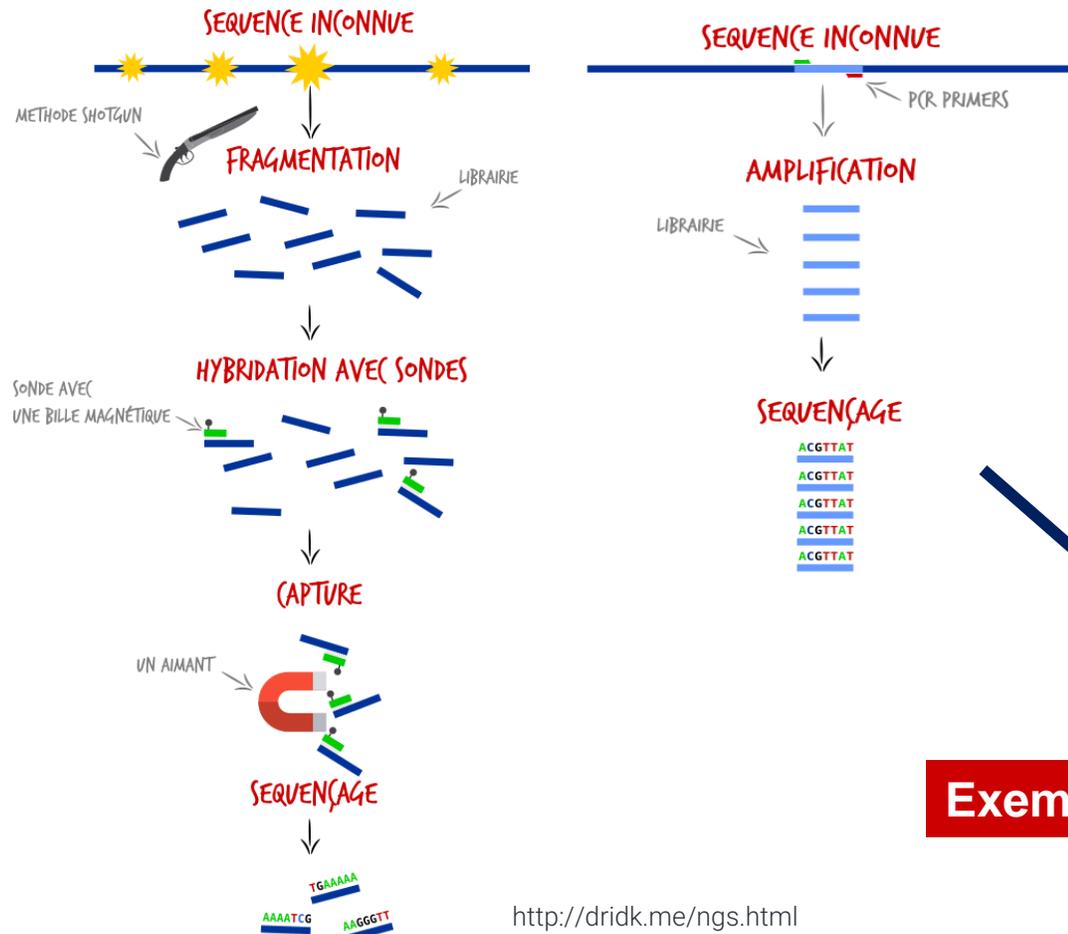
JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Sept. 2011, p. 3268–3275  
0095-1137/11/\$12.00 doi:10.1128/JCM.00850-11  
Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 49, No. 9

## Evaluation of High-Throughput Sequencing for Identifying Known and Unknown Viruses in Biological Samples<sup>†</sup>

Justine Cheval,<sup>1‡</sup> Virginie Sauvage,<sup>2</sup> Lionel Frangeul,<sup>3</sup> Laurent Dacheux,<sup>4</sup> Ghislaine Guigon,<sup>1</sup> Nicolas Dumey,<sup>5</sup> Kevin Pariente,<sup>2</sup> Claudine Rousseaux,<sup>2</sup> Fabien Dorange,<sup>5</sup> Nicolas Berthet,<sup>6</sup> Sylvain Brisse,<sup>1</sup> Ivan Moszer,<sup>3</sup> Hervé Bourhy,<sup>4</sup> Claude Jean Manuguerra,<sup>2</sup> Marc Lecuit,<sup>7</sup> Ana Burguiere,<sup>2</sup> Valérie Caro,<sup>1</sup> and Marc Eloit<sup>8,9\*</sup>

# RAPPELS: TECHNIQUES DE NGS – METHODE CIBLÉE



**On ne recherche que certains gènes:**  
-> enrichissement des libraires en sélectionnant fragments désirés (par capture ou par PCR)

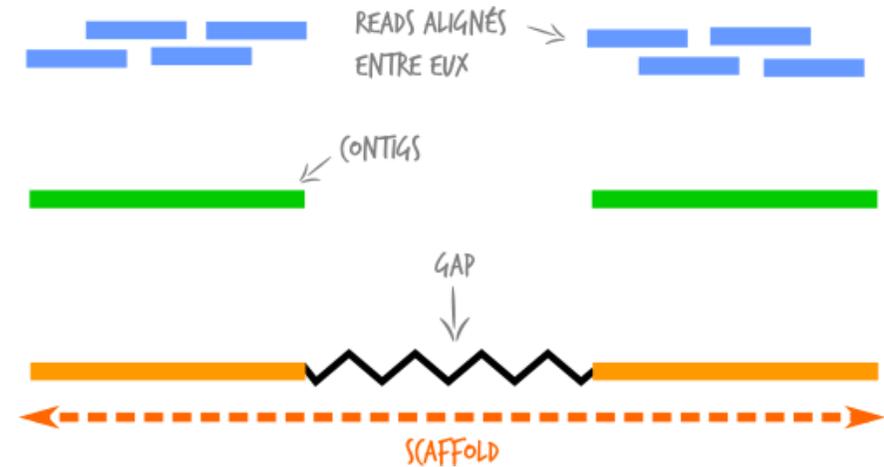
**Exemple: étude des microbiotes**

<http://dridk.me/ngs.html>

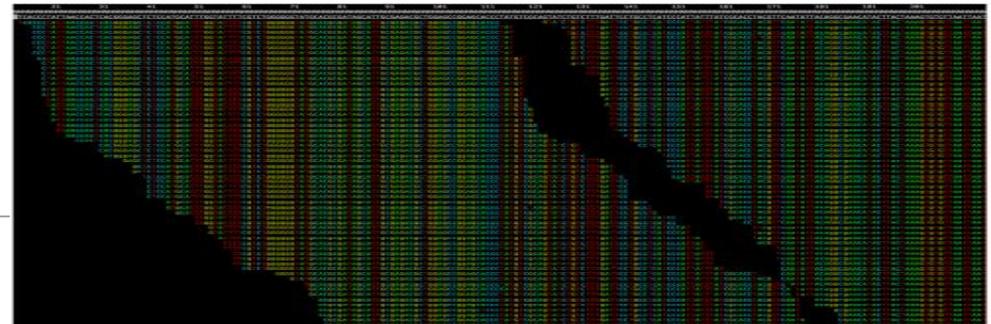
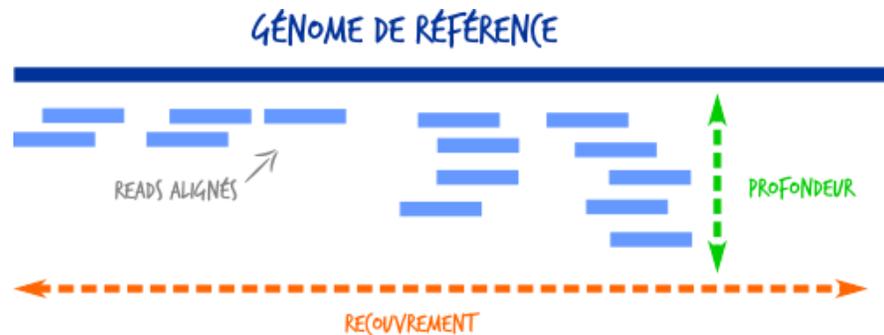
# ALIGNEMENTS DES SÉQUENCES

Alignement des séquences:

- **Assemblage de novo** : ADN chevauchants -> contig -> Scaffold = méthode employée pour reconstruire des génomes non connus.



- **Alignement avec référence**: reads alignés sur référence => Obtention d'un fichier BAM associant à chaque reads ses coordonnées génomiques.



RAPPELS  
TECHNIQUES  
NGS

INVESTIGUER  
UNE ÉPIDÉMIE

ETUDIER LA  
RÉSISTANCE  
AUX AGENTS  
ANTI-  
INFECTIEUX

RECHERCHER  
LA PRÉSENCE  
D'UN  
PATHOGÈNE  
SOUS TOUTES  
SES FORMES

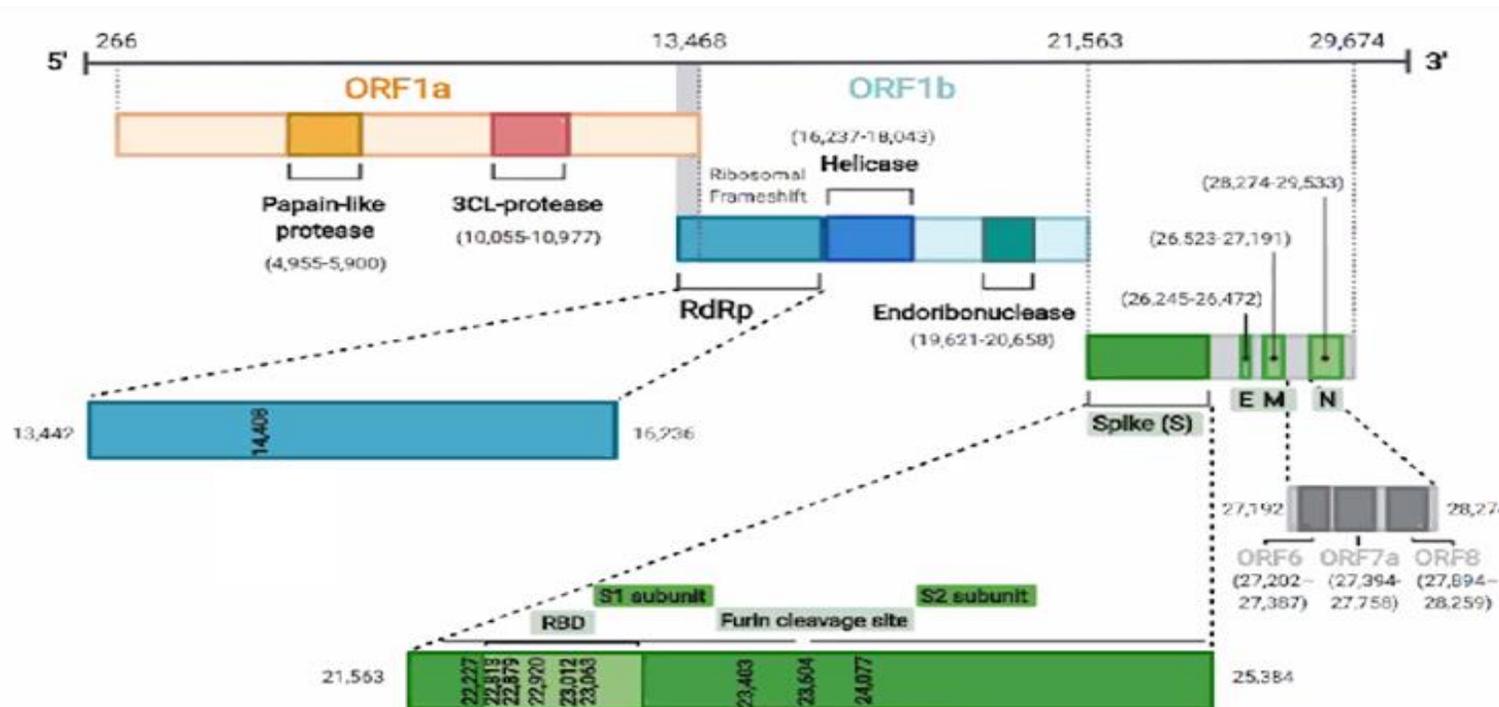
ETUDIER LES  
MICROBIOTES

INVESTIGUER  
UNE ÉPIDÉMIE

# SÉQUENÇAGE DU SARS COV 2

Définition : lire dans le génome du virus comme dans un livre !

Clusters  
Echecs de  
traitement/vaccination  
Réinfection  
Retour de l'étranger  
Enquêtes flash



# OCTOBRE 2020 : EXPÉRIMENTATION D'UNE TECHNIQUE DE SÉQUENÇAGE

**Objectif :** Mise a disposition de cette technique pour des essais cliniques: **Suivi de la réponse aux traitements antiviraux et aux candidats vaccins**

Presentation RICAI, Roquebert et al décembre 2020

TechniqueTwist\* :

29 virus respiratoires

41047 sondes uniques

18843 panel de virus

18086 sondes supplémentaires pour les Influenza A & B

4118 sondes supplémentaires pour les Rhinovirus

Technique de ddPCR mise au point également pour les essais cliniques



## Identification et Séquençage NGS de virus respiratoires incluant le SARS-CoV-2

Dr **Bénédicte ROQUEBERT**

Biologiste Médical, PharmD, PhD Virologie

CERBA

Communication orale : CO-092

Session : COM-16 – COVID-19 : Diagnostic virologique

	Représentants (29)
Coronavirus	SARS, SARS-CoV2, 229E, HKU1, NL63, OC43, MERS
Grippe	H1N1, H3N2, B
Adenovirus	14, B1, E, type 7
Parainfluenza	1, 2, 3, 4
Rhinovirus	3, 89, C
Pneumovirus	Orthopneumovirus, metapneumovirus
Autres	Bocavirus 1, Enterovirus 68, Measles, Mumps, Rubella, RSV



**P-144**

Quantification du SARS-CoV-2 par PCR digitale

Session : PA-09 - COVID-19 : Diagnostic moléculaire

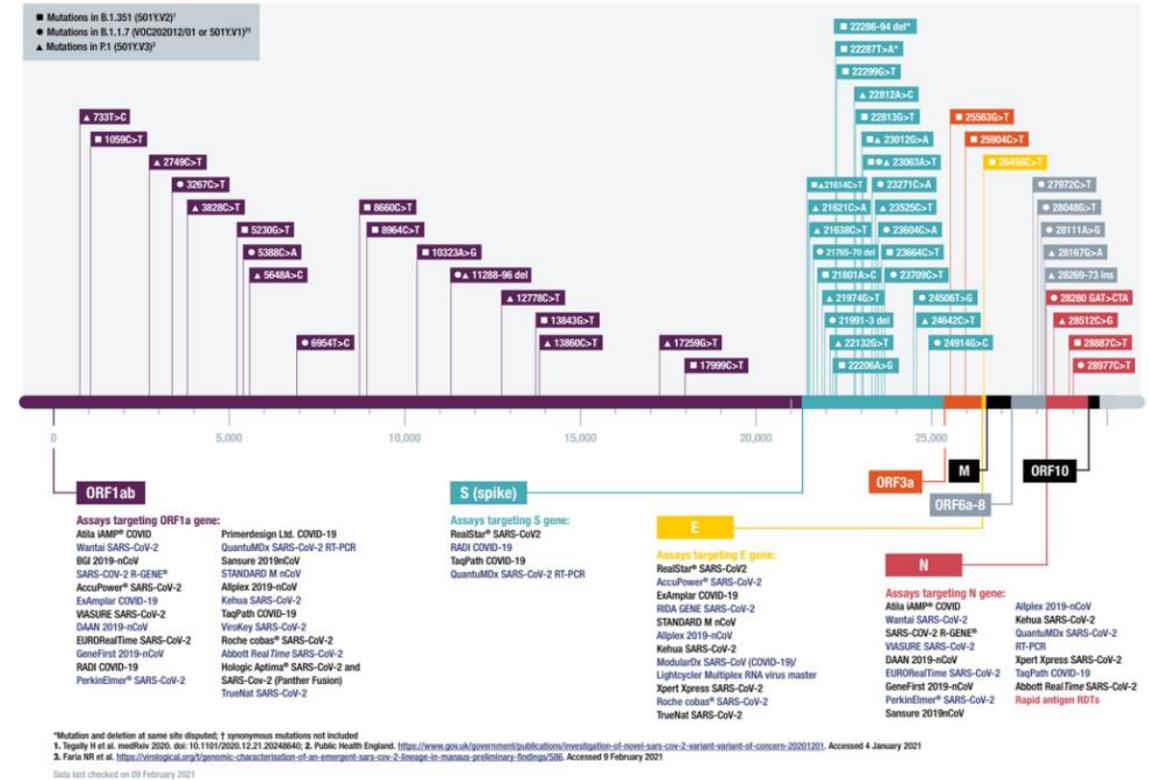
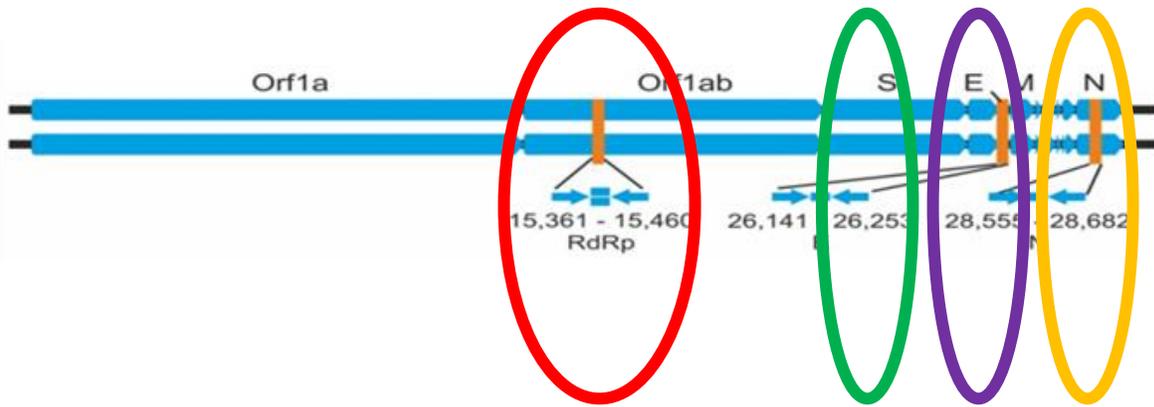
Auteur : Bénédicte Roquebert, Stephanie Haim-Boukoba, Angélique Neu, Ramdane Mallek, Jérôme Sallette, Jean-Marc Costa



# INDICATIONS DU SÉQUENÇAGE

- Séquençage interventionnel :
  - Documentation des clusters ou de situations anormales (incidence augmentée)
  - Voyage de moins de 14 jours et RT-PCR positive
  - Présence de mutations 484K, ou 484Q criblées positives.
  - Absence de mutations criblées avec le 1<sup>er</sup> criblage, et 2<sup>ème</sup> criblage en faveur d'un variant Omicron (del69-70+ et K417N+) ou technique de RT-PCR *Taqpath Thermofisher* présentant un profil S-.
  
- Séquençage ciblé :
  - Documentation des échecs de vaccination
  - Documentation des échecs de traitement par immunoglobulines
  - Séquençage des cas de réinfection
  - Séquençage des cas d'infections avec des excrétions virales prolongées, en particulier chez les personnes immunodéprimées.
  
- Séquençage aléatoire ou « enquêtes Flash » : consortium EMERGEN. Fréquence variable en fonction de l'évolution épidémique (Cerba associé).

# VEILLE DES PERFORMANCES DES TECHNIQUES DE RT-PCR



Profils atypiques en RT-PCR de diagnostic (< 0,1% de nos RT-PCR)

**Ct RdRp = 0 et Ct N < 30 :**

difficultés de séquençage : échec en amplicons et couverture faible en capture pour certains échantillons

Mutations communes retrouvées dans ORF1ab

**Ct N=0 et Ct RdRp < 30 :** Mise en évidence de 3 profils de mutations en N mais non reliés à un clade particulier (20A, 20B, 20A.EU2, 20I/501Y.V1, 20D)

<https://www.finddx.org/>

# PARTAGE DES DONNEES: GISAIID



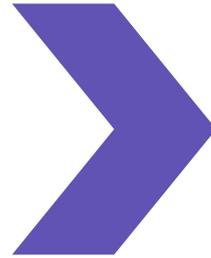
# GESTIONS DE L'ENVOI DES DONNÉES VIROLOGIQUES

**TESTS PCR**

**TESTS CRIBLAGE**

**TESTS ANTIGENIQUES**

**SEQUENCAGE**



**CORONAVIRUS (COVID-19)**

**SIDEP**

**Bonjour !**



**VACCINATION**



RAPPELS  
TECHNIQUES  
NGS

INVESTIGUER  
UNE ÉPIDÉMIE

ETUDIER LA  
RÉSISTANCE  
AUX AGENTS  
ANTI-  
INFECTIEUX

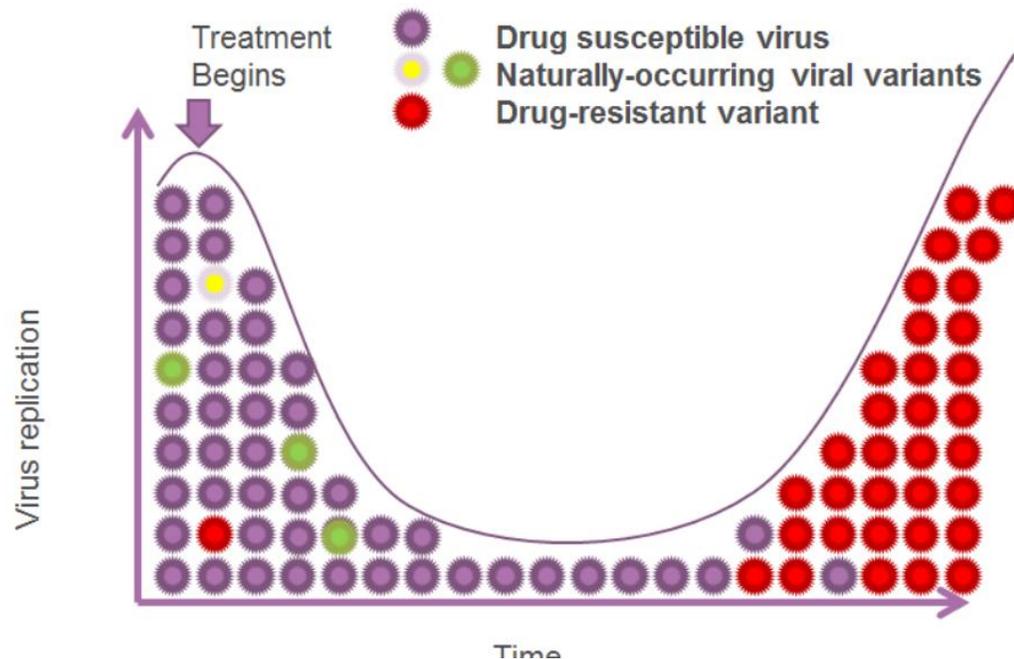
RECHERCHER  
LA PRÉSENCE  
D'UN  
PATHOGÈNE  
SOUS TOUTES  
SES FORMES

ETUDIER LES  
MICROBIOTES

ETUDIER LA  
RÉSISTANCE  
AUX AGENTS  
ANTI-  
INFECTIEUX

# ETUDE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIRÉTROVIRAUX

## Présence de variants viraux au sein de la quasiespèce



- Méthode Sanger ne permet d'observer que les variants présents >20%
- Apport des techniques de NGS pour étudier les variants minoritaires si ils confèrent une résistance à des drogues à barrière génétique faible (INNTI++) et pour les études de tropisme.
- Importance de la charge virale mutationnelle = % variants X CV.

# ETUDE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIRÉTROVIRAUX

*Clinical Infectious Diseases*

MAJOR ARTICLE



## Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance: 2018 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel

Huldrych F. Günthard,<sup>1</sup> Vincent Calvez,<sup>2</sup> Roger Paredes,<sup>3,4</sup> Deenan Pillay,<sup>5</sup> Robert W. Shafer,<sup>6</sup> Annemarie M. Wensing,<sup>7</sup> Donna M. Jacobsen,<sup>8</sup> and Douglas D. Richman<sup>9</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Zürich and Institute of Medical Virology, University of Zurich, Switzerland; <sup>2</sup>Pierre et Marie Curie University and Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France; <sup>3</sup>Infectious Diseases Service and IrsiCaixa AIDS Research Institute, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; <sup>4</sup>Africa Health Research Institute, KwaZulu Natal, South Africa; <sup>5</sup>University College London, United Kingdom; <sup>6</sup>Stanford University Medical School, California; <sup>7</sup>University Medical Center Utrecht, The Netherlands; and <sup>8</sup>International Antiviral Society–USA, San Francisco, and <sup>9</sup>Veterans Affairs San Diego Healthcare System and University of California San Diego

### Box 2. Recommendations for Transmission of Minority Variants Harboring Drug-resistant Mutations

- Drug resistance testing to detect minority variants is not currently recommended outside of research settings, but may be considered for nonnucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs; evidence rating AIIa).

# ETUDE DE LA RÉSISTANCE AUX ANTIRÉTROVIRAUX: DÉTERMINATION DU TROPISME

OPEN

## Performance comparison of next-generation sequencing platforms for determining HIV-1 coreceptor use

Received: 10 October 2016

Accepted: 06 January 2017

Published: 10 February 2017

Stéphanie Raymond<sup>1,2,3</sup>, Florence Nicot<sup>3</sup>, Nicolas Jeanne<sup>3</sup>, Olivier Delfour<sup>3</sup>, Romain Carcenac<sup>3</sup>, Caroline Lefebvre<sup>3</sup>, Michelle Cazabat<sup>1,3</sup>, Karine Sauné<sup>1,2,3</sup>, Pierre Delobel<sup>1,2,4</sup> & Jacques Izopet<sup>1,2,3</sup>

Techniques NGS 454 Roche ou Illumina permettent de déterminer le tropisme avec une sensibilité augmentée des variants X4.

RAPPELS  
TECHNIQUES  
NGS

INVESTIGUER  
UNE ÉPIDÉMIE

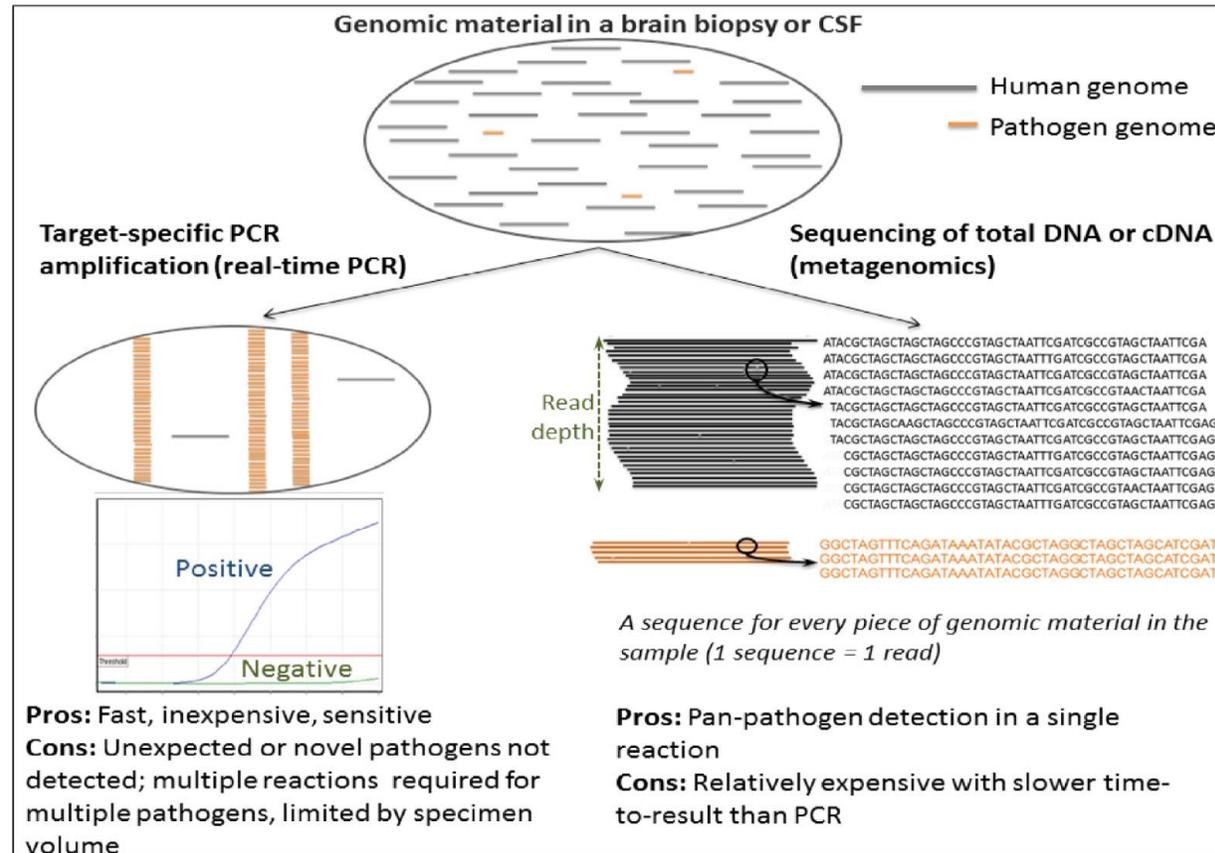
ETUDIER LA  
RÉSISTANCE  
AUX AGENTS  
ANTI-  
INFECTIEUX

RECHERCHER  
LA PRÉSENCE  
D'UN  
PATHOGÈNE  
SOUS TOUTES  
SES FORMES

ETUDIER LES  
MICROBIOTES

RECHERCHER  
LA PRÉSENCE  
D'UN  
PATHOGÈNE  
SOUS TOUTES  
SES FORMES

# RECHERCHER UNE ÉTIOLOGIE INFECTIEUSE INCONNUE



**Fig. 1.** Schematic of pathogen-specific real-time PCR versus metagenomics for pathogen detection.

# RECHERCHER UNE ÉTIOLOGIE INFECTIEUSE INCONNUE

## Stratégie shotgun

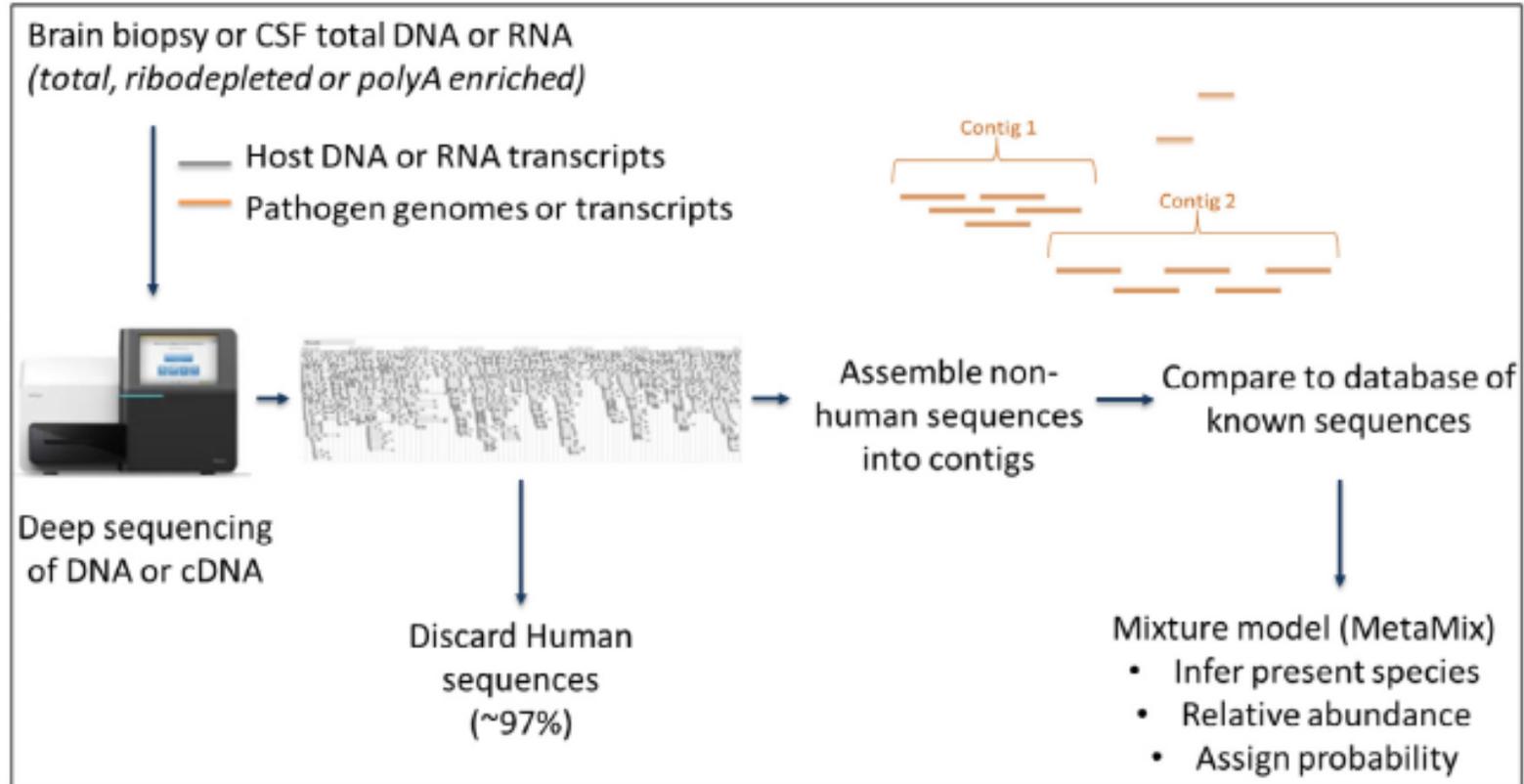


Fig. 2. Schematic of a typical metagenomics workflow. MetaMix<sup>22</sup> is the analysis tool employed by our laboratory.

# RECHERCHER UNE ÉTIOLOGIE INFECTIEUSE INCONNUE

## Stratégie shotgun

Exemples: analyse du gène codant pour l'ARN16S dans des prélèvements habituellement stériles (LCR, liquides articulaires).

### REVIEW

## Encephalitis diagnosis using metagenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases

Julianne R. Brown <sup>a,\*</sup>, Tehmina Bharucha <sup>b,c</sup>, Judith Breuer <sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> *Microbiology, Virology and Infection Prevention and Control, Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust, UK*

<sup>b</sup> *Infectious Diseases and Microbiology, Royal Free London NHS Foundation Trust, UK*

<sup>c</sup> *Division of Infection and Immunity, University College London, UK*

Accepted 22 December 2017

Available online 2 January 2018

- Etiologies des encéphalites retrouvées dans 50% des cas
- 500 000 cas/an dans le monde
- Conséquences +++

# RECHERCHER UNE ÉTIOLOGIE INFECTIEUSE INCONNUE

## Stratégie shotgun

Méta-analyse: 25 articles regroupant case-report + petites séries de patients pour lesquels une encéphalite a été explorée en NGS:

- 44 cas, dont 16 pour lesquels un pathogène connu pour causer des encéphalites (PCR aurait été mieux indiquée: HSV, entérovirus, rougeole, VZV, oreillons, EBV, JCV et Mycobacterium tuberculosis)
- 28 cas restant:
  - ✓ 5 cas d'agents pathogènes rares: Brucella melitensis, Candida tropicalis, Leptospira santarosai et 2 cas de Balamuthia mandrillaris.
  - ✓ 5 cas d'agents pathogènes inattendus (2 Parvovirus 4, 1 Coronavirus OC-43, 1 Astrovirus MLB1, 1 cas de virus des oreillons souche vaccinale (enfant immunodéprimé vacciné avant diagnostic).
  - ✓ 18 cas de nouveaux agents pathogènes: 3 arenavirus, 3 cas de bornavirus d'écureuil bigaré, 4 nouveaux astrovirus (Astrovirus VA1/HMO-C), 3 cyclovirus, 3 gemycircularviruses, 1 densovirus.

Questions en suspens: valeurs du séquençage des transcrits, LOD/sensibilité, contamination, pathogénicité de certains agents?

# DÉCOUVERTE DE NOUVEAU VIRUS: EX DU VIRUS DE MERKEL, TECHNIQUE SHOTGUN



**FAMILLE :** *Polyomaviridae*, **GENRE:**

*Orthopolyomavirus*

**GENOME :** ADN bicaténaire circulaire 5400 pb

**Diamètre :** 50-55 nm

Carcinome cutané de type neuro-endocrine

Evolution rapide, Métastases fréquentes

Published in final edited form as:

*Science*. 2008 February 22; 319(5866): 1096–1100. doi:10.1126/science.1152586.

## **Clonal Integration of a Polyomavirus in Human Merkel Cell**

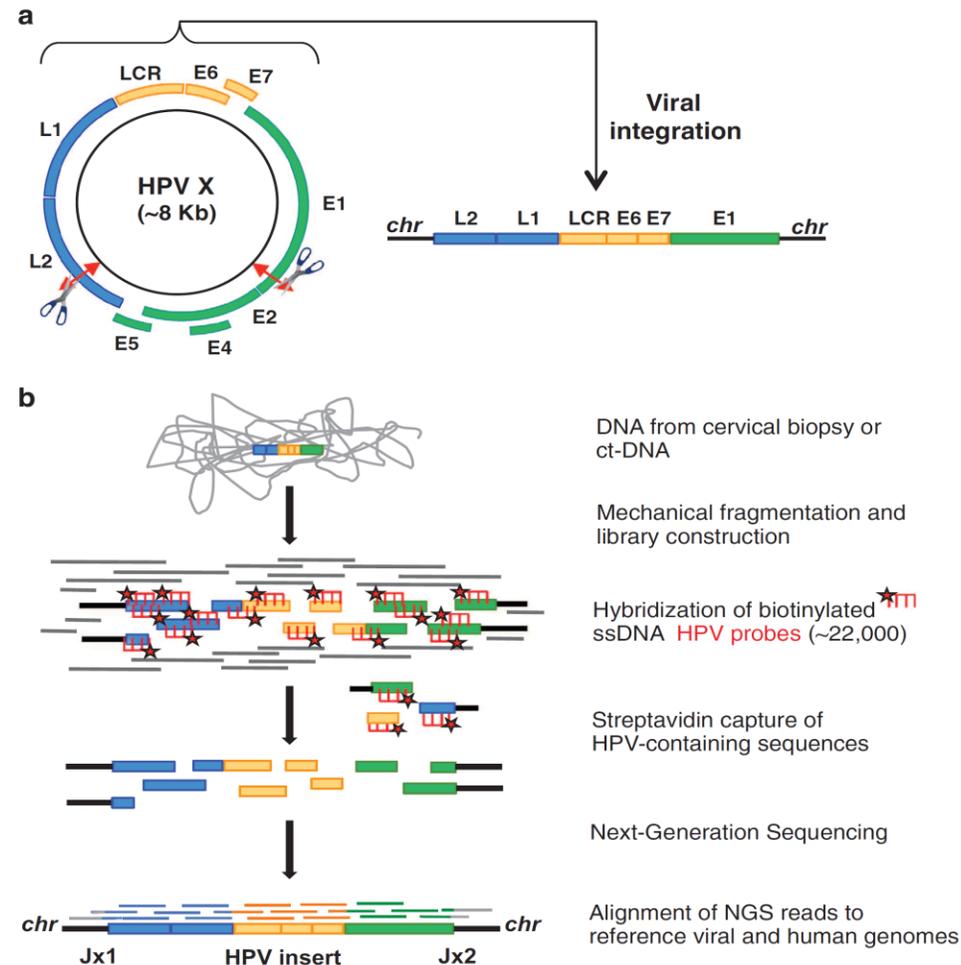
### **Carcinoma**

**Huichen Feng, Masahiro Shuda, Yuan Chang\***, and **Patrick S. Moore\***

Molecular Virology Program, University of Pittsburgh Cancer Institute, University of Pittsburgh, 5117 Centre Avenue, Suite 1.8, Pittsburgh, PA 15213, USA

# RECHERCHER DES ADN VIRAUX INTÉGRÉS: CAS DES VIRUS HPV

HPV integration signatures in cervical carcinomas  
A Holmes *et al*



- Protéines E1 et E2 permettent la réplication du virus et sa conservation sous forme circulaire épisomale.
- E2 inhibe l'expression de E6 et E7
- Perte de E2 au cours du processus d'intégration
- Surexpression de E6 et E7
- Mise en évidence des «signatures» dans l'ADN des biopsies tumorales.
- Caractérisation des cancers HPV.

RAPPELS  
TECHNIQUES  
NGS

INVESTIGUER  
UNE ÉPIDÉMIE

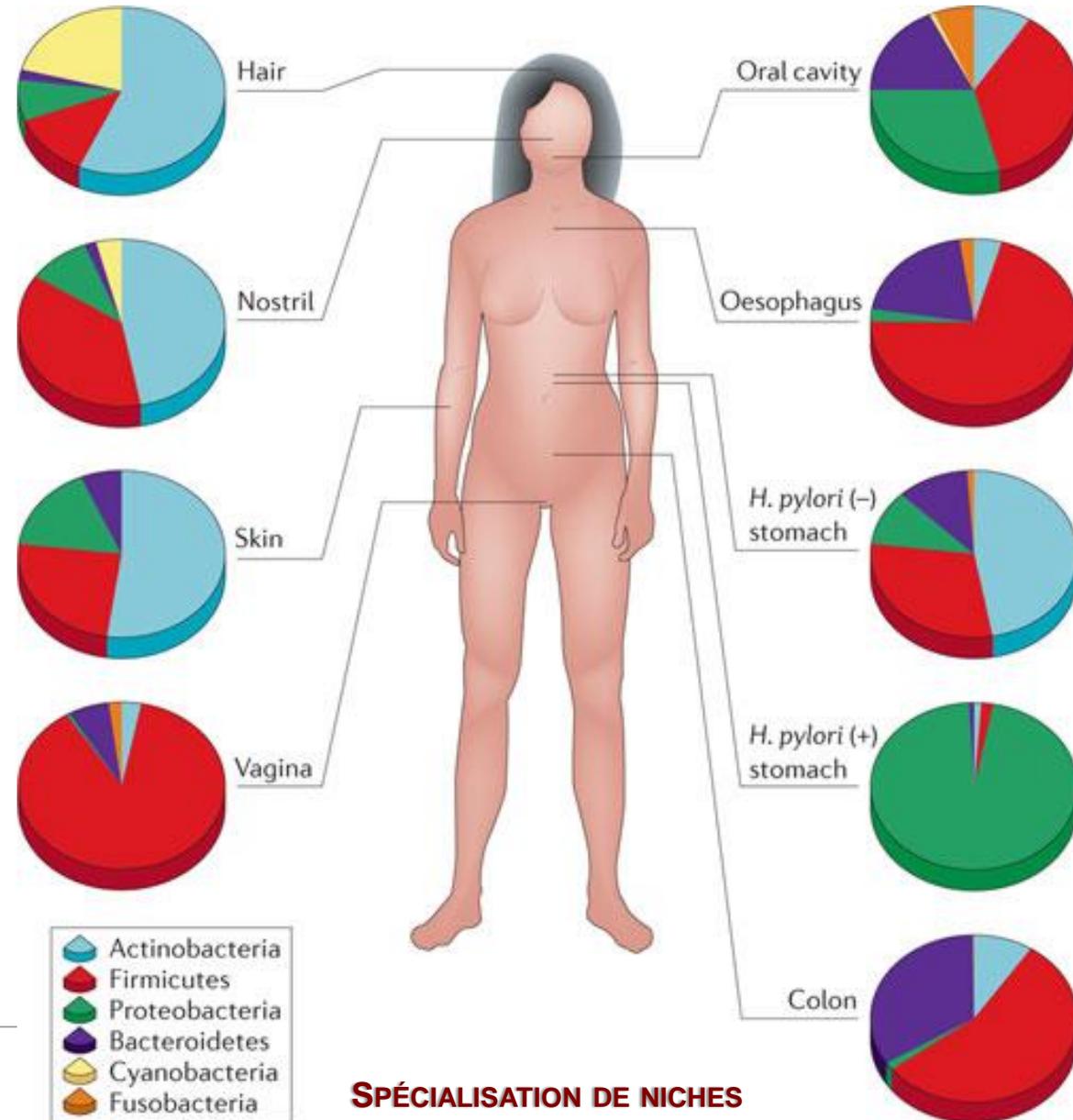
ETUDIER LA  
RÉSISTANCE  
AUX AGENTS  
ANTI-  
INFECTIEUX

RECHERCHER  
LA PRÉSENCE  
D'UN  
PATHOGÈNE  
SOUS TOUTES  
SES FORMES

ETUDIER LES  
MICROBIOTES

ETUDIER LES  
MICROBIOTES

# LES MICROBIOTES



**SPÉCIALISATION DE NICHES**

# COMMENT ÉTUDIER LE MICROBIOTE INTESTINAL?

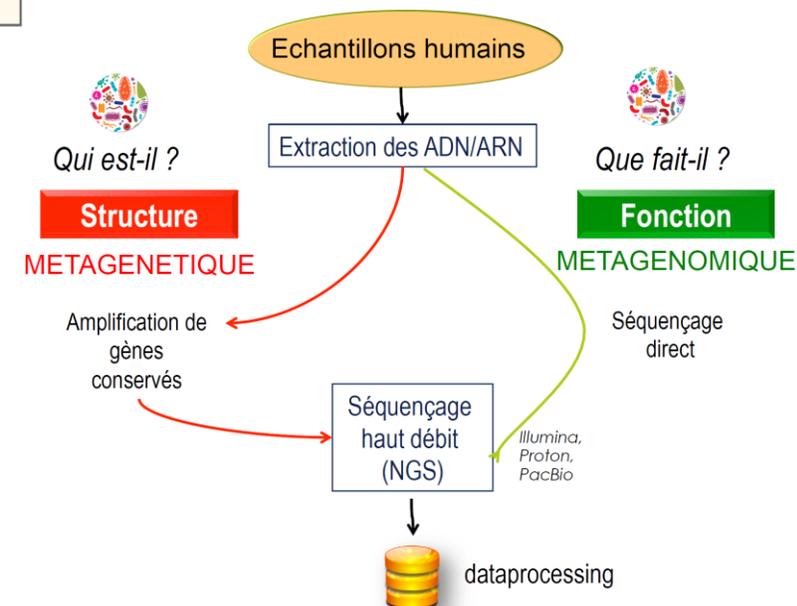
**Table 1. Tools for Analyzing Microbiota.**

Approach	Data	Platform	Pros and Cons
Biomarker sequencing (e.g., 16S rRNA gene or internal transcribed spacer region)*	Community composition	Next-generation sequencing	Is cost-effective, is semiquantitative, permits resolution of genus level and in some cases species level; shorts reads may make accurate classification difficult
Metagenomics	Generation of draft genomes, functional capacity, growth dynamics	Next-generation sequencing	Has capacity for strain-level reconstruction, is quantitative, allows for functional annotation with pathway predictions; is currently very costly, has community coverage that may be relatively shallow in more complex assemblages
Metatranscriptomics (RNA sequencing)	Gene expression	Next-generation sequencing	Highly expressed genes are more likely than others to be detected, depletion of human transcripts is possible, requires immediate preservation or processing of fresh or snap-frozen intestinal specimens
Metaproteomics	Protein expression	Liquid or gas chromatography–mass spectrometry	Primarily detects dominant proteins; makes removal of host-derived proteins impossible
Metabolomics	Metabolic productivity	Liquid or gas chromatography–mass spectrometry or magnetic resonance spectroscopy	Is semiquantitative; can be targeted or untargeted; detects metabolites that are platform- and database-dependent; detects metabolites that may originate from microbes, diet, or host

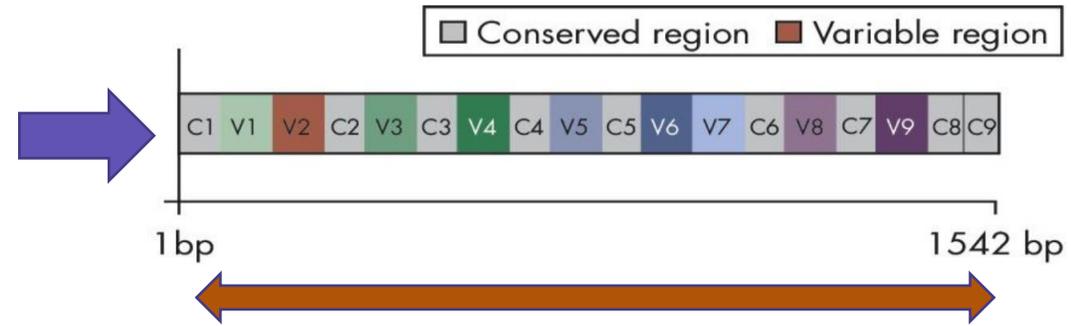
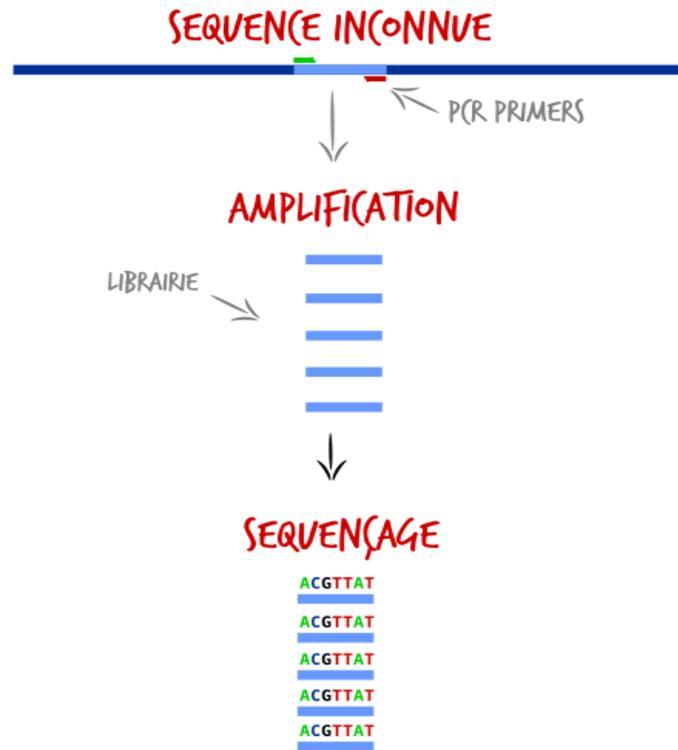
\* The term rRNA denotes ribosomal RNA.

Lynch et al., NEJM 2016

## QUELLE TECHNIQUE CHOISIR ?



# ANALYSE ADN CODANT POUR LE GÈNE DE L'ARN16S



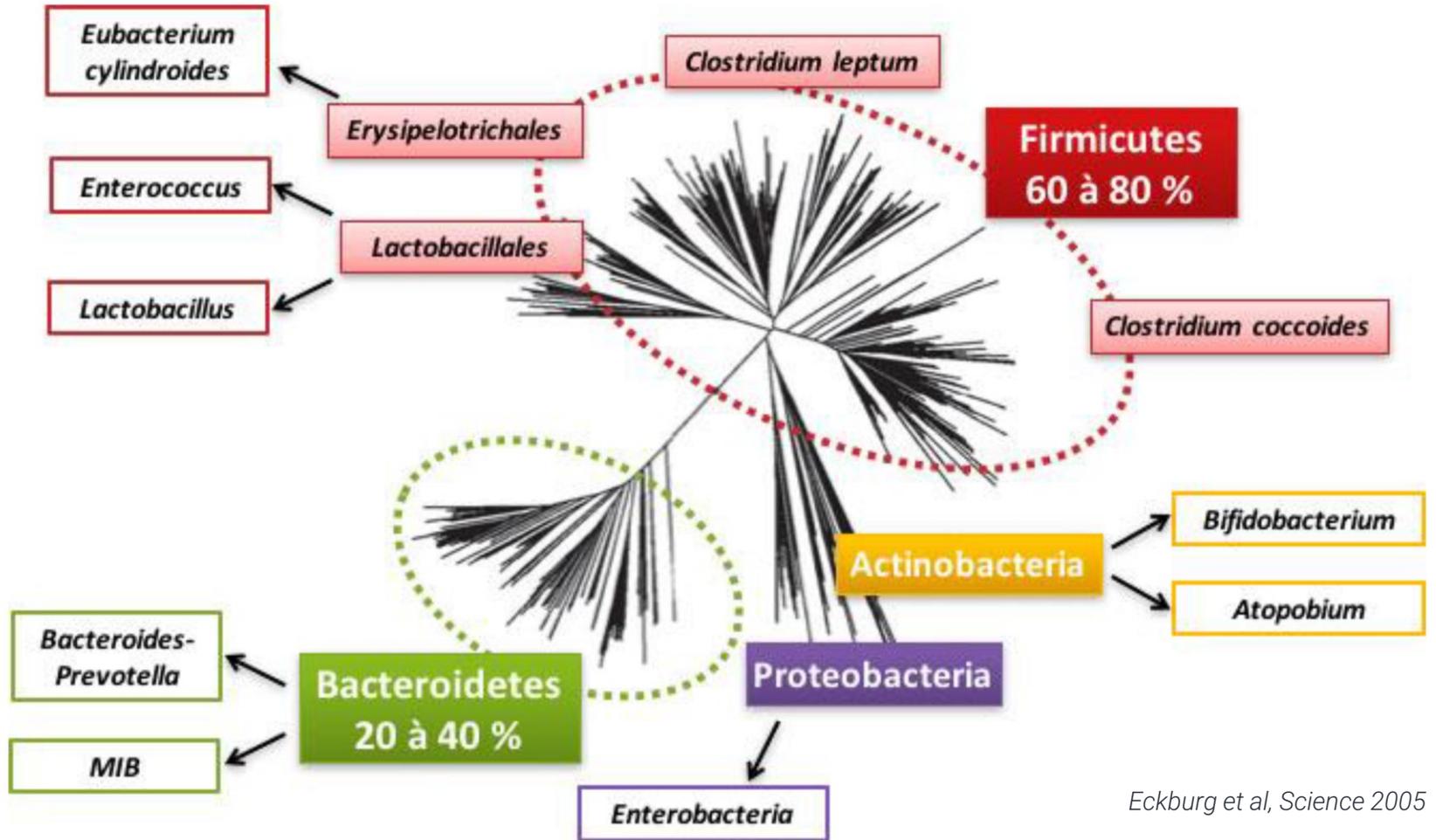
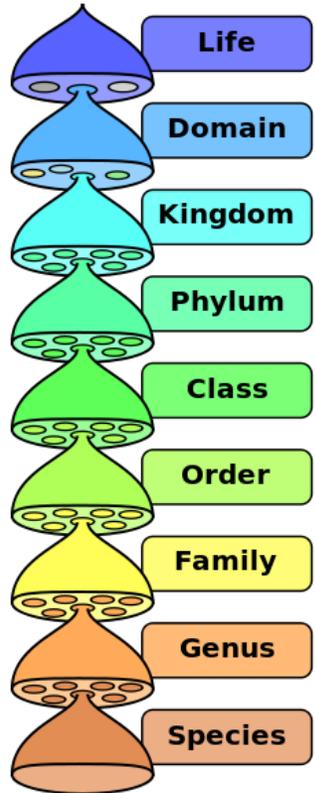
ADN gène ARN 16S= gène universel  
chez toutes les bactéries

Choix de une ou plusieurs  
amorces parmi: V1-V2, V2-V3, V3-  
V4, V4-V5, V5-V7, V7-V9 + ITS

- Nécessité d'une région suffisamment conservée pour garantir amplification/alignement
- Mais suffisamment variable pour permettre l'affiliation taxonomique/analyse phylogénétique

Composition du microbiote  
composition en phylum -> +/- espèce

# Répartition en phylum / classe / ordre / genre / espèces- taxonomie

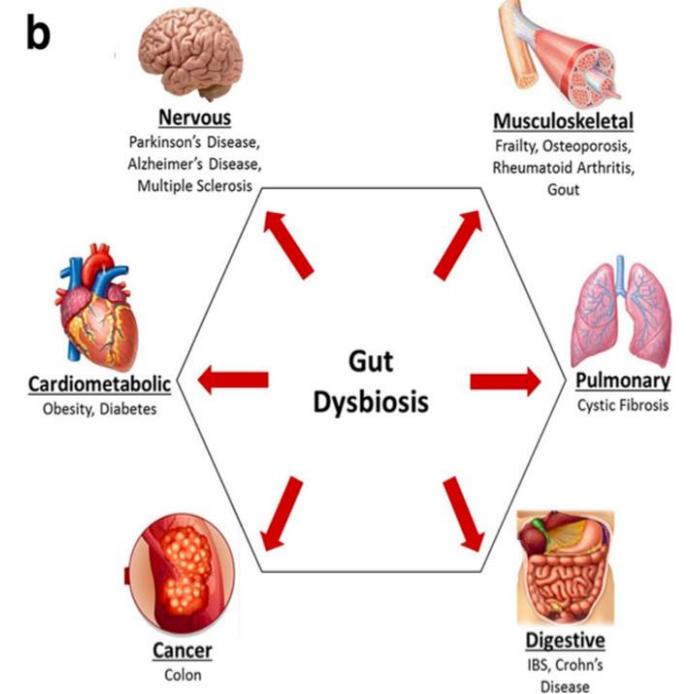


Eckburg et al, Science 2005

**OUT : OPERATIONAL TAXONOMY UNITS (S16)**

# MICROBIOTE INTESTINALE ET PATHOLOGIES

Pathologies	Références
Maladie de Crohn	Qin, Nature 2010; Gevers, Cell host Microbe 2014
Rectocolite hémorragique	Qin, Nature 2010; Lepage, Gastroenterology 2011
Maladie coeliaque	D'Argenio, Am J Gastroenterol 2016
Syndrome de l'intestin irritable	Saulnier, Gastroenterology 2011; Rajilic-Stojanovic, Gastroenterology 2011
Cancer colorectal	Zeller, Mol Syst Biol 2014; Sobhani, Plos one 2011
Obésité	Le Chatelier, Nature 2013; Ley, Nature 2006
Diabète de type 1	Kostic, Cell Host Microbes 2015
Diabète de type 2	Forslund, Nature 2015
Maladies cardiovasculaires	Karlsson NatCommun 2012
Maladies hépatiques	Qin, Nature 2004
Autisme, dépression	Finegold, Anaerobe 2010; Naseribafrouei, Neurogastroenterol Motil 2014
Allergies	Abrahamsson, J Allergy Clin Immunol 2012
GVHD	Taur, Blood 2014



*Buford, Microbiome 2017*

# MICROBIOTE VAGINAL

L'écosystème vaginal est constitué en majorité de Lactobacilles.

Les lactobacilles sont des bactéries Gram+ appartenant au phylum Firmicutes

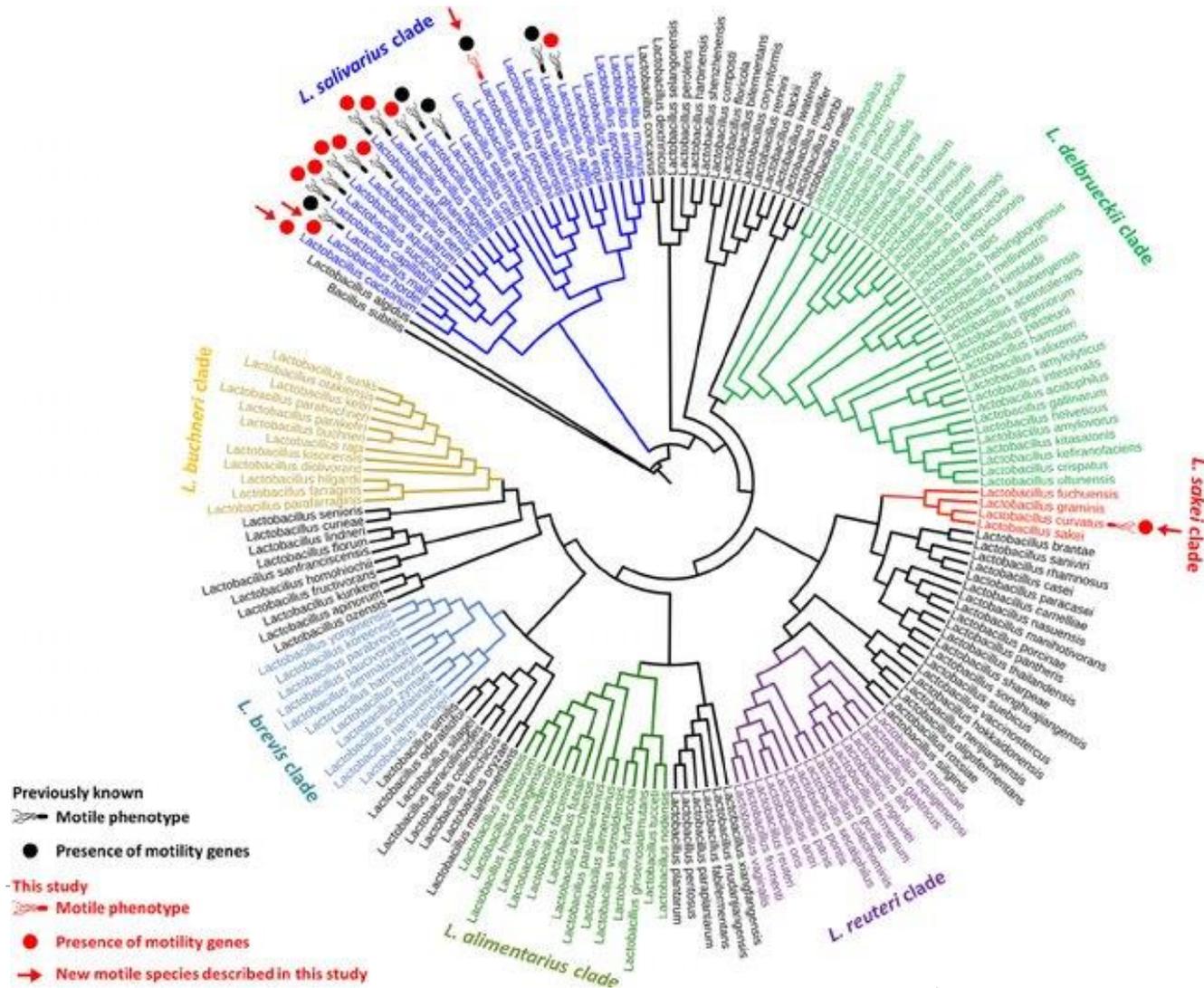
>200 espèces de Lactobacilles répertoriées

Toutes ne colonisent pas le vagin, >10 souches vaginales

Transformation du glycogène en acide lactique par certains lactobacilles => pH bas

Déséquilibre si diminution :

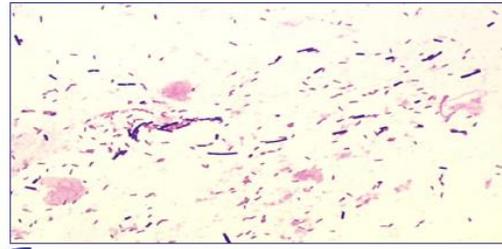
- Quantitative
- Qualitative : adhérence faible à la muqueuse



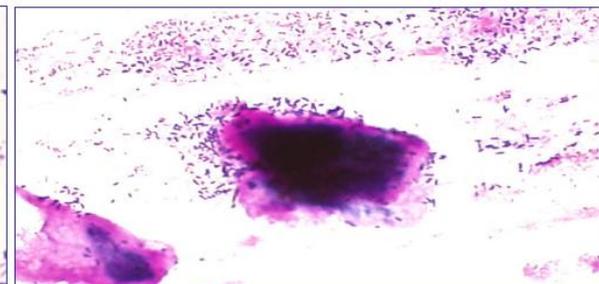
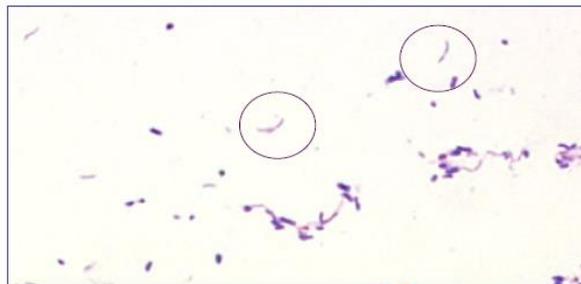
# MICROBIOTE VAGINAL – TECHNIQUES D'ÉTUDE ACTUELLES...



Score de 0 à 3 : F normal



Score de 4 à 6 : F intermédiaire



Score de 7 à 10 : VB

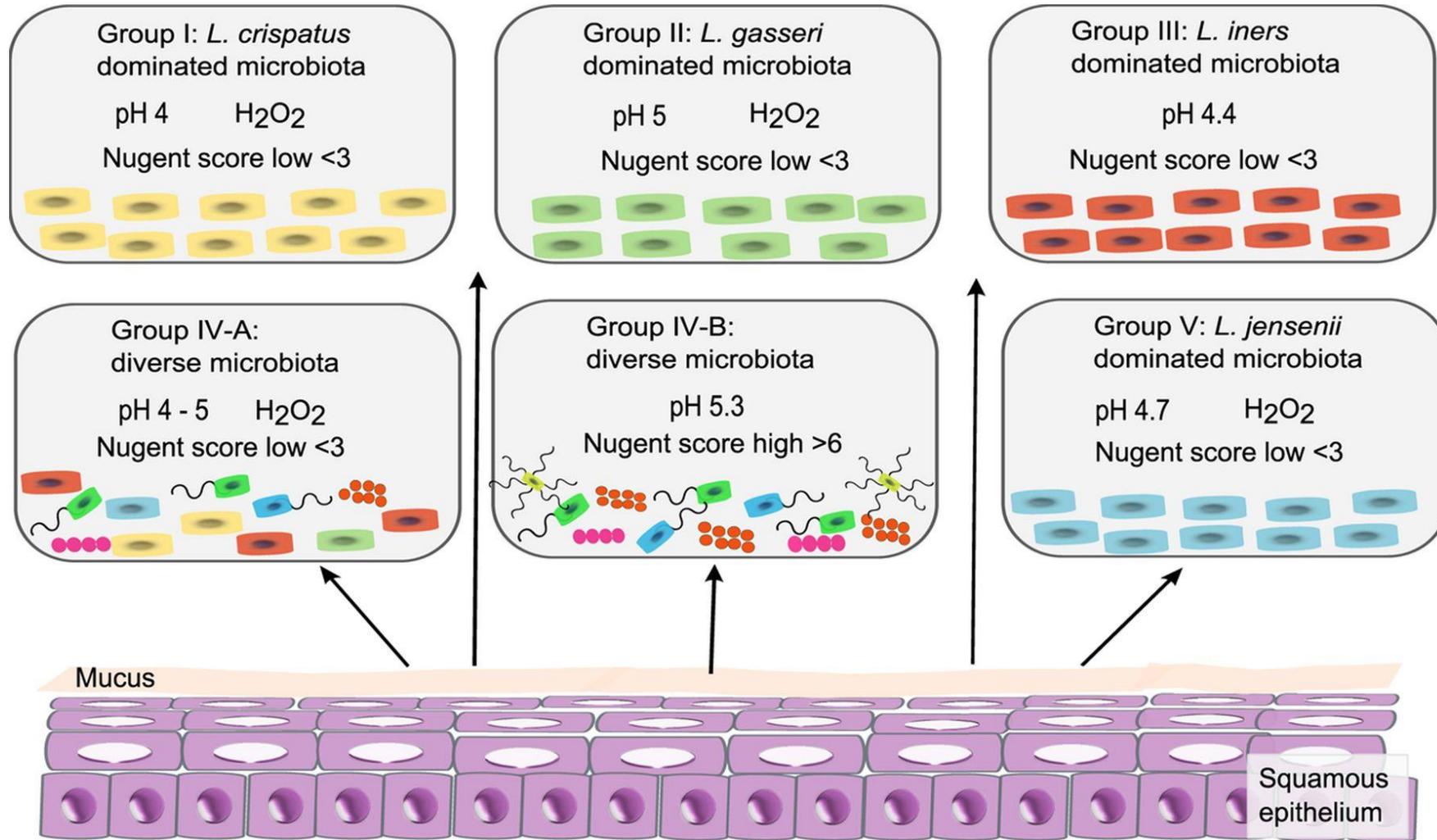
Qté / champ (x1000)	> 30	6 à 30	1 à 5	< 1	0
Morphotypes lactobacilles (L)	0	1	2	3	4
Morphotypes <i>Gardnerella</i> et anaérobies (G)	4	3	2	1	0
Morphotypes <i>mobiluncus</i> (M)	2	2	1	1	0

Score NHK = 8

Score	Spp <i>Lactobacillus</i>	<i>Gardnerella</i> et <i>bacteroides</i>	<i>Mobiluncus</i>
0	++++	0	0
1	+++	+	+ / +++
2	++	++	+++ / +++++
3	+	+++	
4	0	++++	

Groupe	Score	Classification
1	0 à 3	Flore normale
2	4 à 6	Flore intermédiaire
3	7 à 10	Vaginose

# ...ET DEMAIN ?



# MICROBIOTE VAGINAL ET AMP: ÉTUDES DE SEQUENCAGE 16S

## Report of Major Impact

### Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure

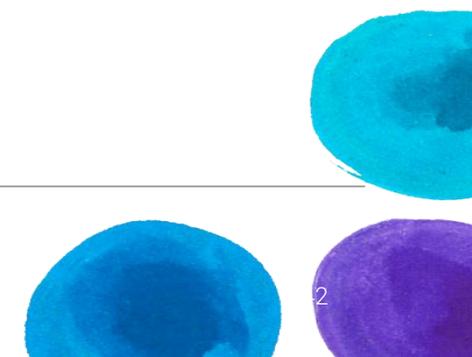
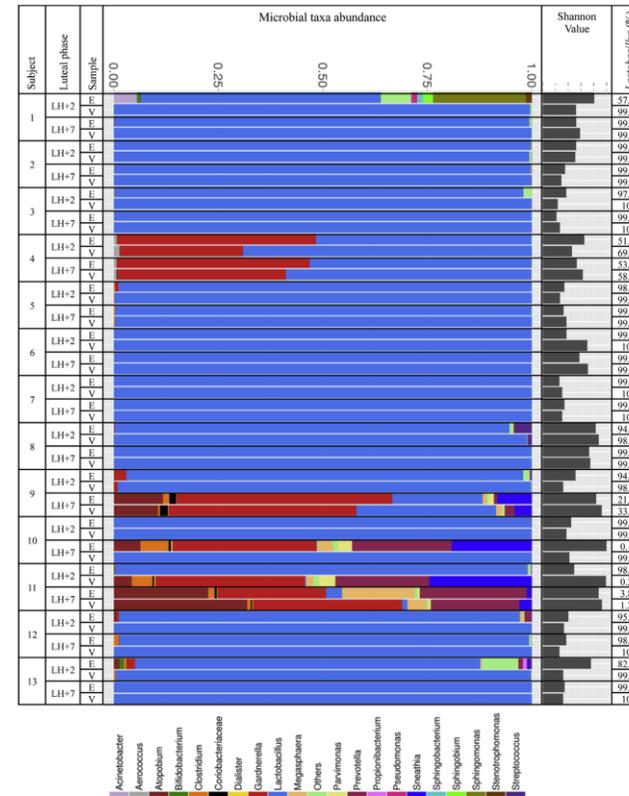
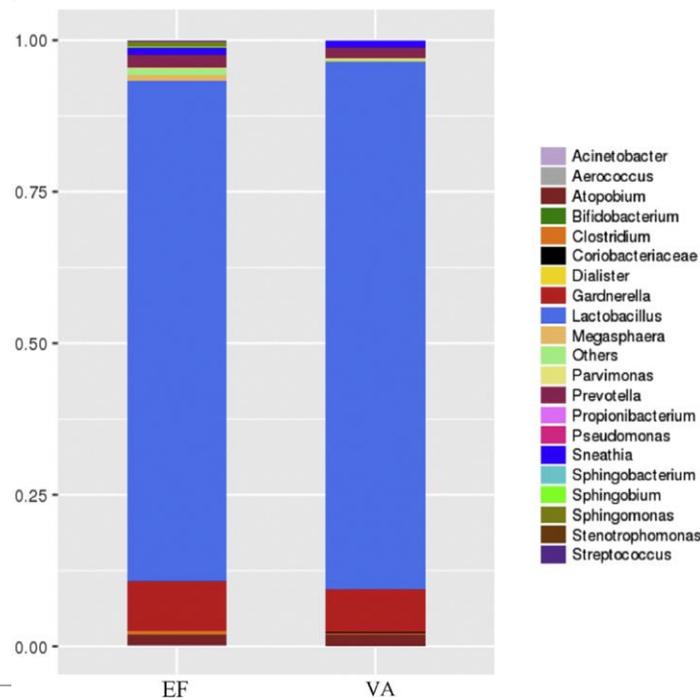
Inmaculada Moreno, PhD<sup>1</sup>; Francisco M. Codoñer, PhD<sup>1</sup>; Felipe Vilella, PhD<sup>1</sup>; Diana Valbuena, MD, PhD;  
Juan F. Martinez-Blanch, PhD; Jorge Jimenez-Almazán, PhD; Roberto Alonso; Pilar Alamá, MD, PhD;  
Jose Remohí, MD, PhD; Antonio Pellicer, MD, PhD; Daniel Ramon, PhD<sup>2</sup>; Carlos Simon, MD, PhD<sup>2</sup>

- Sequencage 16S des regions V3-V5.
- 13 femmes fertiles: échantillons appariés de liquide endométrial et d'aspirations vaginales ont été obtenues simultanément
- 22 femmes fertiles avec etudes concomitante du cycle hormonal (44 ech)
- 35 femmes infertile avec analyse de liquide endométrial (41 échantillons)
- Objectifs:
  - déterminer la structure de la flore endométriale de la femme fertile vs microbiote vaginal
  - Déterminer si cette flore peut être associée a des conséquences sur l'implantation de l'embryon, les issues de grossesse.

# MICROBIOTE VAGINAL ET AMP: ÉTUDES BASÉES SUR SEQUENCAGE 16S

- Existence d'un microbiote endometrial
- Stable pendant acquisition de la réceptivité endométriale (entre LH+2 et LH+7)

**FIGURE 1**  
Bacterial communities in endometrial and vaginal microbiota of fertile subjects



# MICROBIOTE VAGINAL ET AMP: ÉTUDES BASÉES SUR LE SÉQUENÇAGE 16S

Flore non dominée par *Lactobacillus* des endomètres réceptifs associée à diminution significative du taux d' :

- Implantation  
[60.7% vs 23.1% (P=0.02)],
- grossesse  
[70.6% vs 33.3% (P=0.03)],
- grossesse à terme  
[58.8% vs 13.3% (P=0.02)],
- Naissances vivantes  
[58.8% vs 6.7% (P=0.002)]

**Descriptive characteristics of subjects, cycles, transfers, and outcome results**

Characteristics and outcomes	LDM, n = 17	NLDM, n = 15	Pvalue
Age, y	40.06 ± 3.47	39.00 ± 5.09	.49
BMI, kg/m <sup>2</sup>	24.18 ± 5.18	22.45 ± 4.02	.30
Previous pregnancies	1.71 ± 2.44	1.53 ± 2.32	.84
Previous miscarriages	1.53 ± 2.21	1.14 ± 1.56	.58
Metaphase II oocytes/cycle	11.94 ± 4.27	10.20 ± 4.81	.28
Fertilization rate/cycle	157/203 (77.34%)	118/153 (77.12%)	.62
Transferred embryos/cycle	1.65 ± 0.49	1.73 ± 0.59	.65
Time between EF and transfer, mo	2.82 ± 2.55	1.80 ± 1.08	.16
Pregnancy rate/transfer	12/17 (70.6%)	5/15 (33.3%)	.03 <sup>a,b</sup>
Implantation rate/transfer	17/28 (60.7%)	6/26 (23.1%)	.02 <sup>a,b</sup>
Ongoing pregnancy/transfer	10/17 (58.8%)	2/15 (13.3%)	.02 <sup>a,b</sup>
Miscarriage rates	2/12 (16.7%)	3/5 (60%)	.07
Live birth rate/transfer	10/17 (58.8%)	1 <sup>c</sup> /15 (6.7%)	.002 <sup>a,b</sup>

Values are mean ± SD unless otherwise noted.

BMI, body mass index; EF, endometrial fluid; LDM, *Lactobacillus*-dominated microbiota; NLDM, non-*Lactobacillus*-dominated microbiota.

<sup>a</sup>  $\chi^2$  test and Student *t* test were performed; <sup>b</sup> P value < .05; <sup>c</sup> Voluntary termination of pregnancy.

Moreno et al. Endometrial microbiota impacts reproductive potential. Am J Obstet Gynecol 2016.

(Moreno et al, Am J Obst Gyn 2016)

# Merci de votre attention !

