



HAL
open science

Caractérisation et isolement des *Lactobacillus* dans le microbiote urinaire

F Degrémont, C Villenave, M Leoz, S Dahyot, M Pestel-Caron

► To cite this version:

F Degrémont, C Villenave, M Leoz, S Dahyot, M Pestel-Caron. Caractérisation et isolement des *Lactobacillus* dans le microbiote urinaire. Journée Normande de Recherche en Microbiologie, Jun 2024, Rouen, France. hal-04669526

HAL Id: hal-04669526

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04669526v1>

Submitted on 8 Aug 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Caractérisation et isolement des *Lactobacillus* dans le microbiote urinaire

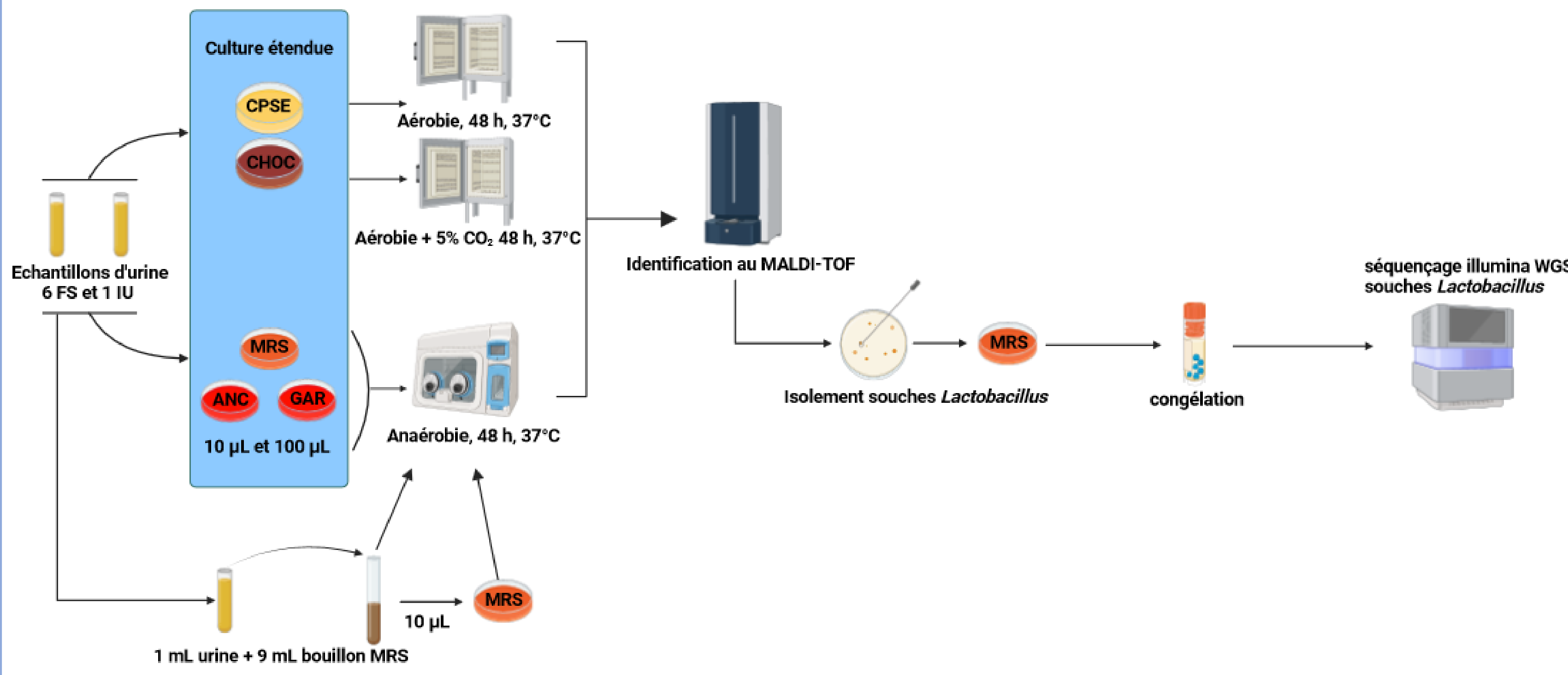
F. Degrémont¹, C. Villenave¹, M. Leoz¹, S. Dahyot², M. Pestel-Caron²

¹Univ Rouen Normandie, UNICAEN, INSERM, DYNAMICURE UMR 1311 F-76000 Rouen, France; ²Univ Rouen Normandie, UNICAEN, DYNAMICURE UMR 1311, CHU Rouen, Laboratoire de Bactériologie, F-76000 Rouen, France

Introduction

Le microbiote urinaire (MU) a récemment été mis en évidence grâce à des techniques telles que le séquençage de l'ADN à haut débit et la culture étendue (CE). De récentes études ont été menées chez des femmes saines (FS) et des cas d'infections urinaires (IU). Ces études ont décrit la notion d'urotypes caractérisés par la dominance d'un genre bactérien. Les FS présentaient majoritairement un urotype *Lactobacillus* tandis qu'une diminution de l'abondance de *Lactobacillus* était observée dans les cas d'IU¹. Néanmoins, l'implication du MU dans les infections urinaires (IU) reste à ce jour largement incompris. L'objectif de cette étude était d'isoler et de caractériser des espèces de *Lactobacillus* chez des FS et une IU et de les confronter par génomique.

Matériels et méthodes



Urines de 2nd jet de 7 femmes (6 FS et 1 IU) étudiées par CE :

- 20 à 27 ans
- Non ménopausées

Culture Étendue (CE) :

- CPS : Aérobie
 - CHOC (chocolat) : 5% CO₂
 - ANC (acide nalidixique, colistine) : Anaérobie
 - GAR (sélective *Gardnerella*) : Anaérobie
 - MRS (deMan, Rogosa et Sharpe) : Anaérobie
 - 2 volumes d'ensemencement : 10 et 100 µL ; Incubation 48h
- Les différentes colonies évocatrices de *Lactobacillus* ont été identifiées par MALDI-TOF

Sept souches identifiées chez l'IU et les FS ont été isolées et leur génome a été séquençé par NGS (Illumina)

Résultats / Discussions

Analyses phénotypiques

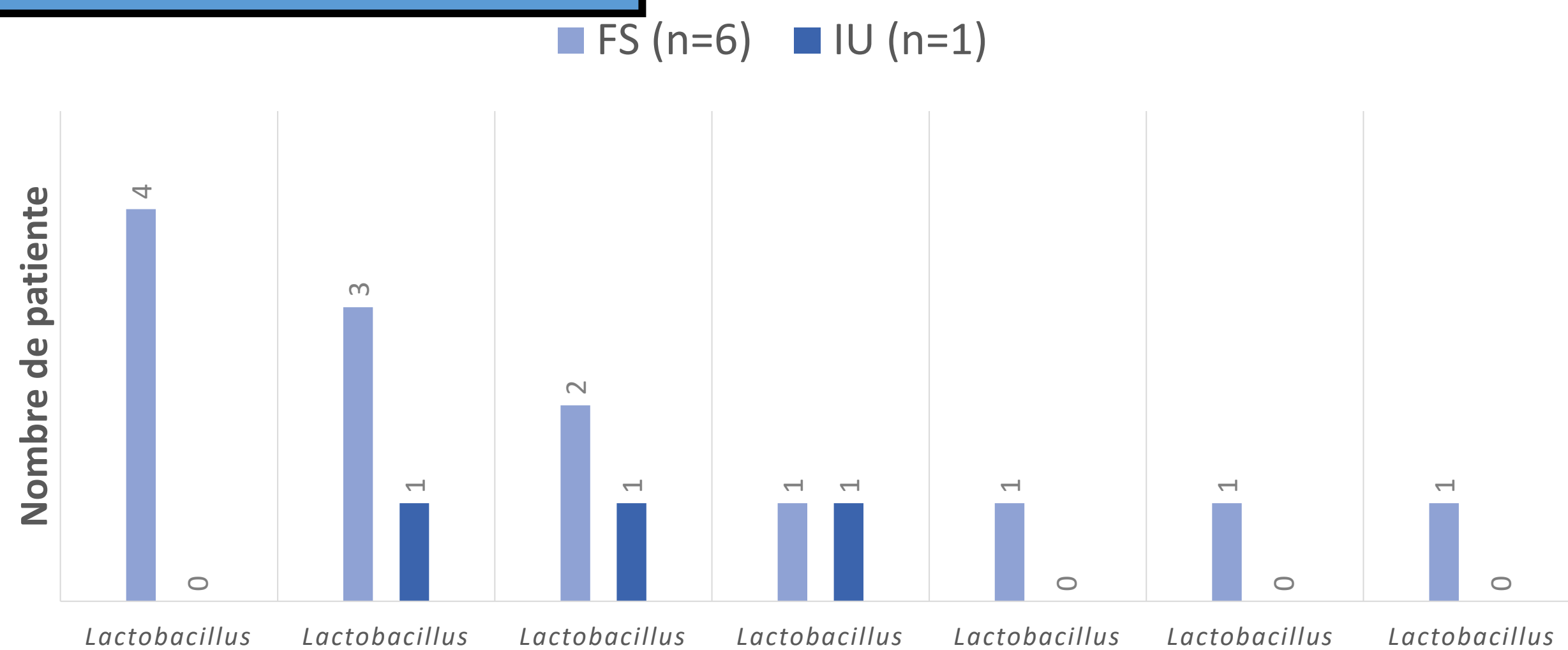
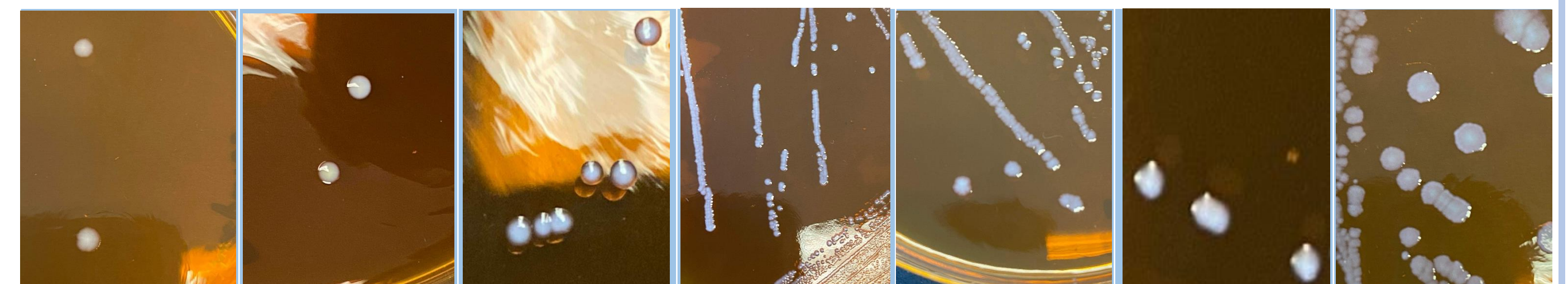


Figure 1 – Histogramme de la distribution des espèces de *Lactobacillus* dans le MU de femmes saines et d'un cas d'Infection urinaire

- 7 espèces de *Lactobacillus* identifiées : 5 à partir du milieu ANC, 7 à partir du milieu MRS (dont 4 à partir de l'enrichissement en bouillon MRS)
- 3 espèces de *Lactobacillus* communes aux FS et à l'IU
- *Lactobacillus crispatus* et *Lactobacillus jensenii* retrouvées en majorité

Aspect des colonies



	<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	<i>Lactobacillus mucosae</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Lactobacillus oris</i>
relief	plate	convexe	plate	convexe	convexe	plate	plate
contour	irrégulière	régulière	régulière	régulière	irrégulière	irrégulière	régulière
taille	moyenne	moyenne	très petite	petite	petite	moyenne	grosse
surface	rugueuse	smooth	smooth	smooth	smooth	rugueuse	rugueuse
couleur	blanchâtre	blanche	blanche	blanchâtre	blanche	blanchâtre	blanchâtre
opacité	opaque	opaque	translucide	opaque	translucide	opaque	translucide

Figure 2 – Tableau de l'aspect macroscopique des colonies des 7 souches de *Lactobacillus*

Analyses génomiques

	GC%	taille génome	Nombre de contig	N50	L50
<i>Lactobacillus gasseri</i> FS	34.79%	1,97 Mbp	65	58117	11
<i>Lactobacillus gasseri</i> FS	34.89%	2,07 Mbp	36	68090	7
<i>Lactobacillus jensenii</i> FS	34.40%	1,61 Mbp	49	63515	8
<i>Lactobacillus jensenii</i> FS	34.51%	1,75 Mbp	97	87790	7
<i>Lactobacillus jensenii</i> IU	34.11%	1,61 Mbp	78	60587	12
<i>Limosilactobacillus vaginalis</i> FS	39.71%	2,06 Mbp	105	47974	13
<i>Limosilactobacillus vaginalis</i> IU	39.70%	2,08 Mbp	82	54757	13

Figure 3 – Statistiques des draft génomes obtenues par NGS Illumina

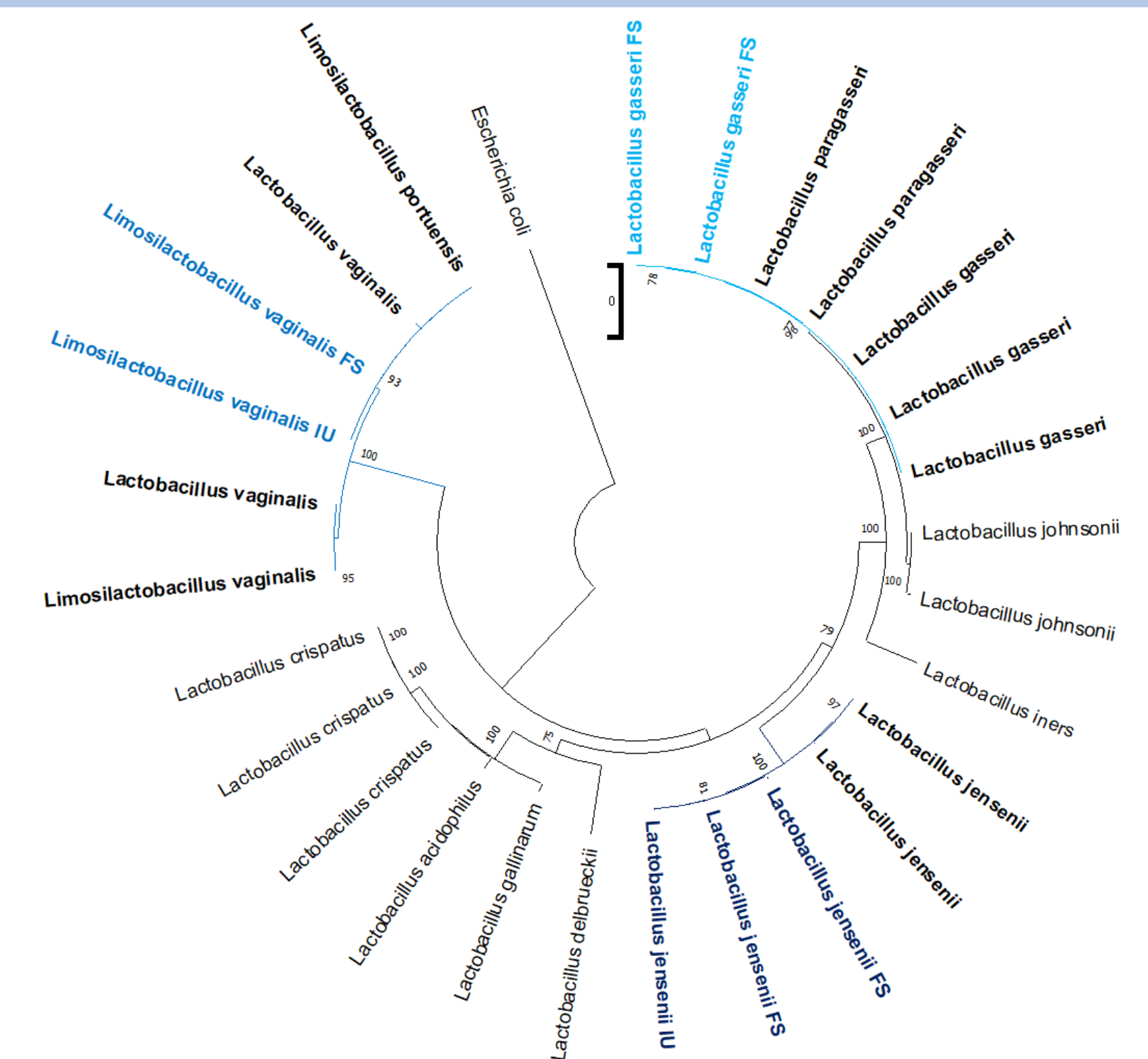


Figure 4 – Arbre phylogénétique réalisé par Neighbor Joining et 500 bootstraps, à partir d'un alignement des séquences 16S des 7 souches et de souches de référence NCBI

- Analyse génétique du gène codant l'ARNr 16S entier (V1-V9) permet de discriminer les espèces au sein du Genre *Lactobacillus*²
- Analyse du résistome par Resfinder : aucun gène de résistance identifié

Conclusion / Perspectives

Cette étude a permis de mettre en évidence 7 espèces de *Lactobacillus* dans le MU de FS et d'un cas d'IU. Les milieux les plus efficaces pour l'identification d'espèces de *Lactobacillus* se sont avérés être les milieux MRS. L'analyse du gène codant l'ARNr 16S permet de discriminer les espèces du genre *Lactobacillus*. Des analyses complémentaires seront effectuées afin de comparer le virulome et le résistome des souches des groupes IU et FS. De plus, une analyse phylogénétique basée sur le génome complet permettra d'identifier s'il existe des clusters spécifiques à un contexte clinique donné.



1. Perez-Carrasco, V., Soriano-Lerma, A., Soriano, M., Gutiérrez-Fernández, J. & Garcia-Salcedo, J. A. Urinary Microbiome: Yin and Yang of the Urinary Tract. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* **11**, 421 (2021).
2. O'Callaghan, J. L., Willner, D., Buttini, M., Huygens, F. & Pelzer, E. S. Limitations of 16S rRNA Gene Sequencing to Characterize *Lactobacillus* Species in the Upper Genital Tract. *Front. Cell Dev. Biol.* **9**, 641921 (2021).