



**HAL**  
open science

# Impact du microbiote vaginal et de la leucocytose évalués par le score de Nugent sur les résultats en Fécondation In Vitro

Emma Peel

► **To cite this version:**

Emma Peel. Impact du microbiote vaginal et de la leucocytose évalués par le score de Nugent sur les résultats en Fécondation In Vitro. Gynécologie et obstétrique. 2022. dumas-03927119

**HAL Id: dumas-03927119**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03927119v1>**

Submitted on 6 Jan 2023

**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.

*École de Maïeutique*

# Impact du microbiote vaginal et de la leucocytose évalués par le score de Nugent sur les résultats en Fécondation In Vitro

Présenté et publiquement soutenu

Le 9 juin 2022

Par

PEEL Emma

Née le 17 septembre 1997

Pour l'obtention du Diplôme d'État de Sage-Femme

Année universitaire 2021/2022

Membres du jury :

- Madame Marcant Sylvie, Sage-Femme, Hôpital Nord, AP-HM
- Madame le Docteur Géraldine Porcu-Buisson, Gynécologue Obstétricienne, et Directrice de mémoire
- Monsieur Riquet Sébastien, Sage-Femme Enseignant



AIX MARSEILLE UNIVERSITÉ

École de Maïeutique

Impact du microbiote vaginal et de la leucocytose  
évalués par le score de Nugent, sur les résultats en  
Fécondation In Vitro

PEEL Emma

Née le 17 septembre 1997

Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme d'état de Sage-Femme

Année universitaire 2021-2022

Validation 1<sup>ère</sup> session 2021 :    oui             non

Mention :    Félicitations du Jury           

Très bien                                   

Bien                                           

Assez bien                                  

Passable                                    

Validation 2<sup>ème</sup> session 2021 :    oui             non

Mention :

**Visa et tampon de l'école**

## Impact du microbiote vaginal et de la leucocytose évalués par le score de Nugent, sur les résultats en Fécondation In Vitro

Ce travail fait l'objet d'une présentation orale par le Docteur Porcu-Buisson au 8<sup>ème</sup> Congrès International de la Société de l'Endométriose et des Troubles Utérins (SEUD) à Athènes et à la 38<sup>ème</sup> réunion annuelle de la Société Européenne de Reproduction Humaine et d'Embryologie (ESHRE) à Milan.

## Remerciements

En premier lieu, je souhaite remercier les membres de mon jury, qui se sont rendus disponibles pour cette soutenance et ont accepté avec diligence d'évaluer mon travail de mémoire.

### **Au Docteur Géraldine Porcu-Buisson,**

Pour m'avoir proposé ce sujet passionnant et avoir accepté de diriger ce travail de recherches. Merci pour le temps que vous m'avez accordé. Merci pour votre motivation, votre dynamisme et votre implication.

**Au corps enseignant** de la faculté de science médicale et paramédicale de Marseille,

Pour leur soutien et leur encadrement au cours de ces quatre années d'étude.

### **A ma famille,**

Pour leur présence et encouragements sans faille. Leur amour au quotidien qui m'a permis de garder confiance en moi afin de poursuivre et d'accomplir le travail entrepris. Je leur dois beaucoup.

### **A mes amies,**

Pour les rires, pour leur soutien au long de ces quatre années intenses en travail et en émotion.

### **A mon Pierre**

Pour son amour et sa bienveillance. Merci de croire en moi.

# Sommaire

I.	Introduction à l'étude	page 1
II.	Matériel et Méthodes	page 7
III.	Résultats	page 11
IV.	Analyse et Discussions	page 26
V.	Conclusion de l'étude	page 39

# I. Introduction à l'étude

L'ensemble des muqueuses accessibles de l'organisme humain est colonisé par une flore microbienne abondante et diversifiée, appelée microbiote (1). L'avènement de la métagénomique a révélé la diversité des micro-organismes peuplant les microbiotes, dévoilant peu à peu les interactions symbiotiques entre chaque microbiote et son hôte. La métagénomique repose sur le séquençage des génomes de plusieurs espèces dans un milieu donné par des techniques de séquençage haut-débit, autrement appelé « Next Generation Sequencing » (NGS). Cette approche a permis d'apporter de nombreuses informations sur la qualité du microbiote génital, notamment sur l'abondance relative et la diversité des espèces séquencées (2). Des études récentes ont montré que ces micro-organismes longtemps considérés comme purement commensaux, exercent des effets bénéfiques essentiels sur la santé humaine (1).

Le microbiote uro-génital représente 9 % du microbiote humain, ce qui le positionne en cinquième place après le microbiote gastro-intestinal (29 %), le microbiote oral (26 %), le microbiote cutané (21 %) et le microbiote des voies respiratoires (14 %). Les micro-organismes sont présents tout au long de l'appareil génital féminin (2). Néanmoins, la diversité du microbiote génital est globalement faible comparée aux autres microbiotes du corps humain. Le microbiote vaginal se modifie au cours de la vie de la femme. Placé sous l'influence des hormones féminines (œstrogènes), le microbiote s'installe à la puberté et évolue suivant le cycle menstruel, la vie sexuelle, les grossesses, la contraception, la ménopause (3).

La flore bactérienne vaginale dominante est appelée flore de Doderleïn. En effet, en 1892, Albert Doderleïn (1860-1941), gynécologue allemand, avait été le premier à décrire les organismes colonisant le vagin. Il expliquait déjà à l'époque que ces organismes produisaient de l'acide lactique, ce qui inhibait la croissance des bactéries pathogènes *in vitro* et *in vivo*. La flore de Doderleïn est

représentée par le genre *Lactobacillus*. Les lactobacilles sont des bacilles à Gram positif en forme de bâtonnets, non mobiles non sporulés, et anaérobies facultatives. Ce sont les bactéries les plus acidophiles parmi les bactéries lactiques, prospérant à pH 4,0. (4). La concentration en lactobacilles est de  $10^7$  à  $10^9$  unités formant des colonies (UFC) par gramme de sécrétion vaginale. Le microbiote « normal » du vagin chez les femmes en bonne santé non enceintes comprend principalement une variété d'espèces de *Lactobacillus*, qui favorisent un environnement sain et favorable pour l'embryon dans la période pré- et péri-conceptuelle. Le genre *Lactobacillus* contient 170 espèces qui colonisent naturellement de nombreuses muqueuses chez l'homme. Plus de vingt espèces de lactobacilles ont été identifiées dans la cavité vaginale dont les plus souvent rencontrées sont *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* et *L. iners*. Bien souvent, une seule espèce de lactobacilles, parfois deux ou trois, domine l'écosystème vaginal avec une prévalence pour *L. jensenii* et *L. crispatus* (5) (6).

Une dysbiose génitale c'est-à-dire un déséquilibre de la composition de la flore microbienne peut favoriser l'apparition d'une infection génitale telle qu'une mycose ou une vaginose bactérienne (VB) (2). La vaginose bactérienne est un état pathologique caractérisé par un déséquilibre de la flore microbienne du vagin. Elle se traduit en général par la disparition des lactobacilles au profit d'une prolifération importante d'autres germes tels que *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Mobiluncus* spp et autres bacilles à Gram négatif anaérobies. Bien que la VB soit souvent asymptomatique, les femmes atteintes de VB sont plus susceptibles que celles sans VB de signaler une odeur vaginale, des démangeaisons et des écoulements (7). En France, l'incidence est de 15 à 20 % chez les femmes en période d'activité génitale mais 50 % des cas seraient asymptomatiques (8). La vaginose bactérienne est présente chez 10% des femmes enceintes. Notamment avec une prévalence plus élevée en début de grossesse qu'en fin de grossesse. A l'inverse, moins de 10 % des patientes présentant une flore normale en début de grossesse développeront une vaginose bactérienne (9). La vaginose bactérienne est le trouble génital le plus fréquent chez les femmes en âge de procréer ([Koumans et coll., 2007](#)). Le trouble est caractérisé par une dysbiose, changeant l'environnement acide normal dominé par *Lactobacillus* spp. vers un environnement plus hétérogène avec un nombre

accru d'anaérobies et d'anaérobies facultatifs tels que *Gardnerella vaginalis* (Lamont et al., 2011) (10)

Pour diagnostiquer la vaginose bactérienne nous utilisons le Score de Nugent. C'est un outil qui permet d'évaluer et de quantifier le déséquilibre de la flore vaginale. Il est basé sur un test bactériologique de l'évaluation semi-quantitative de 3 morphotypes bactériens : *Lactobacillus* spp, *Gardnerella vaginalis* et *Mobiluncus* spp en se fondant sur l'examen au microscope des sécrétions vaginales après coloration de Gram (7). L'établissement du score tient compte pour l'essentiel de la corrélation inverse entre la concentration en lactobacilles et les concentrations de deux autres morphotypes bactériens.

Ce score aboutit à une classification en flore vaginale normale, flore intermédiaire ou Vaginose Bactérienne (8).

Traditionnellement, la VB est considérée comme un problème obstétrical et gynécologique. Le lien entre la VB et les naissances prématurées et les infections post-chirurgicales a été étudié intensément (Hay et coll., 1994; Hillier et coll., 1995; Larsson et coll., 2000; Svare et coll., 2006; Thorsen et coll., 2006; Brocklehurst et coll., 2013) (10). La présence d'une VB pourrait être directement associée au risque de fausse-couche spontanée, d'une chorioamniotite et d'un moindre taux de réussite d'une fécondation in vitro (12). Des données récentes montrent qu'une dysbiose génitale serait associée à une altération des chances de naissance vivantes en assistance médicale à la procréation (AMP) en raison d'une diminution des taux de grossesse et d'une augmentation du risque de fausses couches (2).

L'infertilité est définie par l'Organisation Mondiale de la santé (OMS) comme l'incapacité d'un couple à parvenir à une conception et à mener une grossesse à terme après un an ou plus de rapports sexuels réguliers et non protégés pour les femmes de moins de 35 ans et après six mois pour les femmes de plus de 35 ans (12). L'infertilité concerne 15 % des couples qui cherchent à concevoir en France. Ces derniers ont donc de plus en plus recours à l'Aide Médicale à la Procréation. En 2016–2017, les taux nationaux d'accouchement étaient de 27,2 % (taux cumulé) en fécondation in vitro (FIV) et de 11,1 % en

insémination intra-utérine (IIU) (Agence de la biomédecine) (13). La fécondation in vitro (FIV) est la technique de procréation assistée la plus courante. Jusqu'à présent, cinq millions de bébés sont nés grâce à la technologie de FIV et augmentent à un taux annuel de 200 000 (14). La fécondation in vitro (FIV) consiste à reproduire au laboratoire ce qui se passe naturellement dans les trompes : la fécondation et les premières étapes du développement embryonnaire. Elle se déroule en six étapes : la stimulation ovarienne, le déclenchement, le prélèvement, la fécondation, le transfert embryonnaire, la grossesse (15).

Dans trois quarts des cas, l'infertilité est d'origine masculine, féminine, ou elle associe les deux sexes. Dans 10 à 25% elle n'est pas attribuable à un défaut spécifique d'un des deux partenaires (16).

Les causes d'infertilité chez la femme sont multiples : Syndrome des Oaires Polykystiques (SOPK), insuffisance ovarienne, sténose tubaire bilatérales, anomalies utérines et l'endométriose (17). Les pathologies tubaires se caractérisent par la réduction de la perméabilité des trompes de Fallope, bloquant le passage des spermatozoïdes vers l'ovule. Elle est le plus souvent liée à une infection, impliquant par exemple la bactérie chlamydiae (une des infections bactériennes sexuellement transmissibles les plus fréquentes) (18). Il s'agit de la principale cause d'infertilité dans de nombreux pays, notamment d'Afrique (19). L'endométriose est une maladie gynécologique fréquente qui concerne une femme sur dix (20). Elle se caractérise par la présence de glandes de l'endomètre et de stroma à l'extérieur de l'utérus (21). Ce tissu se trouve souvent à des sites dans le bassin, y compris les ovaires, les trompes de Fallope, les surfaces péritonéales, l'intestin et la vessie, mais peut aussi se greffer dans des organes distants (22). La maladie peut être asymptomatique. Mais dans certains cas, elle provoque des douleurs fortes (notamment au moment des règles) et/ou une infertilité (21).

Chez l'homme nous retrouvons deux causes d'infertilité : l'azoospermie (absence totale de spermatozoïde), les dysfonctions sexuelles (comme les troubles de l'érection) (16).

L'infertilité est devenue un problème social. Compte tenu de l'inefficacité des médecines traditionnelles et de la chirurgie, la technologie de FIV apporte de l'espoir aux patients infertiles (24). Bien que la fécondation in vitro ait été largement utilisée pour améliorer l'issue clinique de la grossesse, le taux reste encore faible. En effet, le taux de réussite est seulement de 20 à 25 % par tentative pour la FIV. Cela apporte une pression et une douleur énormes à d'innombrables familles. Nous savons que des facteurs connexes tels que l'âge, l'immunité et l'infection sont reconnus ; cependant, peu de travail est fait pour explorer le lien entre le microbiote vaginal et la FIV.

La question de recherche suivante sera donc traitée :

**Le microbiote vaginal altéré et la leucocytose vaginale, tous deux estimés par le score de Nugent, influencent-ils les taux de naissances vivantes dans la FIV après un transfert d'embryon ?**

Il s'agit d'étudier le retentissement du microbiote vaginal et principalement la vaginose bactérienne évaluée par le score de Nugent, la composition de la flore vaginale, sur les résultats d'une grossesse en fécondation in vitro mais aussi sur l'évolution des grossesses ainsi obtenues.

Les objectifs secondaires de cette étude seront d'évaluer :

- La composition du microbiote vaginal en fonction des indications (tubaires, masculines ou endométriose)
- La prévalence de la vaginose bactérienne en fonction de l'étiologie de l'infertilité
- L'impact de chacun des groupes de Nugent sur les résultats de la fécondation in vitro
- L'impact de la présence des Lactobacilles et Gardnerella sur les chances de grossesses en fécondation in vitro et sur leur évolution.

## II. Matériels et Méthodes

### 1. Type de l'étude

#### a) Type de Recherche

Il s'agit d'une étude non interventionnelle, rétrospective, monocentrique de cohortes qui a étudié les patientes prises en charge en FIV entre le 01/01/2017 et le 31/12/2019.

#### b) Recueil de données

Les données démographiques obstétricales, néonatales et fœtales ont été colligées à partir de dossiers informatisés dans le logiciel Médi-first.

L'accès aux données a été autorisé par le Docteur Géraldine PORCU-BUISSON. Ces données ont été anonymisées avant l'analyse statistique dans le respect du RGPD (Règlement Général sur la Protection des Données).

### 2. Population étudiée

985 patientes sans critère d'âge ont bénéficié d'une classification par le score de Nugent pour évaluer la vaginose bactérienne avant de débiter le protocole de stimulation de l'ovulation ou dans la première semaine du traitement en vue d'une (FIV).

### 3. Évaluation du microbiote et score de Nugent

Le prélèvement vaginal a été réalisé et étudié dans le laboratoire du Centre AlphaBio.

L'écouvillon est obtenu lors de l'examen au spéculum, étalé sur une lame de verre et laissé sécher à température ambiante. Puis le score Gram Stained et Nugent a été calculé selon les recommandations (Nugent et coll., 1991). Un test bactériologique basé sur une évaluation semi-quantitative de 3 morphotypes

bactériens (*Lactobacillus* spp, *Gardnerella vaginalis* et *Mobiluncus* spp) en se fondant sur l'examen au microscope des sécrétions vaginales après coloration de Gram a permis d'analyser le microbiote et de déterminer le score de Nugent. La VB a été diagnostiquée pour des scores de Nugent de 7 à 10 et un score de 4 à 6 a été considéré comme une flore intermédiaire (Nugent et coll., 1991).

Le score de Nugent permet le classement en 3 catégories :

- Groupe 1 : Flore dominante avec  $10^8$  à  $10^9$  bactéries/g. Le score est compris entre 0 et 3 :
  - Flore normale, à prédominance de lactobacilles, parfois elle est associée à d'autres morphotypes bactériens mais présents en petite quantité. Nous appelons cette flore la flore de Doderlein. Ce groupe est reconnaissable facilement au Gram dans leur morphologie classique : longs bacilles à Gram positif. Annexe I (23). De nombreuses espèces peuvent être présentes, les plus fréquentes étant *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L.jenseni*, *L. iners*. Certaines espèces ont un aspect trompeur à la coloration de Gram (aspect fin ou coccoïde évoquant à tort des corynébactéries ou des streptocoques).
  
- Groupe 2 : Flore sous dominante avec  $10^4$  bactéries/g. Le score est compris entre 4 et 6 :
  - Flore intermédiaire, avec des lactobacilles peu abondantes et associées à d'autres morphotypes bactériens peu différenciés en petite quantité. Annexe II (23). Il s'agit d'une flore vaginale altérée, mais elle n'est pas en faveur d'une vaginose bactérienne. La flore est variable d'une femme à une autre, les espèces qui la composent sont très variées : *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus*, streptocoques non groupables, entérobactéries, *Staphylococcus aureus* et autres staphylocoques, bactéries anaérobies, *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp, *Candida albicans*.

- Groupe 3 : Flore exceptionnelle avec <10 bactéries/g. Le score est compris entre 7 et 10 :
- Flore évocatrice d'une VB. Les lactobacilles ont disparu au profit d'une flore anaérobie abondante et polymorphe. Annexe III (23). Composée Haemophilus influenzae et para-influenzae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis, autres Neisseria et Moraxella.

De la même manière, la présence et l'abondance de leucocytes ont été enregistrées. Elles ont été classées en rares, peu nombreuses et très nombreuses.

#### 4. Étude statistique

L'étude statistique a été réalisée grâce au logiciel GraphPad Prism version 8 (<https://www.graphpad.com/>) gracieusement mis à disposition par l'Institut de Médecine de la Reproduction et le Dr Porcu-Buisson.

Le test T de Student a permis de mesurer les différences entre les moyennes de deux groupes.

Les variables qualitatives ont été décrites par le nombre de valeurs renseignées, la fréquence, le pourcentage de chaque modalité et comparées à l'aide du test du Chi<sup>2</sup> ou du test exact de Fisher.

#### 5. Variables étudiées

→ Les variables qualitatives

- Cause de l'infertilité : féminine (tubaires, endométriose), masculine
- Groupe de Nugent (1,2,3)
- Présence ou non de lactobacilles
- Présence ou non de gardnerella
- Leucocytose vaginale (rares, assez nombreux, très nombreux leucocytes)
- Tabagisme (oui/non)

→ Les variables quantitatives

- Âge (en années)
- AMH (hormone anti mullérienne)
- Compte de Follicules Antraux (CFA)
- Indice de Masse Corporelle (IMC)
- Terme (Age Gestationnel) en semaines d'aménorrhées
- Poids de naissances (en grammes)
- Grossesses
- Naissances vivantes
- Fausses couches

### III. Résultats

- Population étudiée et Données démographiques

985 patientes ont bénéficié d'un prélèvement vaginal mais plusieurs données concernant les résultats de la FIV ou l'issue des grossesses n'ont pu être obtenus que sur 967 d'entre elles.

223 patientes ont été prises en charge pour une endométriose, 172 pour une indication essentiellement tubaire et 353 pour une cause masculine prédominante.

Dans 219 cas, l'infertilité était d'origine mixte et chaque indication avait une égale importance dans la prise en charge et n'ont pas été prises en compte dans l'étude statistique afin de ne pas introduire de biais.

Cette étude statistique porte donc sur 748 patientes au total.

Les patientes ont des critères d'âge, d'IMC, de réserve ovarienne comparables quelle que soit l'indication de la prise en charge (tableau 1)

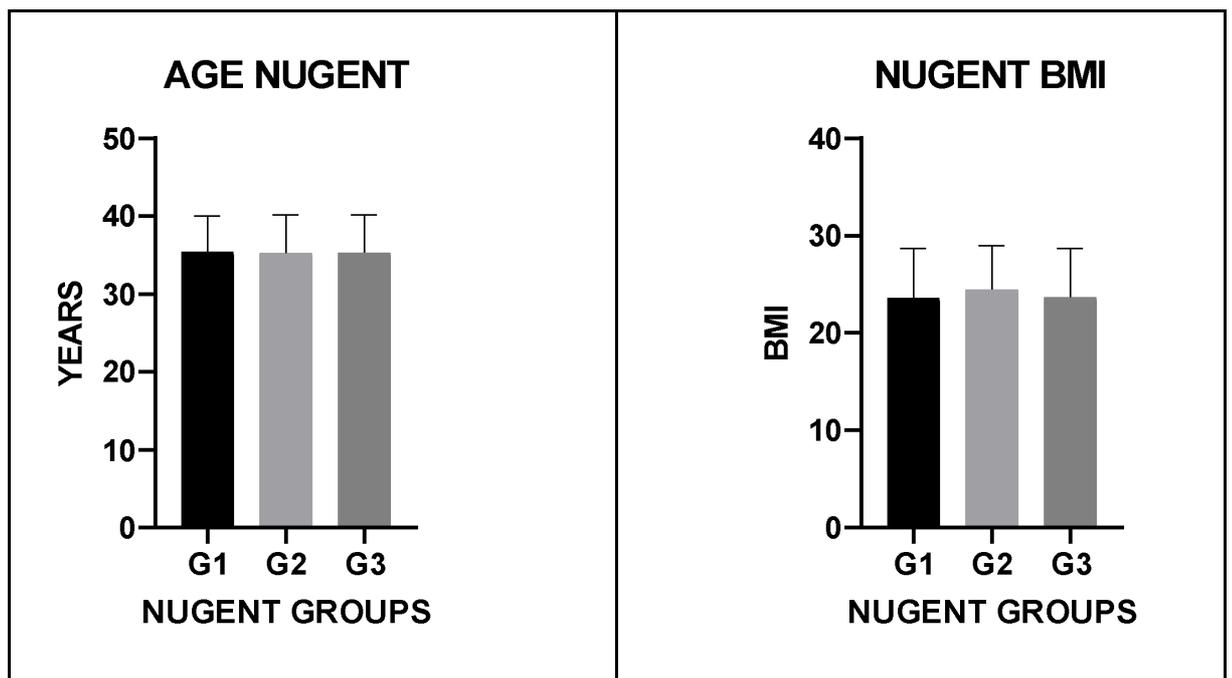
Tableau 1 - Données démographiques					
	Population totale (748)	Tubaires (172)	Endométriose (223)	Masculines (353)	p
Age (années)	35 (21.7 – 43)	35.3 (25.6 – 43)	35 (24.7 – 43)	35 (27.7 – 43)	ns
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24 (16-42)	23.7 (16-38)	23 (17-38)	2 (0.2 – 14.67)	ns
AMH (ng/ml)	2 (0.11 – 23.8)	2 (0.2 – 14.6)	2 (0.18 – 10.22)	2.41 (0.18 – 14.24)	ns

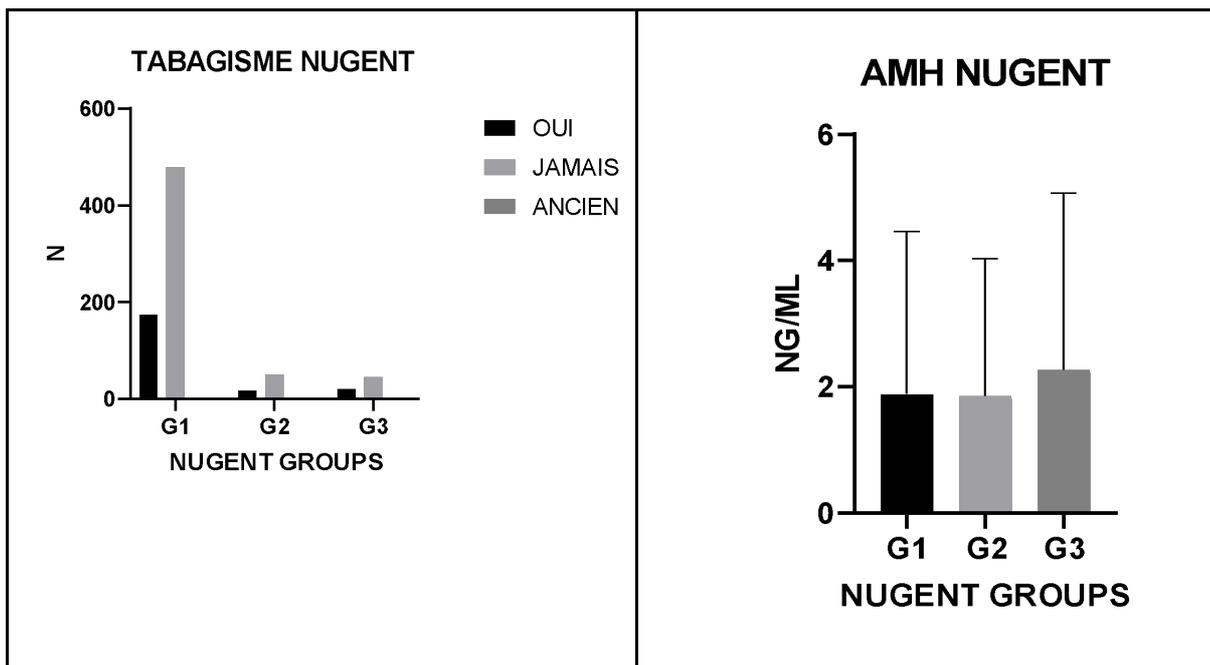
- Le Microbiote et Groupes de Nugent dans la population de l'étude

Concernant les groupes de Nugent, 597 patientes présentaient un prélèvement vaginal relevant d'un groupe 1 de Nugent, 54 dans le groupe 2 et 52 ont été placées dans le groupe 3.

Il n'y a pas de différence significative concernant l'âge ( $p=0.82$ ), la réserve ovarienne ( $p=0.3$ ), IMC ( $p=0.28$ ), la présence ou non d'un tabagisme ( $p=0.74$ ) parmi les patientes des 3 groupes (Tableau 2).

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	p
Age (années)	35.45 (21.7 – 43)	35.25 (26.3 – 43)	35.3 (25.8 – 43)	ns
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	23.67 (16-42)	24 (19-37)	23.67 (17-42)	ns
AMH (ng/ml)	1.88 (0.11 – 23.84)	2 (0.27 – 9.5)	2.27 (0.21-14.67)	ns





La prévalence de la VB, groupe 3 de Nugent est estimée à 6.52% dans la population totale prise en charge pour une Fécondation In Vitro dans cette période (63/967).

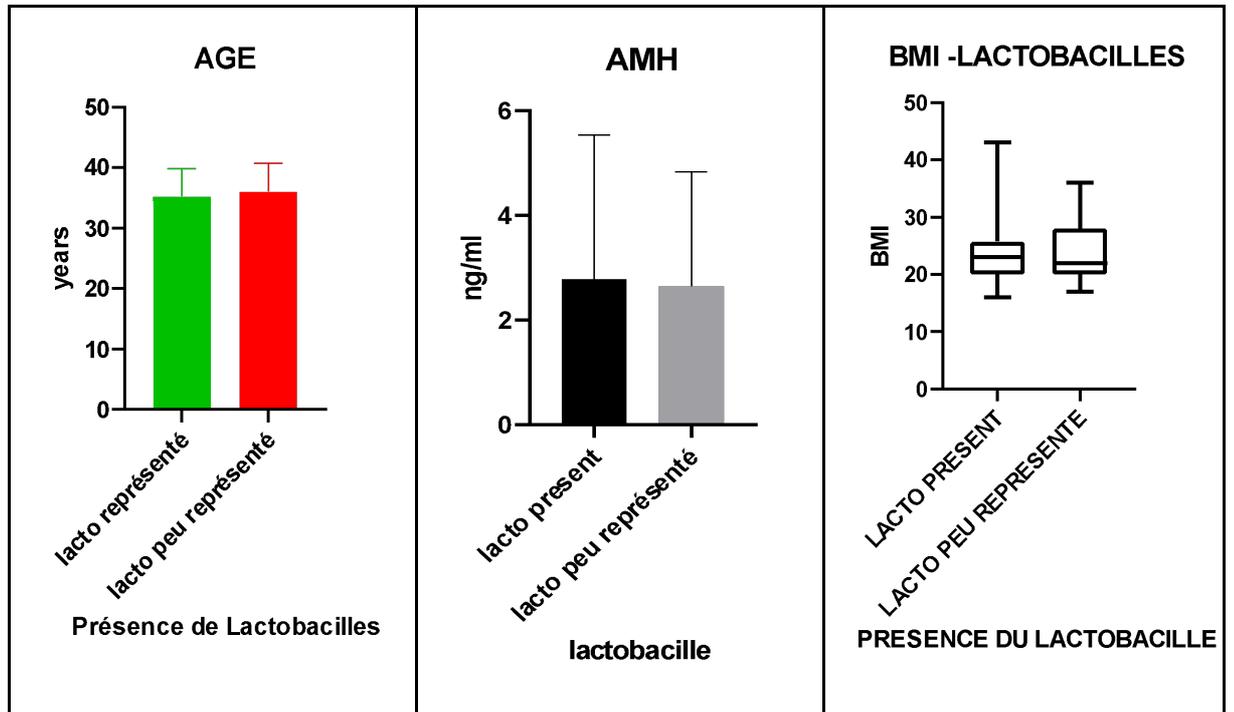
Dans la population des patientes dont l'indication principale de la FIV était masculine, la prévalence de la BV est de 5.51% (17/353) tandis que chez les patientes souffrant d'endométriose, la prévalence de la BV est de 8.07% (18/223) et 10.46% (18/172) chez les patientes prises en charge pour une pathologie tubaire.

La comparaison de la BV en fonction des indications, révèle une différence statistiquement significative entre la prévalence de la BV dans les indications masculines versus indications tubaires ( $p=0.03$ ).

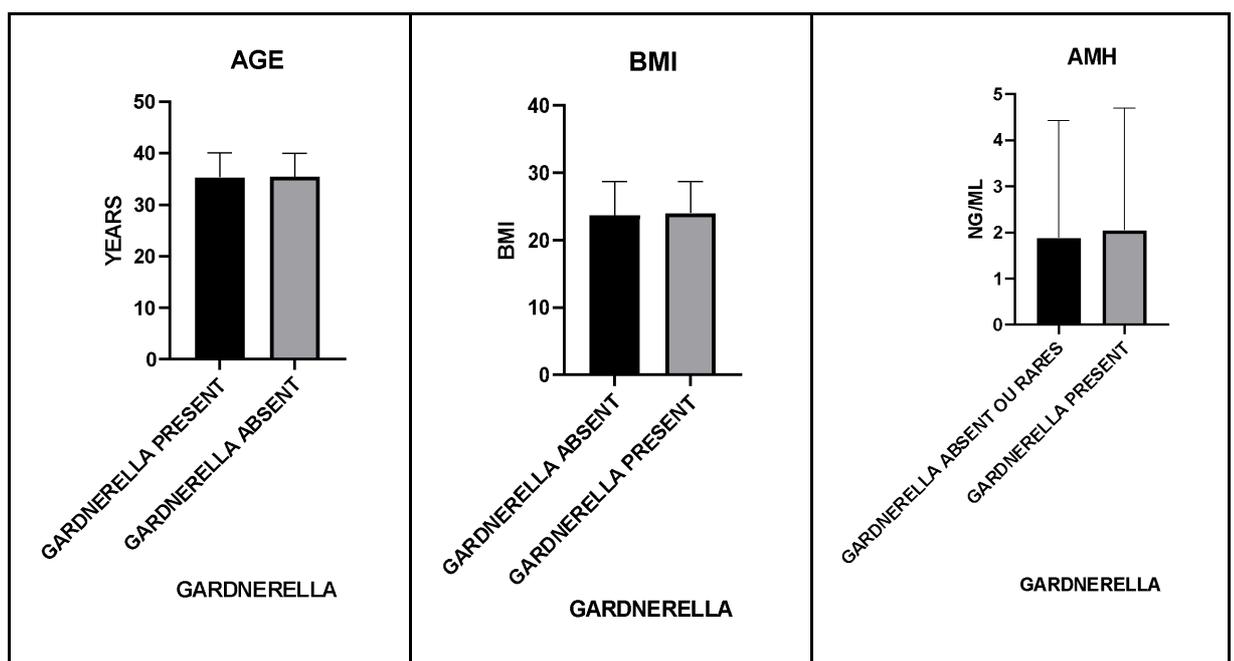
Lorsque l'on s'attache aux différentes bactéries étudiées dans le microbiote, la richesse du prélèvement en lactobacilles est différente en fonction de l'âge. Les patientes plus âgées ont une représentation moins importante de cette bactérie dans leur microbiote ( $p=0.04$ ).

Il n'y a pas de différence significative cependant en fonction de la valeur de l'AMH ( $p=0.63$ ), le BMI ( $p=0.36$ ) ou la consommation tabagique ( $p=0.5$ ).

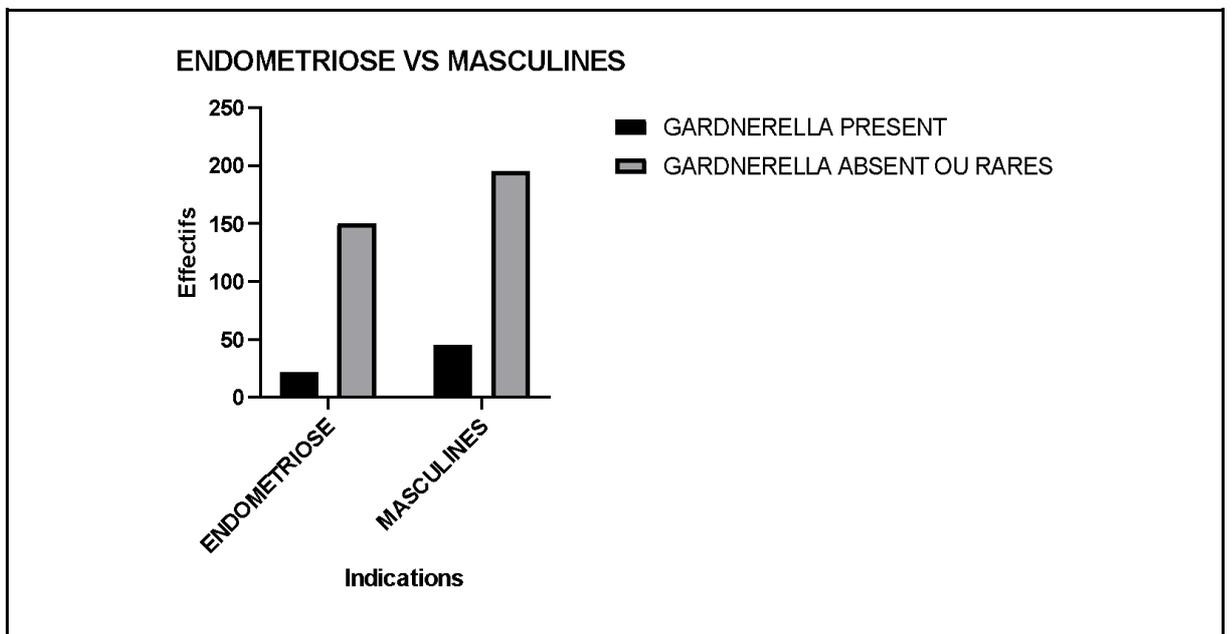
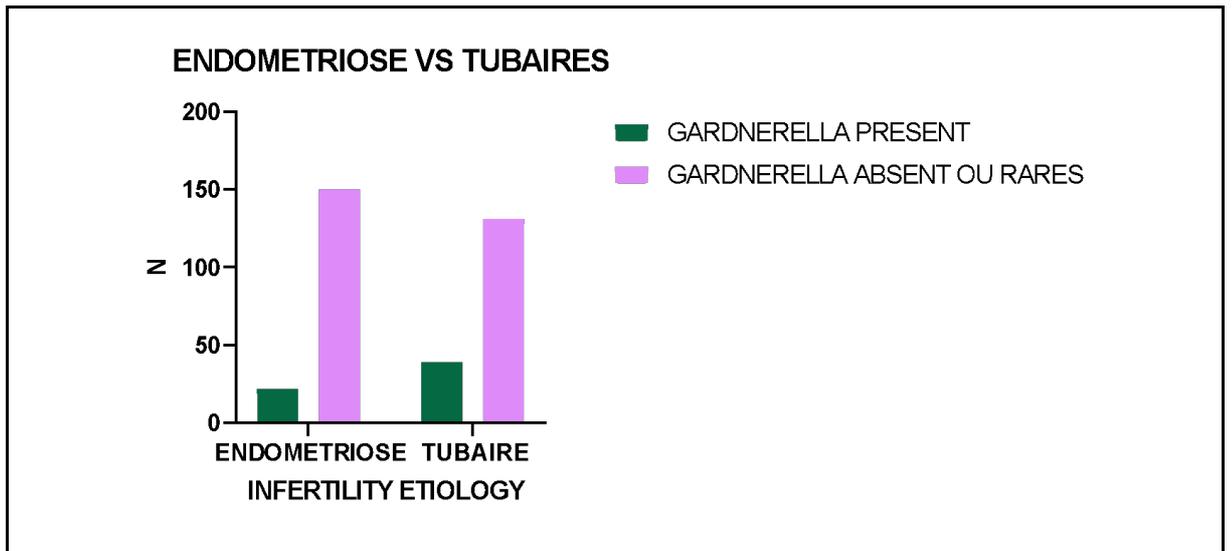
Il n'existe pas de différence significative entre les trois groupes étiologiques (masculines, endométrioses, tubaires) ( $p=0.05$ ).

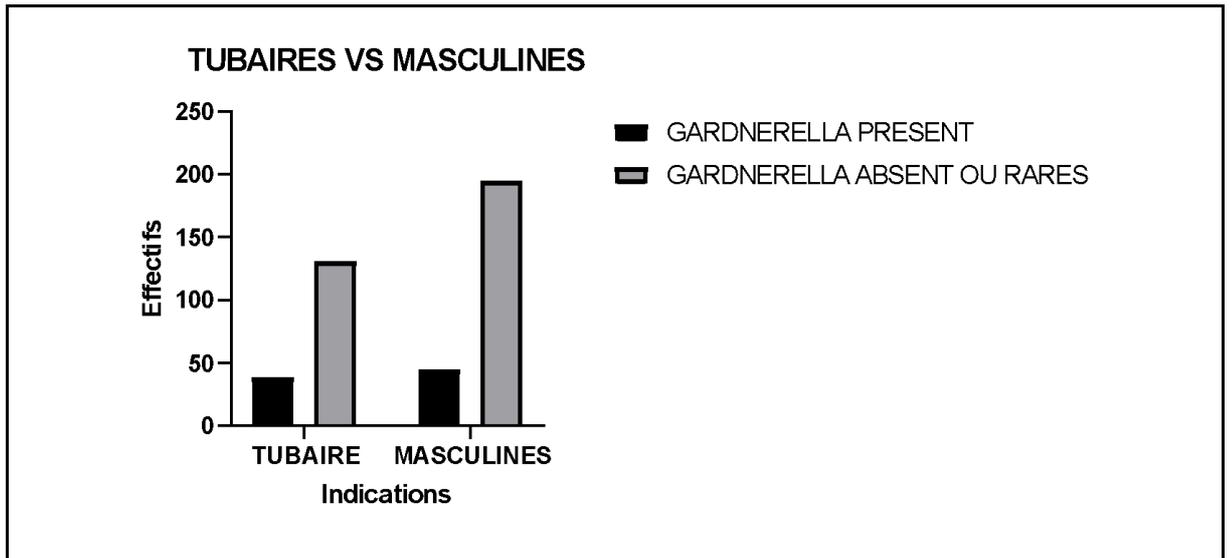


Concernant la recherche du Gardnerella, il n'y a pas de différence significative en fonction de l'âge ( $p=0.85$ ), AMH ( $p=0.44$ ), le BMI ( $p=0.5$ )



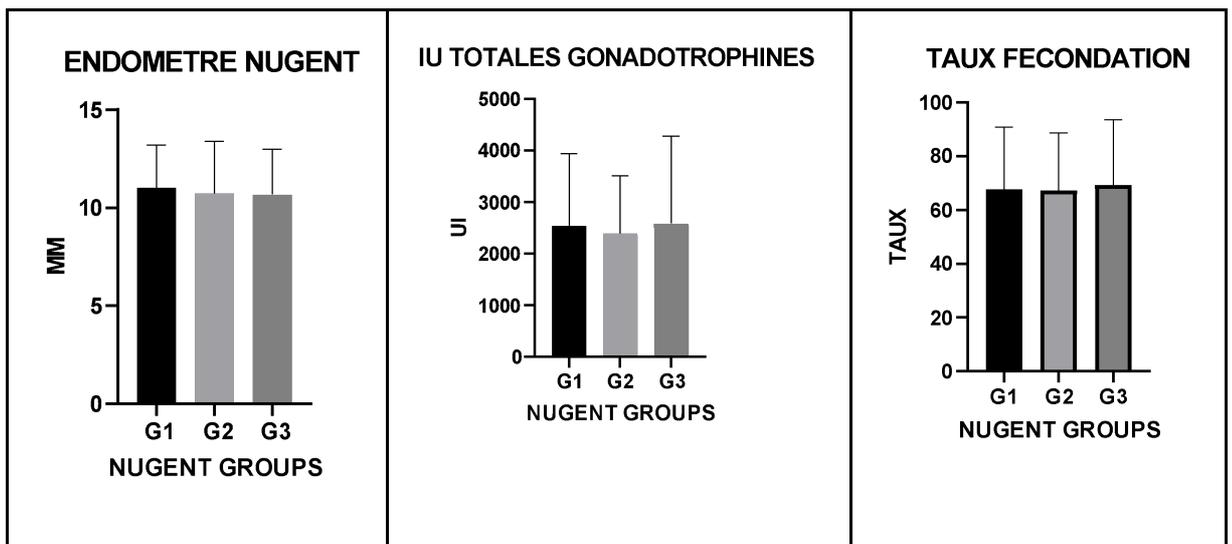
La comparaison des trois groupes d'étiologies de l'infertilité met en évidence une différence significative entre le groupe des patientes prises en charge pour une endométriose et le groupe des patientes prises en charge pour une pathologie tubaire. Le gardnerella est plus fréquent dans le groupe de patientes avec pathologie tubaire ( $p=0.01$ ).

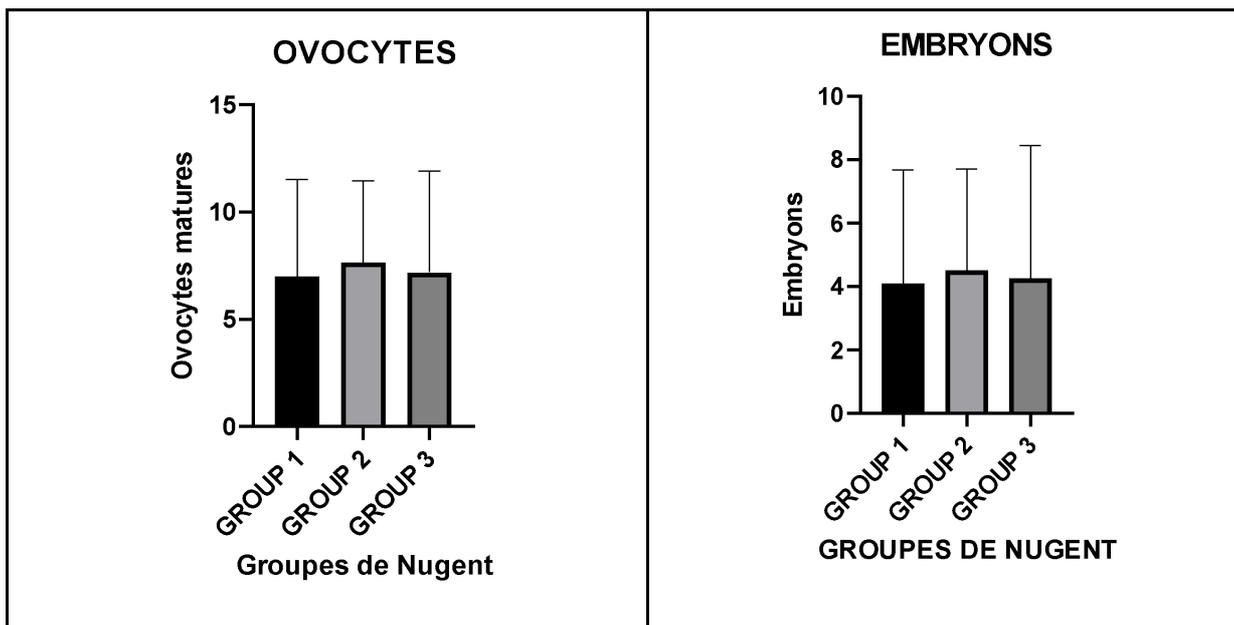




- Microbiote et Groupes de Nugent et réponse au protocole de FIV

Il n'y a aucune différence significative entre les groupes de Nugent concernant la réponse ovarienne ou endométriale à la stimulation en terme de nombre d'unités totales de gonadotrophines utilisées ( $p=0.36$ ), de durée de stimulation ( $p=0.59$ ), de taux de fécondation ( $p=0.88$ ), d'épaisseur de l'endomètre ( $p=0.18$ ), de nombre d'ovocytes matures (ovocytes en métaphase II) ( $p=0.76$ ) et nombre d'embryons obtenus ( $p=0.5$ ).





De la même façon, la présence ou non de Lactobacilles ou de Gardnerella n'influe pas sur les réponse ovarienne et endométriale aux gonadotrophines ni sur la dose utilisée, taux de fécondation, nombre d'ovocytes matures (ovocytes en métaphase II) ou embryons.

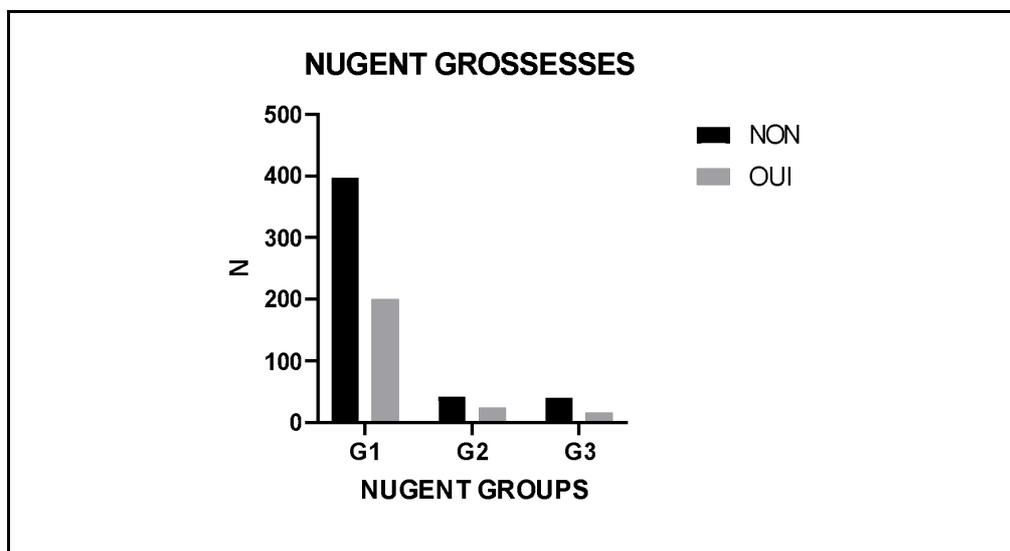
- Microbiote et Groupes de Nugent et résultats de la prise en charge en AMP

Il n'y a aucune différence significative concernant les critères d'âge, de réserve ovarienne et de BIM entre les patientes qui ont conçu après FIV et celles qui ont subi un échec.

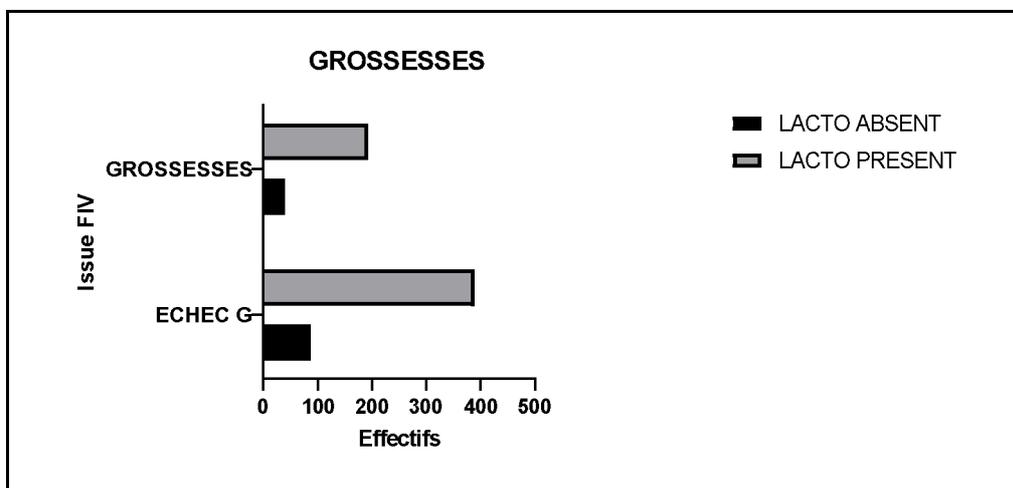
Résultats FIV			
	FIV Grossesses	FIV Echecs	p
Age (années)	34.52 (24.3 – 43)	35.69 (22-43)	ns
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.16 (17-42)	24 (16-41)	ns
AMH (ng/ml)	2 (0.16 – 17.98)	2 (0.11 - 23.84)	ns

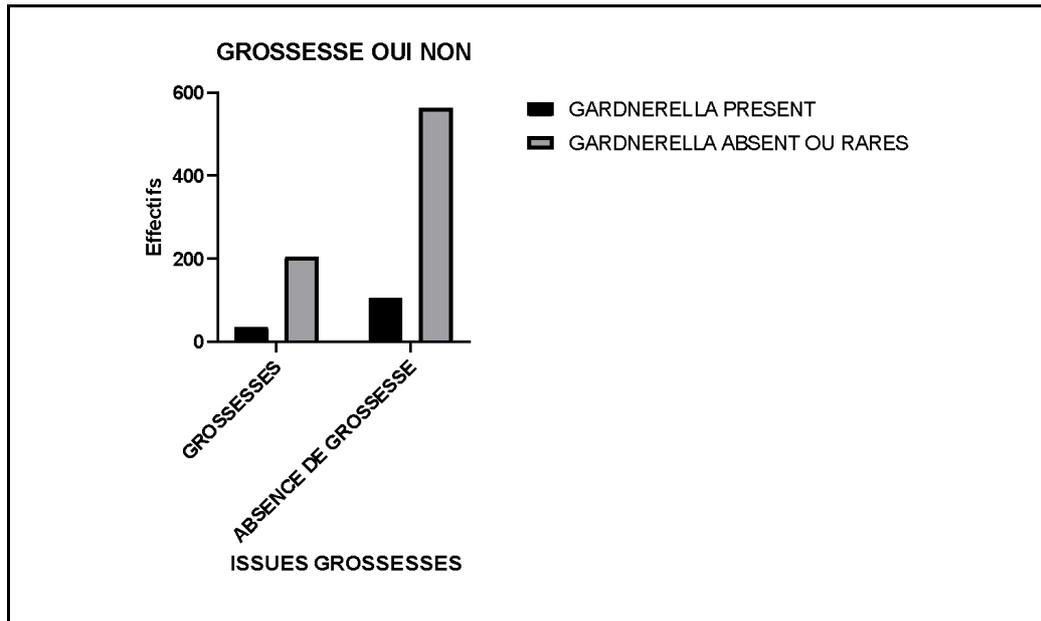
240 grossesses ont été obtenues après 719 transferts. Il n'y a aucune différence significative entre les groupes de Nugent quant à l'obtention d'une grossesse (Groupe 1 – 200/597) (Groupe 2 – 24/66) (Groupe 3 – 16/56)

Une Vaginose Bactérienne a été retrouvée dans 6.6% des cas chez les patientes devenues enceintes après le transfert et dans 8.3% des cas chez les patientes qui n'ont pas été enceintes. La différence entre les deux groupes n'est pas significative.



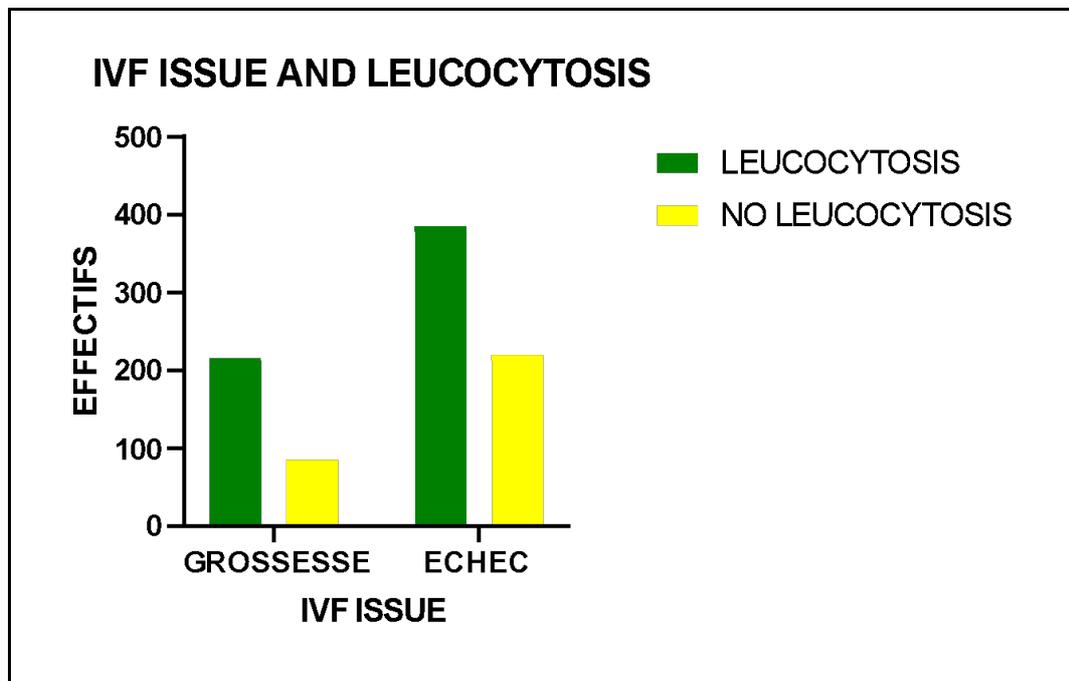
Concernant la présence ou non de lactobacilles ou celle du gardnerella entre le groupe grossesse et le groupe échec ne sont pas différentes (respectivement  $p=0,7$  et  $p=0.75$ )





Cependant, concernant la leucocytose (assez nombreux, nombreux, quelques leucocytes) ou absents (rares leucocytes) dans le prélèvement vaginal, la différence est statistiquement significative ( $p=0.014$ ).

La leucocytose est plus fréquente dans le vagin lorsque le traitement de FIV a échoué.



- Microbiote et Groupes de Nugent et Évolution des grossesses

Il n'y a aucune différence significative concernant les critères d'âge, de réserve ovarienne et de IMC entre les patientes qui ont donné naissance à un enfant vivant et celles qui ont eu une fausse couche spontanée du 1<sup>o</sup> trimestre.

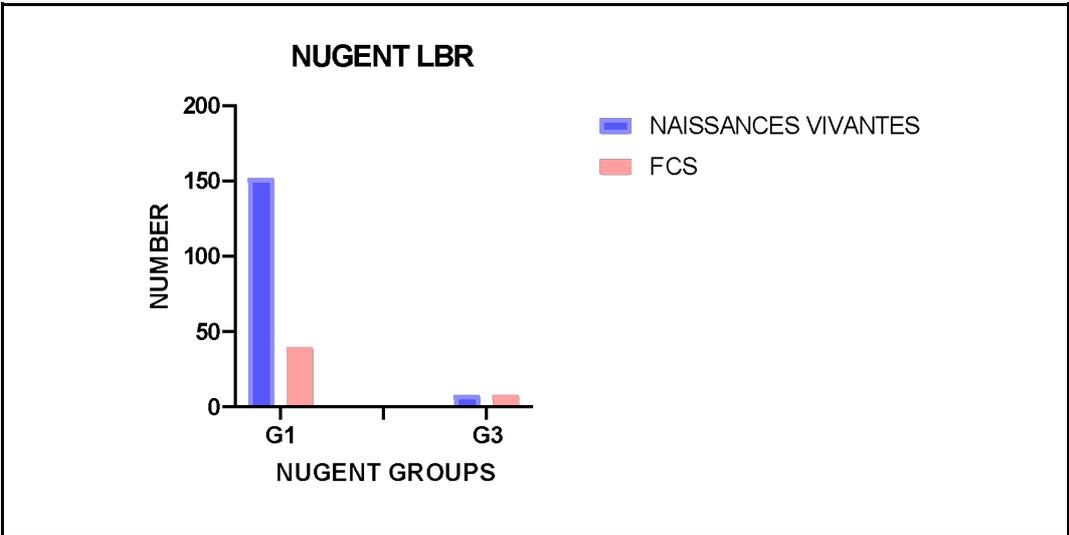
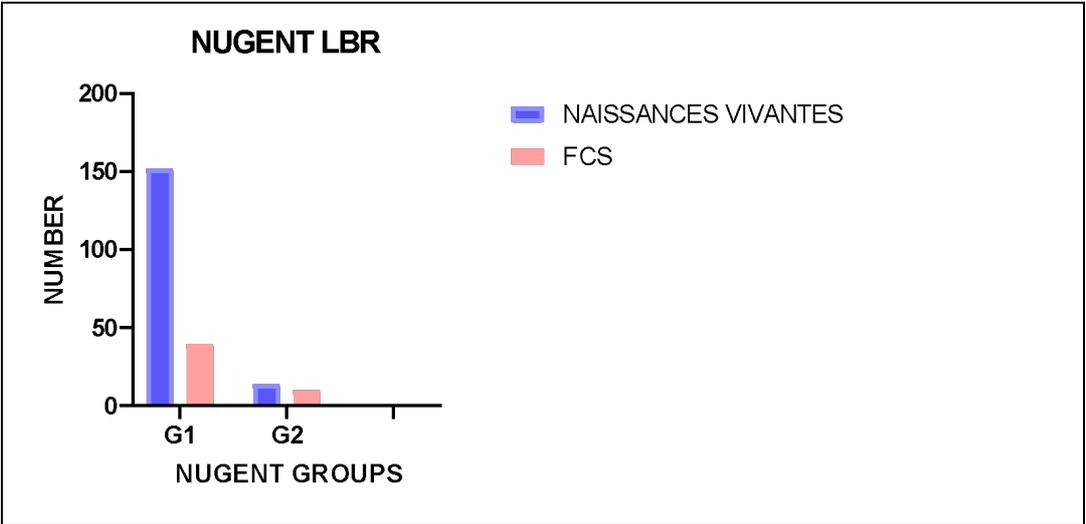
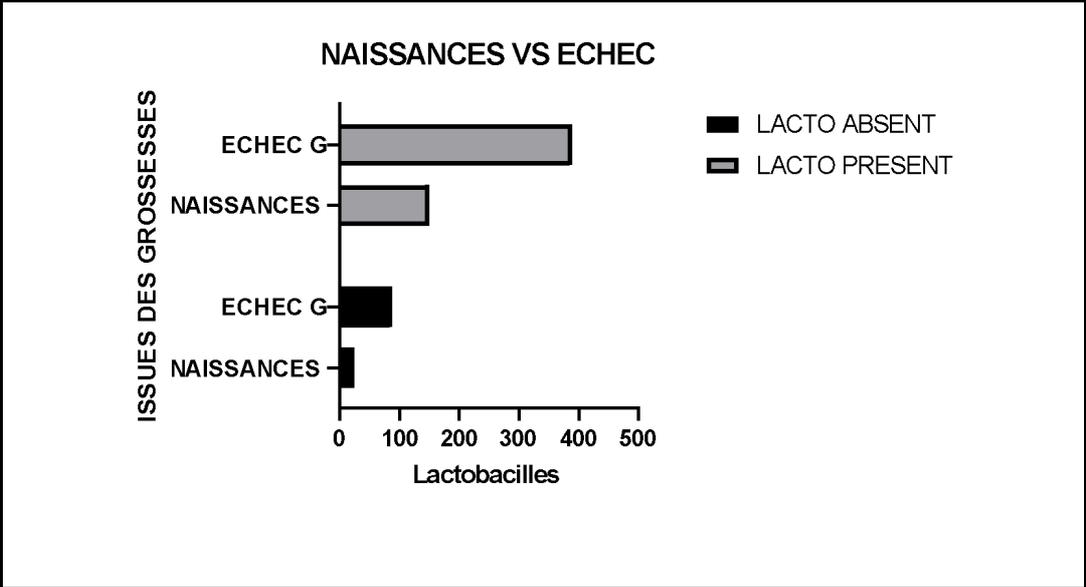
Issues des grossesses			
	FCS	Naissances Vivantes	p
Age (années)	35.48 (25.6 – 43)	34.1 (21.7 – 43)	ns
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.66 (17-36)	23.36 (17-42)	ns
AMH (ng/ml)	2.36 (0.16 -17.9)	2.06 (0.22 – 11.7)	ns

Il existe une différence statistiquement significative entre les groupes de Nugent concernant l'évolutivité de la grossesse.

Le nombre de naissances vivantes est statistiquement différent entre le Groupe 1 (152/192) et le groupe 2 (14/24) et le groupe 3 (8/16)

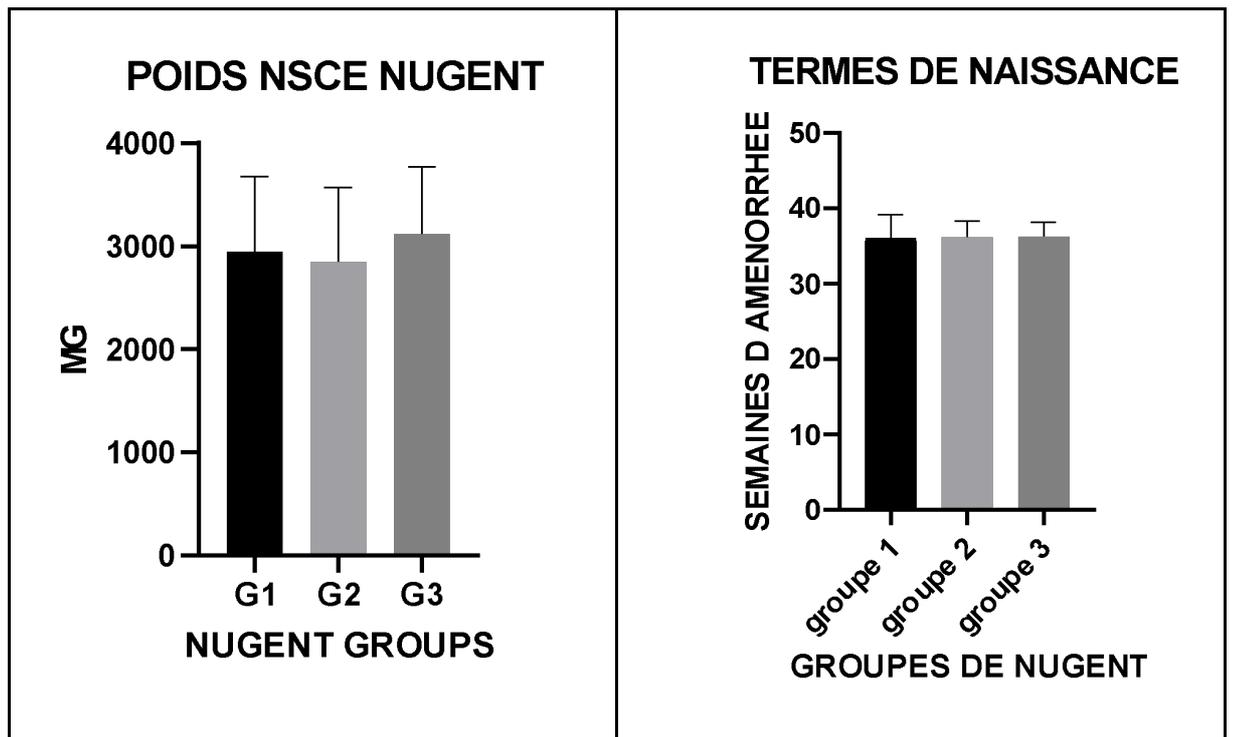
Il existe un risque de FCS plus important dans le groupe 2 (p=0.02) et le groupe 3 (p=0.01) par rapport au groupe 1 de Nugent.

Il n'y a aucune différence entre le groupe 2 et le groupe 3 (p=0.78)  
 Cette différence n'est pas retrouvée pour le lactobacille (p=0.19).



Lorsque la grossesse est obtenue, la présence de leucocytes n'affecte pas son évolution ( $p=0.3$ )

Il n'y a aucune différence en ce qui concerne le poids de naissance entre les 3 groupes de Nugent évalués avant le transfert d'embryons ( $p=0.71$ ) ou le terme de la naissance ( $p=0.98$ )

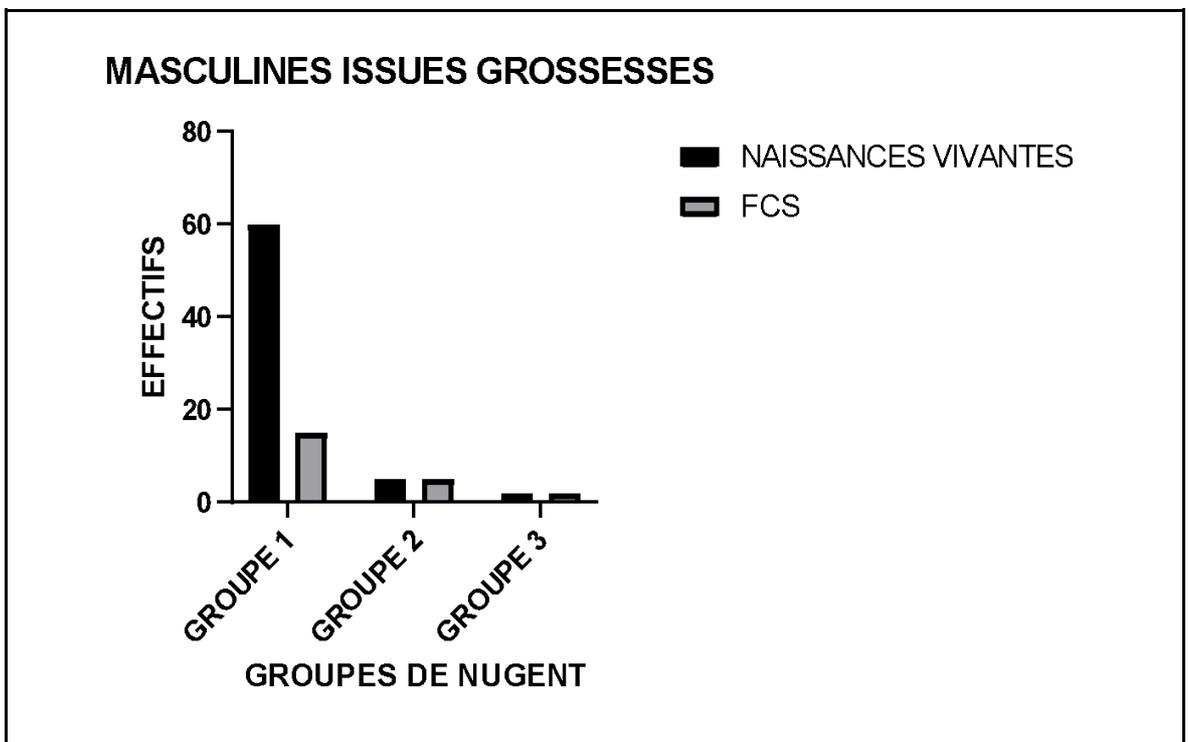
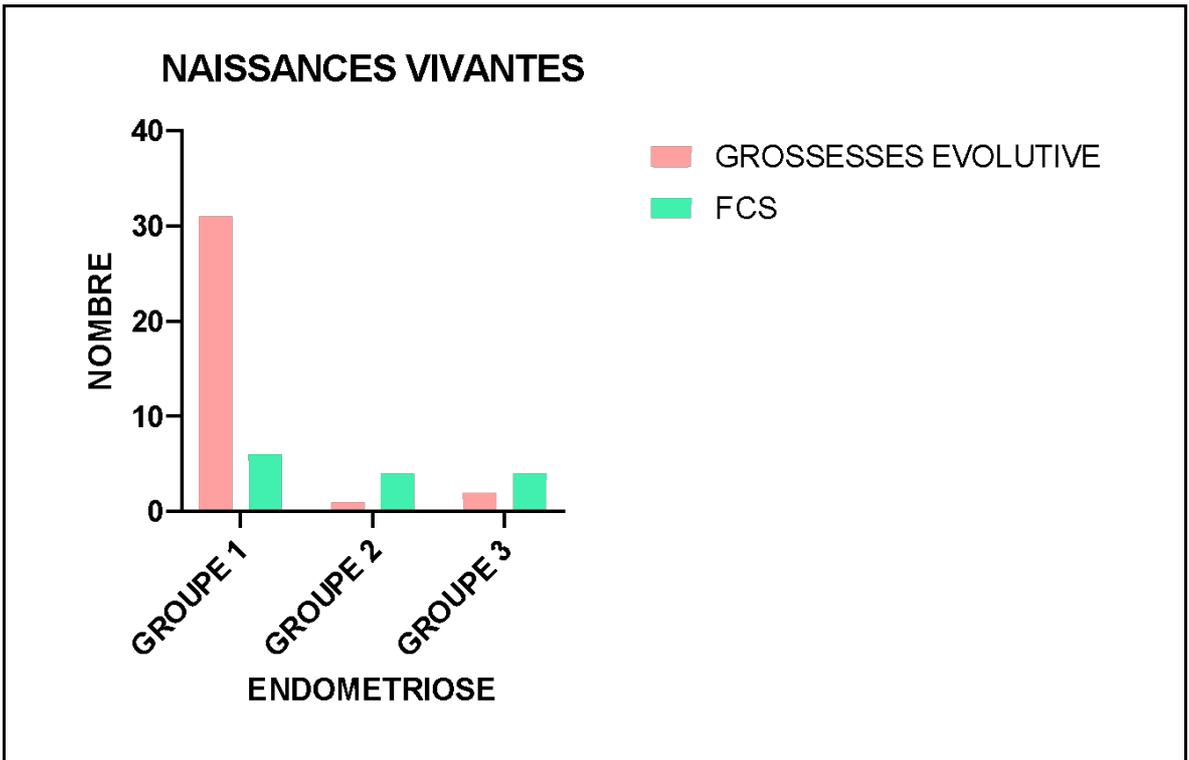


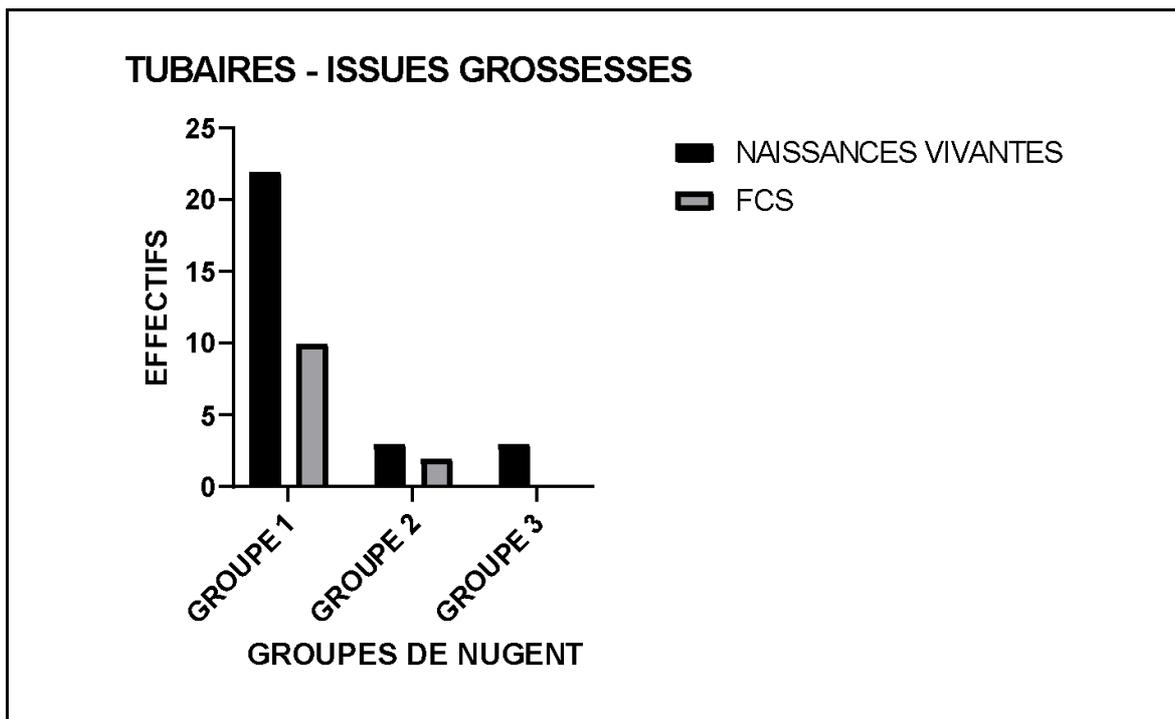
- Microbiote et Évolution de la grossesse selon les indications de prise en charge

Dans le cas des patientes prises en charge pour une endométriose, il existe une différence significative entre les groupes de Nugent concernant les chances de naissances vivantes. ( $p=0.001$ )

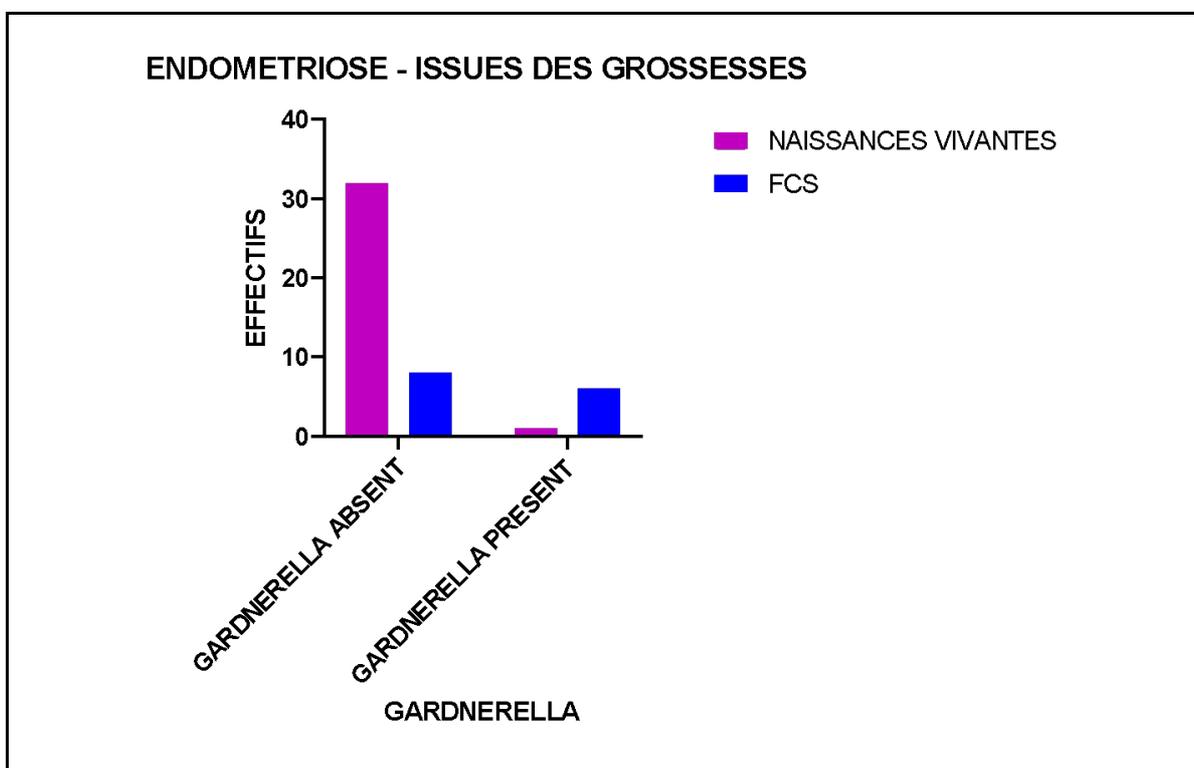
Les patientes du groupe 1 ont plus de chances de naissances vivantes (31/37) que les patientes du groupe 2 (1/5) ou groupe 3 (2/6).

Cette différence n'a pas été retrouvée dans les deux autres indications (masculines  $p=0.15$  ou tubaires  $p= 0.46$ ).





Dans le cas de l'endométriose, la présence de Gardnerella est statistiquement associée au risque de fausses couches. (p=0.001)



Cette association n'a pas été retrouvée dans les autres indications (Tubaires  $p=0.63$  ; Masculines  $p=0.28$ )

Il n'a pas été retrouvé d'association entre la leucocytose et l'issue des grossesses en fonction de l'indication de la prise en charge.

## IV. Analyse et Discussion

Dans cette étude, nous avons étudié l'impact du microbiote vaginal et principalement la vaginose bactérienne évaluée par le score de Nugent sur les résultats en Fécondation In Vitro.

Notre étude montre que l'obtention d'une grossesse ne dépendait pas du score de Nugent. En effet, une vaginose bactérienne a été retrouvée dans 6.6% des cas chez les patientes devenues enceintes après le transfert de l'embryon et dans 8.3% des cas chez les patientes qui n'ont pas été enceintes. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la grossesse est obtenue in vitro, sans le passage par la filière vaginale.

En revanche, une fois obtenue, l'évolution de la grossesse dépend du groupe de Nugent. D'après notre étude, concernant le taux de naissances vivantes, il existe des différences statistiquement significatives entre le groupe 1 (152/192) et le groupe 2 (14/24) ( $p = 0,03$ ) et entre le groupe 1 et le groupe 3 (8/16) ( $p = 0,01$ ), mais aucune différence entre les groupes 2 et 3 ( $p = 0,74$ ). Il y a donc plus de chance que la grossesse se développe correctement, suivi d'une naissance vivante lorsque la patiente se situe dans le groupe 1 du score de Nugent versus les groupes 2 et 3. Nos résultats semblent cohérents avec la littérature. L'étude de Singer et al. (2019) conclut que les femmes ayant un microbiote vaginal anormal ont environ 1,4 fois moins de chance de grossesse après un traitement de FIV que les femmes ayant un microbiote normal (27). Cette même étude révèle que la vaginose bactérienne n'affecte pas les taux d'implantation, mais elle est significativement associée à la perte de grossesse (27). La méta-analyse de Singer et al. (6 études, 1095 patientes) rapporte une baisse significative du taux de grossesses cliniques (odds ratio [OR] = 0,70 ; intervalle de confiance [IC] 95 % = [0,49–0,99]) chez les patientes présentant une vaginose bactérienne tandis que la méta-analyse de Haahr et al. (12 études, 2980 patientes) rapporte un taux de grossesses cliniques (risque relatif [RR] 0,93 ; [IC] 95 % = [0,75–1,15]) et un taux de naissances vivantes (5 études, RR 1,47 ; IC 95 % = [0,96–1,57]) similaires (26). Dans une autre étude d'Haahr et al, le

taux de grossesses cliniques était significativement plus faible dans le groupe dysbiotique par rapport au groupe dont le microbiote était normal avec un RC brut de 0,13, IC à 95% (0,01-0,62) (12).

En ce qui concerne le risque de fausses couches, notre étude montre qu'il est plus important dans le groupe 2 ( $p=0.02$ ) et le groupe 3 ( $p=0.01$ ) par rapport au groupe 1 de Nugent. Les fausses couches sont fortement corrélées avec des vaginites bactériennes et des perturbations de la flore vaginale pendant la grossesse. Ces résultats semblent être en accord avec la littérature. Haahr et al. (2019) rapportent une augmentation significative du taux de fausses couches précoces (avant 12 semaines de grossesse) chez les patientes présentant une vaginose bactérienne (28 % versus 17 %,  $p < 0,001$ ) (RR 1,68 ; IC 95 % [1,24–2,27]) (10). Des études ont montré que le dérèglement du microbiote vaginal était lié à de faibles taux de grossesse, d'avortement spontané, de fausse couche et d'accouchement prématuré spontané dans la reproduction humaine (1) (2) (4).

Nous avons montré qu'il n'y avait pas d'association entre la présence de tabagisme et le score de Nugent. De nombreuses études nous prouvent le contraire. Cela peut dépendre du nombre de cigarettes par jour, de l'antériorité du tabagisme, du type de cigarettes fumées (roulées, industrielles). Dans notre étude, seul un petit nombre de patientes étaient fumeuses, cela pourrait expliquer nos résultats différents à ceux trouvés dans la littérature. Haahr et al ont mis en évidence que le tabagisme était un facteur de risque important pour le microbiote intermédiaire de Nugent et la VB (12). En effet, les femmes fumeuses ont des taux d'oestradiol circulants inférieurs d'où un déséquilibre de la flore vaginale, ce qui expliquerait le risque élevé de vaginose bactérienne chez celles-ci. Les composants chimiques de la cigarette se retrouvent dans le mucus vaginal et altèrent la flore lactobacillaire présente.

La prévalence de la VB dans la population d'endométriose était de 8,07% (18/223). De nombreuses études menées à ce jour ont systématiquement révélé que chez les femmes atteintes d'endométriose, il y avait une augmentation des bactéries associées à la vaginose bactérienne et des agents pathogènes

opportunistes, ainsi qu'une diminution de la dominance des Lactobacilles dans l'appareil reproducteur des femmes (29). Dans une étude, Baris Ata et al. ont constaté que dans le microbiote des femmes atteintes d'endométriose, 84,6% étaient des lactobacilles et 10,5% Gardnerella, ce qui représente 95,1% du total des bactéries. Dans le groupe témoin, Lactobacillus représentait 80,2% et Gardnerella 7,3% des bactéries totales. Gardnerella représente une proportion significativement plus élevée du microbiote restant dans le groupe endométriose que chez les témoins (72,9% vs 36,8%,  $p < 0,05$ ) (26). Khan et al., 2014, ont signalé un changement significatif vers la microflore vaginale intermédiaire et une diminution de la microflore vaginale « normale » chez les femmes atteintes d'endométriose ( $P = 0,05$  et  $P = 0,007$ , respectivement). L'examen bactériologique d'échantillons d'endomètre de toutes les femmes a révélé une colonisation significativement plus élevée de Gardnerella et Escherichia coli dans les deux groupes de femmes (28).

Dans notre étude, la prévalence de la VB chez les patientes atteintes d'infertilité tubaire était de 10,46% (18/172). Dans l'étude de J. Ravel et al (2021), la vaginose bactérienne a été retrouvée chez 31,5 % de femmes atteintes d'infertilité tubaire et chez 19,7 % des femmes atteintes d'un autre type d'infertilité. En cas d'infertilité tubaire, la vaginose bactérienne est significativement retrouvée 2 à 4 fois plus fréquemment chez les patientes infertiles que chez les femmes fertiles (29). Deux études, l'étude de van Oostrum et al. ainsi qu'une méta-analyse de 12 études ont démontré que l'incidence de la vaginose bactérienne est significativement plus élevée chez les femmes atteintes d'infertilité tubaire que chez les femmes atteintes d'infertilité non tubaire [rapport de cotes (RC) = 2,77, intervalle de confiance (IC) à 95 % 1,62-4,75] (24, 29).

L'étude de T. Haahr et al (2016) a mis en évidence qu'avec la classification de Nugent, le groupe intermédiaire était significativement associé à l'infertilité tubaire par rapport à la flore normale, suggérant ainsi que les bactéries impliquées dans l'étiologie de l'infertilité tubaire sont regroupées dans le groupe intermédiaire. Ainsi, les bactéries de la VB et/ou de la flore intermédiaire ont le potentiel de remonter vers le tractus génital supérieur et peuvent par la suite jouer un rôle dans l'infertilité féminine par le biais d'une étiologie infectieuse

(Swidsinski et coll., 2013 ; Mitchell et coll., 2015). Cela nous mène à discuter des leucocytes, classés en nombreux, relativement nombreux, peu nombreux ou absents (leucocytes rares). La différence est statistiquement significative entre la grossesse et l'échec après transfert d'embryon ( $p = 0,014$ ). Notre étude montre que la leucocytose est plus impliquée dans le vagin lorsque la FIV a échoué. La flore intermédiaire de Nugent était significativement associée à la leucocytose vaginale, ce qui suggère que certains germes intermédiaires sont pathogènes. En effet, notre étude révèle que la présence d'une leucocytose est significativement associée à l'échec de l'obtention d'une grossesse ( $p=0.014$ ).

Une première supposition est l'association entre la VB et l'inflammation subséquente. Il a été démontré que les bactéries liées à la VB induisent l'activation immunitaire par la maturation des cellules dendritiques et augmentent les niveaux de cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les leucocytes (33). Cela entraîne une inflammation des muqueuses du tractus génital et empêche l'implantation embryonnaire. Des taux plus élevés d'interleukine cervicale (IL)- $1\beta$ , IL-6 et IL-8 cytokines ont été rapportés chez les femmes atteintes d'infertilité et de VB (33). Il a été démontré que la restauration du microbiote vaginal normal avec l'utilisation d'un comprimé vaginal probiotique contenant des Lactobacilles réduit les niveaux de cytokines pro-inflammatoires, soutenant l'hypothèse selon laquelle les bactéries associées à la VB peuvent augmenter l'inflammation. Les espèces de Lactobacilles utilisées dans le comprimé vaginal étaient *L. brevis*, *L. salivarius* subsp. et *L. plantarum*. La vaginose bactérienne augmente les niveaux locaux de cytokines pro-inflammatoires et endommage la barrière épithéliale et la muqueuse (33). Les bactéries associées à la vaginose bactérienne, telles que *Gardnerella*, *Prevotella* et *Bacteroides*, contribuent donc à un risque accru de maladies gynécologiques plus graves, y compris l'endométriose, les maladies inflammatoires pelviennes, l'endométrite et l'infertilité. L'immunité innée utilise des mécanismes visant à éliminer des micro-organismes pathogènes de façon non spécifique et rapide, et constitue l'une des premières lignes de défense lors d'une infection. Les cellules immunitaires impliquées sont les macrophages, les polynucléaires neutrophiles, les cellules dendritiques, les lymphocytes NK ainsi que les cellules épithéliales intestinales. L'immunité innée est généralement

mesurée par le relargage de cytokines, la phagocytose ou l'activation NK sous l'effet stimulant des bactéries.

Nous pouvons émettre une deuxième hypothèse. Nous savons que l'endométriose est une pathologie inflammatoire. Cette inflammation endométriale est peut-être provoquée par des cytokines sécrétées par les leucocytes qui interfèrent avec l'implantation. Moreno et al. suggèrent que les compositions de non dominance aux Lactobacilles peuvent déclencher une réponse inflammatoire dans l'endomètre, ce qui explique peut-être son association avec des issues négatives de la grossesse (32). L'inflammation de l'endomètre est une caractéristique de l'endométriose et un facteur majeur de son établissement et de sa progression. Il est donc raisonnable de soupçonner que l'altération du microbiote de l'endomètre (ou la non-dominance de Lactobacillus dans ce cas) peut être liée. Les cytokines et les prostaglandines sont des acteurs clés dans l'initiation, la propagation et la régulation des réponses immunitaires, y compris les processus inflammatoires. Les cytokines conduisent à des cascades de signalisation et à l'activation des cellules immunitaires. Dans le péritoine, ces molécules sont produites par divers leucocytes, principalement des macrophages et des cellules stromales des tissus ectopiques de l'endomètre, qui provoquent une réponse immunitaire et inflammatoire localisée (34, 35).

Par conséquent, lorsqu'une leucocytose est avérée, il serait intéressant de réaliser le transfert de l'embryon grâce à un cathéter encapsulé avant d'éviter la contamination vaginale-cervicale à la pointe de ce dernier. Il faut prendre en compte que la technologie de FIV implique le transfert d'embryons à travers le vagin, puis dans l'utérus par un cathéter, ce qui peut amener le microbiote vaginal (y compris les agents pathogènes et les leucocytes) dans l'utérus pendant le processus d'implantation de l'embryon. En effet, de plus en plus de preuves indiquent que la contamination bactérienne de la cavité utérine par transfert transvaginal d'embryons peut affecter négativement les taux d'implantation et l'issue de la grossesse.

De plus, certains spécialistes de la fertilité ont suggéré que la colonisation de la pointe de transfert du cathéter avec des Lactobacilles au moment du transfert d'embryons pourrait améliorer les taux d'implantation (23).

En revanche, l'évolutivité des grossesses n'est pas influencée par la présence de Leucocytes. Cela prouve bien qu'une fois la grossesse obtenue, la Leucocytose vaginale n'influe pas sur le devenir de celle-ci. En effet, la Leucocytose est au niveau vaginal et n'a donc pas d'impact au niveau endométriale, l'embryon peut donc évoluer. Dans l'étude de T. Haahr et al (2016) ils ont montré que la Leucocytose vaginale n'a pas eu d'effet négatif sur les taux de grossesse clinique ( $p = 0,99$ ) (10).

Concernant les Lactobacilles, notre étude montre que leur présence dépend de l'âge, il y en a moins chez les femmes plus âgées ( $p=0,04$ ), le microbiote évolue tout au long de la vie d'une femme. Les lactobacilles sont totalement dépendants de l'imprégnation oestrogénique, c'est-à-dire de la sécrétion d'oestrogènes, produites principalement par les ovaires. Notre étude montre que les Lactobacilles ne sont pas influencés par la présence de tabac, la réserve ovarienne et le BMI. Le microbiote peut également changer avec l'environnement, le poids, le régime alimentaire et le milieu hormonal (31).

En revanche, concernant le Gardnerella, notre étude montre que sa présence ne dépend pas de l'âge mais dépend de l'indication de l'infertilité. En effet, Gardnerella est plus représenté dans les pathologies tubaires et cette différence est significativement significative ( $p=0,01$ ). Une hypothèse serait que dans le tractus génital haut, il y a plus de diversité de germes et moins d'abondance de lactobacilles. Or les lactobacilles stimulent le système immunitaire local et forment des biofilms qui créent de véritables boucliers protecteurs. Ils transforment le glycogène sécrété par les cellules de la muqueuse génitale en acide lactique créant ainsi un milieu acide nécessaire au maintien du pH vaginal entre 3,5 et 4,5. Une moindre abondance de ces derniers pourrait expliquer une augmentation de germes pathogènes comme le Gardnerella. Annexe IV. Une autre hypothèse serait que la réponse immunitaire

tubaire détruirait moins efficacement les micro-organismes que celle du vagin et de l'endomètre.

Notre étude ne montre pas d'association entre la présence ou l'absence des Lactobacilles et des Gardnerella sur les chances en fécondation in vitro. La grossesse étant obtenue in vitro, la présence ou l'absence des Lactobacilles ou des Gardnerella n'ont pas d'impact. Nous n'avons pas retrouvé d'association entre l'âge et les chances de réussite en FIV dans notre population à l'étude. En revanche, l'étude de Y. Kong et al, l'âge ( $p = 0,001$ ) et l'épaisseur de l'endomètre ( $p = 0,02$ ) avaient un lien étroit avec les résultats de la grossesse. 555 patientes ayant reçu une FIV ont été recrutées et leurs résultats ont indiqué que l'âge et l'épaisseur de l'endomètre affectent de manière significative le résultat de la FIV (14). Enfin, dans cette même étude, il a été montré qu'une plus faible abondance de Lactobacillus et une plus grande abondance d'agents pathogènes comme les Gardnerella et Prevotella ont été identifiées chez des patientes non enceintes (14).

Concernant l'évolutivité des grossesses, notre étude montre que la présence ou l'absence de Lactobacilles n'influe pas sur l'évolutivité des grossesses. En effet, ce n'est pas parce que le nombre de Lactobacilles est élevé que le risque de fausse couche diminue. En revanche, s'il y a une augmentation d'agents pathogènes (comme le Gardnerella), le risque de fausse couche est plus important. Moreno et al. ont rapporté qu'un microbiote de l'endomètre dominé par Lactobacillus spp. présentait des taux plus élevés d'implantation d'embryons, de grossesse en cours et un taux plus faible de fausses couches. Les échantillons de femmes ayant obtenu une grossesse ont montré une plus grande présence de Lactobacillus spp. Les profils dominés par Lactobacillus étaient associés à la réalisation de la grossesse, et il y avait une relation entre la stabilité du microbiote vaginal et la réalisation de la grossesse (32). Dans une importante méta-analyse sur plus de 3 000 prélèvements, l'équipe de Kosti et al. a mis en évidence une association forte entre la présence de Lactobacilles à tous les stades de la grossesse et une naissance à terme (10). Les lactobacilles occupent un rôle primordial dans la protection de l'écosystème vaginal. Ils constituent une première ligne de défense contre des micro-organismes

responsables d'infections diverses grâce à plusieurs mécanismes de défenses (Annexe V) (33).

Dans le cas des patientes prises en charge pour une endométriose, notre étude montre une différence significative entre les groupes de Nugent concernant les chances de naissances vivantes. ( $p=0.001$ ). Les patientes du groupe 1 ont plus de chances de naissances vivantes (31/37) que les patientes du groupe 2 (1/5) ou du groupe 3 (2/6). Ce résultat semble être cohérent puisque c'est également le cas chez des patientes fertiles. Dans notre étude, il aurait été intéressant de classer les patientes en fonction de leur type d'endométriose. En effet une hypothèse pourrait être que le microbiote diffère en fonction du type d'endométriose et par conséquent, l'obtention des grossesses pourrait en dépendre.

En effet, il existe 3 sortes d'endométriose (22) :

- L'endométriose superficielle (ou péritonéale) qui désigne la présence d'implants d'endomètre ectopiques localisés à la surface du péritoine,
- L'endométriose ovarienne : l'endométriome ovarien est un kyste de l'ovaire caractérisé par son contenu liquidien couleur chocolat,
- L'endométriose pelvienne profonde (ou sous-péritonéale) correspond aux lésions qui s'infiltrent en profondeur à plus de 5 mm sous la surface du péritoine. Chez les patientes atteintes d'endométriose profonde, avec ou sans atteinte colorectale, le taux de fertilité spontanée est faible, de l'ordre de 10 %

La proportion de Lactobacilles au sein du microbiote endométrial semble être un marqueur particulièrement prometteur dans l'évaluation des chances de succès en FIV. Moreno et al. (2016) rapportent que les patientes présentant un microbiote endométrial « pauvre » en Lactobacilles (<90 %) semblent présenter des taux significativement diminués d'implantation (23,1 % versus 60,7 %,  $p = 0,02$ ), de grossesses (33,3 % versus 70,6 %,  $p = 0,03$ ), de grossesses évolutives au-delà du premier trimestre (13,3 % versus 58,8 %,  $p = 0,02$ ) et de naissances vivantes (6,7 % versus 58,8 %,  $p = 0,002$ ) en comparaison avec celles présentant un microbiote endométrial riche en Lactobacilles. De même, Kyono et al. (2019) ont rapporté des taux de grossesses significativement diminués chez les

patientes de FIV présentant un microbiote endométrial « pauvre » en Lactobacilles (<80 %) en comparaison à celles présentant un microbiote riche en Lactobacilles (40 % versus 61,3 %,  $p = 0,05$ ). Il semble que la grossesse ait un lien étroit avec l'abondance plus élevée de Lactobacilles (74,61 vs 63,09%), et la plus faible abondance d'agents pathogènes Gardnerella (6,03 vs 7,24%,  $p = 0,03$ ) (28).

Notre étude montre que la présence de Gardnerella chez une patiente atteinte d'endométriose est statistiquement associée à un risque de fausse couche ( $p=0,001$ ). Cela semble cohérent, étant donné que l'embryon s'implante dans la muqueuse utérine. Comme nous l'avons également remarqué, chez les patientes fertiles, le risque de fausse couche chez les patientes du groupe 3 du score de Nugent est statistiquement plus élevé. La vaginose bactérienne (Gardnerella vaginalis) est l'altération de la flore vaginale associée à un risque plus élevé de fausses couches (25).

En revanche, concernant l'infertilité tubaire et l'infertilité masculine la présence de Gardnerella n'est pas associée à un risque de fausse couche. Ceci semble être logique puisque l'embryon s'implante dans l'endomètre.

## Rôle de la Sage-Femme

Le métier de Sage-femme est d'accompagner les femmes en bonne santé et ou leur couple tout au long de leur vie.

Les sages-femmes sont en capacité de suivre une femme de son adolescence jusqu'après la ménopause en l'absence de pathologie chronique (CNOSF, 2015).

Elle est habilitée à concourir entre autres, aux activités d'assistance médicale à la procréation dans des conditions fixées par le décret n° 2012-885 du 17 juillet 2012.

Ses interventions en PMA peuvent avoir lieu en secteur hospitalier ou en libéral lorsqu'elle intervient en tant que tiers extérieur.

Afin de discuter des besoins des patients ayant fait face, ou faisant encore face à une infertilité, une rencontre a été organisée avec BAMP (Blog pour Assistance Médicale à la Procréation), une association de patients créée en 2003 et reconnue d'intérêt général. A la question : « Qu'est-ce que vous auriez aimé que l'on vous dise, 10 ans avant votre parcours d'infertilité ? », la réponse était simple : « Être informé. ».

Concernant les études de sage-femme, il faudrait renforcer le programme de la formation initiale et continue sur la fertilité humaine. Les sages-femmes seraient alors en mesure de délivrer des messages de prévention aux femmes et /ou aux couples qu'elles rencontrent. D'où l'importance d'aborder la fertilité féminine mais également masculine dans nos études. Aborder également les techniques pratiquées d'Aide Médicale à la Procréation et leurs objectifs propres, et cela dès le début de la formation initiale. Cela permettrait de lever les idées reçues sur les résultats obtenus à l'issue d'une prise en charge médicale. (Chelli and al. 2015).

La sage-femme a un rôle primordial au sein d'une équipe médicale d'AMP. En effet, les patients suivis en AMP ont besoin de vivre leur protocole de soins dans un réel dialogue avec leur médecin, sage-femme : être écoutés, avoir des

réponses aux questions qu'ils se posent, être en confiance. Ils doivent être informés de façon complète pour pouvoir faire des choix de vie, être considérés comme des interlocuteurs responsables, acteurs essentiels de leur parcours de soins. Les patients attendent aussi un accompagnement global, ainsi qu'une communication sécurisée et efficace, notamment dans les moments clés d'un parcours d'AMP : monitoring, après le transfert et en cas d'échec.

Le rôle d'information est primordial. Il est souvent nécessaire de reprendre avec les patients les détails du déroulement de la tentative, expliquer à nouveau la stimulation ovarienne, la ponction des ovaires et le transfert des embryons, envisager les risques de complications comme l'hyperstimulation ovarienne et évoquer le pourcentage élevé de grossesses multiples. Le discours tenu doit être clair, rigoureux, honnête et homogène. L'information délivrée doit être simplement explicitée, sans culpabilisation.

Renouveler un grand nombre de fois cette information permettrait de l'intégrer au fur et à mesure du temps, comme nous le faisons pour la prévention des infections sexuellement transmissibles ou l'information sur la contraception. Réexpliquer est un besoin très spécifique aux couples suivis pour infertilité.

La sage-femme a une place entière au sein d'un service d'AMP. Son rôle s'exerce et s'appuie sur les dimensions techniques et administratives de son travail, il s'inscrit dans « la quête de bien-être global, de sens et d'autonomie » qui le fonde. La sage-femme consolide la confiance établie entre le couple et l'équipe médico-technique.

La sage-femme établit ainsi une continuité de la conception à la parentalité. Sa place prend tout son sens en AMP.

## Limites de l'étude

Lors du prélèvement vaginal, l'écouvillon récupère les bactéries à différents endroits du vagin : tiers inférieur, fornix, mucus cervical. Or d'après Chen et Al, il a été démontré que le microbiome vaginal prélevé à différents endroits au sein d'une même personne variait (36). Dans une autre étude, des échantillons ont été prélevés à 3 sites différents dans l'appareil reproducteur, inférieur : le tiers inférieur du vagin, le fornix vaginal postérieur et la glaire cervicale. Les résultats ont indiqué que le microbiote différait dans de l'appareil reproducteur inférieur féminin en fonction de la localisation du prélèvement (42).

Notre étude est rétrospective, ce qui peut introduire plusieurs biais malgré la taille de notre échantillon, c'est-à-dire que toutes les étiologies d'infertilité ont été incluses et qu'aucune différence n'a été faite en fonction des origines ethniques des patientes, ce qui peut avoir entraîné des biais.

Il aurait été intéressant de prélever les échantillons vaginaux 3 à 7 jours après la période menstruelle, pendant la phase folliculaire précoce et cela pour toutes nos patientes. En effet, l'étude de R. Perrotta et al. ont conclu que la composition du microbiote vaginal différait considérablement entre les phases folliculaire et menstruelles du cycle chez les mêmes individus (43).

## V. Conclusion

Depuis plusieurs années, une attention particulière est accordée au microbiote vaginal et à la vaginose dans le cadre de la FIV et de l'échec de l'implantation embryonnaire. Les lactobacilles sont reconnus comme dominants dans un environnement sain de microbiote vaginal tandis que gardnerella est plus présent dans un microbiote vaginal altéré et une vaginose bactérienne.

Notre étude a prouvé que le score de Nugent est capable de diagnostiquer la vaginose bactérienne et de prédire sa mauvaise influence à la fois sur l'étiologie de l'infertilité et sur l'issue de la grossesse après un nouveau transfert d'embryon frais. Le score de Nugent permet également de définir le groupe intermédiaire et la leucocytose vaginale auxquelles une attention particulière doit être accordée car elle peut compromettre une grossesse.

Bien que toutes les études publiées soient pour la plupart des méta-analyses, l'originalité de notre étude réside dans le nombre de patients (967) testés dans un seul laboratoire et pris en charge par un seul centre. Cette étude rapporte également l'influence du microbiote et de la leucocytose sur les taux de naissances vivantes.

Faut-il évaluer le microbiote génital avant une prise en charge en AMP ?

La réalisation d'un prélèvement vaginal avant la tentative d'AMP permettrait la caractérisation du microbiote génital et la présence d'une leucocytose par le score de Nugent. Ainsi, la découverte d'un microbiote altéré, un profil favorable ou encore la présence de leucocytes pourraient être un critère décisionnel supplémentaire en faveur du report du transfert embryonnaire. A ce jour, il existe de nombreux profils microbiotiques vaginaux différents. La caractérisation d'un microbiote sain ne peut donc pas être définit. Cependant, on peut souligner que, d'après notre étude, la présence de leucocytes vaginal a un impact négatif sur les chances de grossesses. Il serait donc intéressant d'évaluer uniquement la présence de leucocytes vaginal avant le transfert d'embryon grâce au score de

Nugent. Cette mesure permettrait le report du transfert d'embryon et une plus grande chance de grossesse.

L'impact négatif de certaines dysbioses vaginales et de leucocytoses vaginales dans les échecs d'AMP est de plus en plus confirmé. Une approche thérapeutique pourrait permettre de restaurer le microbiote et ainsi favoriser l'augmentation du taux de naissances vivantes en AMP. A l'heure actuelle, des recherches sont en cours dans le potentiel des probiotiques anti-inflammatoires et immunologiques.

## VI. Bibliographie

- (1) **Coudeyras, Sophie Forestier, Christiane** Microbiote et probiotiques : impact en santé humaine Canadian Journal of Microbiology, Volume 56, Number 8, 1 August 2010, pp. 611-650 (40). Consulté le 03/01/22.
- (2) **Mauries C, et al.** Évaluation du microbiote génital : une approche émergente en assistance médicale à la procréation. Gynécologie Obstétrique Fertilité & Séologie (2020), <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2020.07.005> Volume 49, Issue 3, March 2021, Pages 185-192. Consulté le 03/01/22.
- (3) **P. Santulli, et al** Stratégies de prise en charge de l'infertilité en assistance médicale à la procréation dans un contexte d'endométriose, RPC Endométriose, CNGOF-HAS <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2018.02.025>. Vol 46 - N° 3P. 373-375 - mars 2018. Consulté le 11/03/22.
- (4) **Rémi Gschwind et al,** Établissement du microbiote - Une colonisation in utero déterminante pour la santé future ? médecine/sciences; Number 4, Avril 2018 médecine/sciences 2018 Volume 34 page 331–337. Consulté le 12/12/22.
- (5) **Tailliez P.** Les lactobacilles : propriétés, habitats, rôle physiologique et intérêt en santé humaine. Antibiotiques. 2004, 35–41.
- (6) **Nappi RE, Palacios S, Panay N, Particco M, Krychman ML.** Vulvar and vaginal atrophy in four European countries: evidence from the European REVIVE Survey. Climacteric. 2016 Apr;19(2):188-97. doi: 10.3109/13697137.2015.1107039. Epub 2015 Nov 19. Consulté le 14/02/22.
- (7) **Oluwatosin Goje, MD, MSCR,** Cleveland Clinic, Lerner College of Medicine of Case Western Reserve University. La vaginose bactérienne est une infection vaginale qui survient lorsque l'équilibre des bactéries vaginales est rompu. Dernière modification du contenu avr. 2021. Consulté le 04/11/22.
- (8) **Bergogne-Bérézin E.** Flores vaginales normales, vaginites et vaginoses bactériennes : diagnostic et thérapeutique. Antibiotiques. 2007, 44-139. Consulté le 09/05/22

- (9) **J.-P Menard, F. Bretelle.** Vaginose bactérienne et accouchement prématuré. Science Direct Gynécologie Obstétrique et Fertilité, vol 40. 2012, 48-54. Consulté le 09/05/22 sur <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1297958911004334>
- (10) **Laboratoire BioSaga.** Veille Sanitaire n°56 – Vaginose Bactérienne date d’application le 2017.09.12. récupéré 09/01/22 sur [https://www.biosaga.fr/fichiers\\_site/a2353bio/contenu\\_pages/Veille\\_sanitaire56.pdf](https://www.biosaga.fr/fichiers_site/a2353bio/contenu_pages/Veille_sanitaire56.pdf).
- (11) **J. Rech.** Science Université Lomé (Togo) Étude comparative des critères d’Amsel et du score de Nugent pour le diagnostic de la vaginose bactérienne À cotonou, benin, 2013, Série D, 15(3) : p 377-383. Consulté le 10/09/22.
- (12) **T. Haahr et al,** Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients. Human Reproduction, Vol.31, No.4 pp. 795 – 803, 2016. Advanced Access publication on February 23, 2016. Consulté le 23/04/22.
- (13) **Yann Dumont, Hélène Jean-Pierre, Sylvain Godreuil** Publié en décembre 2020. Le microbiote vaginal, déséquilibre et impact, N° 527, Revue Francophone des Laboratoires. Consulté le 09/01/22.
- (14) **Organisation mondiale de la Santé (OMS).** Infertilité, 11th Revision: WHO septembre 2018. Consulté le 03/03/2022 sur <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
- (15) **Agence de la Biomédecine.** Rapport d’activité annuel d’AMP – Activité 2016 p 91. Consulté le 12/04/22 sur <https://www.agencebiomedecine.fr/IMG/pdf/rapport-annuel-2016.pdf>.
- (16) **Kong Y, et al** (2020) The Disordered Vaginal Microbiota Is a Potential Indicator for a Higher Failure of in vitro Fertilization. Front. Med. 7:217. doi: 10.3389/fmed.2020.00217. Consulté le 13/04/22.

(17) **Médecine de la fertilité et endocrinologie gynécologique**, Maternité du CHUV 2018. Les étapes de la FIV consulté le 02/02/2022 sur <https://www.chuv.ch/fr/fertilite/umr-home/procreation-medicalement-assistee/traitements/fecondation-in-vitro-fiv/les-etapes-de-la-fiv>.

(18) **INSERM** (2019), « Infertilité – Des difficultés à concevoir d'origines multiples » disponible sur : <https://presse.inserm.fr/les-troubles-de-la-fertilite-etat-des-connaissances-et-pistes-pour-la-recherche-2/6060>. Consulté le 03/09/22.

(19) **INSERM** (2013), “Les troubles de la fertilité – État des connaissances et pistes pour la recherche“, disponible sur : <https://presse.inserm.fr/les-troubles-de-la-fertilite-etat-des-connaissances-et-pistes-pour-la-recherche-2/6060/>. Consulté le 03/09/22.

(20) **I. Thomassin-Naggara**, EM Consulte Pathologies Tubaires. 2008. Consulté le 24/01/22 sur <https://www.em-consulte.com/article/151682/pathologie-tubaire>.

(21) **INSERM** (2018), “Assistance Médicale à la Procréation (AMP)“, disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/assistance-medicale-procreation-amp>. Consulté le 31/05/22.

(22) **AMELI** (2022). Endométriose : définitions et facteurs favorisants. Disponible sur <https://www.ameli.fr/bouches-du-rhone/assure/sante/themes/endometriose/definition-facteurs-favorisants>. Consulté le 12/12/21.

(23) **INSERM** (2018). Endométriose : Une maladie gynécologique fréquente mais encore mal connue. Disponible sur <https://www.inserm.fr/dossier/endometriose/>. Consulté le 11/11/22.

(24) **EndoFrance** (2018), Qu'est-ce que l'endométriose ? Disponible sur <https://www.endofrance.org/la-maladie-endometriose/qu-est-ce-que-l-endometriose/> Consulté le 04/02/22.

(25) **Brabant G**. Vaginose bactérienne et prématurité spontanée. J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod. 2016, 60-1247.

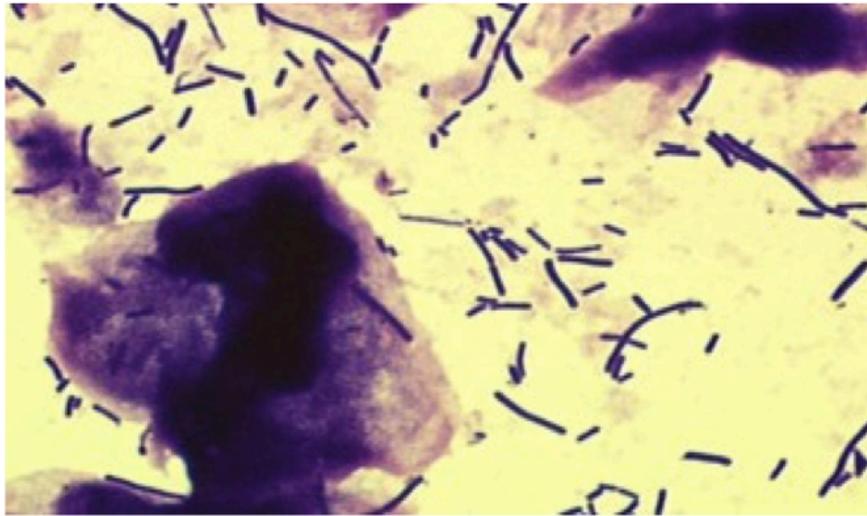
- (26) **INSERM**, (2017). Assistance médicale à la procréation (AMP). Des techniques pour aider les couples infertiles. Disponible sur <https://www.inserm.fr/dossier/assistance-medecale-procreation-amp/> Consulté le 27/01/22.
- (27) **Singer M**, The relation of the vaginal microbiota to early pregnancy development during in vitro fertilization treatment—a meta-analysis. *J Gynecol* 2019 page 48. Disponible sur <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2019.01.007> Review. Consulté le 24/12/22.
- (28) **Andrea Bernabeu**. Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* (2019) 36:2111–2119 <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01564-0>. Consulté le 12/04/22.
- (30) **Jiang, I.; Yong, P.J.; Allaire, C.; Bedaiwy, M.A.** Connexions complexes entre le microbiote et l'endométriose. *Int. J. Mol. Sci.* 2021,22,5644. <https://doi.org/10.3390/ijms22115644>. Consulté le 08/02/22.
- (31) **Ata, B., Yildiz, S., Turkgeldi, E. et al.** The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls. *Sci Rep* 9, 2204 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39700-6>. Consulté le 23/11/22.
- (32) **Juan Antonio García-Velasco**, What fertility specialists should know about the vaginal microbiome. *REPRODUCTIVE BIOMEDICINE ONLINE* 35 (2017) 103–112. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>. Consulté le 05/03/22.
- (33) **Ravel, P. Gajer, Z. Abdo, et al.** Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 (Suppl1) (2011), pp. 4680-4687. Consulté le 05/03/22.
- (34) **Van Oostrum N, De Sutter P, Meys J, Verstraelen H.** Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2013a;28(7):1809–15. Consulté le 04/02/22.

- (35) **Ramos BA, Kanninen TT, Sisti G, Witkin, SS.** Microorganisms in the female genital tract during pregnancy: tolerance versus pathogenesis. *Am. J. Reprod. Immunol.* (2015) 73:383–9. doi: 10.1111/aji.12326. Consulté le 06/12/22.
- (36) **Lepargneur J-P, Rousseau V.** Rôle protecteur de la flore de Doderleïn. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction - Vol. 31 - N° 5 - p. 485-494.* 2008.
- (37) **Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, et al.** Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(6):684–703. Consulté le 12/09/22.
- (38) **Jiang I, Yong P.J, Allaire, C.Bedaiwy, M.A.** Intricate Connections between the Microbiota and Endometriosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021,22,5644. <https://doi.org/10.3390/ijms2211564>. Consulté le 24/04/22.
- (39) **Zondervan, K.T, Becker, C.M, Missmer, S.A.** Endometriosis. *N. Engl. J. Med.* 2020, 382, 1244–1256, Ovarian endometriosis: From pathogenesis to surgical treatment. 2003, 15, 321–326. Consulté le 12/12/22.
- (40) **Symons, L.K.; Miller, J.E.; Kay, V.R.; Marks, R.M.; Liblik, K.; Koti, M.; Tayade, C.** The Immunopathophysiology of Endometriosis. *Trends Mol. Med.* 2018, 24, 748–762. [CrossRef]. Consulté le 04/10/22.
- (41) **N. Le Foll et al.** Prostatite, fertilité : le point de vue du biologiste. Vol 40 n°9. P. 490-493 - septembre 2012. Consulté le 09/04/22.
- (42) **Chen C, Song X, Wei W, Zhong H, Dai J, Lan Z, et al.** The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun.* 2017 Oct 17;8(1):875. Consulté le 09/04/22.
- (43) **Weixia Wei,** Microbiota composition and distribution along the female reproductive tract of women with endometriosis. 2020. 8 pages, Review. Consulté le 09/04/22

## VII. Annexes

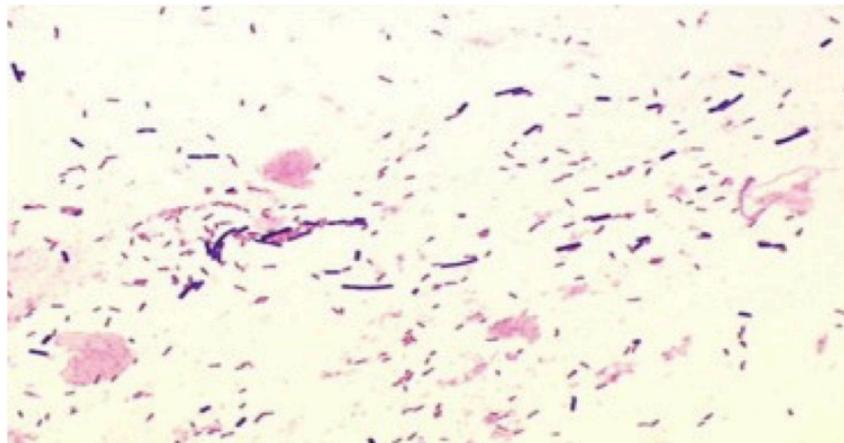
### Annexe I.

Illustration 1 : Flore Vaginale normale à la coloration de Gram



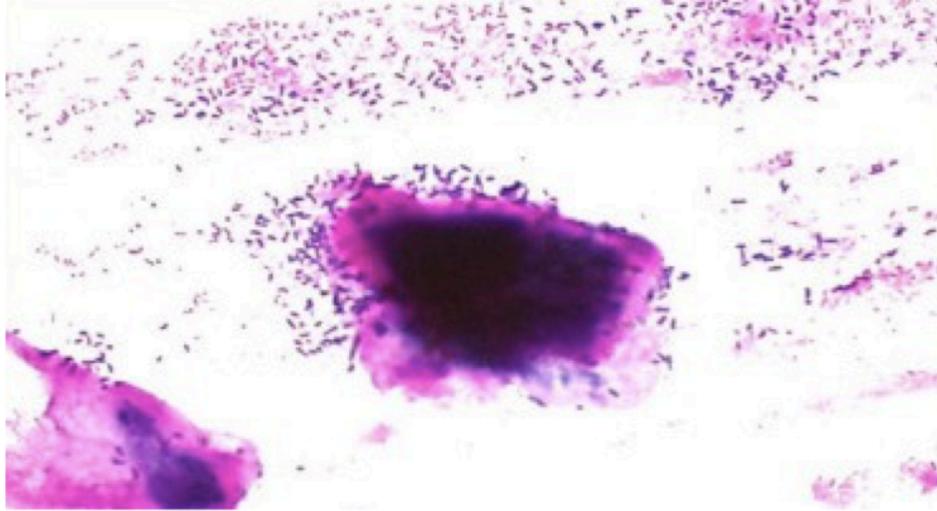
### Annexe II.

Illustration 2 : Flore vaginale intermédiaire à la coloration de Gram



Annexe III.

Illustration 3 Flore vaginale à la coloration de Gram évocatrice de vaginose bactérienne



Annexe IV.

Caractéristiques et techniques d'analyse du microbiote génital féminin. CST : "Community State Types"

C. Mauries et al. / Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie xxx (2020) xxx-xxx

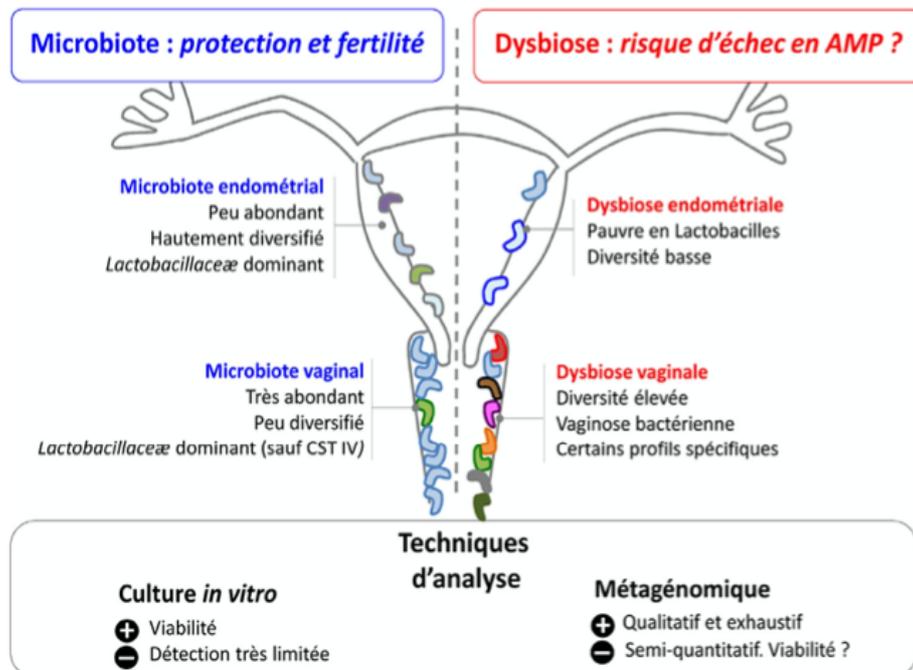
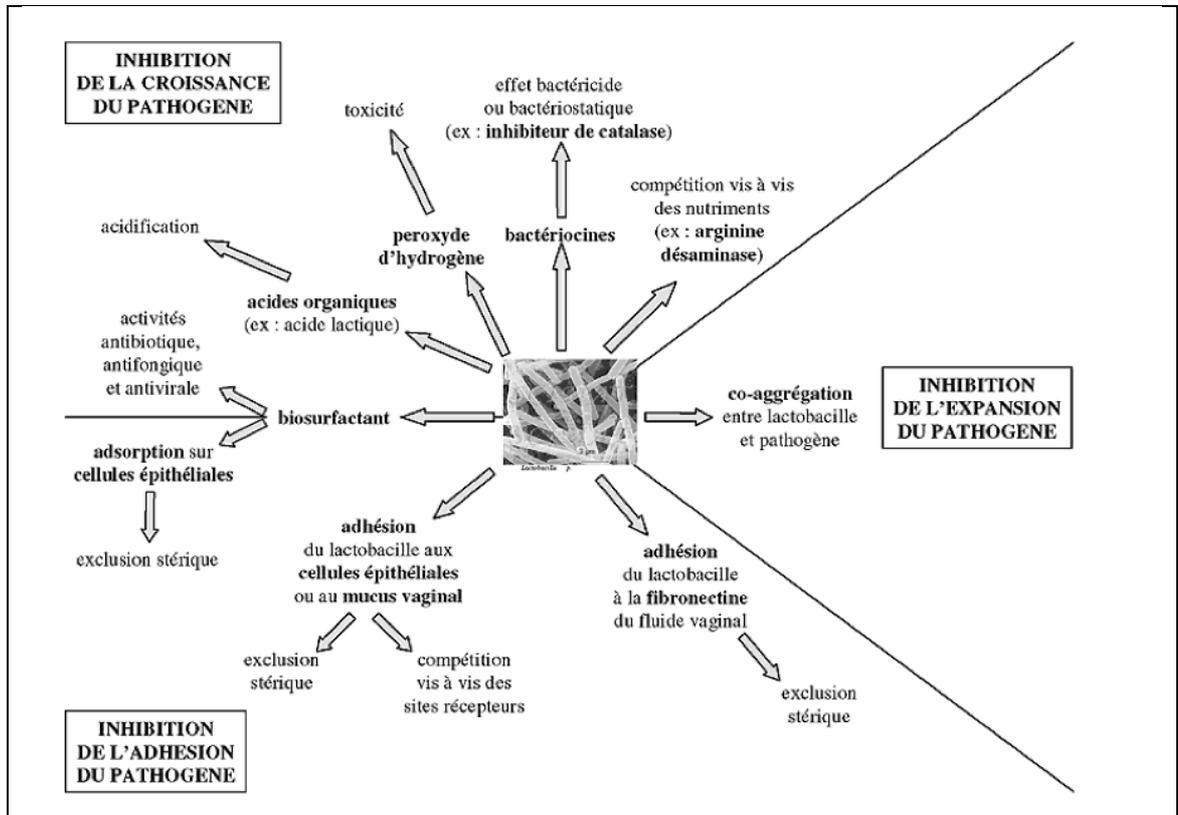


Fig. 1. Caractéristiques et techniques d'analyse du microbiote génital féminin. CST : « Community State Types ».

Annexe IV.

Illustration 5 : Effets des Lactobacilles vaginaux sur les micro-organismes pathogènes.



## VIII. Glossaire

AMH : Hormone Anti-Mullérienne

AMP : Assistance Médicale à la Procréation

CFA : Compte de Follicules Antraux

ESHRE : European Society Human Reproduction and Embryology

FCS : Fausses Couches Précoces

FIV : Fécondation In Vitro

IMC : Indice de Masse Corporelle

NGS : Next Generation Sequencing

OMS : Organisation Mondiale de la santé

RGPD : Règlement Général sur la Protection des Données

SEUD : Society of Endometriosis and Uterine Disorders

SOPK : Syndrome des Ovaires Polykystiques

UFC : Unités Formant des Colonies

VB : Vaginose Bactérienne

## Résumé

**Introduction** L'infertilité est devenue un problème social. Compte tenu de l'inefficacité des médecines traditionnelles et de la chirurgie, la technologie de FIV apporte de l'espoir aux patients infertiles. Bien que la fécondation in vitro ait été largement utilisée pour améliorer l'issue clinique de la grossesse, le taux reste encore faible. En effet, le taux de réussite est seulement de 20 à 25 % par tentative pour la FIV. Nous savons que des facteurs connexes tels que l'âge, l'immunité et l'infection sont reconnus ; cependant, peu de travail est fait pour explorer le lien entre le microbiote vaginal, la leucocytose et la FIV.

**Buts et objectifs de l'étude.** Il s'agit d'étudier le retentissement du microbiote vaginal et principalement la vaginose bactérienne évaluée par le score de Nugent, la composition de la flore vaginale, sur les résultats d'une grossesse en fécondation in vitro mais aussi sur l'évolution des grossesses ainsi obtenues.

Les objectifs secondaires de cette étude sont d'évaluer : la composition du microbiote vaginal en fonction des indications (tubaires, masculines ou endométriose), la prévalence de la vaginose bactérienne en fonction de l'étiologie de l'infertilité, l'impact de chacun des groupes de Nugent sur les résultats de la fécondation in vitro, ainsi que l'impact de la présence des Lactobacilles et Gardnerella sur les chances de grossesses en fécondation in vitro et sur leur évolution.

### **Participants/matériel, cadre, méthodes :**

L'écouvillon obtenu lors de l'examen du spéculum et étalé sur une lame de verre a été laissé à sécher à température ambiante, puis le score Gram Stained et Nugent a été calculé selon les recommandations (Nugent et coll., 1991). La vaginose bactérienne (BV) a été diagnostiquée pour des scores de Nugent de 7 à 10 et un score de 4 à 6 a été considéré comme une flore intermédiaire (Nugent et coll., 1991). De la même manière, la présence et l'abondance de leucocytes ont été enregistrées.

### **Conception de l'étude, taille, durée :**

Cette étude est une rétrospective, une étude de cohorte monocentrique non interventionnelle menée entre janvier 2017 et décembre 2019. 967 patientes ont bénéficié du score Nugent pour la vaginose bactérienne avant le début du traitement ou au cours de la première semaine d'injections pour le protocole de FIV. Aucun patient n'a été traité par antibiotiques.

### **Principaux résultats et rôle du hasard :**

La prévalence de la VB estimée par le score de Nugent dans la population totale est de 6,52% (63/967). Il n'y a pas de différence entre les trois groupes de Nugent en ce qui concerne les critères démographiques. La VB dans la population d'endométriose est de 8,07% (18/223), chez les patients atteints d'infertilité tubaire de 10,46% (18/172) et chez les patients atteints d'infertilité masculine de 5,51% (17/353). La présence de Lactobacillus dépend de l'âge et il est ( $p = 0,4$ ) statistiquement plus présent chez les patients plus âgés tandis que la présence de gardnerella dépend de l'indication de l'infertilité. Gardnerella est plus représentée dans les indications tubaires et la différence est statistiquement significative ( $p = 0,01$ ). En ce qui concerne la leucocytose (nombreux, relativement nombreux et peu leucocytes) ou pas (leucocytes rares), la différence est statistiquement significative entre la grossesse et l'échec après transfert d'embryon ( $p = 0,014$ ). La leucocytose est plus impliquée dans le vagin lorsque la FIV a échoué. La prévalence de la VB chez les patientes tombées enceintes après le transfert d'embryons est de 3,47% (8/230) tandis que la VB chez les patientes ayant échoué à la FIV est de 7,22% (48/664) ( $p = 0,05$ ). En ce qui concerne le taux de naissances vivantes, il existe des différences statistiquement significatives entre le groupe 1 (152/192) et le groupe 2 (14/24) ( $p = 0,03$ ) et entre le groupe 1 et le groupe 3 (8/16) ( $p = 0,01$ ), mais aucune différence entre les groupes 2 et 3 ( $p = 0,74$ ). De plus, dans les indications tubaires, la présence de gardnerella est significativement associée à une fausse couche ( $p = 0,001$ )

### **Principales conclusions :**

Dans notre série, le score de Nugent est capable de diagnostiquer la vaginose bactérienne et de prédire sa mauvaise influence sur les taux de naissances vivantes après un transfert d'embryons frais. Le score de Nugent permet également de définir le groupe intermédiaire et la leucocytose vaginale auxquelles une attention particulière doit être accordée car elle peut compromettre une grossesse

**Mots clés :** Vaginose Bactérienne, Fécondation In Vitro, Leucocytes, Score de Nugent, Grossesse, Infertilité

## Abstract

**Introduction** Infertility has become a social problem. Given the ineffectiveness of traditional medicines and surgery, IVF technology brings hope to infertile patients. Although in vitro fertilization has been widely used to improve the clinical outcome of pregnancy, the rate is still low. Indeed, the success rate is only 20 to 25% per attempt for IVF. We know that related factors such as age, immunity and infection are recognized; however, little work is being done to explore the link between vaginal microbiota, leukocytosis and IVF.

**Buts and objectives of the study.** It is a question of studying the impact of the vaginal microbiota and mainly bacterial vaginosis evaluated by the Nugent score, the composition of the vaginal flora, on the results of a pregnancy in in vitro fertilization but also on the evolution of pregnancies thus obtained.

The secondary objectives of this study are to evaluate: the composition of the vaginal microbiota according to the indications (tubal, male or endometriosis), the prevalence of bacterial vaginosis according to the etiology of infertility, the impact of each of the Nugent groups on the results of in vitro fertilization, as well as the impact of the presence of Lactobacilli and Gardnerella on the chances of pregnancies in in vitro fertilization and on their evolution.

### **Participants/material, framework, methods:**

The swab obtained during the speculum examination and spread on a glass slide was left to dry at room temperature, and then the Gram Stained and Nugent score was calculated according to the recommendations (Nugent et al., 1991). Bacterial vaginosis (BV) was diagnosed with Nugent scores of 7 to 10 and a score of 4 to 6 was considered an intermediate flora (Nugent et al., 1991). In the same way, the presence and abundance of leukocytes were recorded.

### **Study design, size, duration :**

This study is a retrospective, a non-interventional monocentric cohort study conducted between January 2017 and December 2019. 967 patients benefited from Nugent score for bacterial vaginosis before the start of treatment or within the first week of injections for IVF protocol. No patient was treated by antibiotics. Participants/materials, setting, methods. The swab obtained during speculum examination and smeared onto a glass-slide was left to dry at room temperature and then Gram Stained and Nugent score were calculated according to recommendations (Nugent et al., 1991). Bacterial Vaginosis (BV) was diagnosed

for Nugent scores of 7 –10 and a score of 4 – 6 was considered intermediate flora (Nugent et al., 1991). In the same way, presence and abundance of leukocytes were recorded.

**Main results and the role of chance :**

BV prevalence estimated by Nugent score in the total population is of 6.52% (63/967). There is no difference between the three Nugent groups regarding demographics criteria. BV in endometriosis population is of 8.07% (18/223), in patients with tubal infertility 10.46% (18/172) and in patients with male infertility 5.51% (17/353). The presence of Lactobacillus depends on the age and it is (p=0.4) statistically more present in older patients while the presence of gardnerella depends on infertility indication. Gardnerella is more represented in tubal indications and the difference is statistically significant (p=0.01). Concerning leukocytosis (numerous, relatively numerous and few leukocytes) or no (rare leukocytes) the difference is statistically significant between pregnancy and failure after embryo transfer (p=0.014). Leukocytosis is more involved in vagina when the IVF failed. BV prevalence in patients who became pregnant after embryo transfer is of 3.47% (8/230) while BV in patients with IVF failure is of 7.22% (48/664) (p=0.05). Concerning Live Birth rate, there are statistically significant differences between Group 1 (152/192) and Group 2 (14/24) (p=0.03), and between Group 1 and Group 3 (8/16) (p=0.01) but no difference between Group 2 and 3 (p=0.74). Moreover, in tubal indications, the presence of gardnerella is significantly associated with miscarriage (p=0.001)

**Conclusion** In our series, the Nugent score is able to diagnose bacterial vaginosis and predict its poor influence on live birth rates after a fresh embryo transfer. The Nugent score also helps to define the intermediate group and vaginal leukocytosis to which special attention should be paid as it can compromise a pregnancy.

**Keywords :** Bacterial Vaginosis, In Vitro Fertilization, Leukocytes, Nugent Score, Pregnancy, Infertility