

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **15 décembre 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame SABATIER Marina**

Titre de la thèse : « *Vibra-Flu : Interactions Virome-Bactériome-Transcriptome impliquées dans les infections respiratoires aiguës chez l'enfant* »



Résumé

Introduction :

Les infections respiratoires aiguës (IRA) chez les enfants de moins de 5 ans constituent une cause majeure de mortalité et d'hospitalisation. Certaines compositions de microbiome respiratoire peuvent être associées à la sévérité de la maladie. L'objectif principal de cette thèse était de caractériser les différentes communautés virales et bactériennes du microbiome nasopharyngé d'enfants présentant des IRA ainsi que leur réponse transcriptomique afin d'identifier des biomarqueurs pronostic de la sévérité.

Méthodes :

Afin de valider la méthode d'extraction utilisable en amont de la métagénomique virale, une première étude technique a été réalisée comparant deux plateformes automatisées (eMAG ; MagNA Pure 24, MP24) et le kit manuel QIAamp Viral RNA (QIAamp) à partir d'échantillons respiratoires cliniques, un MOCK (comprenant cinq virus isolés) et un contrôle (NTC). Suite à ces résultats, une cohorte prospective de 144 enfants <5 ans hospitalisés à l'unité d'hospitalisation de courte durée (UHCD) des Hospices Civils de Lyon (HCL) pour un syndrome grippal pendant les hivers 2015-2017 a été étudiée. Le bactériome et le virome nasopharyngés ont été caractérisés par des approches de métabarcoding et de métagénomique virale. Les réponses transcriptomiques respiratoires de l'hôte ont été analysées par mRNA-Seq. La prévalence d'une famille virale ubiquitaire du virome a été validée par métagénomique virale sur une 2ème cohorte pédiatrique d'enfants atteints d'IRA.

Résultats :

Concernant la partie technique, l'eMAG donnait les meilleurs résultats en minimisant les contaminations croisées et les contaminations provenant des réactifs. Cette méthode a été choisie pour le reste des analyses sur le virome de cette thèse.

Les analyses du virome et du transcriptome ont été réalisées sur les enfants <7 mois et hospitalisés pour bronchiolite à VRS afin d'étudier une cohorte homogène. Après filtrage de la qualité, les résultats du microbiome étaient disponibles pour 79 enfants pour le bactériome et 53 pour le virome ; et les profils transcriptomiques pour 36 enfants. Les profils dominés par les genres *Haemophilus*, *Moraxella* et *Streptococcus* étaient les plus répandus bien qu'ils ne soient pas associés de manière significative à la

sévérité. 77 % des patients présentaient une ou des co-infections avec un virus respiratoire (les plus fréquentes étant à *Picornaviridae*, *Coronaviridae*, *Orthomyxoviridae*). L'expression des gènes de l'immunité et des cytokines inflammatoires n'était pas associée à la sévérité des bronchiolites ni aux co-infections virales lors de l'analyse du transcriptome de l'hôte. Dans cette cohorte, les *Anelloviridae* étaient la famille de virus d'eucaryotes les plus fréquents (chez 66% des patients), avec le genre *TTMV* majoritaire. Certaines espèces comme *TTMV3*, *6* et *9* étaient associées à la sévérité de la bronchiolite. Cette prévalence de *TTMV* a été validée dans une seconde cohorte d'enfants (âge médian : 12 mois) hospitalisés pour IRA d'étiologie inconnue pour laquelle ce genre représentait 87,1% des reads d'*Anelloviridae* retrouvées dans les 16 échantillons.

Conclusion :

Nos données soulignent les taux élevés de co-infections virales chez les enfants souffrant d'IRA et confirment la présence majoritaire de profils dominés par *Haemophilus*, *Streptococcus* et *Moraxella* dans une population pédiatrique symptomatique recensée à l'UHCD. Nous n'avons pas pu évaluer les associations significatives entre les profils du microbiome et la sévérité de la maladie. Nos résultats ont mis en évidence une prévalence élevée de *TTMV* dans les échantillons respiratoires de jeunes enfants souffrant d'une IRA. Des études de plus grande envergure sont nécessaires pour identifier les interactions entre les communautés virales et bactériennes au sein du microbiome respiratoire et leur impact sur les réponses transcriptomiques de l'hôte lors d'IRA chez les enfants et pour explorer le rôle du *TTMV* dans les maladies respiratoires de l'enfant.