



Evaluation d'une technologie innovante de métagénomique ciblée 16S d'Oxford Nanopore Technologies pour améliorer le diagnostic des infections ostéo-articulaires complexes

Coralie Bouchiat, Aubin Souche, Christophe Ginevra, Olivier Dauwalder, Yvonne Benito, Hélène Salord, François Vandenesch, Frédéric Laurent

Tiphaine Roussel-Gaillard

Institut des Agents Infectieux – Bactériologie - Hospices Civils de Lyon

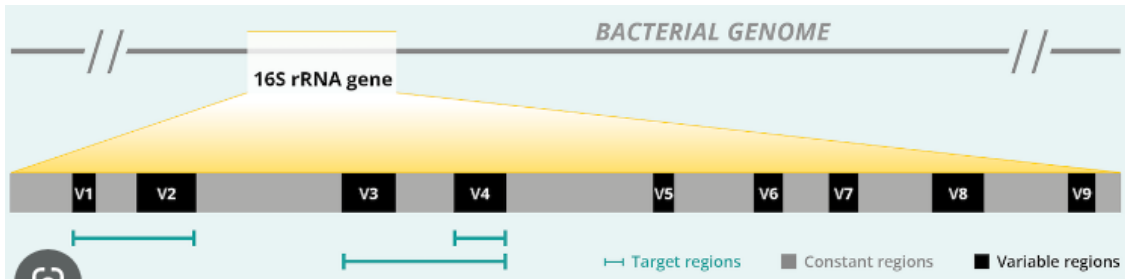


Conflits d'intérêt

Aucun relatif à cette présentation

Diagnostic moléculaire des IOA

→ PCR universelle = amplification de l'ARNr 16S (+/- PCR spécifiques)

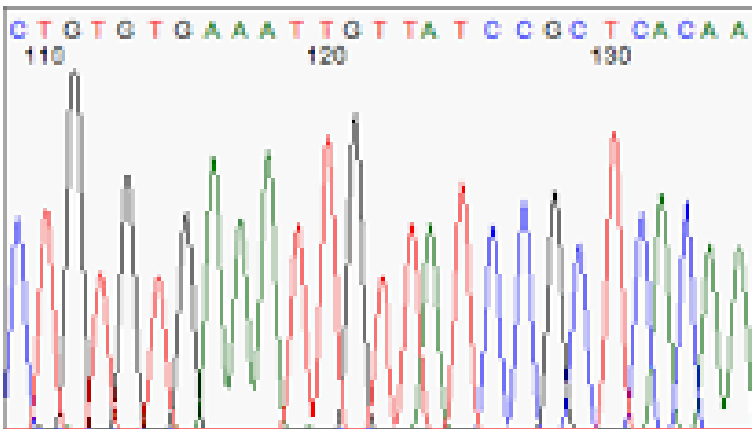


=

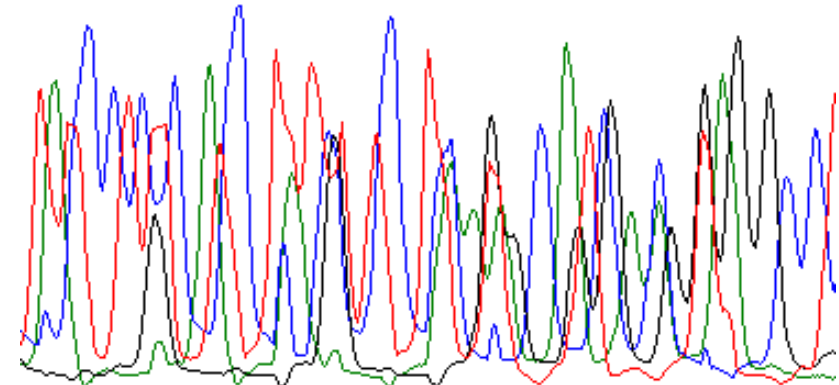


Empreinte digitale
de la bactérie

→ Suivie d'un séquençage par technique Sanger

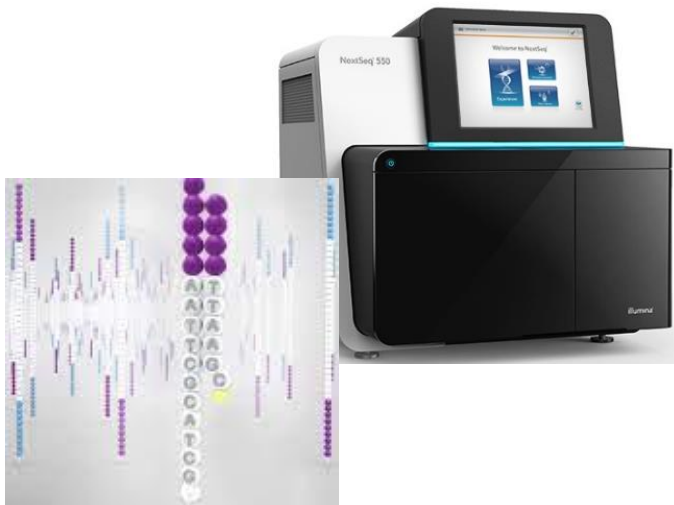


OU



Particularité des infections polymicrobiennes

illumina



PacBio



Oxford
NANOPORE
Technologies



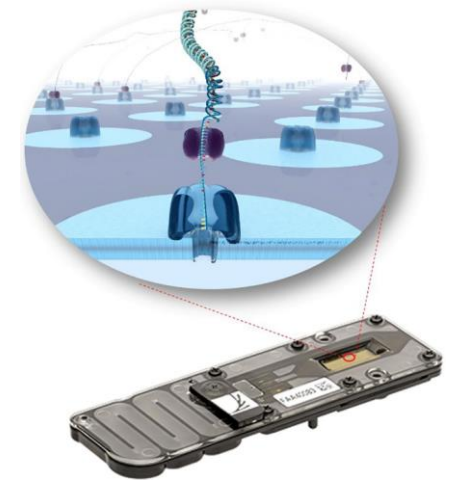
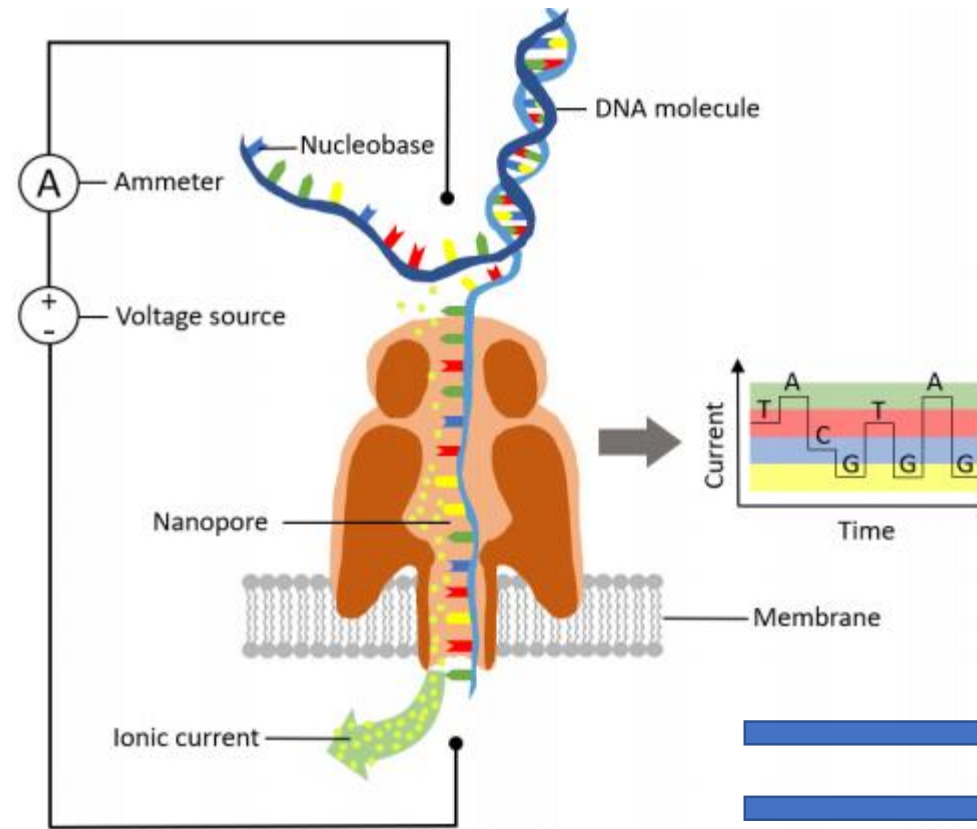
Dispositif MinION

Séquençage par métagénomique ciblée

Comment ça marche ?

Courant électronique mesuré
de façon continu

Résistance électrique
lorsqu'un nucléotide passe à
travers la nanopore



Flow cell

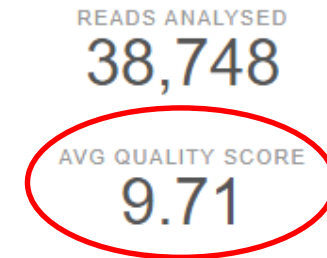
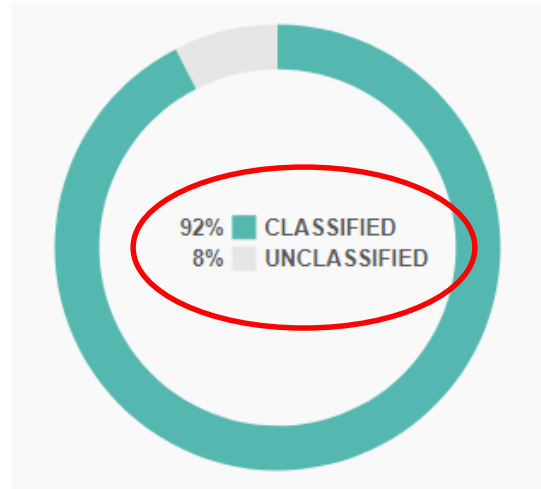
Basecalling
400 bases/s

Etapes d'optimisation → Bouchiat C., Frontiers in Microbiology, 2022

Exemple de rapport Epi2Me (1/2)

Biopsie osseuse chez patient avec infection chronique de prothèse de hanche

Contrôle qualité :

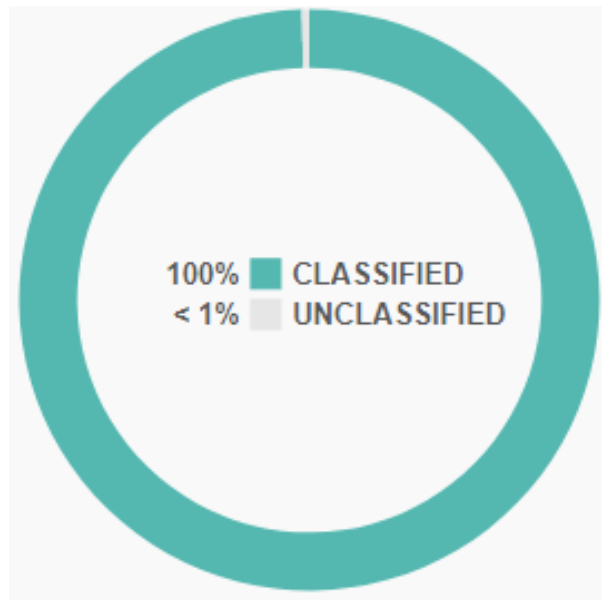


Résultats :

Taxon ↕	Cumulative Reads ▼
Bacteroides fragilis	16,345
Parvimonas micra	7,052
Streptococcus porci	2,347
Peptoniphilus harei	2,039
Staphylococcus aureus	1,096
Streptococcus anginosus	996

Exemple de rapport Epi2Me (2/2)

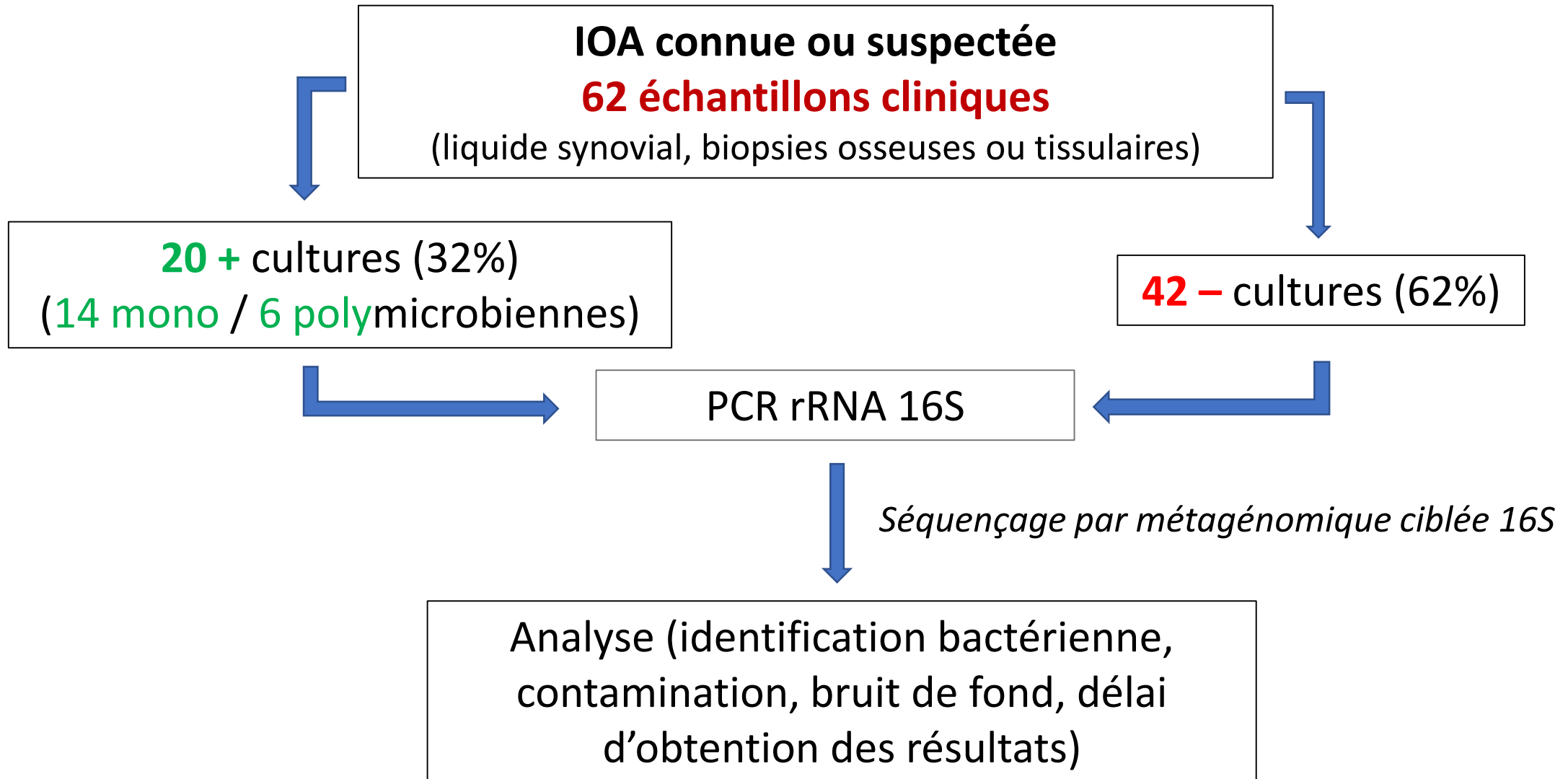
Liquide synovial chez patient avec arthrite aiguë de genou



READS CLASSIFIED	READS UNCLASSIFIED	AVG. ACCURACY
123,933	533	95%

Taxa at Rank: Species ▼	
Filter...	
Taxon ↕	Cumulative Reads ▼
Staphylococcus epidermidis	101,672
Staphylococcus capitis	5,840
Staphylococcus saccharolyticus	4,138

Matériel et méthode



Résultats

IOA connue ou suspectée
62 échantillons cliniques
(liquide synovial, biopsies osseuses ou tissulaires)

20 + cultures (32%)
(14 mono / 6 polymicrobiennes)

4 PCR négatives

Inoculum
bas → LD

16 PCR positives (100%)

PCR rRNA 16S

Séquençage

Résultats = entre culture et séquençage
(dont les polymicrobiens)

42 – cultures (62%)

32 PCR positives (70%)

Séquençage

Bactéries d'IOA

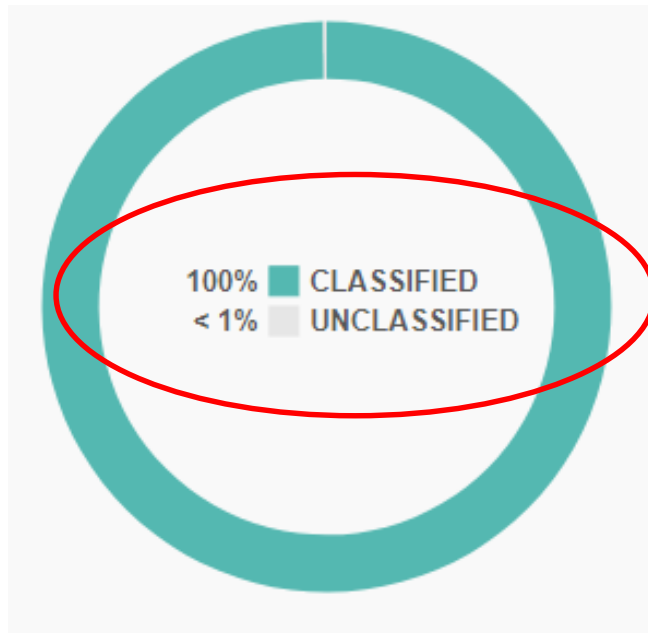
PCR rRNA 16S

7 PCR négatives (15%)

3 + PCR rRNA 16S
Mais pas d'identification obtenue

Défaut d'assignation phylogénétique

Liquide synovial d'un enfant de 2 ans avec arthrite aiguë



READS CLASSIFIED	READS UNCLASSIFIED	AVG. ACCURACY
86,197	163	95%

Taxon	Cumulative Reads
Neisseria	692
Eikenella	335
Conchiformibius	68
Shedgrassella	64
Tepidiphilus	21
Pseudomonas	18

Conclusion : apport de la métagénomique ciblée 16 S

- Approche **facile à implémenter** en laboratoire de CHU
 - Technique **précise et reproductible, accréditable** (NF EN ISO 15189)
 - Capacité à discriminer les prélèvements **polymicrobiens**
 - **Communication multidisciplinaire indispensable**
-
- Technique pas plus sensible que le séquençage Sanger !
 - Les **logiciels d'assignation phylogénétique** doivent être améliorés (aucun marqué CE)
 - Le **coût** de réalisation demeure élevé (optimisations à venir permettant de le diminuer)

Technique réservée à des microbiologistes,
ingénieurs et techniciens entraînés

