



HAL
open science

Mise en place des méthodes d'étude du microbiote urinaire bactérien de femmes non ménopausées

C Villenave, S Dahyot, M Leoz, M Grand, C Hassel, M Pestel-Caron

► To cite this version:

C Villenave, S Dahyot, M Leoz, M Grand, C Hassel, et al.. Mise en place des méthodes d'étude du microbiote urinaire bactérien de femmes non ménopausées. RICAI 2022, Dec 2022, Paris, France. hal-04034450

HAL Id: hal-04034450

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04034450>

Submitted on 17 Mar 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.

P-095

Mise en place des méthodes d'étude du microbiote urinaire bactérien de femmes non ménopausées

C. Villenave¹, S. Dahyot², M. Leoz¹, M. Grand¹, C. Hassel¹, M. Pestel-Caron²

¹Normandie Univ, UNIROUEN, UNICAEN, Inserm UMR 1311 DYNAMICURE, 76000 Rouen, France; ²Normandie Univ, UNIROUEN, UNICAEN, Inserm UMR 1311 DYNAMICURE, CHU Rouen, Service de Bactériologie, 76000 Rouen, France

camille.villenave@univ-rouen.fr ; tel 02.35.14.82.99

Introduction

Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS)¹ ainsi que le développement des cultures étendues (EQUC)² ont permis la découverte récente d'un Microbiote Urinaire (MU).
Néanmoins, il reste de nombreuses inconnues concernant le MU des sujets sains ou celui des patients présentant une infection urinaire (IU).

Objectifs

- Mettre en place localement les **techniques d'étude du MU bactérien**, par EQUC et par NGS (Illumina et Nanopore)
- Identifier un **urotype** pour chaque échantillon (genre bactérien dominant)
- **Comparer les MU bactériens** de patientes présentant une IU à celui de volontaires saines (VS)

Méthodes

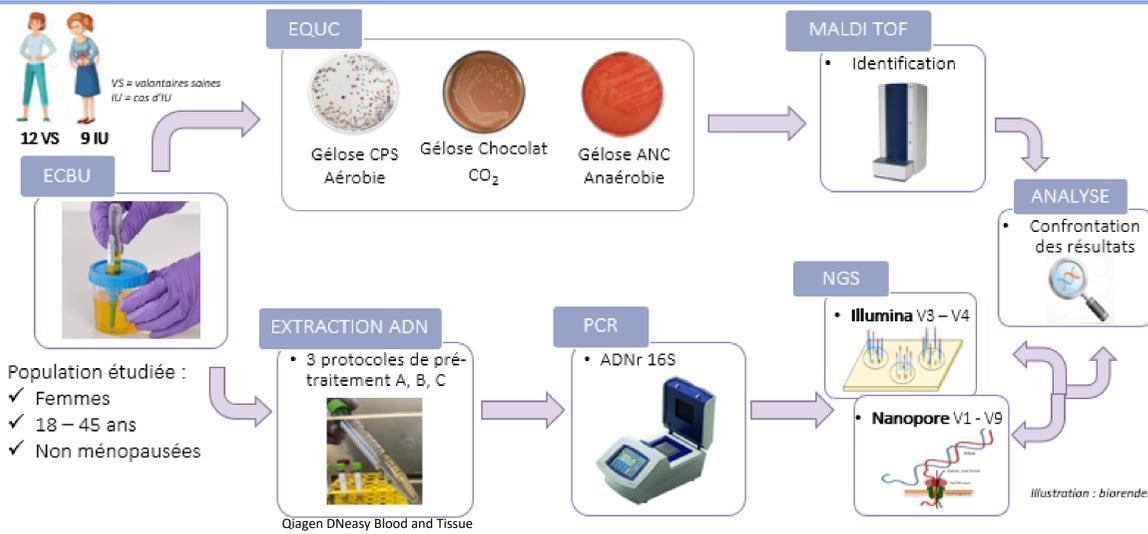


Figure 1 – Démarche expérimentale

EQUC vs Culture Standard (CS) :

- 2 géloses supplémentaires
→ Chocolat (**CHOC**) : 5% CO₂
→ **ANC** (sélective Gram +) : **Anaérobie**
- 2 volumes d'ensemencement : 10 et 100 µL
- Incubation **48h**

Illumina vs Nanopore :

- **Illumina** :
→ PCR ARNr 16S **V3-V4** (550 pb)
→ Module Metagenomics workflow
→ Database dérivant de **GreenGenes** (13_5)
- **Nanopore** :
→ PCR ARNr 16S **V1-V9** (1550 pb)
→ Workflow Fastq 16S sur le logiciel **EPI2ME**
→ Database dérivant de **NCBI**

Résultats

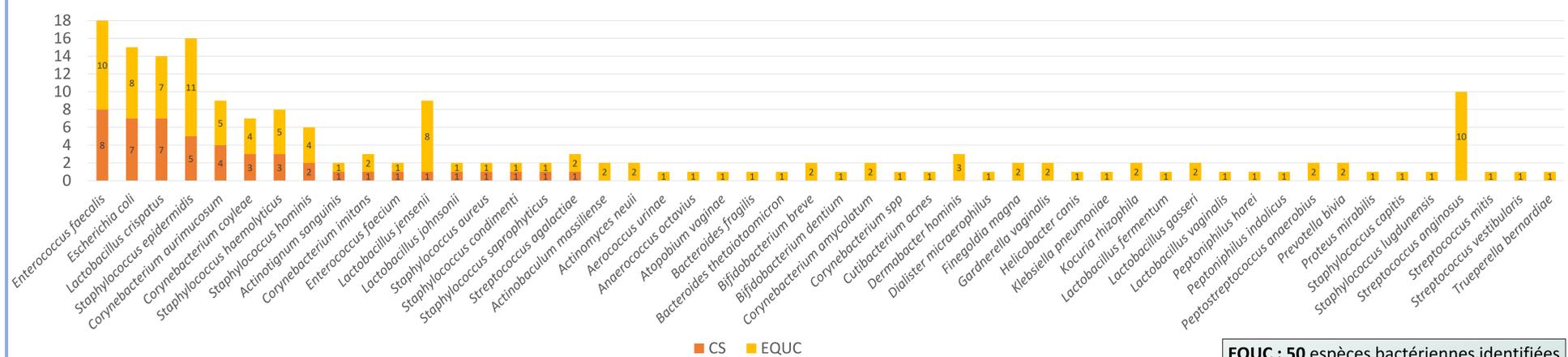


Figure 2 – Prévalence des espèces identifiées en culture standard (CS) et en culture étendue (EQUC)

EQUC : 50 espèces bactériennes identifiées
CS : 17 espèces bactériennes identifiées

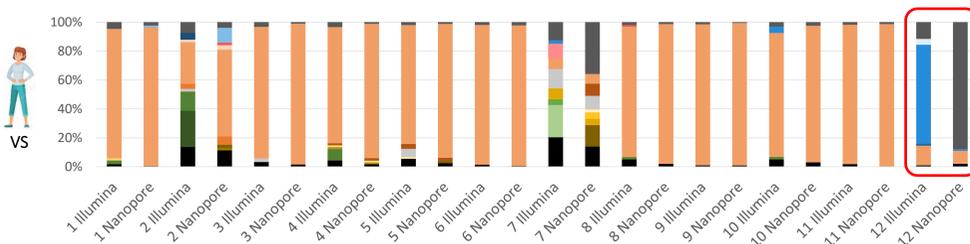


Figure 3 – Abondances relatives des genres identifiés pour le groupe des VS

- En NGS, les profils étaient similaires à l'échelle du genre d'une technique à l'autre pour 10 échantillons
- Difficulté d'identification du genre *Escherichia* (encadré en rouge) par Nanopore

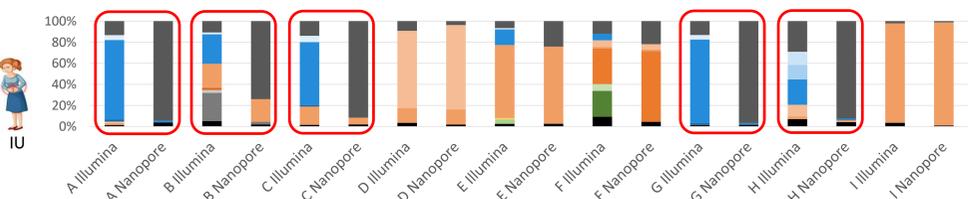


Figure 4 – Abondances relatives des genres identifiés par Nanopore et Illumina pour chaque échantillon du groupe des IU

- Pour cinq échantillons IU : majorité de **reads non classifiés** au niveau du genre par séquençage Nanopore alors que le séquençage Illumina identifie en majorité le genre *Escherichia*.
→ Prédominance de la **famille Enterobacteriaceae** pour quatre d'entre eux (A, B, C et G).

Légende	
Actinobacteria	Firmicutes
■ <i>Atopobium</i>	■ <i>Anaerococcus</i>
■ <i>Bifidobacterium</i>	■ <i>Enterococcus</i>
■ <i>Corynebacterium</i>	■ <i>Lactobacillus</i>
■ <i>Gardnerella</i>	■ <i>Staphylococcus</i>
■ <i>Propionibacterium</i>	■ <i>Streptococcus</i>
Bacillota	Fusobacteria
■ <i>Dialister</i>	■ <i>Fusobacterium</i>
■ <i>Finigoldia</i>	■ <i>Sneathia</i>
■ <i>Megasphaera</i>	Bacteroidetes
■ <i>Pediococcus</i>	■ <i>Prevotella</i>
■ <i>Peptoniphilus</i>	■ <i>Autre</i>
Proteobacteria	■ <i>Non classifié</i>
■ <i>Burkholderia</i>	
■ <i>Enterobacter</i>	
■ <i>Escherichia</i>	
■ <i>Moraxella</i>	
■ <i>Pseudomonas</i>	
■ <i>Serratia</i>	

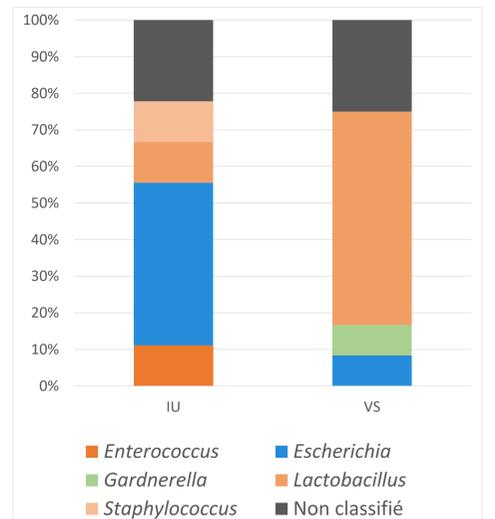


Figure 5 – Comparaison des urotypes identifiés de façon concordante par Illumina et EQUC chez les cas avérés d'IU et chez les VS. Non classifié = urotypes discordants entre Illumina et EQUC.

Urotypes majoritaires

- IU (4/9) : *Escherichia*
- VS (7/12) : *Lactobacillus*

Conclusions

Cette étude a permis de mettre en place les techniques d'étude du MU bactérien par EQUC et NGS. Ces deux techniques se sont révélées complémentaires et ont montré une différence de composition entre le MU des VS et au cours d'IU, à confirmer sur un plus grand nombre de patientes. Les analyses des données obtenues par NGS sont cependant à approfondir notamment via l'utilisation d'autres bases de données que celles proposées par le fournisseur.



¹Price, T. K. et al. The Clinical Urine Culture: Enhanced Techniques Improve Detection of Clinically Relevant Microorganisms. *J Clin Microbiol* 54, 1216–1222 (2016)

²Perez-Carrasco, V., Soriano-Lerma, A., Soriano, M., Gutiérrez-Fernández, J. & García-Salcedo, J. A. Urinary Microbiome: Yin and Yang of the Urinary Tract. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11, 421 (2021).