



HAL
open science

Etude préliminaire du microbiote urinaire bactérien de femmes non ménopausées

Camille Villenave, Sandrine Dahyot, Marie Leoz, Maxime Grand, Chervin Hassel, Martine Pestel-Caron

► **To cite this version:**

Camille Villenave, Sandrine Dahyot, Marie Leoz, Maxime Grand, Chervin Hassel, et al.. Etude préliminaire du microbiote urinaire bactérien de femmes non ménopausées. Journée Normande de Recherche Biomédicale 2023, Jun 2023, Caen, France. hal-04185198

HAL Id: hal-04185198

<https://normandie-univ.hal.science/hal-04185198v1>

Submitted on 22 Aug 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.

Etude préliminaire du microbiote urinaire bactérien de femmes non ménopausées

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

¹Univ Rouen Normandie, Univ de Caen Normandie, INSERM, DYNAMICURE UMR 1311 F-76000 Rouen, France

²Univ Rouen Normandie, Univ de Caen Normandie, INSERM, DYNAMICURE UMR 1311, CHU Rouen, Département de Bactériologie, F-76000 Rouen, France

Introduction

Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS)¹ ainsi que le développement des cultures quantitatives étendues (CQE)² ont permis récemment de découvrir l'existence 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 les **techniques d'étude du MU bactérien**, par CQE 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) à la recherche d'une signature associée aux IU

Méthodes

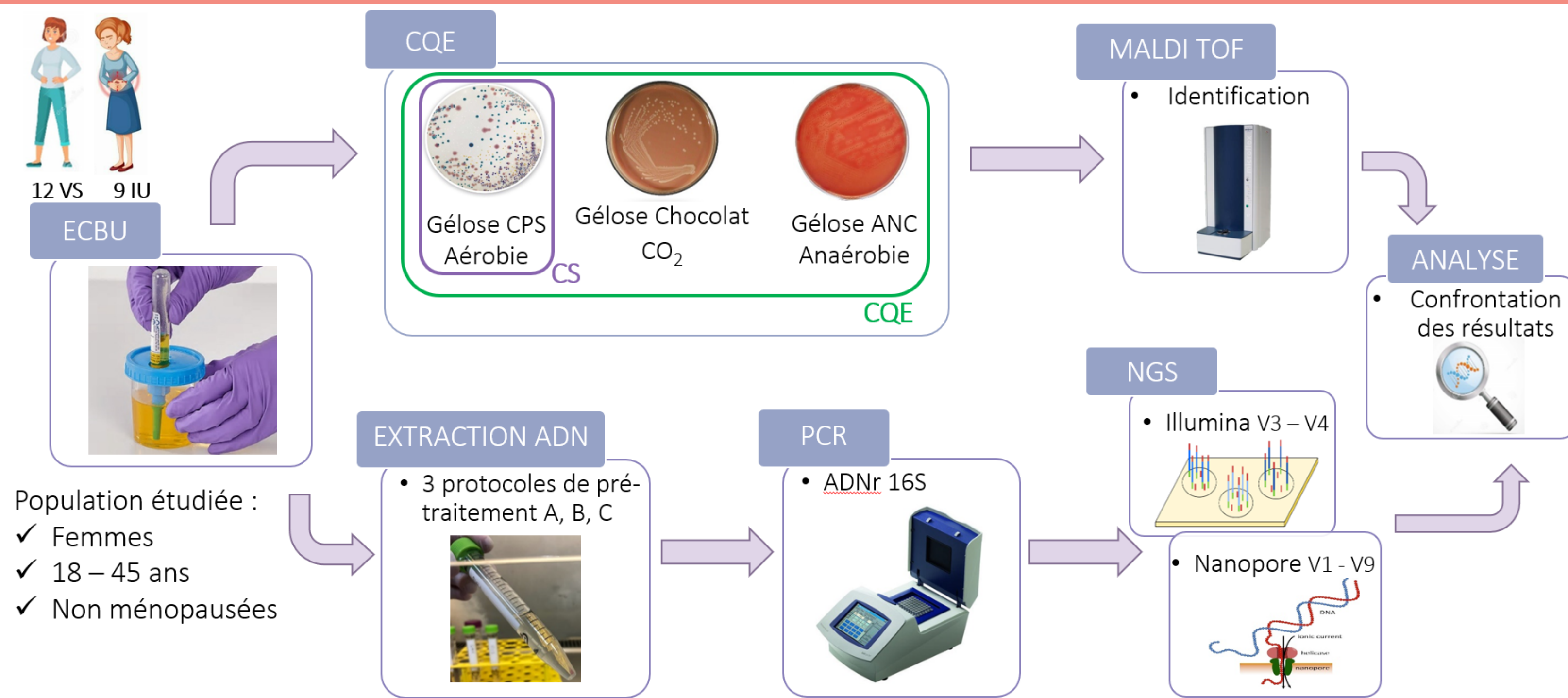


Figure 1 – Démarche expérimentale

Comparaison CQE 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

Comparaison 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

Comparaison Illumina vs Nanopore

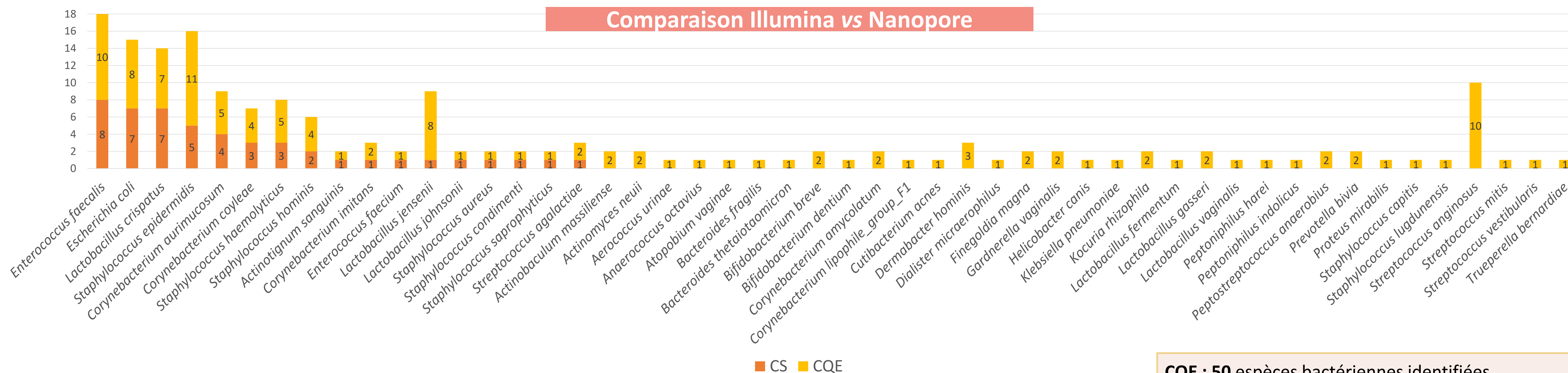


Figure 2 – Prévalence des espèces identifiées en culture standard (CS) et en culture quantitative étendue (CQE)

CQE : 50 espèces bactériennes identifiées
CS : 17 espèces bactériennes identifiées

Comparaison CS vs CQE

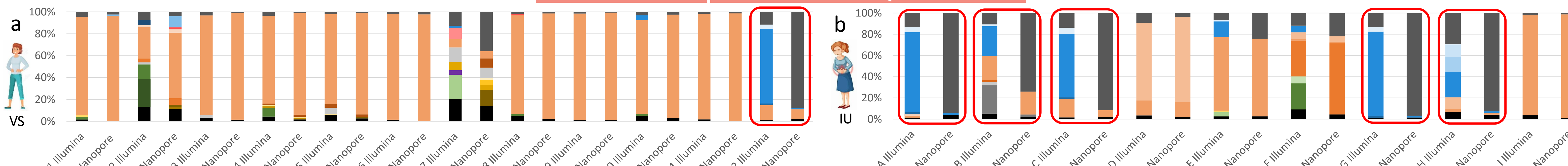
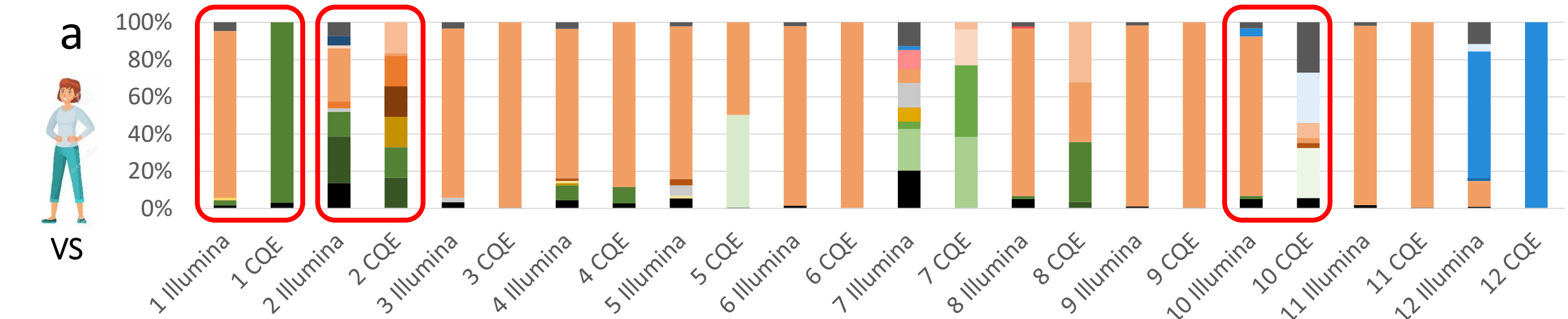


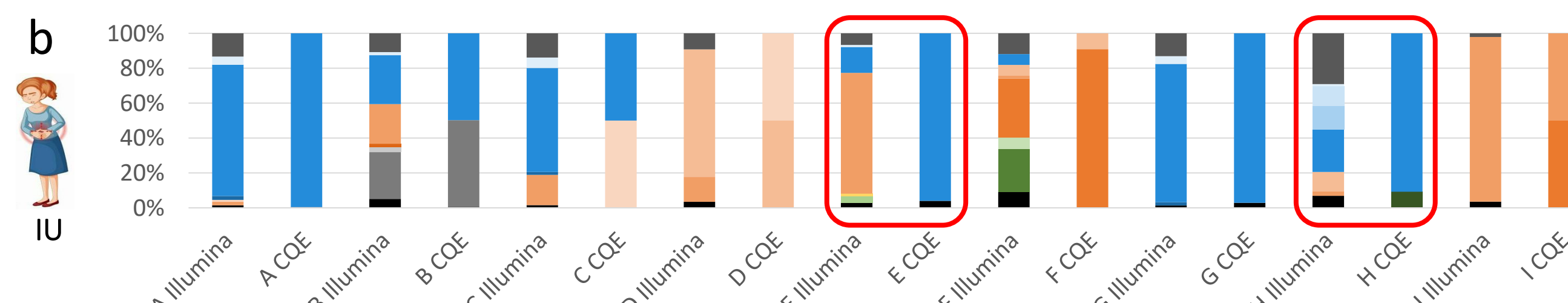
Figure 3 – Abondances relatives des genres identifiés par Nanopore et Illumina pour les groupes VS (a) et IU (b)

- Pour 15 échantillons (11 VS et 4 IU) : profils **similaires à l'échelle du genre** d'une technique NGS à l'autre
- Pour 6 échantillons (1 VS et 5 IU) : majorité de **reads non classés** au niveau du genre par séquençage Nanopore alors que le séquençage Illumina identifie en majorité le genre **Escherichia** (encadrés en rouge)
→ A l'échelle de la famille, prédominance de **Enterobacteriaceae** pour 5 d'entre eux (12, A, B, C et G)

Analyse des urotypes par CQE et Illumina



- 9 urotypes concordants : 7 **Lactobacillus**, 1 **Escherichia**, 1 **Gardnerella**
- 3 urotypes discordants (encadrés en rouge) : **Lactobacillus** moins identifié en CQE



- 7 urotypes concordants : 4 **Escherichia**, 1 **Staphylococcus**, 1 **Enterococcus**, 1 **Lactobacillus**
- 2 urotypes discordants (encadrés en rouge) : **Escherichia** moins identifié par Illumina

Figure 4 – Comparaison des abondances relatives des genres identifiés par Illumina et CQE pour les groupes VS (a) et IU (b)

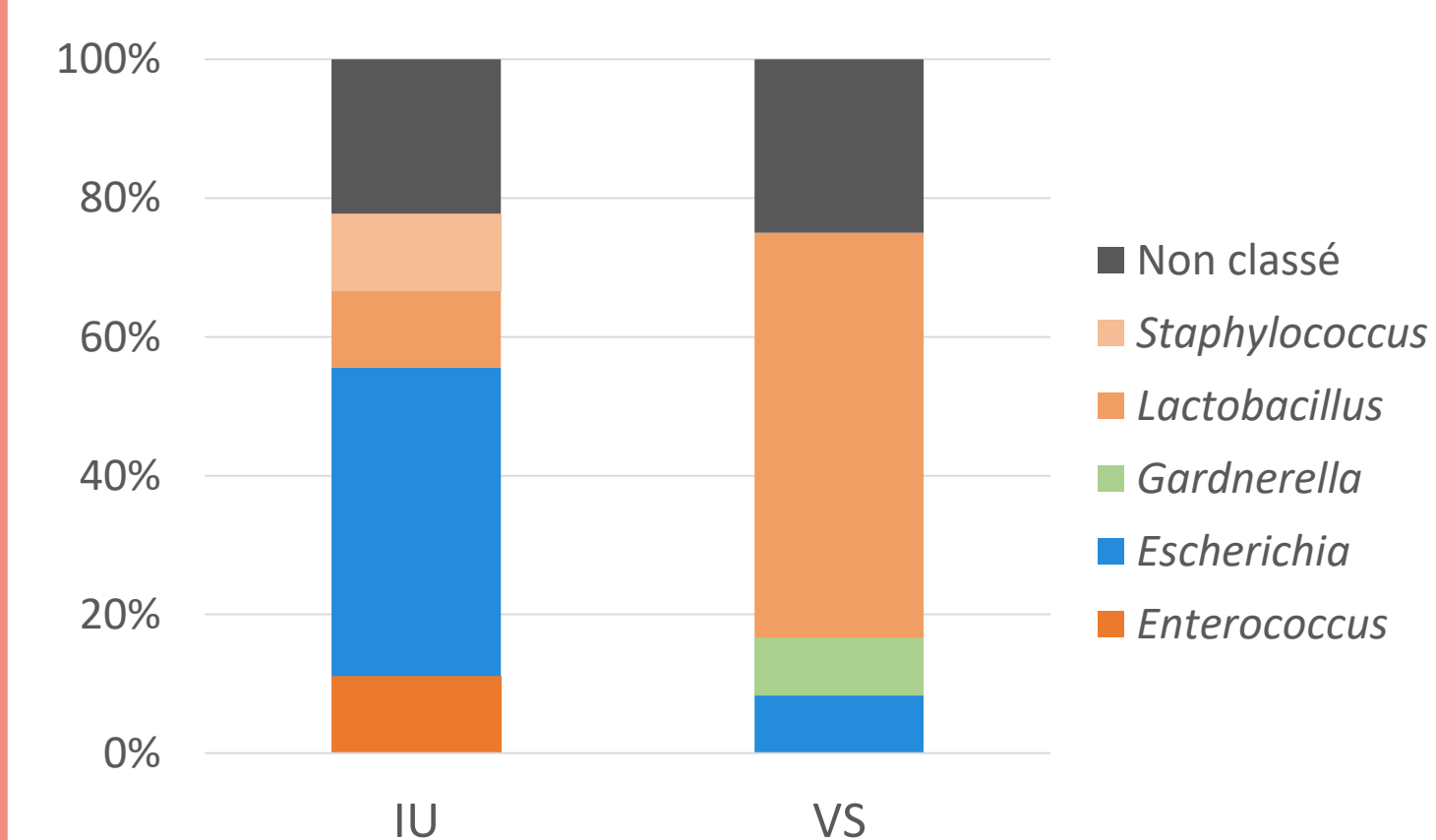
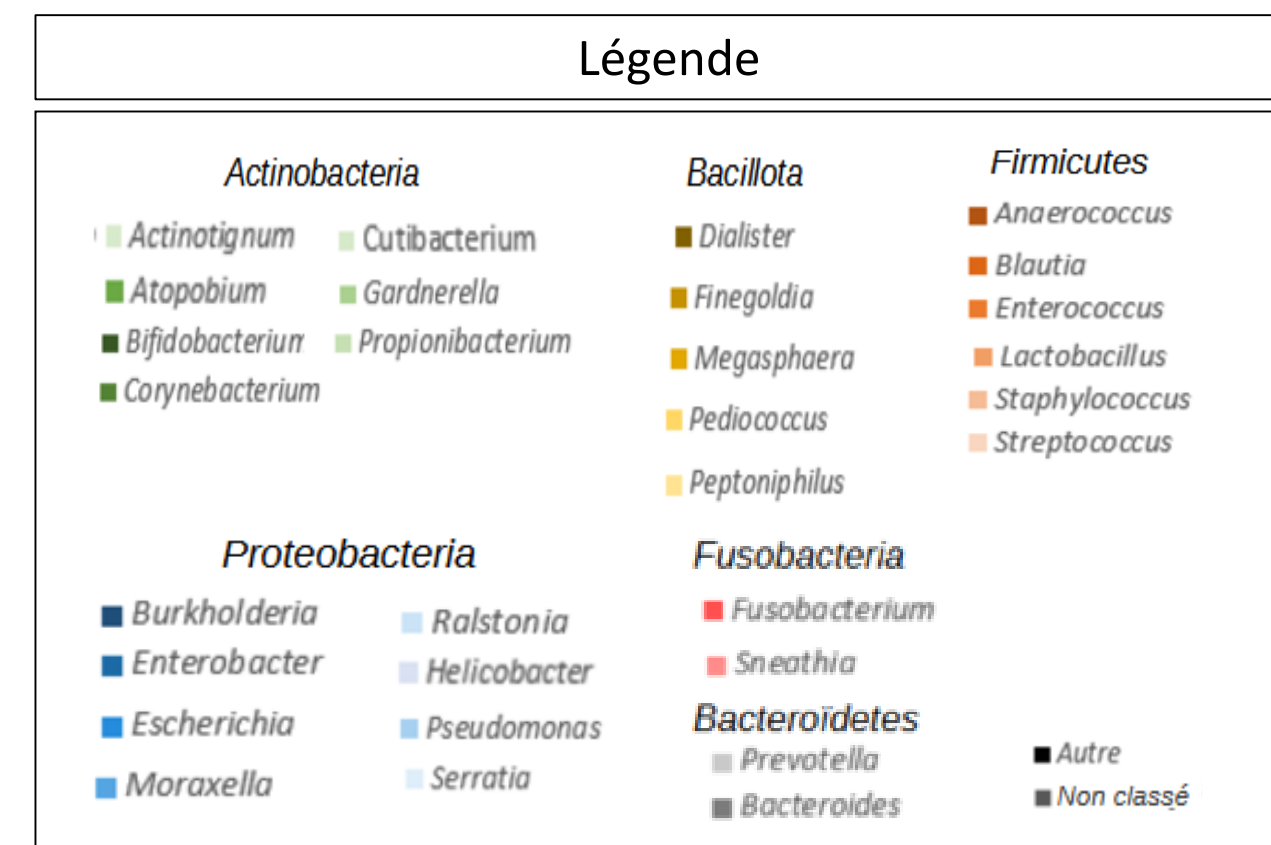


Figure 5 – Comparaison des urotypes identifiés de façon concordante par Illumina et CQE chez les cas avérés d'IU et chez les VS. Non classé = urotypes discordants entre Illumina et CQE.

Urotypes majoritaires

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

Conclusion

La CQE améliore la détection des bactéries par rapport à la CS. La CQE et le NGS ont identifié majoritairement des urotypes concordants par échantillon et ont mis en évidence une différence dans la composition du MU bactérien entre les sujets VS et IU. Par ailleurs, les analyses des données NGS doivent être approfondies, notamment en utilisant d'autres bases de données que celles proposées par les fabricants.

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).