

# PHRCi METAGENOS

12<sup>ème</sup> journée annuelle du CRIOGO –  
13 janvier 2023

Claudie LAMOUREUX

# PHRCi METAGENOS

🧬 Evaluation des performances de la **METAG**énomique *shotgun* dans le diagnostic des infections complexes sur prothèses **OS**téo-articulaires (IPOA)

🧬 PHRCi accepté en juin 2022



🧬 Promoteur: CHU de Brest

🧬 6 centres investigateurs: Angers, Brest, Nantes, Poitiers, Rennes, Tours



# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



- IPOA = complications graves et dévastatrices en cas de chirurgie orthopédique
  - Risque de récurrence et d'invalidité longue durée
  - Augmentation de la mortalité et du coût de prise en charge (Kurtz *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2020)

- Taux d'infection en Europe (Lamagni *et al.*, 2014)
  - 0.8% après arthroplastie du genou
  - 1.2% après arthroplastie de la hanche



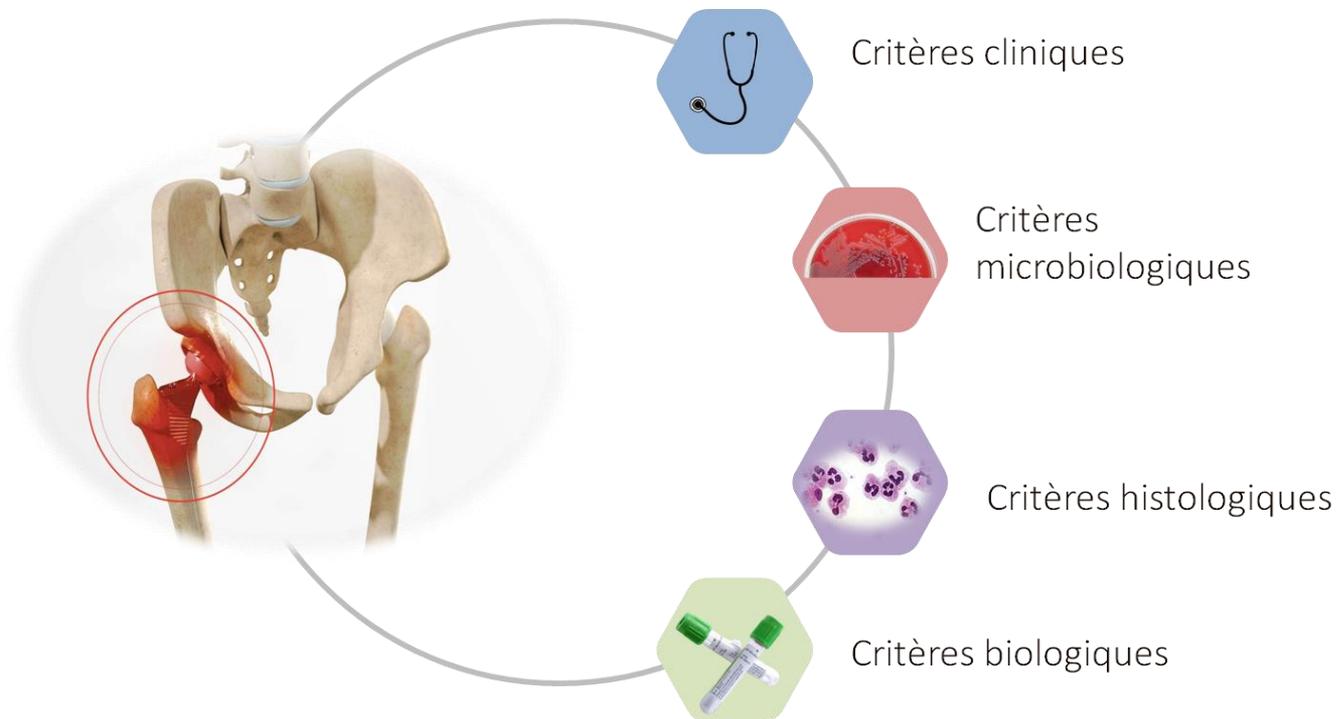
# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



- Diagnostic des IPOA :

Nécessité d'un diagnostic précoce des IPOA

Utilisation de scores diagnostiques (Osmon *et al.*, 2013; Parvizi *et al.*, 2018, Shohat *et al.*, 2019)



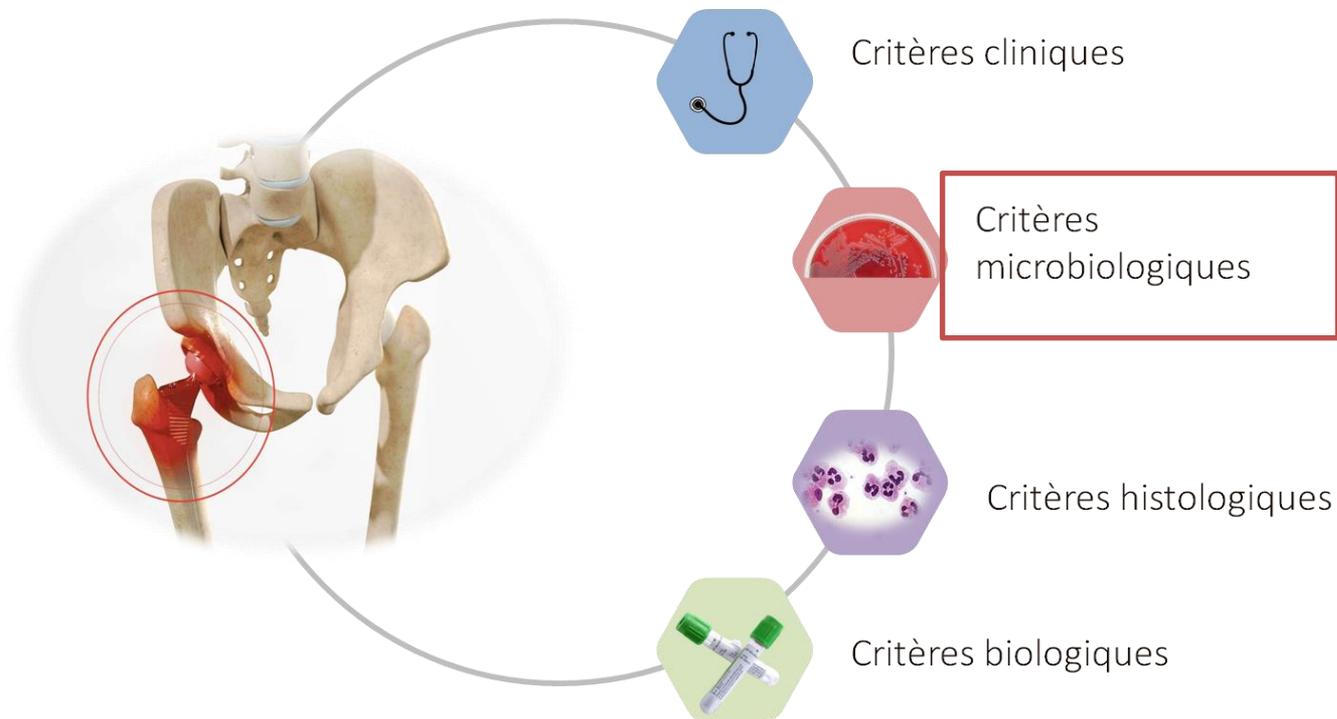
# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



- Diagnostic des IPOA :

Nécessité d'un diagnostic précoce des IPOA

Utilisation de scores diagnostiques (Osmon *et al.*, 2013; Parvizi *et al.*, 2018, Shohat *et al.*, 2019)



# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



- Diagnostic microbiologique des IPOA = challenge!

Etape cruciale pour PEC des patients

→ instauration ATBthérapie ciblée et efficace



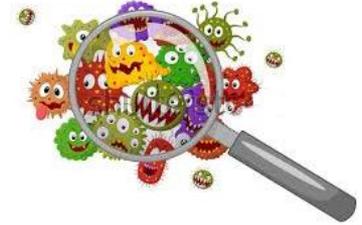
- Large panel de bactéries impliquées (aérobies, anaérobies strictes, mycobactéries, intracellulaires) + autres microorganismes (levures, champignons)

- Infections polymicrobiennes (Tande&Patel 2014)

# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



## Diagnostic microbiologique des IPOA :



- **Culture** = « *gold standard* »

Optimisation permanente de la méthode (broyage mécanique, utilisation de milieux de culture adaptés, nombre de prélèvements) (CRIOGO: Bémer *et al.*, 2016; Deroche *et al.*, 2019)

- Culture négative dans 5-30% des cas de suspicion d'IPOA (Corvec *et al.*, 2012; Tande&Patel, 2014)

Faux négatifs : antibiothérapie préalable, bactéries à croissance exigeante/lente, biofilm,...



- Diagnostic microbiologique des IPOA :

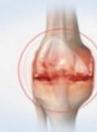
En cas d'échec de l'approche culturelle, recours aux **méthodes moléculaires** pour documenter l'infection

- Réduction du spectre des ATB
- Diminution des effets indésirables
- Diminution de la durée/du coût de l'antibiothérapie
- Diminution du risque de rechute

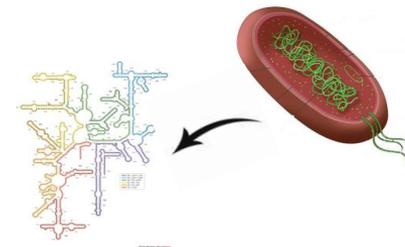
(Wang *et al.*, 2020 pour métagénomique *shotgun*)



# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



- Diagnostic microbiologique des IPOA :



## 16S Sanger

Bémer *et al.*, 2014 (PHRCi MICROBIOS) : Se=73.3% (TP)

Wang *et al.*, 2020 : Se=82.2% (LA)

Huang *et al.*, 2018 : Se=83.0% (LA)

Se=84.9% (LS)

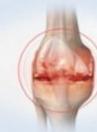
Se=34.0% (TP)

## 16S NGS

Tarabichi *et al.*, 2018 : Se = 89.3% (LA, TP)

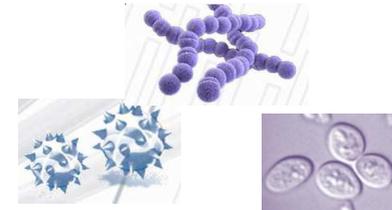
Larsen *et al.*, 2017 : Se = 83.0% (LA, LS, TP)

# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



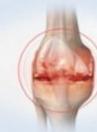
- Diagnostic microbiologique des IPOA :

## Métagénomique shotgun



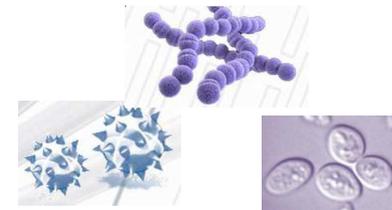
RÉFÉRENCE	NOMBRE DE PVTS	TYPES DE PVTS	GOLD STANDARD	SENSIBILITÉ SHOTGUN
D'Humières <i>et al.</i> , 2022	94 (34 patients)	TP	Culture (63 pvts +)	<b>83,3%</b> (10/12) monomicrob <b>50,0%</b> (25/50) polymicrob
Street <i>et al.</i> , 2022	114	LS	Culture (65 pvts +)	<b>77,0%</b> (50/65)
Cai <i>et al.</i> , 2020	22	TP	Clinique (score MSIS )	<b>95,5%</b> (21/22)
Fang <i>et al.</i> , 2020	25	LA	Clinique (score MSIS )	<b>96,0%</b> (24/25)
Huang <i>et al.</i> , 2020	49	LA	Clinique (score MSIS)	<b>95,9%</b> (47/49)
Ivy <i>et al.</i> , 2018,	168	LA	Culture (82 pvts +)	<b>90,2%</b> (74/82)
Thoendel <i>et al.</i> , 2018	213	LA	Clinique (score IDSA)	<b>66,7%</b> (142/213)
Ruppé <i>et al.</i> , 2017	24	TP	Culture (24 pvts +)	<b>74,5%</b> (18/24)
Street <i>et al.</i> , 2017	97	LA	Culture (69 pvts +)	<b>93,0%</b> (64/69)

# PHRCi METAGENOS - JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE



- Diagnostic microbiologique des IPOA :

## Métagénomique shotgun



RÉFÉRENCE	NOMBRE DE PVTS	TYPES DE PVTS	GOLD STANDARD	SENSIBILITÉ SHOTGUN
D'Humières <i>et al.</i> , 2022	94 (34 patients)	TP	Culture (63 pvts +)	<b>83,3%</b> (10/12) monomicrob <b>100,0%</b> (25/50) polymicrob
Street <i>et al.</i> , 2022	114	LS	Culture (65 +)	<b>77,0%</b> (50/65)
Cai <i>et al.</i> , 2020	22	TP	Culture (22 pvts +) (score MSIS)	<b>95,5%</b> (21/22)
Fang <i>et al.</i> , 2020	25	LA	Clinique (score MSIS)	<b>96,0%</b> (24/25)
Huang <i>et al.</i> , 2020	49	LA	Clinique (score MSIS)	<b>95,9%</b> (47/49)
Ivy <i>et al.</i> , 2018,	82	LA	Culture (82 pvts +)	<b>90,2%</b> (74/82)
Thoendel <i>et al.</i> , 2018	213	LA	Clinique (score IDSA)	<b>66,7%</b> (142/213)
Ruppé <i>et al.</i> , 2017	24	TP	Culture (24 pvts +)	<b>74,5%</b> (18/24)
Street <i>et al.</i> , 2017	97	LA	Culture (69 pvts +)	<b>93,0%</b> (64/69)

1 prélèvement par patient



## Objectif principal

Evaluer les performances de la métagénomique *shotgun* dans le diagnostic des IPOA chroniques en comparaison au score diagnostique adapté MSIS (*MusculoSkeletal Infection Society*).

## Objectifs secondaires

- Evaluer les performances de la métagénomique *shotgun* dans le diagnostic des IPOA chroniques en comparaison à la culture.
- Décrire l'épidémiologie des espèces bactériennes responsables d'IPOA chroniques dans l'Ouest de la France et leurs résistances potentielles aux antibiotiques.
- Analyser les performances diagnostiques de la culture et de la métagénomique *shotgun*, en fonction des traitements antibiotiques potentiellement administrés avant la prise en charge chirurgicale.
- Analyser les prélèvements positifs par culture.
- Evaluer les performances du score diagnostique adapté MSIS et l'intérêt des critères mineurs en cas de suspicion clinique d'IPOA chronique.



Etude prospective non interventionnelle multicentrique inter-régionale

**Objectif d'inclusion:** 143 patients/1 an (2 patients/centre/mois)

Critères d'inclusion :	OUI	NON
Homme ou femme majeur $\geq 18$ ans	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Patient pour lequel une prise en charge chirurgicale est envisagée dans le cadre d'une suspicion d'IPOA chronique (délai entre pose de prothèse et inclusion du patient > 3 mois)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Affiliation au régime de la sécurité sociale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Non-opposition à la participation à l'étude	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Critères de non inclusion :	OUI	NON
Suspicion ou documentation (hémocultures positives) d'infection aigue hématogène au moment de l'inclusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Patient sous tutelle ou curatelle ou inapte à comprendre l'étude	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



## Prélèvements

### Analyses réalisées – Etude METAGENOS

Prélèvements per-opératoires  
(LS: liquide synovial / T: tissu / O: Os)



LS



LS



T/O



T/O



T/O



T

Prothèses concernées: hanche, genou, épaule, coude, cheville

Conservation étude METAGENOS: 2 aliquots de 2mL

Non conservé

CRP sérique



## Prélèvements

### Analyses réalisées – Etude METAGENOS

#### Prélèvements per-opératoires

(LS: liquide synovial / T: tissu / O: Os)



LS

CYTOLOGIE  
CRP SYNOVIALE  
MARQUEURS  
INFLAMMATOIRES

Tube hépariné

- Cytologie: laboratoires de Bactériologie
- CRP synoviale: laboratoires de Biochimie
- **Marqueurs inflammatoires** ( $\alpha$ -défensine, leucocyte estérase, ...): optionnels (selon la disponibilité dans chaque centre)

Conservation étude METAGENOS: 2 aliquots de 2mL

CRP sérique



## Prélèvements

### Analyses réalisées – Etude METAGENOS

#### Prélèvements per-opératoires

(LS: liquide synovial / T: tissu / O: Os)



LS



T/O



T/O



T/O

CULTURE + METAGÉNOMIQUE *SHOTGUN*

#### Culture:

laboratoires de  
Bactériologie

#### Métagénomique

#### *shotgun*:

CHU de Brest,  
après la fin des  
inclusions

Conservation étude METAGENOS: 2 aliquots de 2mL

CRP sérique



## Prélèvements

### Analyses réalisées – Etude METAGENOS

Prélèvements per-opératoires  
(LS: liquide synovial / T: tissu / O: Os)



**Histologie:** laboratoires  
d'Anatomo-Pathologie

ANALYSE  
ANATOMO-  
PATHOLOGIQUE

Non conservé

CRP sérique



## Score diagnostic adapté MSIS (Parvizi *et al.*, 2018)

Critères majeurs (au minimum 1 critère)	Décision
2 cultures de prélèvements péri-prothétiques positives à la même espèce bactérienne	Patient infecté
Présence d'une fistule communiquant avec l'articulation ou visualisation de la prothèse	

Critères mineurs (pré-opératoires)		Score	Décision
Sérum	Concentration CRP élevée (> 10 mg/L) ou D-dimères élevés (>860 ng/mL)	2	≥ 6 : patient infecté
	Taux élevé de vitesse de sédimentation (>30 mm/h)	1	
Liquide synovial	Taux élevé de leucocytes (>3 000/μL) OU test de leucocyte estérase positif	3	2-5 : patient possiblement infecté*
	Alpha-défensine positive	3	
	Taux élevé de polynucléaires neutrophiles (>80%)	2	0-1 : patient non infecté
	Concentration CRP élevée (>6,9 mg/L)	1	

Score pré-opératoire non concluant* ou ponction sèche		Score	Décision
Diagnostic per-opératoire	Score pré-opératoire	-	≥ 6 : patient infecté
	Histologie positive	3	
	Purulence	3	4-5 : score non concluant ≤ 3 : patient non infecté
	1 culture de prélèvement péri-prothétique positive	2	

**Critère d'évaluation principal :**  
Diagnostic d'IPOA (positif/négatif) obtenu par la métagénomique *shotgun*, en regard du *gold standard* (score diagnostique adapté MSIS)



## Score diagnostic adapté MSIS (Parvizi *et al.*, 2018)

Critères majeurs (au minimum 1 critère)	Décision
2 cultures de prélèvements péri-prothétiques positives à la même espèce bactérienne	Patient infecté
Présence d'une fistule communiquant avec l'articulation ou visualisation de la prothèse	

Critères mineurs (pré-opératoires)		Score	Décision
Sérum	Concentration CRP élevée (> 10 mg/L) ou D-dimères élevés (>860 ng/mL)	2	≥ 6 : patient infecté
	Taux élevé de vitesse de sédimentation (>30 mm/h)	1	
Liquide synovial	Taux élevé de leucocytes (>3 000/μL) OU test de leucocyte estérase positif	3	2-5 : patient possiblement infecté*
	Alpha-défensine positive	3	
	Taux élevé de polynucléaires neutrophiles (>80%)	2	0-1 : patient non infecté
	Concentration CRP élevée (>6,9 mg/L)	1	

Score pré-opératoire non concluant* ou ponction sèche		Score	Décision
Diagnostic per-opératoire	Score pré-opératoire	-	≥ 6 : patient infecté
	Histologie positive	3	
	Purulence	3	4-5 : score non concluant ≤ 3 : patient non infecté
	1 culture de prélèvement péri-prothétique positive	2	

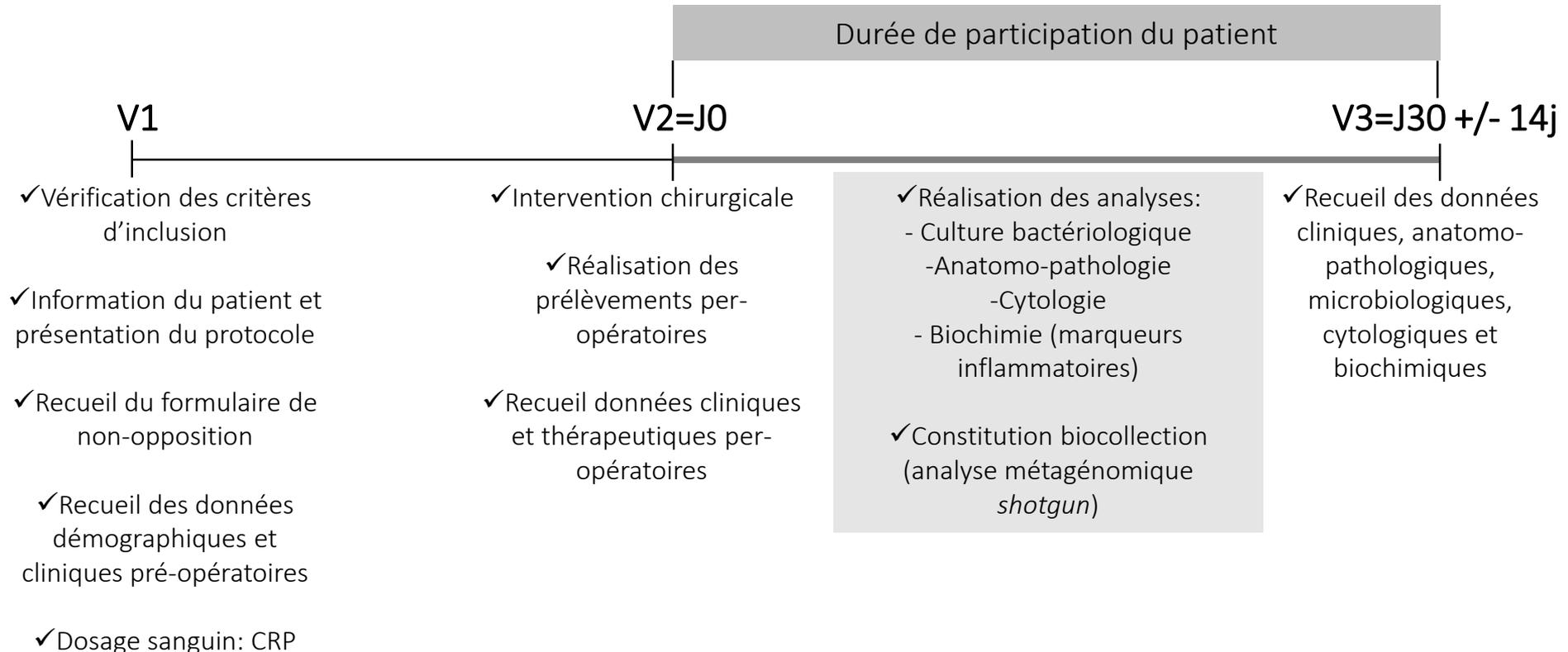
### Limites:

2 paramètres du score non évalués (4 points au total)

→ avis de la réunion pluri-disciplinaire post-intervention chirurgicale quant au caractère infecté/non infecté du patient

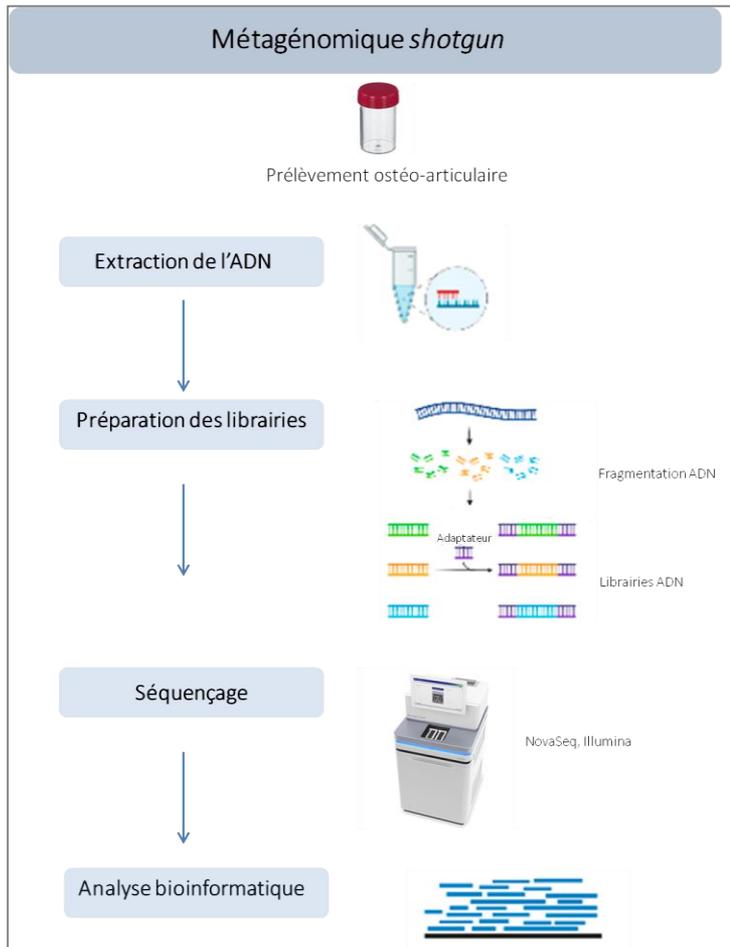


## Déroulement de la recherche





## Métagénomique shotgun



Réalisée après inclusion de tous les patients (CHU de Brest/CBAM)

**Extraction:** pré-traitement / extraction automatisée (EMAG<sup>®</sup>, Biomérieux)

**Préparation des librairies** (banques ADN): Kit Nextera XT DNA<sup>®</sup> (Illumina)

**Séquençage:** séquenceur NovaSeq (Illumina) 2x150 bp (plateforme GenoBiRD, Nantes)

**Analyse bioinformatique:** DR VELO-SUAREZ Lourdes

-Analyse de la qualité des reads: bbmap/fastqc/multiqc

-Retrait des reads humains : kraken2

-Affiliation des reads : kraken 2

-Analyse et visualisation des résultats : pavian, R



Pascale BEMER  
Vincent CATTOIR  
Rachel CHENOUEARD  
Stéphane CORVEC  
Geneviève HERY-ARNAUD  
Marie-Frédérique LARTIGUE  
Carole LEMARIE  
Chloé PLOUZEAU-JAYLE  
Didier TANDE



Séverine ANSART  
Cédric ARVIEUX  
Pierre GAZEAU  
Anaïs GREVES  
Anne MEHEUT  
Luc QUAESAET  
Eric STINDEL  
Thomas WILLIAMS



Dauphou EDDI  
Valentine GUITON  
Pierre KERNEIS  
Anne LE COADOU  
Emmanuel NOWAK  
David SIMON



**Merci!**



Major criteria (at least one of the following)	Decision
Two positive cultures of the same organism	Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis	

Major criteria (at least one of the following)	Decision
Two positive growth of the same organism using standard culture methods	Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis	

Preoperative Diagnosis	Minor Criteria		Score	Decision
	Serum	Elevated CRP <i>or</i> D-Dimer	2	≥6 Infected
	Elevated ESR	1		
Synovial	Elevated synovial WBC count <i>or</i> LE	3	2-5 Possibly Infected <sup>a</sup>	
	Positive alpha-defensin	3		
	Elevated synovial PMN (%)	2		
	Elevated synovial CRP	1		
			0-1 Not Infected	

Minor Criteria	Threshold		Score	Decision
	Acute <sup>‡</sup>	Chronic		
Serum CRP (mg/L)	100	10	2	Combined preoperative and postoperative score: ≥6 Infected 3-5 Inconclusive* <3 Not Infected
<i>or</i> D-Dimer (µg/L)	Unknown	860		
Elevated Serum ESR (mm/hr)	No role	30	1	
Elevated Synovial WBC (cells/µL)	10,000	3,000	3	
<i>or</i> Leukocyte Esterase	++	++		
<i>or</i> Positive Alpha-defensin (signal/cutoff)	1.0	1.0	2	
Elevated Synovial PMN (%)	90	70	2	
Single Positive Culture			2	
Positive Histology			3	
Positive Intraoperative Purulence <sup>¶</sup>			3	

Intraoperative Diagnosis	Inconclusive pre-op score <i>or</i> dry tap <sup>a</sup>	Score	Decision
	Preoperative score	-	4-5 Inconclusive <sup>b</sup>
Positive histology	3		
Positive purulence	3		
Single positive culture	2		
			≤3 Not Infected

**Table 1**  
Definition of Periprosthetic Joint Infection According to the International Consensus Group. This Is An Adaptation of the Musculoskeletal Infection Society Definition of PJI.

PJI Is Present When One of the Major Criteria Exists or Three Out of Five Minor Criteria Exist

Major Criteria	Two positive periprosthetic cultures with phenotypically identical organisms, <b>OR</b> A sinus tract communicating with the joint, <b>OR</b>
Minor Criteria	1) Elevated serum C-reactive protein (CRP) <b>AND</b> erythrocyte sedimentation rate (ESR) 2) Elevated synovial fluid white blood cell (WBC) count <b>OR</b> ++change on leukocyte esterase test strip 3) Elevated synovial fluid polymorphonuclear neutrophil percentage (PMN%) 4) Positive histological analysis of periprosthetic tissue 5) A single positive culture

<sup>‡</sup> These criteria were never validated on acute infections. <sup>¶</sup> No role in suspected adverse local tissue reaction. \*Consider further molecular diagnostics such as Next-Generation Sequencing

Parvizi J, Tan TL, Goswami K, Higuera C, Della Valle C, Chen AF, et al. (2018). The 2018 definition of periprosthetic hip and knee infection: an evidence-based and validated criteria. *J Arthroplasty*. 33, 1309-1314. doi:10.1016/j.arth.2018.02.078

Shohat, N., Bauer, T., Buttaro, M., Budhiparama, N., Cashman, J., Della Valle, C. J., et al. (2019). Hip and Knee Section, What is the Definition of a Periprosthetic Joint Infection (PJI) of the Knee and the Hip? Can the Same Criteria be Used for Both Joints?: Proceedings of International Consensus on Orthopedic Infections. *The Journal of arthroplasty*, 34(2S), S325-S327. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2018.09.045>

Parvizi, J., Gehrke, T., & International Consensus Group on Periprosthetic Joint Infection (2014). Definition of periprosthetic joint infection. *The Journal of arthroplasty*, 29(7), 1331.