



16S-23S rDNA NGS op klinische samples van orthopedische patiënten

Glen Mithoe, arts-microbioloog

16S-23S rDNA NGS op klinische samples van orthopedische patiënten

- Pilot studie 16S-23S rDNA NGS op monsters die afgenomen zijn bij een (verdenking) prothese infectie.
- 4 patiënten met bewezen prothese infectie.
- 3 patiënten met (zeer) lage verdenking prothese infectie (negatieve kweken)
- Kweek op BA, CHOC en TSB medium.
- Kweek staat 14 dagen in
 - Niet blind afenten
 - Geen sonicatie
 - Geen homogenisatie weefsels/biopten

W. (M)26-4-1946

18-06-2013: Totale heupprothese rechts i.v.m. coxarthrose.

12-12-2016: TH hybride links i.v.m. zeer forse degeneratieve afwijkingen van de linker heup.

Vroege infectie THP L

29-12: spoelen heup Li.

19-1: 2e keer spoelen bij wondgenezingsstoornis.

Epitooop	Kweek 29-12-2016	Groei van: Direct materiaal /Ophoping	Groeidichtheid	16-23S rDNA analyse	ID	Score	% reads	16S analyse	Afname datum 19/1/2017		
subcutis	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Direct	Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4318/4319	1,000	98%	16S rDNA PCR	37,34	Biopsie/weefsel 1 Fistel gang	<i>Propionibacterium acnes+</i>
										Biopsie/weefsel 2 Subcutis	GG
gewricht	Negatief			<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4321/4322	1,000	93%	16S rDNA PCR	40,08	Biopsie/weefsel 3 Fascie weefsel	GG
										Vocht 4 Diep	GG
kapsel	<i>Propionibacterium acnes</i>	Direct	Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4320/4322	1,000	97%	16S rDNA PCR	39,80	Biopsie/weefsel 5 Weefsel femur	GG
kapsel	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Direct	Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4320/4322	1,000	98%	16S rDNA PCR	37,56	Biopsie/weefsel 6 Acetabulum	GG
	<i>Propionibacterium acnes</i>	Direct	Gering	<i>Propionibacterium acnes</i>	2678/2699	0,992	1%				
kapsel	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Direct	Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4325/4326	1,000	100%	16S rDNA PCR	28,62		
kapsel	<i>Staphylococcus capitis</i>	Ophoping	Zeer Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	3445/3446	1,000	72%	16S rDNA PCR	39,98		

Patiënte F-E (v) 18-7-1925

21-12-2016: Medicaal collumfractuur rechts wv kophals prothese

30-12-2016: Spoelen heup met achterlaten gentamatten. I.v.m. penicilline allergie gestart met vanco en rifa.

Biopt/ Punctaat	Epitooop	Afname datum kweek 30/12/17	Groei van: Direct materiaal /Ophoping	Groeidichtheid	16-23S rDNA analyse	ID	Score	% reads	S.aureus PCR
Biopt	inta. Art. heematoon	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ophoping	Gering	<i>Propionibacterium acnes</i>	4399/4399	1,000	65%	>40
					<i>Neisseria sicca</i>	4679/4706	0,994	6%	
Biopt	inta. Art. heematoon	<i>Staphylococcus aureus</i>	Direct	Gering	<i>Staphylococcus aureus</i>	2732/2732	1,000	12%	>40
					<i>Propionibacterium acnes</i>	4392/4392	1,000	10%	
					<i>Streptococcus anginosus</i>	3345/3347	0,999	3%	
					<i>Anaerococcus sp.</i>	812/830	0,978	1%	
Biopt	inta. Art. heematoon	<i>Staphylococcus aureus</i>	Direct	Gering	<i>Fingoldia magna</i>	1462/1469	0,995	25%	>40
					<i>Pseudomonas poae</i>	2448/2474	0,989	4%	
Punctaat	subcutaan	<i>Staphylococcus aureus</i>	Direct	Gering	Negatief				Ct36,13
Punctaat	subcutaan	<i>Staphylococcus aureus</i>	Direct	Gering	<i>Staphylococcus aureus</i>	2804/2804	1	98%	Ct33,82
Punctaat	diep	<i>Staphylococcus aureus</i>	Direct	Gering	<i>Staphylococcus aureus</i>	2551/2552	1,000	24%	Ct38,44
					<i>Enterobacter cloacae</i>	4451/4457	0,999	9%	
					<i>Propionibacterium acnes</i>	4404/4404	1,000	7%	

Patient H (m) 4-7-1947

16-12-2016: Revisie totale heupprothese rechts i.v.m. aseptische loslating steel THP rechts. Kweken: GG.

25-12-2016: Pijnklachten en wondlekkage na THP rechts : gespoeld.

12-01-2017: Opnieuw spoelen.

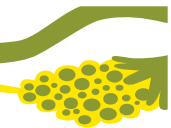
Afname datum Kweek 16/12/17		Afname datum Kweek 25/12/16		Groei van: Direct				16-23S rDNA analyse		ID	Score	% reads
				Epitooop	Afname datum Kweek 12-1-2017/Ophopingd	Groeidichthei						
Biopsie/weefsel interface femur I	GG	Subcutaanvocht	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> +++ <i>Staphylococcus epidermidis</i> +	bursa	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ophoping	Zeer gering	Negatief				
Biopsie/weefsel interface acetabulum II	GG	Sub fasciaal vocht	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ++ <i>Staphylococcus epidermidis</i> +	kapsel	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Direct	Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		4073/4073	1,000	99%
Biopsie/weefsel kapsel	GG	Kapsel I	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> +++	subfeciaal	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ophoping	Zeer gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		4098/4101	0,99927	82%
Biopsie/weefsel interface femur II	GG	Kapsel II	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ++	kapsel	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ophoping	Zeer gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		3828/3829	0,99974	100%
Biopsie/weefsel interface acetabulum I	GG	Spier 5 fastus lateraal I	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> +++	subfeciaal	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Direct	Gering	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>		4283/4283	1,000	46%
		Spier 6 biopt fastus lateraal II	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ++					<i>Staphylococcus epidermidis</i>		4269/4272	0,999	11%
		Kapsel III	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ++									



J-G (v) 28-2-1936

16-02-2017: TH stanmore rechts i.v.m. coxarthrose.

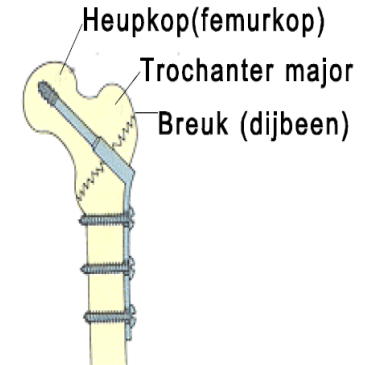
Biopt/ Punctaat	Epitooop	Afname datum 16-2-2017 Kweek	Groei van: Direct materiaal /Ophoping	Groeidichtheid	16-23S rDNA analyse	ID	Score	% reads
Biopt	subcutaan	Negatief	n.a.	n.a.	Negatief			
Biopt	gewricht	Negatief	n.a.	n.a.	Negatief			
Biopt	trochanter	Negatief	n.a.	n.a.	Negatief			
Biopt	subcutis	Negatief	n.a.	n.a.	Negatief			



J (m). 18-5-1975

4-1-2016 DHS links i.v.m. gediscoceerde collumfractuur

24-2-2017: X-heup: verdere verslechtering AVN: verwijderen DHS Li en implantatie gentspacer.



Biopt/ Punctaat	Epitooop	Afname datum 24-2-2017 Kweek	Groei van: Direct materiaal /Ophoping	Groeidichtheid	16-23S rDNA analyse	ID	Score	% reads
Biopt	interface acetabulum	Negatief	n.a.	n.a.	<i>Propionibacterium acnes</i>	2682/2683	1,000	28%
					<i>Pseudomonas protegens</i>	1279/1294	0,988	0,4%
Biopt	interface acetabulum	<i>Propionibacterium acnes</i>	Direct	Gering	<i>Propionibacterium acnes</i>	2680/2680	1,000	18,8%
					<i>Pseudomonas poae</i>	2458/2484	0,990	14,1%
Biopt	kapsel interface femur	Negatief	n.a.	n.a.	Negatief			
Punctaat	subfasciaal	Negatief	n.a.	n.a.	<i>Acinetobacter sp</i>	2383/2488	0,958	9,1%
Biopt	subcutis	Negatief	n.a.	n.a.	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	2516/2517	1,000	24,0%
					<i>Anaerococcus sp</i>	1351/1410	0,958	4,4%
					<i>Pseudomonas poae</i>	2447/2473	0,989	1,7%
Biopt	kapsel hematoom	Negatief	n.a.	n.a.	<i>Propionibacterium acnes</i>	2022/2051	0,986	2,40%

van der V, 13-9-1945

2007 in Turkije een kop-halsprothese gekregen. Sindsdien nooit meer goed gelopen.

02-03-2017: Verwijderen kophalsprothese links met cementresten, uitgebreide nettoyage, achterlaten spacer.

21-03-2017: Re-implantatie totale heupprothese links, posterolaterale benadering

04-04-2017: Spoelen i.v.m. verdenking infectie THP 14dg na reïmplantatie

20-04-2017: Spoelen.

Biopt/ Punctaat	Epitooop	Kweek 2/3/2017	16-23S rDNA analyse	ID	Score	% reads	Afname datum kweek 21/3/17	Afname datum kweek 4/4/17	Afname datum kweek 20/4/17
Biopt	kapsel	Negatief	Negatief				Biopsie/weefsel subcutis	GG Biopsie/weefsel sub fasciaal	Biopsie/weefsel 1 <i>Staphylococcus epidermidis+</i>
Biopt	kapsel	Negatief	<i>Enterococcus faecium</i>	1146/1148	0,998	13%	Biopsie/weefsel fascie	GG Biopsie/weefsel pseudo kapsel	GG Biopsie/weefsel 2 subcutis
			<i>Streptococcus sanguinis</i>	2423/2428	0,998	9%	Punctaat vocht	GG Biopsie/weefsel interface	GG Biopsie/weefsel 3 subcutis 2 <i>Staphylococcus epidermidis +</i>
			<i>Propionibacterium acnes</i>	2031/2031	1,000	1%	Biopsie/weefsel interface femur	GG Biopsie kapsel 1	GG Biopsie/weefsel 4 bursa <i>Staphylococcus epidermidis +</i>
Biopt	kapsel	Negatief	Negatief				Biopsie/weefsel interface acetabulum	GG Biopsie/weefsel subcutaan	GG Biopsie/weefsel 5 fascie <i>Staphylococcus epidermidis +</i>
Biopt	kapsel kapsel interface acetabulum	Negatief	Negatief				Biopsie/weefsel interface femur 2	GG Gewrichtspunct aat heup	GG Gewrichtspunct aat heup <i>Staphylococcus epidermidis +</i>
			<i>Propionibacterium acnes</i>	2673/2674	1,000	46%			
			<i>Streptococcus mitis</i>	2504/2514	0,996	24%			
			<i>Moraxella sp.</i>	624/692	0,902	1%			
Biopt	kapsel interface acetabulum	Negatief	<i>Staphylococcus warneri</i>	2517/2520	0,999	9%			
Punctaat	gewricht	Negatief	<i>Moraxella sp.</i>	2231/2371	0,941	13%			
			<i>Acinetobacter sp</i>	2310/2407	0,960	3%			

16S-23S rDNA NGS op klinische samples van orthopedische patiënten

- Minor/ major discrepanties
 - 3/7 major error NGS
 - 2/7 resultaten NGS mogelijk leidend tot aanpassing AB beleid in vroeg stadium.
- Sample error?
- Rol homogeniseren?
- Pathogenen/ contaminatie
- Prospectieve studie noodzakelijk.

