



R I C A I

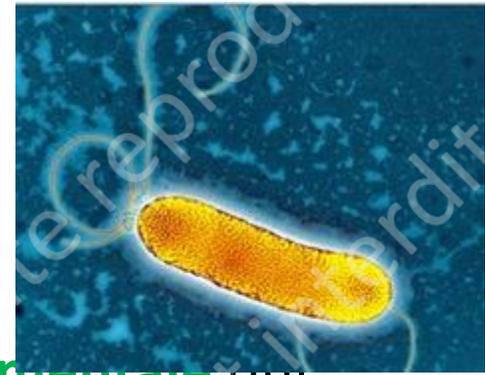
CO-030

Détection rapide des 2 principaux génogroupes de *Stenotrophomonas maltophilia* responsables d'infections chez l'homme

Chadly CHARRON¹, Guilhem ROYER^{1,2}, Mélany MERCIER DARTY³,
Camille GOMART¹, Frédéric FOURREAU⁴, Brigitte LAMY⁵,
Jean-Winoc DECOUSSER^{4, 6} et les réseaux RESAPATH et CoBVH

1. Laboratoire de Bactériologie, CHU MONDOR; 2. EA DRF Genoscope LABGeM; CNRS UMR8030, Université d'Evry-Val d'Essonne; 3. Plateforme NGS, CHU MONDOR. 4. Equipe Opérationnelle d'Hygiène, CHU MONDOR; 5. Laboratoire de Bactériologie, CHU NICE; 6. Equipe DYNAMYC, EA 7380, UPEC, Créteil.

Contexte



- ***Stenotrophomonas maltophilia***: archétype de la **bactérie environnementale** qui peut se comporter comme **un pathogène opportuniste**

- Infection aigüe (immunodéprimé)
- Infection chronique (mucoviscidose)

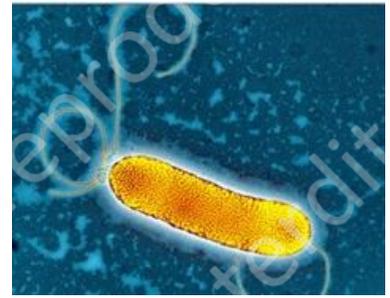
- **Organisation phylogénique en génogroupes** (AFLP Hauben et al. 1999 puis MLST Kaiser et al 2009 puis WGS Steinmann et al 2018)

Génogroupes humains / environnementaux / mixtes

- Animaux?

- **Hommes**: majoritairement génogroupes 2 et 6 Corlouer et al 2017
- **Animaux**: majoritairement génogroupes 2 et 5 Jayol et al 2018
- **Structures de soins: conduite à tenir** face à l'isolement d'une souche de *S. maltophilia* d'un patient ou d'un environnement ?
 - **Pondération en fonction d'un génogroupe +/- adapté à l'homme?**

Objectif de l'étude



- Confirmer l'**organisation en génogroupes** à travers une large collection de génomes d'origine **humaine / animale / environnementale**
- Identifier **des gènes spécifiques des 2 principaux génogroupes** retrouvés en pathologie humaine
- Mettre en place un **test diagnostique** (PCR) utilisable en temps réel pour prendre en charge spécifiquement les souches appartenant à ces 2 génogroupes plus fréquemment retrouvés chez l'homme / adaptés à l'homme

Matériel et Méthodes: Détails des souches / génomes



Collège de Bactériologie
de Virologie et d'Hygiène des hôpitaux

- **Séquencées au cours de l'étude**

- **81 souches humaines** (CoLBVH)

- respiratoires +++, hémocultures ++, urines, KT, bile, oculaire

- **100 souches animales** (RESAPATH)

- Cheval +++ (aspi / lavage trachéal ++)
 - Chien, chat
 - Reptiles, poisson, lémurien, phoque

- **Issues de la base RefSeq**

- **290 souches**

- 226 humaines (respiratoire ++, sang +, urine, rectal...)
 - 36 environnementales (essentiellement sol et rhizosphère)
 - 12 animales (chevaux ++, bovins ++, moustiques, souris, huitre, mouche, poisson)
 - 16 inconnu

- **Séquençage Nextera® sur NextSeq® (Illumina)**

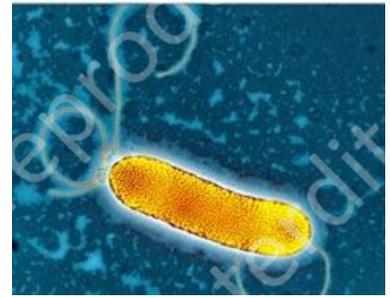


Réseau d'épidémiologie
de l'antibiorésistance
des bactéries pathogènes animales

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Matériel et Méthodes: Bioanalyse



- **Arbre des distances génétiques** par Mash (Ondov et al. 2016)
- **Construction d'un pangénome** à partir des génomes des souches séquencées localement + ensemble des souches (Roary) (Gordon et al. 2017)
- **Identification de protéines spécifiques** des génogroupes 2 et 6 (Scoary) (Gordon et al. 2017)
- **Mise en place d'une PCR ciblant** ces gènes
- **Validation** par:
 - PCR classique
 - par BlastN sur les génomes de RefSeq

Scoary
microbial pan-GWAS

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

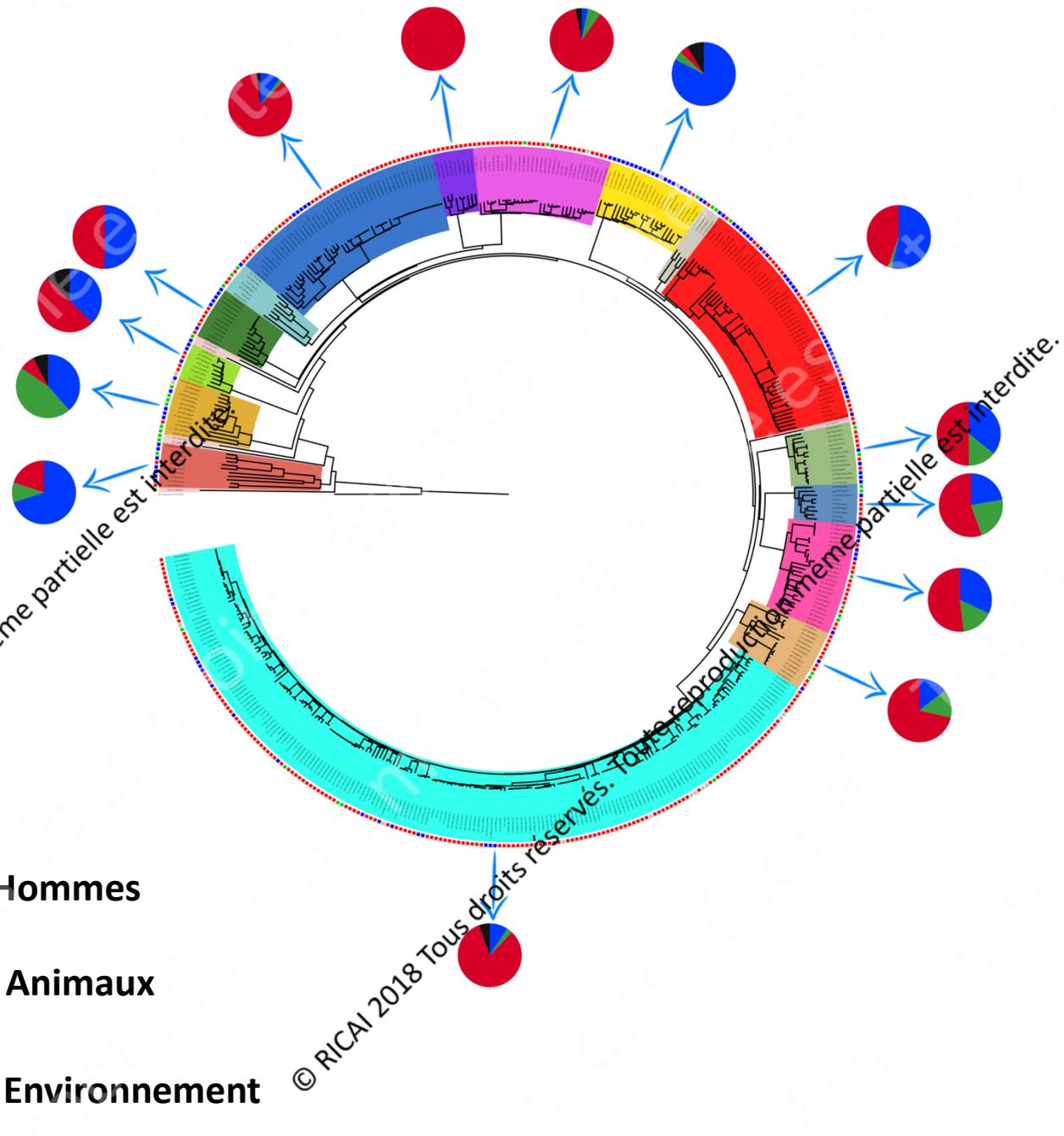
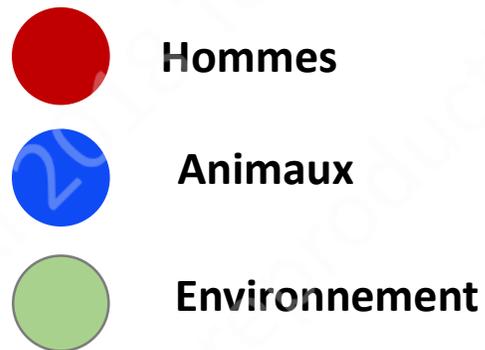
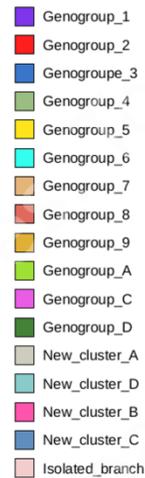
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Résultats:

Hôtes et structures de la population

- Organisation en **génogroupes** retrouvée
- **4 nouveaux groupes**
- **Diversité** intra groupe variable (7,8,9)
- Génogroupes à prédominance humaine (1, 3, 5) ou mixte animal / homme (2)

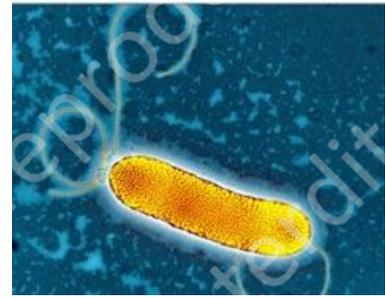


© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Résultats:

approche pangénomique



- Construction d'un pangénome à partir de l'ensemble des souches (n = **471** souches). Critère d'identité = 80% d'identité protéique

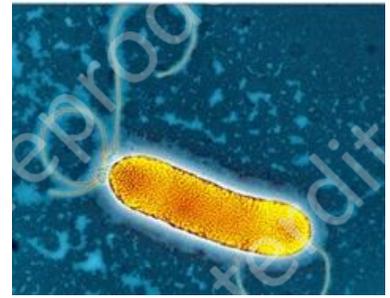
Core genes	(99% <= strains <= 100%)	700
Soft core genes	(95% <= strains < 99%)	885
Shell genes	(15% <= strains < 95%)	4029
Cloud genes	(0% <= strains < 15%)	45260
Total genes	(0% <= strains <= 100%)	50874

1585 CDS

➤ Youenou et al., 2015 : 14 génomes, core genome de 1647 CDS

- Core genome de petite taille, grande diversité intra espèce (++) pour génogroupes "divergents" comme les genogroupes 8 et 9)

Résultats: gènes spécifiques / PCR spécifique



- Construction d'un pangenome à partir de nos souches (Roary)
- Identification des **protéines spécifiques** des génogroupes 2 et 6 (Scoary):

- **SoxR** (génogroupe 2)

- **hypothetical protein** (génogroupe 6)

- Validation par

- **PCR classique** (extrait d'ADN /boiling extract):

- **Geno 2: 20/21**, **Geno 6: 31/31**; autres géno: 1/76

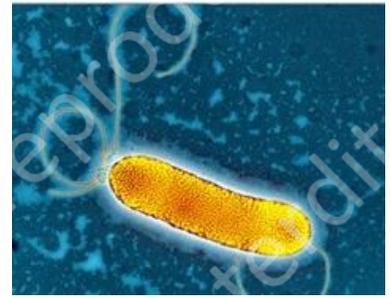
- **par BlastN sur les génomes de RefSeq :**

- **Geno 2 : 17/17** avec identité > 75%;

- **Geno 6 : 132/133** avec identité > 96% (1 souche du génogroupe 7 à 95% d'identité)

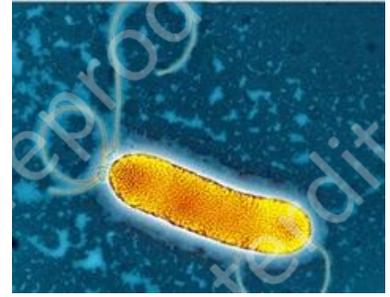


Discussion



- **Structuration en génogroupes** (incroyablement) solide
 - **+ 4 nouveaux groupes?**
- **Nombre de génomes croissants:** 14 (Youenou et al., 2015), 94 (Steinmann et al. 2018) puis 471 génomes
- **Intérêt: Souches humaines responsables d'infections**
- Ajout de **souches animales responsables d'infections** spécialement séquencées
- **Diversité Intra - espèce ; cf. clades chez E. coli?**
- **Gènes spécifiques** hommes (+/- animal) vs environnementales.
 - Rôle?
- **Approche pratique:** identification en temps réel de souches adaptées à l'homme / responsables d'infections
 - Précautions complémentaires / isolement des patients
 - Maîtrise de l'environnement (filtres terminaux...)

Conclusions



- **Bactéries de l'environnement / pouvoir pathogène: adaptation d'une sous population à l'homme?**

➤ **Mesures spécifiques** en terme de prévention / traitement ?

➤ **Support génétique** de cette adaptation

- Facteurs de virulence (système de captation du fer...)
- Voies métaboliques...

➤ **Rôle de l'animal?**

- Étape intermédiaire
- Évolution indépendante
- Evolution parallèle
- Dommage collatéral de l'adaptation à l'homme, ou inversement?