

## Introduction

*Staphylococcus lugdunensis* possède un pouvoir pathogène proche de celui de *Staphylococcus aureus*. En effet, les infections à *S. lugdunensis* présentent un tel caractère agressif et destructeur qu'il est souvent nécessaire de recourir à des procédures de drainage ou de chirurgie, en plus de l'antibiothérapie, pour en limiter la mortalité. Des études épidémiologiques ont été menées chez *S. lugdunensis* par *MultiLocus Sequence Typing*<sup>1</sup> (MLST) et *MultiVirulence-Locus Sequence Typing*<sup>2</sup> (MVLST) à partir de 93 souches dont 87 pathogènes et 6 isolées en conditions de portage. Ces travaux ont montré la structure de population clonale de cette espèce, sans établir de lien entre la phylogénie et la virulence. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'apport de la méthode *MultiLocus Variable number tandem repeat Analysis* (MLVA), basée sur la variabilité du nombre de répétitions en tandem (VNTR) de plusieurs *loci*, pour identifier des lignées hypervirulentes ou des liens entre *MLVA Type* (MT) et contexte clinique, voire discriminer les souches pathogènes de *S. lugdunensis* des souches de portage.

## Matériels & Méthodes

### ➤ Sélection des VNTRs *in silico* :

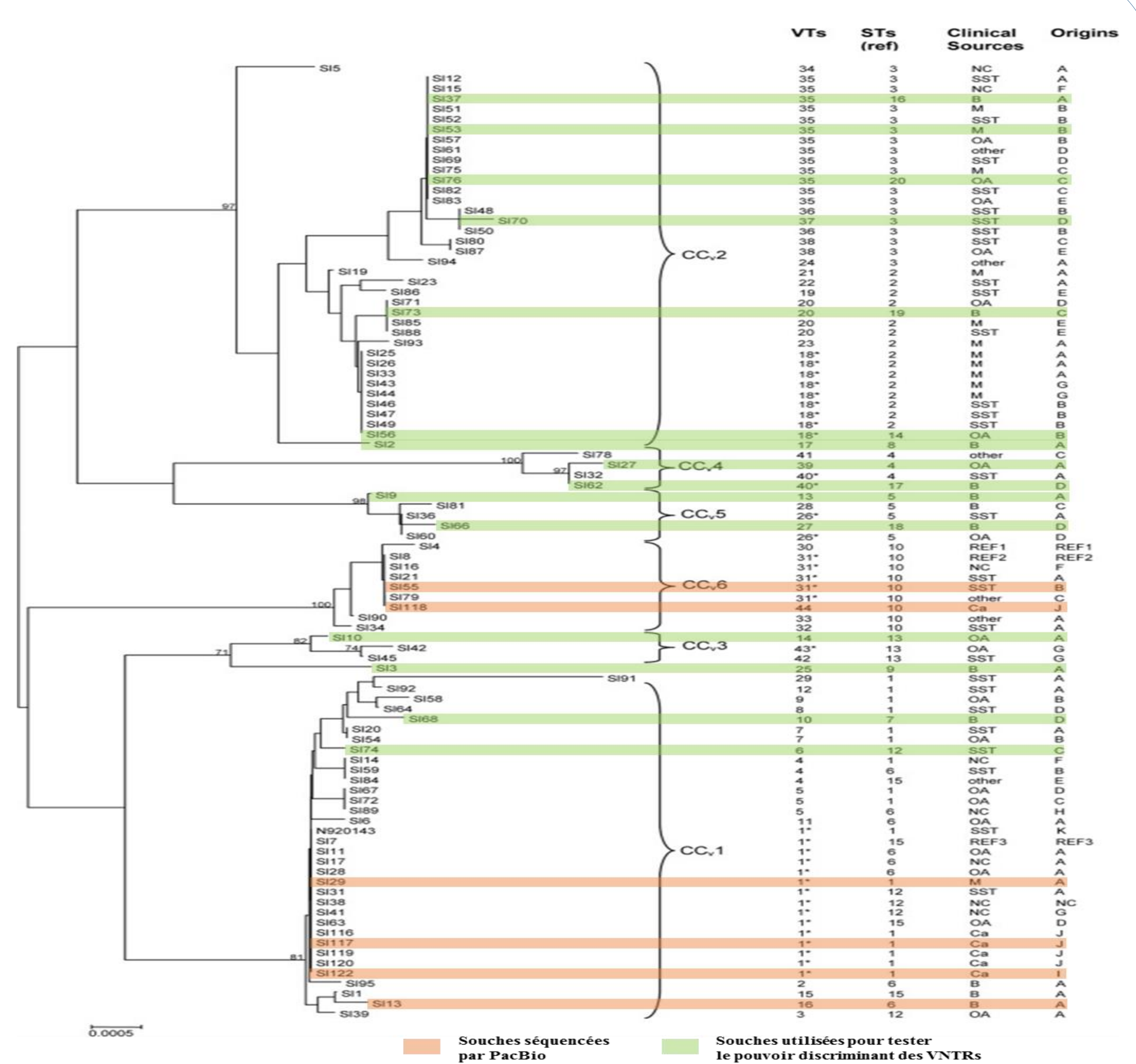
- Utilisation du logiciel *Tandem Repeat Finder* (TRF)
- Analyse à partir de :
  - 6 génomes complets (séquencés par *Pacific Biosciences* SMRT (PacBio))
  - 2 génomes de référence (N920143<sup>3</sup> et HKU09-01<sup>4</sup>).
- Sélection des VNTRs en fonction de leur position sur le génome, de la taille du motif répété ( $\geq 18$  pb) et du nombre de répétition ( $\geq 2$ )

- Confirmation des données *in silico* par séquençage Sanger

### ➤ Evaluation du pouvoir discriminant des VNTRs :

- A partir de 15 souches de différents *Sequence Type* (MLST), *Virulent Type* (MVLST) et contextes cliniques (Figure 1)
- Par électrophorèse sur gel d'agarose puis par séquençage Sanger
- Analyse des séquences des VNTRs et détermination des MT à l'aide du logiciel BioNumerics

### ➤ Analyse par MLVA d'une collection de 101 souches, dont 83 pathogènes et 18 de portage



**Figure 1:** Dendrogramme issu des travaux de MLST et MVLST représentant les souches séquencées par PacBio et les souches analysées pour évaluer le pouvoir discriminant des VNTRs

## Résultats

### ➤ Sélection des VNTRs *in silico* :

- 28 identifiés à partir de TRF → 12 VNTRs sélectionnés (taille variant de 36 à 761 pb) (Tableau I).
- Localisation des VNTRs sur le génome :
  - 8 dans des régions non codantes
  - 4 dans des gènes codant respectivement une *fibrinogen binding protein* (*fbl*), une *membran protein anchored* (*map*), une *hypothetical protein* (*hp*) et un *transcriptional regulator of biofilm formation* (*trbf*).

### ➤ Analyse des données :

- Analyse des données obtenues à partir des 6 génomes séquencés → obtention de 5 MT différents.
- Analyse des MT des autres souches de la collection actuellement en cours.

Nombre de répétition du motif par souche

VNTR	Région	Taille motif (pb)	SL13	SL29	SL55	SL117	SL118	SL122	N920143	HKU09-01
VNTR1	Non codant	58	3	4	2	3	2	4	4	4
VNTR2	Non codant	58	2,3	4,3	1,3	2,3	1,3	4,3	3,3	2,3
VNTR3	Non codant	57	3	1,6	2,6	2,6	1,6	2,6	2,6	2,9
VNTR4	Non codant	58	2	2	4	3	4	2	2	2
VNTR5	Non codant	57	2,8	2,8	2,8	2,8	0,8	2,8	2,8	2,8
VNTR6	Non codant	57	1,2	2,2	1,2	1,2	1,2	2,2	2,2	1,2
VNTR7	Non codant	58	3	3	1	1	3	5	3	3
VNTR8	Non codant	57	2,9	0,9	1,9	1,9	0,9	1,9	1,9	2,9
VNTR9	<i>fbl</i>	18	42,3	40,3	37,9	42,3	36,9	40,3	42,3	11,3
VNTR10	<i>map</i>	48	10,5	7,5	9,5	7,5	9,5	7,5	7,5	4,5
VNTR11	<i>hp</i>	57	2	2	4	3	4	2	2	2
VNTR12	<i>trbf</i>	24	1,5	3,5	1,5	2,5	1,5	3,5	2,5	1,5

**Tableau I:** Caractéristiques des VNTRs sélectionnés à partir des génomes séquencés par PacBio et des génomes de référence

## Conclusion

La méthode de typage MLVA, jamais développée chez *S. lugdunensis*, pourrait permettre la caractérisation de nouvelles lignées phylogénétiques chez cette espèce de structure clonale d'après les données de MLST.

<sup>1</sup>Chassain, B., Lemee, L., Didi, J., Thiberge, J.-M., Brisse, S., Pons, J.-L., and Pestel-Caron, M. (2012). Multilocus Sequence Typing Analysis of *Staphylococcus lugdunensis* Implies a Clonal Population Structure. *Journal of Clinical Microbiology*

<sup>2</sup>Didi, J., Lemee, L., Gibert, L., Pons, J.-L., and Pestel-Caron, M. (2014). Multi-Virulence-Locus Sequence Typing of *Staphylococcus lugdunensis* Generates Results Consistent with a Clonal Population Structure and Is Reliable for Epidemiological Typing. *Journal of Clinical Microbiology*

<sup>3</sup>Heilbronner, S., Holden, M.T.G., van Tonder, A., Geoghegan, J.A., Foster, T.J., Parkhill, J., and Bentley, S.D. (2011). Genome sequence of *Staphylococcus lugdunensis* N920143 allows identification of putative colonization and virulence factors: *Staphylococcus lugdunensis* genome sequence. *FEMS Microbiology Letters*

<sup>4</sup>Tse, H., Tsoi, H.W., Leung, S.P., Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., and Yuen, K.Y. (2010). Complete Genome Sequence of *Staphylococcus lugdunensis* Strain HKU09-01. *Journal of Bacteriology*