



Gilbert Greub¹, Claire Bertelli²

Génomique bactérienne

L'analyse des génomes bactériens a été une révolution pour le typage des souches et s'avère prometteuse pour l'analyse du virulome de certaines espèces telles que le *S. aureus*, ainsi que l'analyse du résistome de bacilles Gram négatifs multirésistants et de l'agent de la tuberculose.

Le laboratoire de génomique et de métagénomique bactérienne de l'Institut de microbiologie de l'Université de Lausanne au CHUV a récemment été accrédité et fournit des prestations diagnostiques. Parmi la multitude d'applications possibles de la génomique microbienne (Bertelli et Greub, 2013; Diene et al., 2014; Loman et al., 2012), plusieurs indications se dessinent comme des analyses courantes.

Indications principales

Les indications actuelles de la génomique bactérienne en médecine incluent principalement:

- le typage des bactéries, visant à définir la relation entre plusieurs isolats, permet d'exclure ou de confirmer des transmissions d'un microbe donné entre patients ou d'identifier la source d'une contamination parmi d'autres sources possibles si celle-ci a pu être échantillonnée (Bertelli et al., 2014; Tagini et al., 2017).
- l'analyse du virulome, c'est-à-dire l'identification de différents facteurs de virulence connus pour contribuer au caractère pathogène d'une bactérie, par exemple en facilitant la colonisation de l'hôte grâce aux adhésines, ou en attaquant l'hôte par le biais de toxines (Jaton et al., 2016; Tagini et al., 2018).
- l'analyse du résistome, c'est-à-dire la détermination de la présence de différents gènes codant pour des enzymes ou des transporteurs impliqués dans la résistance à certains antibiotiques (dérivés de la pénicilline, macrolides...), ou la détection de mutations associées à une résistance à certains antibiotiques (quinolones, rifampicine...) [Jeukens et al., 2017; Pillonel et al., 2018].

Quelle que soit la situation et l'indication, grâce à l'implémentation de pipelines informatiques structurés et validés en termes de fiabilité et de repro-

ductibilité, il est possible de rendre un résultat dans les 48 à 72 heures après réception d'une souche bactérienne (pendant les jours ouvrables).

Taxogénomique

En dehors de ces applications relativement fréquentes de la génomique, il est également possible d'utiliser ces séquences, partielles ou complètes, d'un génome pour préciser l'affiliation taxonomique des bactéries. Cette approche nommée «taxogénomique» permet de préciser la relation de parenté avec d'autres bactéries déjà séquencées, et de raffiner l'appartenance à un rang taxonomique donné, du plus large au plus précis comme l'espèce et la sous-espèce. Cette approche permet également d'identifier des relations entre un microbe donné et une pathologie jusqu'alors non suspectées. Ainsi, par exemple, à Lausanne, nous avons pu démontrer que des souches de *Mycobacterium kansasii* sous-type I étaient globalement plus pathogènes que celles liées aux sous-types II et III (Taillard et al., 2003). L'analyse taxogénomique nous a permis aujourd'hui de préciser l'affiliation taxonomique et de déterminer que ces sous-types correspondaient en réalité à des espèces différentes. De nouveaux noms ont été donnés à ces espèces (Tagini et al., en préparation), permettant aux cliniciens d'interpréter de manière adéquate le nom des microbes identifiés et facilitant la distinction entre ces organismes au pouvoir pathogène différent. De même, une analyse taxogénomique nous a permis de proposer les sous-espèces *lausannense* et *diphtheriae* au sein de l'espèce *Corynebacterium diphtheriae*, la sous-espèce *lausannense* possédant des caractéristiques génomiques distinctes avec de nombreux facteurs de virulence (Tagini et al., 2018).

Coûts et prix de ces analyses

Si l'utilité de la génomique ne fait progressivement plus de doute et que sa fiabilité et sa reproductibilité sont

aujourd'hui clairement établies, il reste encore à obtenir une position tarifaire OFAS pour ses prestations utiles en clinique dans certaines situations particulières. De notre point de vue et basé sur une analyse des coûts, le génome bactérien classique avec analyse du virulome, du résistome, et typage s'il y a lieu, devrait être facturé plusieurs centaines de francs. Toutefois, un tarif dégressif devrait être appliqué en fonction du nombre de génomes à séquencer pour répondre à une question clinique, puisqu'il est possible de séquencer et d'analyser plusieurs souches à la fois. La génomique reste une analyse plus coûteuse que d'autres approches moléculaires telles que la PCR, mais elle permet d'évaluer les nombreux éléments cités ci-dessus dans chaque génome. Ainsi ce coût, certes significatif, serait économique par rapport au nombre de PCR spécifiques nécessaires pour déterminer par exemple la présence ou absence des facteurs de virulence principaux de *S. aureus* (exfoliatine A et B, toxine du syndrome du choc toxique, leucocidine de Pantone-Valentine). De plus, dans le futur, le développement d'un système de surveillance de routine (Gardy and Loman, 2017) garantira la disponibilité quasi systématique des génomes de tout *S. aureus* isolé dans des échantillons cliniques, ce qui permettrait également d'identifier de possibles transmissions insoupçonnées par les approches épidémiologiques classiques.

Conclusion

Après des années de recherche et de nombreuses preuves de concept pour des applications très variées, la génomique bactérienne devient un outil des laboratoires diagnostiques universitaires, avec un potentiel évident de bénéfice futur pour nos patients.

Correspondance
Gilbert.Greub@chuv.ch

¹ Institut de microbiologie, Université de Lausanne, Centre Hospitalier Vaudois (CHUV), Bugnon 48, Lausanne

Literature

- Bertelli, C., and Greub, G. (2013). Rapid bacterial genome sequencing: Methods and applications in clinical microbiology. *Clin. Microbiol. Infect.* 19. doi:10.1111/1469-0691.12217.
- Bertelli, C., Pillonel, T., Torregrossa, A., Prod'hom, G., Fischer, C. J., Greub, G., et al. (2014). Bifidobacterium longum Bacteremia in Preterm Infants Receiving Probiotics. *Clin. Infect. Dis.* doi:10.1093/cid/ciu946.
- Diene, S. M., Bertelli, C., Pillonel, T., Schrenzel, J., and Greub, G. (2014). Bacterial genomics and metagenomics: clinical applications and medical relevance. *Rev. Med. Suisse* 10.
- Gardy, J. L., and Loman, N. J. (2017). Towards a genomics-informed, real-time, global pathogen surveillance system. *Nat. Rev. Genet.*, nrg.2017.88. doi:10.1038/nrg.2017.88.
- Jaton, L., Pillonel, T., Jaton, K., Dory, E., Prod'hom, G., Blanc, D. S., et al. (2016). Common skin infection due to Panton-Valentine leucocidin-producing Staphylococcus aureus strains in asylum seekers from Eritrea: a genome-based investigation of a suspected outbreak. *Clin. Microbiol. Infect.* 22, 739.e5-739.e8. doi:10.1016/j.cmi.2016.05.026.
- Jeukens, J., Freschi, L., Kukavica-Ibrulj, I., Emond-Rheault, J.-G., Tucker, N. P., and Levesque, R. C. (2017). Genomics of antibiotic-resistance prediction in Pseudomonas aeruginosa. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* doi:10.1111/nyas.13358.
- Loman, N. J., Constantinidou, C., Chan, J. Z. M., Halachev, M., Sergeant, M., Penn, C. W., et al. (2012). High-throughput bacterial genome sequencing: an embarrassment of choice, a world of opportunity. *Nat. Rev. Microbiol.* 10, 599–606. doi:10.1038/nrmicro2850.
- Pillonel, T., Nordmann, P., Bertelli, C., Prod'hom, G., Poirel, L., and Greub, G. (2018). Resistome analysis of a carbapenemase (OXA-48)-producing and colistin-resistant Klebsiella pneumoniae strain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, AAC.00076-18. doi:10.1128/AAC.00076-18.
- Tagini, F., Aubert, B., Troillet, N., Pillonel, T., Praz, G., Crisinel, P. A., et al. (2017). Importance of whole genome sequencing for the assessment of outbreaks in diagnostic laboratories: analysis of a case series of invasive Streptococcus pyogenes infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 36, 1173–1180. doi:10.1007/s10096-017-2905-z.
- Tagini, F., Pillonel, T., Croxatto, A., Bertelli, C., Koutsokera, A., Lovis, A., et al. (2018). Distinct Genomic Features Characterize Two Clades of Corynebacterium diphtheriae: Proposal of Corynebacterium diphtheriae Subsp. diphtheriae Subsp. nov. and Corynebacterium diphtheriae Subsp. lausannense Subsp. nov. *Front. Microbiol.* 9, 1743. doi:10.3389/fmicb.2018.01743.
- Taillard, C., Greub, G., Weber, R., Pfyffer, G. E., Bodmer, T., Zimmerli, S., et al. (2003). Clinical implications of Mycobacterium kansasii species heterogeneity: Swiss National Survey. *J. Clin. Microbiol.* 41, 1240–4. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12624057>.

Bakterielle Genomik

Die Analyse bakterieller Genome stellte eine Revolution bei der Stammtypisierung dar und zeigt sich vielversprechend bei der Analyse des Viruloms gewisser Bakterienspezies, wie beispielsweise *S. aureus*, sowie bei der Analyse des Resistoms gram-negativer, multiresistenter Bazillen und des Tuberkuloseerregers. Die aktuellen Indikationen der bakteriellen Genomik in der Medizin umfassen im Wesentlichen: die Bakterientypisierung, die Virulomanalyse und die Resistomanalyse. Unabhängig von der Situation und der Indikation kann dank der Implementierung strukturierter und hinsichtlich Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit validierter IT-Pipelines innerhalb von 48 bis 72 Stunden nach Erhalt eines Bakterienstamms (an Wochentagen) ein Ergebnis vorgelegt werden. Nach jahrelangen Forschungen und zahlreichen Machbarkeitsbeweisen für sehr vielfältige Anwendungen wird die bakterielle Genomik mit einem eindeutigen, künftigen Nutzenpotenzial für unsere Patienten zu einem Instrument in den diagnostischen universitären Labors.

**IFAS 2018 - Sysmex feiert 50-jähriges Jubiläum**

Jede Vision beginnt mit einer gedanklichen Reise. Jeder Erfolg mit der praktischen Umsetzung. Vor 50 Jahren hat Sysmex diese Reise begonnen - nun feiern wir nicht nur Jubiläum, sondern auch 50 Jahre Fortschritt, Wachstum und zufriedene Kunden.

Herzlich laden wir Sie vom 23. bis 26. Oktober 2018 an die IFAS ein. Besuchen Sie uns auf unserem Messestand und feiern Sie mit uns!



Halle 2, Stand 111

Gratis Tickets sichern unter: www.sysmex.ch/ifas