

Identification de gènes de virulence chez *Staphylococcus hyicus* via une approche d'édition génomique



Mathis Laganière, Sylvain Moineau, Steve J. Charette

Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS), Université Laval, Québec, Canada



Contexte

UNE BACTÉRIE QUI S'ATTAQUE À LA PEAU DES PORCELETS

- *Staphylococcus hyicus*, un agent pathogène opportuniste causant l'épidermite exsudative [1]

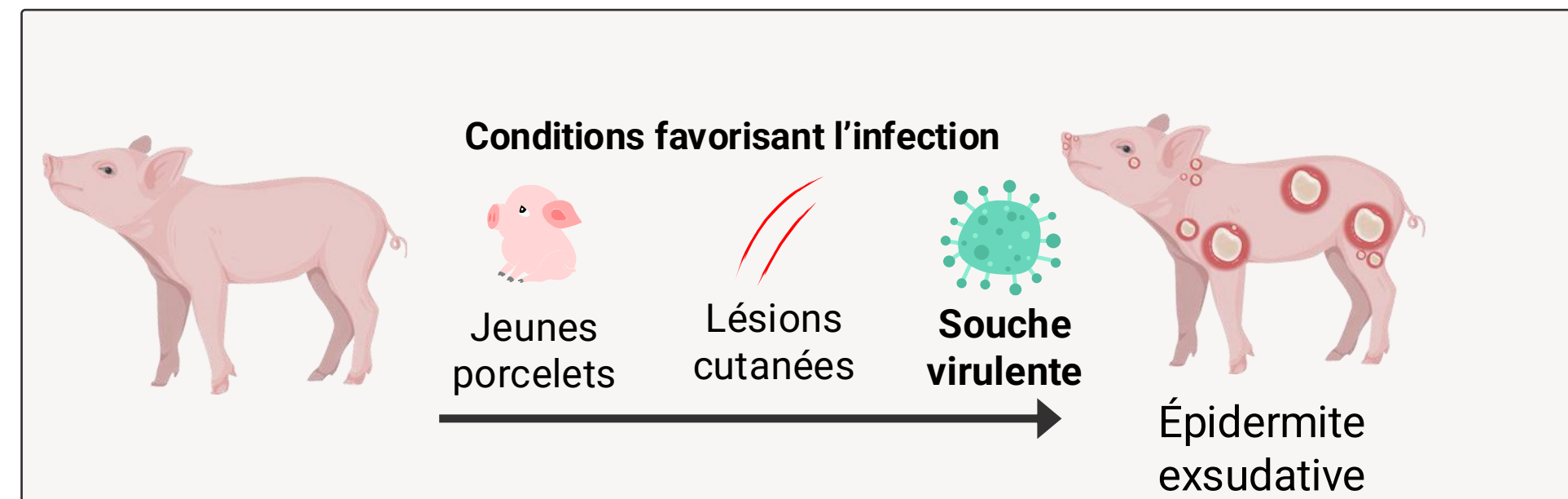


Figure 1. Conditions favorisant le développement de l'épidermite exsudative. Un élément clé est l'infection par une souche virulente de *S. hyicus*, un critère complexe à établir en raison du manque de données sur cette bactérie.

UNE VIRULENCE MAL COMPRISE

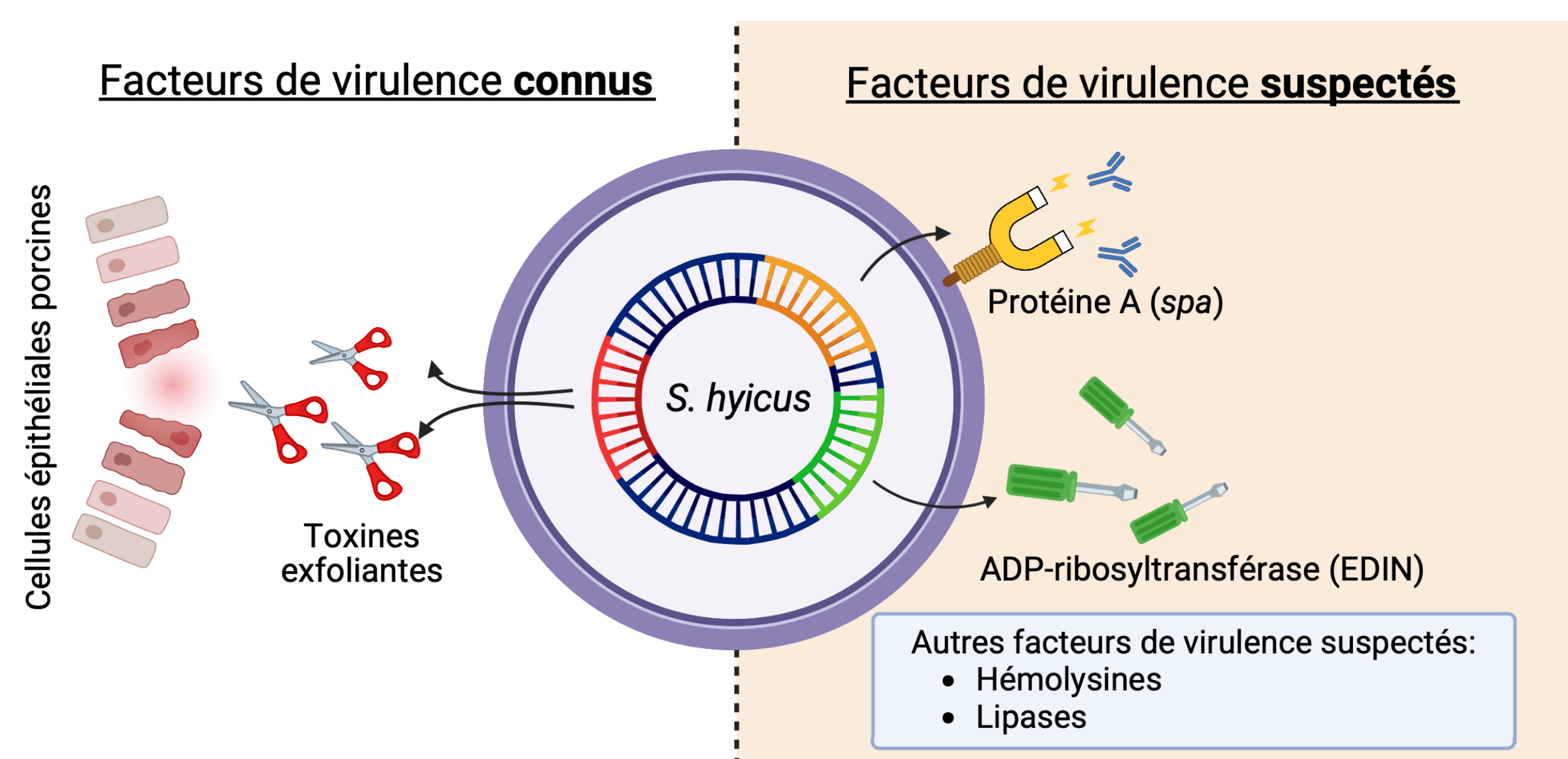


Figure 2. Facteurs de virulence connus et suspectés de *S. hyicus*. Les seuls facteurs de virulence confirmés sont les toxines exfoliantes (ExhA-D) qui clivent la desmoglérine-1. D'autres potentiels facteurs de virulence ont été identifiés par l'analyse comparative des génomes et par l'identification d'homologues de gènes connus [2, 3]. Aucune étude fonctionnelle n'a encore confirmé le rôle de ces gènes candidats dans la virulence de *S. hyicus*.

ÉTUDE FONCTIONNELLE

- Pour confirmer le rôle d'un gène dans la virulence, on réalise une étude fonctionnelle:

- 1 **Délétion du gène candidat:** On enlève un gène suspect (une partie de l'ADN de la bactérie suspectée de produire un facteur de virulence)
- 2 **Test de virulence:** On observe l'effet sur la virulence de la bactérie*

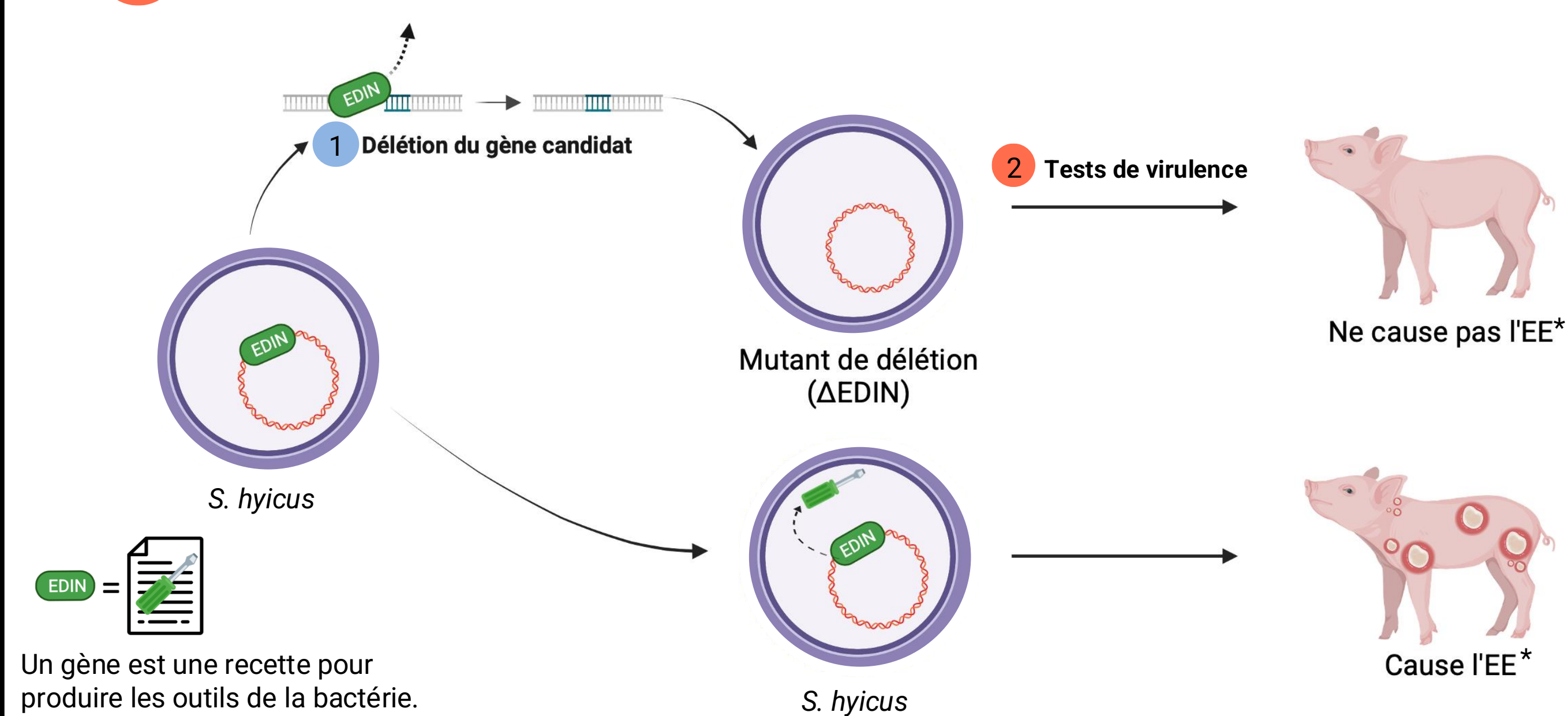


Figure 3. Étude fonctionnelle d'un gène candidat de virulence chez *S. hyicus*. Exemple hypothétique de la délétion ciblée du gène **EDIN** : la bactérie ayant perdu le gène (Δ EDIN) perd sa capacité à provoquer l'épidermite exsudative (EE). Cela indique que **EDIN** joue un rôle clé dans la virulence. * Initialement, les tests de virulence seront réalisés sur des cellules en laboratoire (amibes *Dictyostelium discodenum*) et non sur des porcelets dans l'esprit des 3R.



Limite importante: L'édition génomique n'a jamais été rapportée chez *S. hyicus*. Cette étude établit dans un premier temps un protocole de délétion génique, rendant possibles les études fonctionnelles des gènes chez cette bactérie.

Objectif du projet

Identifier des facteurs de virulence chez *S. hyicus*

Les facteurs de virulence sont des éléments qui aident la bactérie à provoquer l'infection chez les porcelets.

Résultats

1 Développement d'un protocole d'édition génomique pour *S. hyicus*, une première!

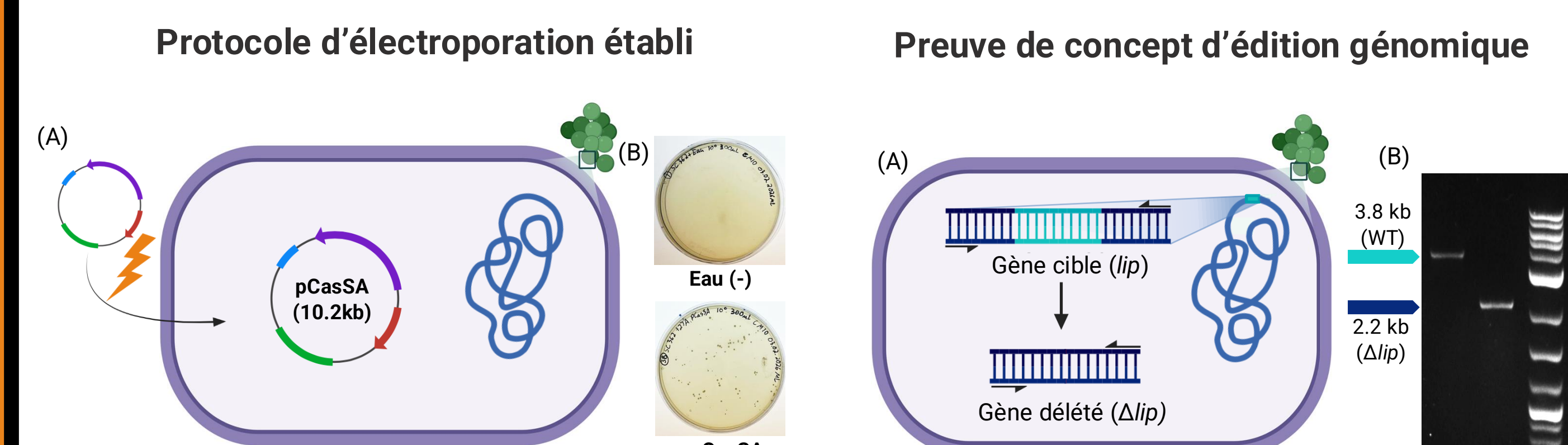
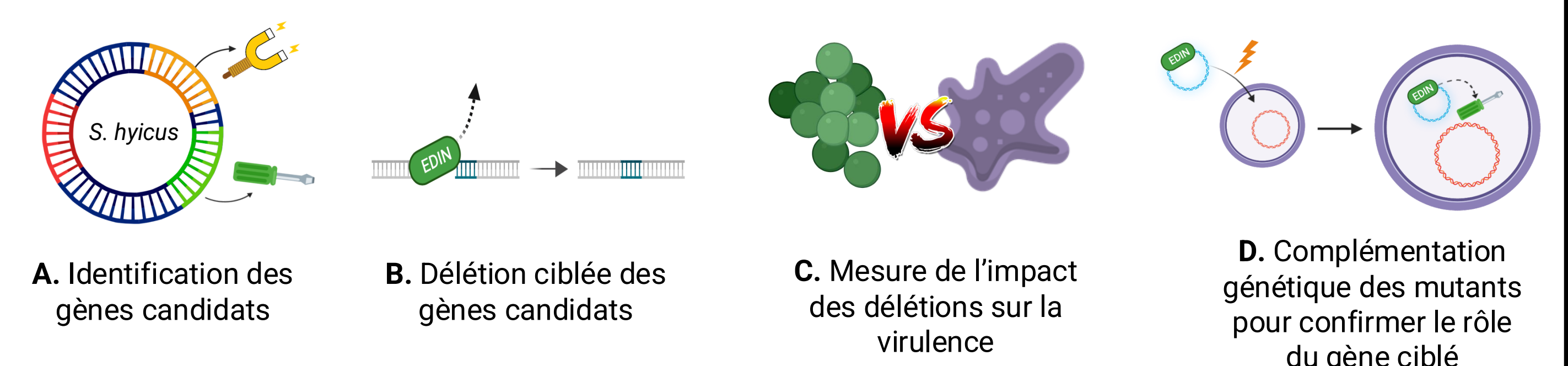


Figure 4. Introduction d'un plasmide d'édition génomique chez *S. hyicus* par électroporation. Représentation schématique (A) et obtention de transformants (B). Le contrôle négatif (eau) confirme l'absence de transformation en l'absence d'ADN. Des colonies résistantes au chloramphénicol (10 µg/mL) sont obtenues après introduction du plasmide pCasSA (10,2 kb) [4]. Les transformants ont été confirmés par PCR.

Figure 5. Preuve de concept d'édition génomique chez *S. hyicus* : délétion du gène *lip*. Représentation schématique (A) ; les flèches noires indiquent les amorces utilisées pour la validation par PCR. La délétion du gène *lip* génère un amplicon de 2,2 kb, comparativement à 3,8 kb pour le type sauvage (WT) (B).

2 Suite: Identifier et valider de nouveaux gènes de virulence



Perspectives et applications

A) Comprendre la virulence de *S. hyicus*

- Développement d'outils génétiques**
Les protocoles développés permettent d'étudier la fonction d'autres gènes de *S. hyicus*
- Identification des déterminants de virulence**
Permet de mieux distinguer les souches virulentes des souches non virulentes
- Amélioration des outils diagnostiques**
 - Détection rapide des souches virulentes
 - Meilleure capacité de diagnostic
 - Aide à la prise de décision en élevage lors d'éclousions d'épidermite exsudative

B) Aide au développement de nouvelles approches thérapeutiques

- Vaccins vivants atténués**
- Phagothérapie**
- Agents anti-virulence**
- Autres stratégies innovantes**

REMERCIEMENTS



SOURCES

- [1] Devriese et al., 1978 – *Staphylococcus hyicus* and *S. hyicus* subsp. *chromogenes*.
- [2] Rosander et al., 2011 – An IgG-binding protein A homolog in *Staphylococcus hyicus*.
- [3] Leekitcharoenphon et al., 2016 – Comparative genomics of toxigenic and non-toxigenic *Staphylococcus hyicus*.
- [4] Chen et al., 2017 – Rapid and efficient genome editing in *Staphylococcus aureus* using an engineered CRISPR/Cas9 system.