

P-001

# Caractérisation génomique des souches d'*Enterobacter* par analyse du gène *gyrB*

F.Allard<sup>1</sup>, C.Meunier<sup>1</sup>, J.De Gouveia<sup>1</sup>, M.Rumigny Pierrot<sup>1</sup>, S.Polsinelli<sup>1</sup>, V.Monnin<sup>1</sup>, F.Javerliat<sup>1</sup>

<sup>1</sup> R&D Microbiologie, bioMérieux, La Balme les Grottes,  
francoise.allard@biomerieux.com

## Introduction

Le genre *Enterobacter* décrit en 1960 par Hormaeche and Edwards, contient maintenant 20 espèces. Les souches d'*Enterobacter* sont des bacilles Gram négatif, qui font partie de la flore intestinale et considérées comme pathogènes opportunistes pouvant provoquer des infections variées en milieu hospitalier. L'évolution de la taxonomie de ce genre avec l'analyse du complexe *Enterobacter cloacae* et la description de nouvelles espèces rend l'identification difficile par les méthodes phénotypiques. Le séquençage du gène 16S ne montre pas une bonne discrimination, ce qui nécessite l'analyse d'autres gènes.

## Objectif

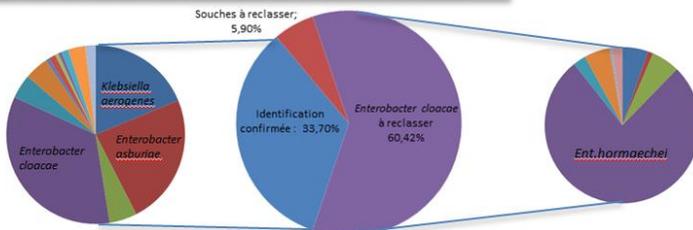
L'objectif de cette étude est de mettre en place le séquençage du gène *gyrB* pour une analyse en phylogénie. Cette classification permettra de confirmer les souches de notre souchothèque interne, ou de les reclasser en de nouvelles espèces d'*Enterobacter* ou en genres apparentés (*Klebsiella*, *Lelliottia*). La caractérisation de ces souches est nécessaire car elles sont utilisées en souches de référence pour de nouvelles méthodes d'identification, et en particulier pour VITEK® MS.

## Méthode

Les 475 souches, issues de la collection bioMérieux de La Balme les Grottes, de 17 espèces d'*Enterobacter* ont été séquencées sur une région polymorphique de 520 pb du gène *gyrB* (Delmas J., 2006)\*. Ces souches avaient été initialement identifiées par des méthodes phénotypiques et/ou ARNr 16S. Les séquences ont été analysées par BLAST contre la base publique NCBI/GenBank (nt/nr), puis par une analyse phylogénétique (Geneious V10.0.7, Biomatters). Les souches ont été affiliées à l'espèce ou sous-espèce si elles faisaient partie d'un groupe monophylétique incluant la souche type de l'espèce en question.

## Résultats

Répartition des résultats d'identification pour les 475 souches d'*Enterobacter*



33.70% des souches ont été confirmées dans l'espèce/sous-espèce attendue, permettant de confirmer en particulier les espèces *Ent.asburiae*, *Ent.cancerogenus*, *Ent.kobei*, *Ent.ludwigii*, *Klebsiella*(*Ent.jaerogenes*).

66,3% des souches analysées ont été reclassées : dont 5,90% dont l'identification de référence était erronée.....

et 60,42% de souches initialement identifiées en *Enterobacter cloacae* reclassées dans les 4 sous-espèces de *Enterobacter hormaechei* ou en d'autres espèces  
*Enterobacter asburiae*  
*Enterobacter kobei*  
*Enterobacter ludwigii*  
*Enterobacter bugandensis*  
*Enterobacter roggkampii*

L'évolution de la taxonomie des *Enterobacter hormaechei* décrite dans la publication de Granger G.Sutton and co (2018)\*\* est bien observée dans la classification par le gène *gyrB*. Les souches initialement identifiées en *Ent.hormaechei* se répartissent dans les 5 sous-espèces : *Ent.hormaechei ssp hormaechei*, *ssp oharae*, *ssp steigerwaltii*, *ssp xiangfangensis*, *ssp hoffmannii*. La sous-espèce *Ent.hormaechei ssp hoffmannii* (genomospecies III) est détachée des autres sous-espèces mais forme un cluster bien isolé.

L'espèce *Enterobacter kobei* est représentée par 2 biovars incluant chacun une des 2 souches types reconnues.

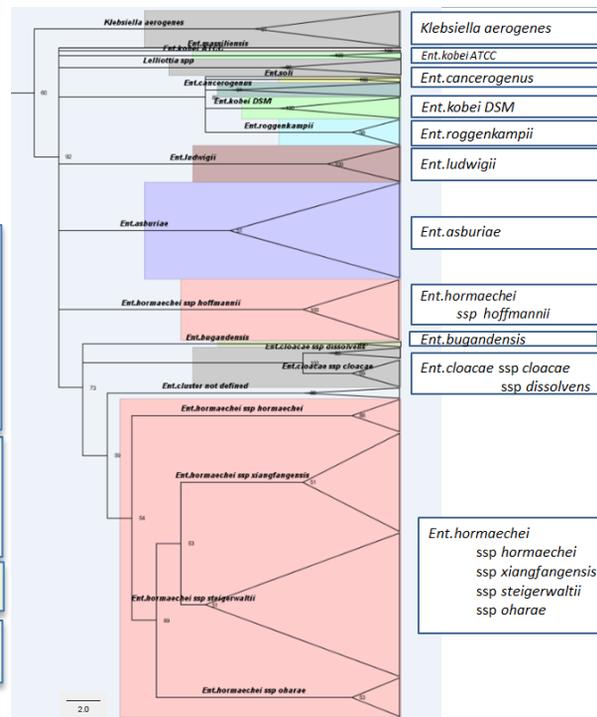
Les espèces *Ent.bugandensis*, *Ent.mori*, *Ent.massiliensis*, *Ent.siamensis* et *Ent.soli* sont bien classées mais leurs clusters sont à consolider par l'ajout de nouvelles séquences.

\* : Diagn Microbiol Infect Dis. 2006 Aug;55(4):263-8..

Rapid identification of Enterobacteriaceae by sequencing DNA gyrase subunit B encoding gene. Delmas J, Breysse F, Devulder G, Flandrois JP, Chomarar M.

\*\* : F1000Research 2018,7:521

*Enterobacter hormaechei* subsp. *hoffmannii* subsp. nov., *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* comb. nov., *Enterobacter roggkampii* sp. nov., and *Enterobacter muelleri* is a later heterotypic synonym of *Enterobacter asburiae* based on computational analysis of sequenced *Enterobacter* genomes. Granger G., Lauren M. Brinkac, Thomas H. Clarke, Derrick E. Fouts,



Arbre phylogénique du gène *gyrB* de 475 souches d'*Enterobacter* de 17 espèces

## Conclusions

- Le gène *gyrB* permet une bonne discrimination des espèces d'*Enterobacter* et des genres apparentés incluant les espèces qui n'étaient pas discriminées par les techniques phénotypiques.
- La reclassification d'une grande proportion de nos souches de *Enterobacter cloacae* en d'autres espèces nous montre que le suivi des souches de la collection est nécessaire pour rester dans l'état de l'art de la taxonomie, et assurer une bonne caractérisation des souches et le développement des bases de données.