

Diversité au sein du clone hypervirulent "normand" de *Neisseria meningitidis* B:14:P1.7,16/ST32: des souches plus virulentes que d'autres ?

Julien Sevestre, Martine Pestel-Caron, Ludovic Lemée, François Caron,
Muhammed-Kheir Taha

► **To cite this version:**

Julien Sevestre, Martine Pestel-Caron, Ludovic Lemée, François Caron, Muhammed-Kheir Taha. Diversité au sein du clone hypervirulent "normand" de *Neisseria meningitidis* B:14:P1.7,16/ST32: des souches plus virulentes que d'autres ?. IRIB, Jun 2015, Rouen, France. hal-02129809

HAL Id: hal-02129809

<https://hal-normandie-univ.archives-ouvertes.fr/hal-02129809>

Submitted on 15 May 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Diversité au sein du clone hypervirulent "normand" de *Neisseria meningitidis* B:14:P1.7,16/ST32 : des souches plus virulentes que d'autres ?

Julien Sevestre¹, Martine Pestel-Caron^{1,2}, Ludovic Lemée^{1,2}, François Caron^{1,2} and Muhamed-Kheir Taha³

¹ Gram EA 2656, IRIB, Université de Rouen, Rouen, France, ² Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Rouen, France,

³ Unité des infections bactériennes invasives et centre national de référence des méningocoques, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction

N. meningitidis (Nm) est un commensal obligatoire du nasopharynx humain retrouvé chez 10% de la population générale^{1,4}. Dans de rares cas le méningocoque peut traverser l'épithélium respiratoire, échapper au système immunitaire de l'hôte (notamment grâce à sa capsule) et provoquer une **infection invasive à méningocoque** (IIM) qui se manifeste sous deux formes cliniques principales, la méningite et la méningococcémie (infection disséminée pouvant aller jusqu'au purpura fulminans)^{2,4}. D'après la classification MLST (Multi Locus Sequence Typing) il a été montré que les souches responsables d'IIM différaient des souches de portage et se concentraient dans un nombre limité de complexes clonaux. De 2003 à 2010, la **Seine-Maritime** a connu une situation d'hyperendémie d'IIM de sérotype B, liée à une souche appartenant au **clone hypervirulent B:14:P1.7,16 ST32**^{1,3}. Mais paradoxalement, des souches capsulées appartenant à ce clone dit hypervirulent ont aussi été retrouvées en situation de portage sain et cela sans que la classification officielle par typage MLST ne puisse les discriminer des souches isolées d'infection invasives¹.

Objectifs

Etudier grâce au modèle animal le **pouvoir invasif et inflammatoire** de nos souches en situation d'infection et déterminer s'il existe des différences entre les souches de portage et les souches invasives.

Méthodes

Utilisation d'un modèle de **souris transgénique** exprimant le gène *hTF* codant pour la **transferrine humaine**, reconnue spécifiquement par les récepteurs du méningocoque et utilisée comme **source de fer** indispensable à la survie de la bactérie au cours de l'infection⁴. Grâce à ce modèle il est possible de reproduire, mimer et étudier les différentes étapes de l'infection pouvant être observées chez l'Homme⁴.

1. Préparation de l'inoculum et infection :

- Passage de 5 souches dans le modèle (tableau 1)

- **Six souris** par souche

- Infection **intra péritonéale**

- **Tableau 1** : Souches testées dans le modèle animal

- NG:14:P1.7,16 : souche de génotype B n'exprimant pas la capsule

- B:14:P1.7,16 : souche de génotype B exprimant la capsule

Souche	Identification phénotypique	Sequence Type	Origine géographique	Statut clinique
1	NG:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage
2	B:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage
3	B:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage
4	B:14:P1.7,16	ST 32	Forges les Eaux	Infection invasive
5	B:14:P1.7,16	ST 32	Seine-Maritime	Infection invasive

2. Dénombrement sanguin :

- Suivi des **signes cliniques** au cours de l'infection

- signes d'infection (prostration, poil hérissé, perte d'activité)

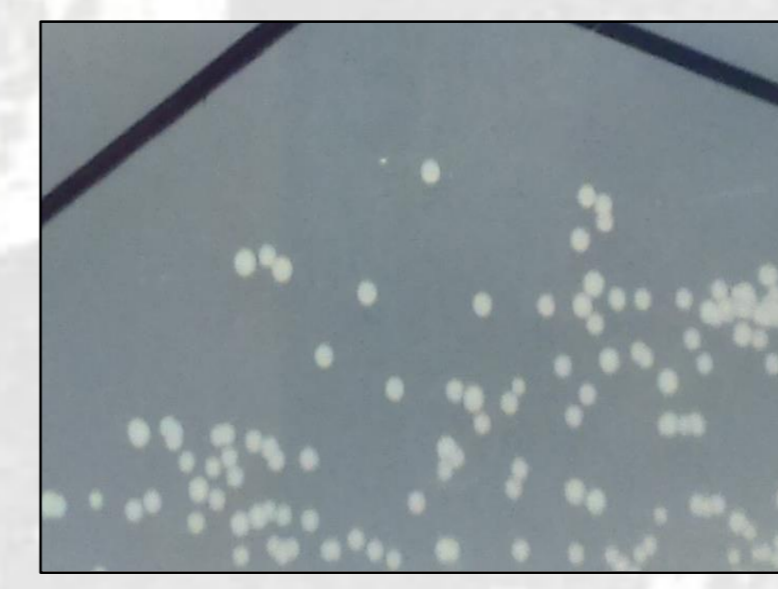
- évolution de la température

- Prélèvement **sanguin** retro orbitale à 2h, 6h et 24h (figure 1)

- Dilution et dénombrement des UFC/mL de sang (figure 2)



(Figure 1 : Prélèvement sanguin retro orbitale)



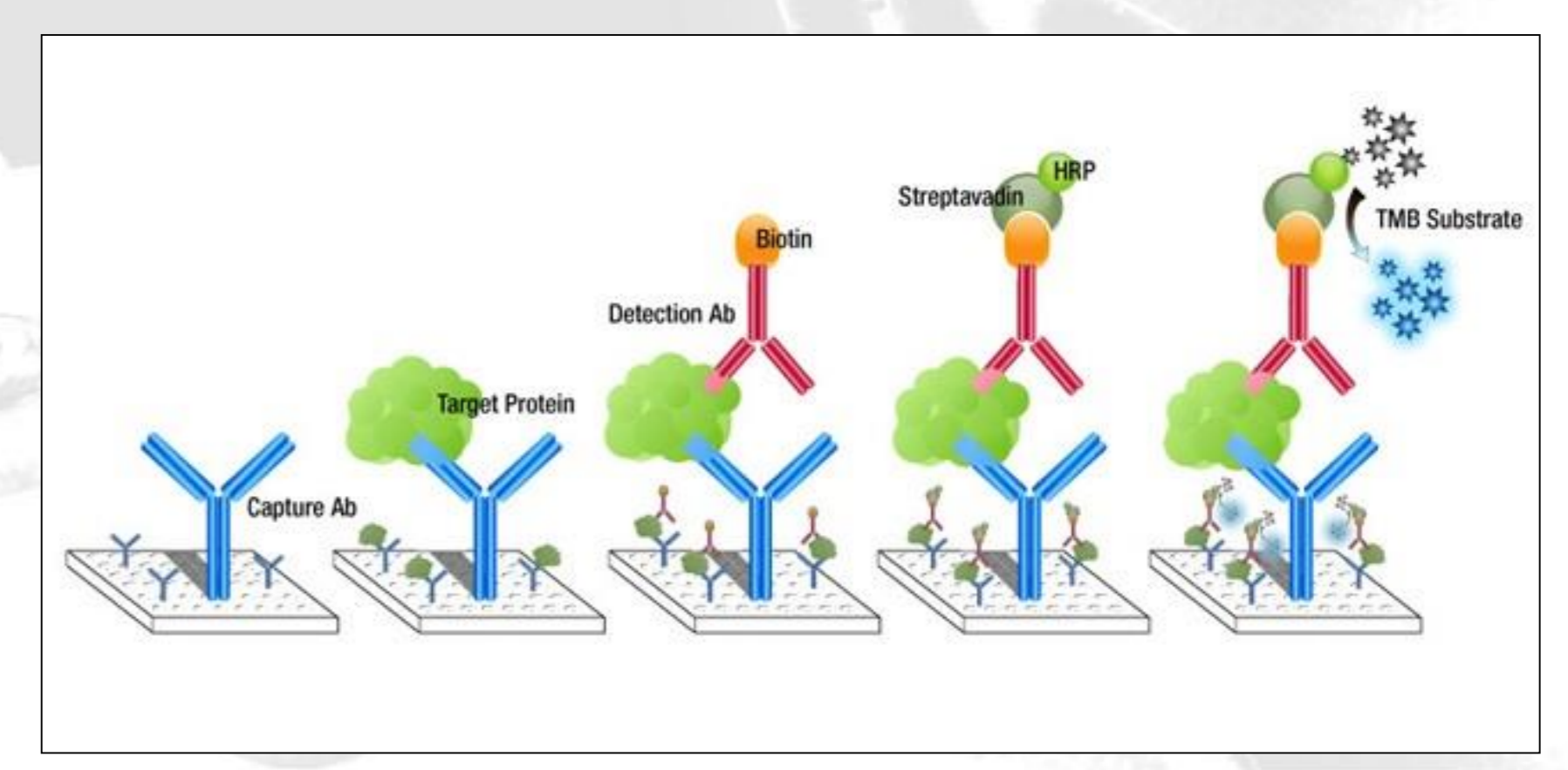
(Figure 2 : Dénombrement sur milieu solide)

3. Dosage des cytokine pro-inflammatoires :

- Sur **sérum** de 2h, 6h et 24h

- IL-6, IL-8, IL-10 et TNF- α

- **ELISA** sandwich (figure 3)

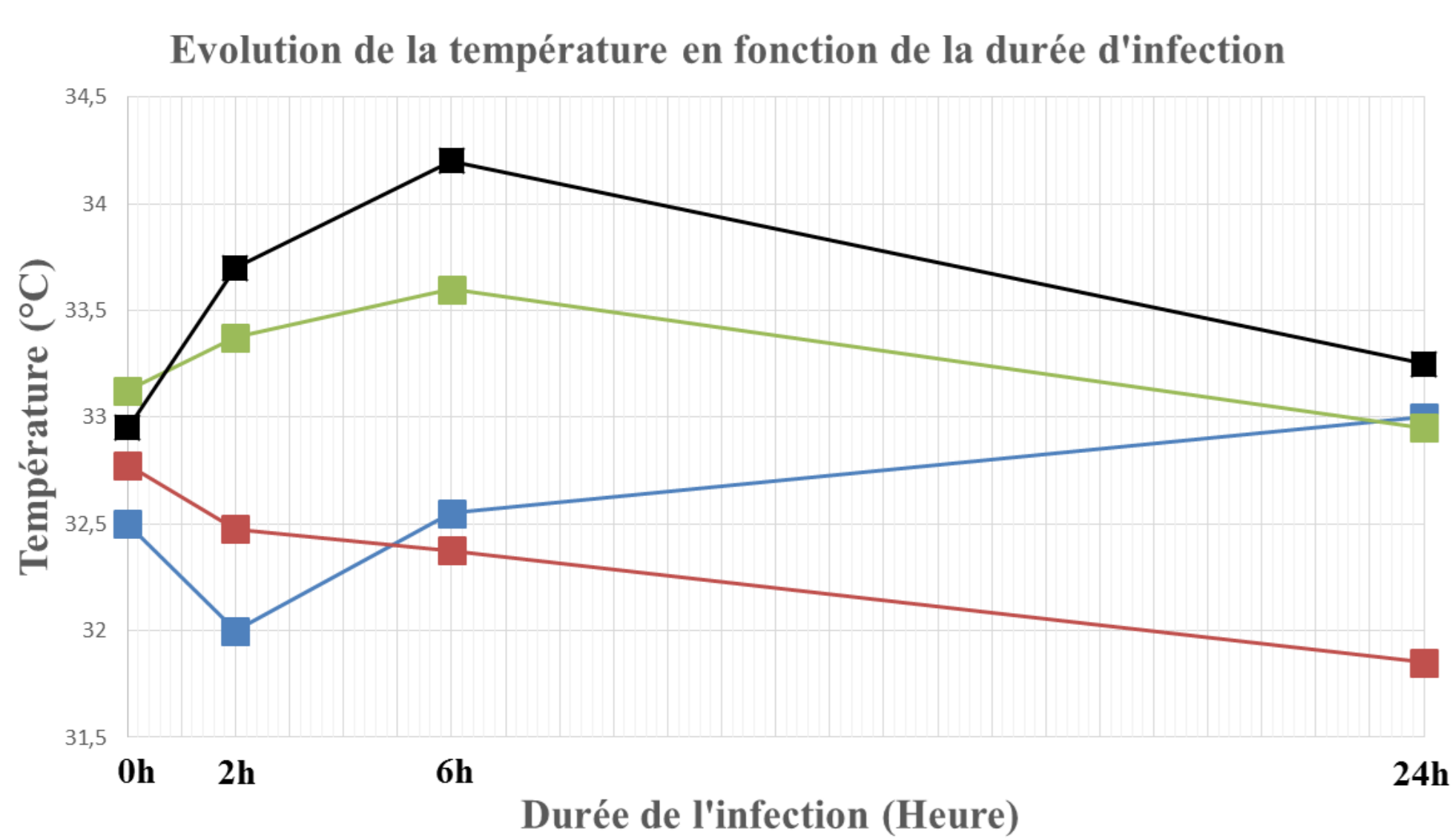


(Figure 3 : Principe du dosage ELISA en sandwich)

Résultats

Comme attendu la souche de portage non sérotypable (souche N°1), c'est-à-dire qui ne possède **pas de capsule polysaccharidique**, a totalement **échoué à infecter les souris** inoculées. Par contre, nous avons aussi observé que les souches isolées dans un contexte d'infection invasive exprimaient un **pouvoir invasif et inflammatoire bien supérieur** aux souches retrouvées en situation de portage sain.

Signes cliniques : (figure 4)



(Figure 4)

Souches non capsulées :

- aucun signe apparent d'infection

- évolution **normale** de la température au cours de la journée

- (liée au cycle d'activité de l'animal)

Souches de portage :

- quelques signes d'infection (2h et 6h)

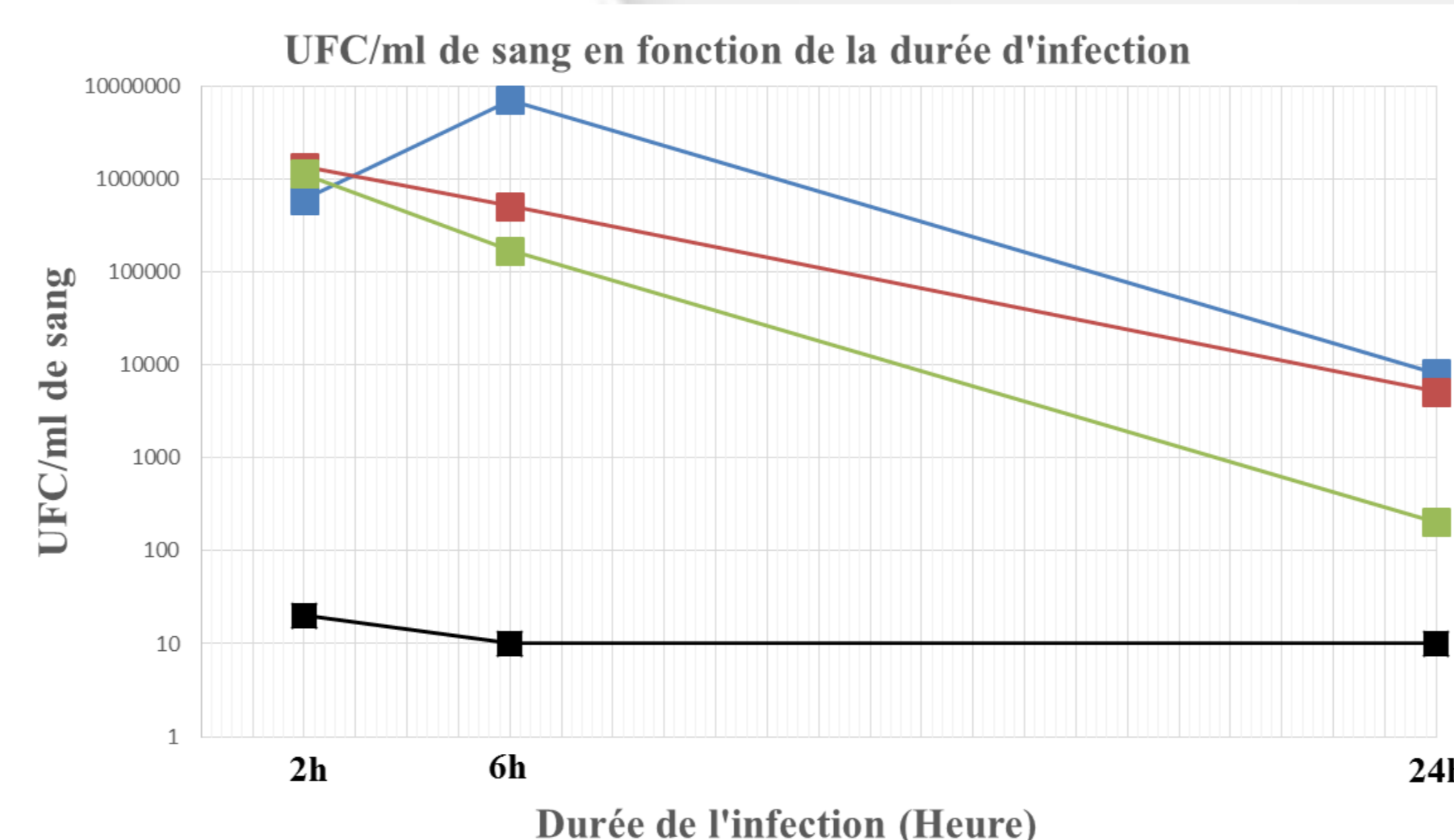
- **légère diminution** de la température ($\approx 0,5$ °C)

Souches invasives :

- **signes d'infections marqués** jusqu'à 24h (prostration, poil hérissé)

- puis **hypothermie importante** induite par l'infection ($\approx 1-2$ °C)

Dissémination et persistance : (figure 5)



(Figure 5)

Souches non capsulées :

- **absence d'infection** à 2h (détection <1 UFC/mL)

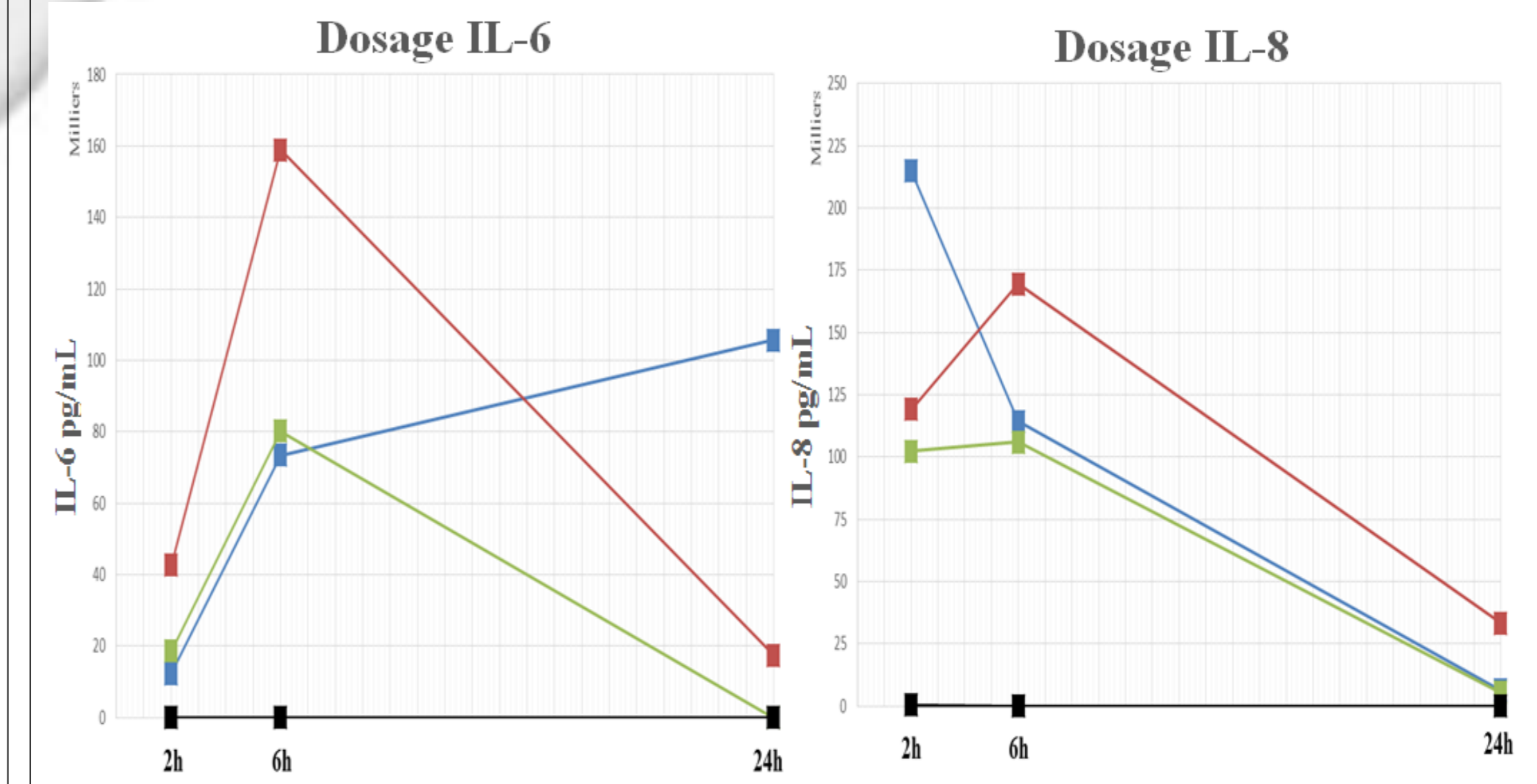
Souches de portage :

- **dissémination mais faible maintient à 24h**

Souches invasives :

- **dissémination et persistance** dans l'animal (≈ 2 log de différence à 24h)

Réponse Inflammatoire : (figure 6)



(Figure 6)

Souches non capsulées :

- **absence de détection** de cytokine pro-inflammatoire

Souches de portage :

- induction d'un léger **pic de cytokines** pro-inflammatoires à 6h

Souches invasives :

- induction d'un **pic important de cytokines** pro-inflammatoires à 6h et détectable **jusqu'à 24h**

Conclusions

Ces résultats obtenus *in vivo* nous permettent de conforter les 1^{er} résultats obtenus de la comparaison génomique et phylogénétique entre ces souches et de confirmer notre hypothèse de départ. En effet, nous avons ici démontré que les souches isolées en situation de portage sain avaient chez l'animal un pouvoir invasif et une capacité à induire une réponse inflammatoire bien inférieure aux souches isolées d'infection invasive. L'étude se poursuit par des tests physiologiques *in vitro* afin d'étudier le comportement des souches en fonction de différents types de stress (carence métabolique, stress oxydatif...), les 1^{er} résultats laissant apparaître des physiologies différentes. Grâce à l'ensemble de ces résultats nous espérons mieux comprendre et expliquer ce paradoxe entre portage et invasion pour des souches appartenant au même clone selon le typage traditionnel.

Références:

1. Delbos, V *et al.* Impact of MenBvac, an outer membrane vesicle (OMV) vaccine, on the meningococcal carriage. *Vaccine* 31 : 4416-4420 (2013). 2. Lemée, L *et al.* Genetic Diversity and Levels of Expression of Factor H Binding Protein among Carriage Isolates of *Neisseria meningitidis*. *PLoS ONE* 9 : e107240 (2014). 3. Caron, F *et al.* From tailor-made to ready-to-wear meningococcal B vaccines: longitudinal study of a clonal meningococcal B outbreak. *Lancet Infect Dis* 11 : 455-463 (2011). 4. Szatanik, M *et al.* Experimental meningococcal sepsis in congenic transgenic mice expressing human transferrin. *PLoS ONE* 6 : e22210 (2011).