

Induction de l'apoptose par des souches de Neisseria Meningitidis : Illustration de la dualité observée entre souche de portage et souche invasive

J Sevestre, Ala-Eddine Deghmane, I Tournier, F. Caron, M-K Taha

▶ **To cite this version:**

J Sevestre, Ala-Eddine Deghmane, I Tournier, F. Caron, M-K Taha. Induction de l'apoptose par des souches de Neisseria Meningitidis : Illustration de la dualité observée entre souche de portage et souche invasive. Journée Normande de Recherche Biomédicale, Nov 2017, Caen, France. hal-02266215

HAL Id: hal-02266215

https://normandie-univ.hal.science/hal-02266215

Submitted on 13 Aug 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.

2ème journée normande de la recherche biomédicale
- 14 Novembre 2017 -

Induction de l'apoptose par des souches de *Neisseria meningitidis* : Illustration de la dualité observée entre souche de portage et souche invasive

J. Sevestre[1,2,4], AE. Deghmane[2], I. Tournier[3], F. Caron[1,4] and M-K. Taha[2]

[1] Gram EA 2656, IRIB, Université de Rouen, France, [2] Institut Pasteur, Paris, France,
[3] Inserm UMR1079, IRIB, Université de Rouen, France, [4] Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Rouen, France

Introduction

N. meningitidis (Nm) est un commensal obligatoire du nasopharynx humain retrouvé chez 10% de la population générale. Dans de rares cas le méningocoque peut traverser l'épithélium respiratoire, échapper au système immunitaire de l'hôte et provoquer une **infection invasive à méningocoque** (IIM) qui se manifeste sous deux formes cliniques principales, la méningite et la méningococcémie. Les mécanismes de virulence perturbant cet équilibre restent mal connus. Une des hypothèses met en cause le **pouvoir cytotoxique** du méningocoque. L'induction de dommages tissulaires caractérisés conduit à la déstabilisation de l'épithélium respiratoire. Une fois endommagé, cette barrière naturelle offre au méningocoque une porte d'entrée importante vers le sang et lui permet de disséminer dans tout l'organisme. La récente épidémie normande (2003 à 2010) a donné l'opportunité de comparer des souches hyperinvasives isolées : les unes d'infections très sévères (**souches invasives**), les autres d'un portage sain au niveau du pharynx (**souches de portage**). Par les techniques usuelles de typage toutes ces souches étaient impossibles à distinguer (souches de groupe B, sérotype 14, séro-sous-type 1.7,16 et séquence-type 32).

Méthodes

Par séquençage Illumina® et grâce au site d'analyse PubMLST nous avons réalisé l'**analyse génomique** de six souches appartenant au clone B:14:P1.7,16 ST32 (quatre isolées en situation de portage sain et deux isolées d'infections invasives). Cette analyse génomique ayant identifié des déterminants génétiques impliqués dans la **cytotoxicité**, il a ensuite été étudié sur ces 6 même souches le pouvoir pro-apoptotique grâce à un modèle *ex-vivo* d'infection d'une lignée de cellule épithéliale humaine HEC-1-B par technique d'**immunomarquage TUNEL** et de **cytométrie en flux** par le marquage a l'annexine V.

Résultats

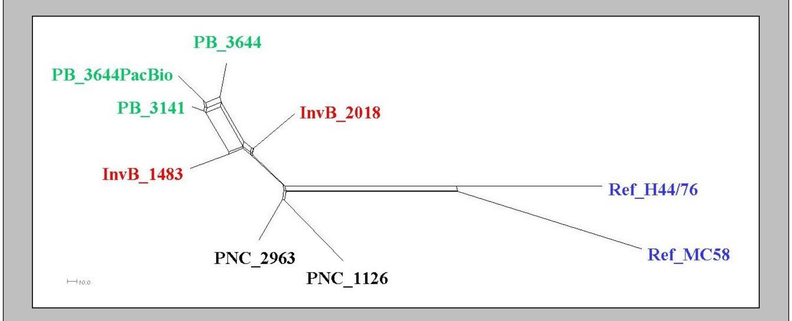
L'analyse comparative a permis d'identifier d'importantes **variations génomiques au sein des îlots de pathogénicité** avec des profils alléliques clairement différents entre souches invasives et de portage. L'étude *ex vivo* a permis de confirmer les résultats génomiques et d'identifier une **induction plus importante de l'apoptose** pour les cellules infectées par les **souches invasives** que pour les cellules infectées par les **souches de portage**.

1. Comparaison allélique et analyse phylogenetique :

- **Tableau 1 : Six souches séquencées par NGS**

Souche	Identification phénotypique	Sequence Type	Origine géographique	Statut clinique
PNC_1126	NG:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage non capsulée
PNC_2963	NG:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage non capsulée
PB_3141	B:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage capsulée
PB_3644	B:14:P1.7,16	ST 32	Dieppe	Portage capsulée
InvB_1483	B:14:P1.7,16	ST 32	Forges les Eaux	Infection invasive
InvB_2018	B:14:P1.7,16	ST 32	Seine-Maritime	Infection invasive

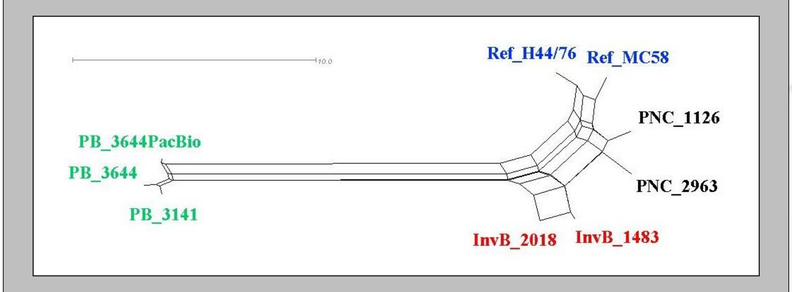
- **Arbre phylogénique 1 : Analyse du core génome**



→ confirmation du caractère clonal des souches Normandes

→ clustering des différents isolats en fonction de leur statut clinique

- **Arbre phylogénique 2 : Analyse des îlots de pathogénicité**

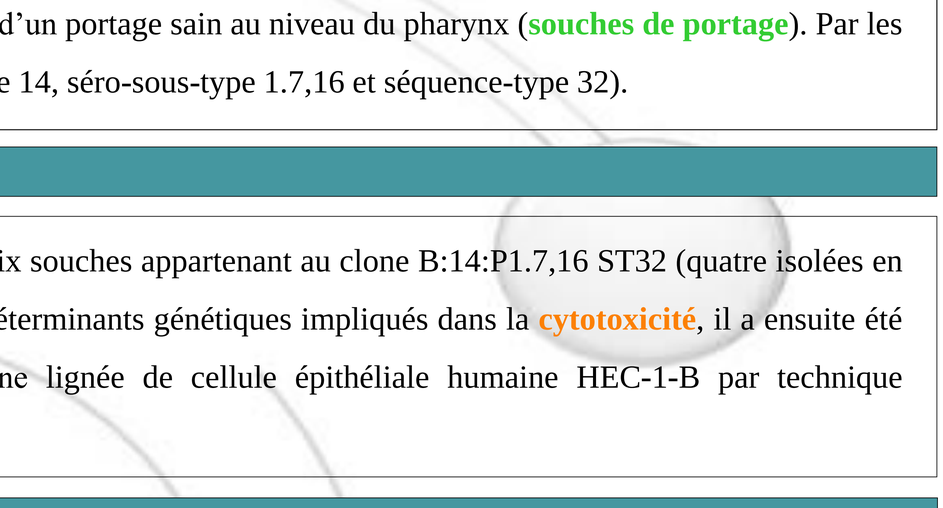


→ clustering similaire à celui observé pour le core génome

2. Etude de l'apoptose par immunomarquage TUNEL :

- **Marquage de l'ADN chromosomique intègre**
  → 4',6-diamidino-2-phénylindole (**DAPI**)
- **Marquage de l'ADN chromosomique dégradé**
  → Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (**TUNEL**)
  → Signe précoce de l'apoptose

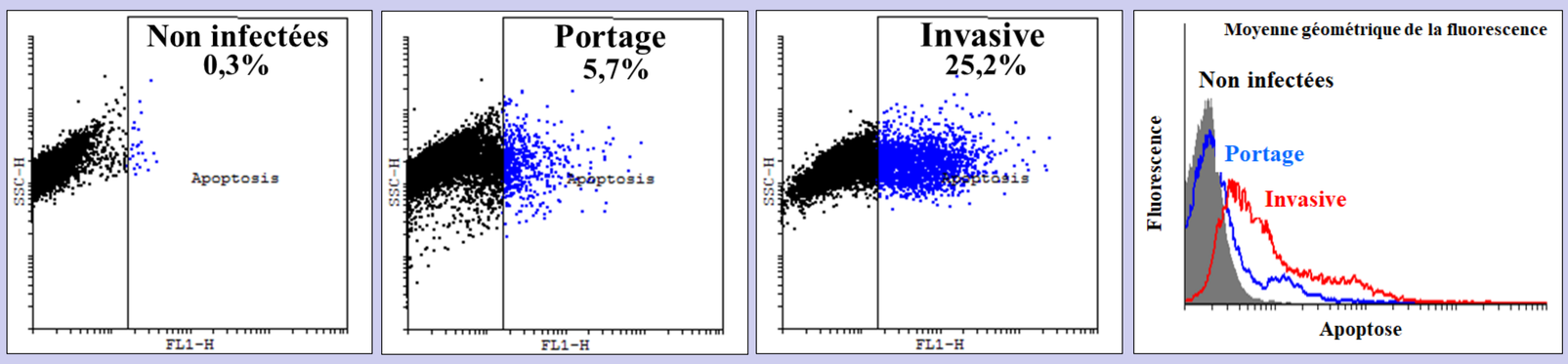
→ **Dégradation importante de L'ADN** chromosomique des cellules infectées par les **souches invasives**



3. Etude de l'apoptose par cytométrie en flux :

- **Quantification de l'apoptose → Annexine V**

% des événements apoptotiques



→ **Induction significative de l'apoptose** par les **souches invasives** sur la lignée cellule épithéliale humaine HEC-1-B

Conclusions

L'analyse NGS de 6 souches appartenant au clone B:14:P1.7,16 ST32 (2 invasives et 4 de portage) a permis d'identifier d'importantes variations génomiques portant sur **651 gènes polymorphes** avec des profils alléliques clairement différents entre souches **invasives** et **de portage**. Après avoir analysé plus finement les différentes familles de gènes connues comme étant impliquées dans la virulence, nous avons observé que parmi ces différences, plusieurs portaient sur les **îlots de pathogénicité impliqués dans la phase primaire de l'infection et la cytotoxicité** . Des tests phénotypiques réalisés *ex vivo* sur une lignée cellule épithéliale humaine HEC-1-B ont validé les résultats obtenus *in silico* en montrant que les souches B:14:P1.7,16/ST32 **invasives** étaient capables d'induire une apoptose significativement plus importante que le souches **de portage**.

Contact: sevestre.julien@hotmail.fr