

Specialized Master's Training in Public Health  
Specialty Infectious Risk  
Pasteur/Cnam School of Public Health  
2010-2011

Presented by  
Virginia NUÑEZ SAMUDIO

Molecular epidemiology analysis of serogroup X *Neisseria meningitidis* strains  
isolated in sub-Saharan Africa

Responsable Muhamed Kheir Taha

Laboratoire: Unité des Infections Bactériennes Invasives & Centre National de  
Référence des méningocoques, Institut Pasteur

**Introduction:** Une infection invasive à méningocoque (IIM) est une maladie grave, parfois mortelle causée par *Neisseria meningitidis*. Ces infections sont épidémiques dans la ceinture africaine de la méningite, où, les IIM sont principalement causées par *N. meningitidis* de séro groupe A. Cependant, la proportion des sérogroupe X et W135 montre une tendance à augmenter ces dernières années. Au Niger, un pays de cette région, une incidence élevée de IIM causées par le séro groupe X a été observée en 2006, et de petites épidémies ont été décrites en 1990 et d'autres entre 1995 et 2000. Les données préliminaires de l'unité montrent que les souches des années 90s et les souches isolées en 2006 sont proches phénotypiquement et appartiennent au même complexe clonal, mais elles diffèrent par leur lipooligosaccharide (LOS). L'objectif général de cette étude est d'utiliser des outils épidémiologiques moléculaires pour tenter de comprendre l'évolution épidémiologique de *N. meningitidis* séro groupe X au Niger.

**Méthodes:** Dans le but de rechercher les différences au sein des souches de *N. meningitidis* du séro groupe X des années 90s et celles isolées en 2006, nous avons utilisé des approches phénotypiques (typage du LOS par immunotype) et génotypiques. Les souches du séro groupe X ont été classées comme isolats "avant 2006" et "après 2006".

**Résultats:** Nous avons montré que 63,3 % (n = 7) des souches "avant 2006" montrent un immunotype L3,7,9, alors que chez 36% (n = 4) des souches, cet immunotype n'a été observé dans aucune des souches "après 2006". Nous avons montré que le gène *lpt3*, gène codant pour une transférase impliquée dans l'ajout d'un PEA sur le LOS, a été retrouvé dans toutes les souches. Cependant, certaines souches "avant 2006" et toutes les souches "après 2006" montrent des polymorphismes dans la séquence nucléotidique de *lpt3*.

**Discussion:** Toutes les souches "après 2006" ne montrent pas de réactivité avec les MAb anti-L3,7,9, alors que toutes les souches "avant 2006" (63.3%) réagissent avec les MAb anti-L3,7,9. Ces résultats indiquent que certaines souches n'expriment pas l'épitope du LOS reconnu spécifiquement par ces anticorps monoclonaux. Nous avons montré qu'une délétion de l'ADN dans le gène *lpt3*, située dans un domaine conservé de la superfamille des sulfatases peut influencer la reconnaissance de l'épitope L3,7,9. Les souches de *N. meningitidis* de séro groupe X issues des épidémies du Niger avant et après 2006 ont des caractéristiques antigéniques distinctes dans leur LOS, probablement dues aux variations génétiques observées dans le gène *lpt3*. Nos données peuvent suggérer que les isolats de *N. meningitidis* de séro groupe X "après 2006" peuvent avoir échappé à la réponse immunitaire contre l'épitope L3,7,9 du LOS, pouvant ainsi avoir contribué à la récente émergence de *N. meningitidis* du séro groupe X.

**Conclusion:** Nos résultats soulignent que dans le domaine de l'épidémiologie changeante des souches pathogènes, les techniques sérologiques peuvent être utiles en tant que bons compléments des techniques de biologie moléculaire afin d'améliorer notre arsenal dans le domaine de la caractérisation des souches épidémiques. Cela demeure d'un intérêt énorme dans le domaine des interventions de santé publique puisqu'une connaissance précise des caractéristiques microbiologiques des souches épidémiques est la clé pour décider quel vaccin appliquer dans un temps, dans une population et dans un site géographique donné.

**Introduction:** Meningococcal disease (MD) is a serious, life-threatening disease caused by, *Neisseria meningitidis*. These infections are epidemic within the African meningitis belt where, MD is primarily caused by *N. meningitidis* serogroup A. However, the proportion of serogroups X and W135 shows a trend to increase in the last years. In Niger, a country of this region, a high incidence of MD by serogroup X was observed in 2006. Small outbreaks had previously been described in 1990 and other between 1995 and 2000. Preliminary data from our unit had shown that serogroup X *N. meningitidis* strains from Niger outbreaks before and after 2006 shared identical phenotypes and belonged to the same clonal complex. However, they showed distinct antigenic characteristics in their lipooligosaccharide (LOS). The general purpose of this study is to use molecular epidemiological tools to try to understand the changing epidemiology of *N. meningitidis* serogroup X in Niger.

**Methods :** We studied 11 serogroup X strains isolated “before 2006” and 7 strains that were isolated “after 2006”. We used phenotypic methods (detection of LOS by western blotting) and genotypic methods (sequencing of genes involved in the biosynthesis of LOS such as *lpt3* and *lpt6*).

**Results:** We have shown that, 63.3 percent ( $n=7$ ) of the strains “before 2006”, showed the immunotype L3,7,9; whereas in 36% ( $n=4$ ) of these strains, were negative for this phenotype. All the 7 strains isolated after 2006 were also negative for the immunotype L3,7,9. We have shown that both, *lpt3* and *lpt6*, encoding two transferases that add phenoethanolamine (PEA) onto LOS, were present in all the tested strains. However, all the strains that were negative for the immunotype L3,7,9 ( few strains “Before 2006” and all strains “After 2006”) harboured a deletion of two codons within the *lpt3* sulfatase conserved domain characteristic of the bacterial transferase family.

**Discussion:** Serogroup X *N. meningitidis* strains isolated in Niger during outbreaks before and after 2006 have a distinct antigenic characteristics in their LOS as a consequence of variation in the *lpt3* gene. LOS is antigen at the bacterial surface that elicits bactericidal antibody response. Our data may suggest the the *N.meningitidis* X isolates “ after 2006” may have escaped immune response against the L3,7,9 LOS. This immune evasion may have contributed to the recent emergence of the outbreak of *N. meningitidis* X.

**Conclusion:** Our results point out that combining phenotypic and genotypic approaches of molecular epidemiology can be useful to improve our armamentarium for thorough characterization of strains that should help to understand the changing epidemiology of *N. meningitidis*. An accurate knowledge of the microbiological characteristics of epidemic strains is key element in decision making of vaccination strategies.