

PROPOSITION SUJET de MASTER 2016-2017

TITRE : Analyse comparative de l'anatomopathologie comparée de souches de *Nocardia abscessus* humaines et urbaines sur modèle murin.

Nom, Prénom du Maitre de Stage : Veronica Rodriguez-Nava

Qualité : MCU-HDR

Téléphone : 04 78 77 72 76

E-mail : veronica.rodriguez-nava@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : Thierry Winiarski (ENTPE, LEHNA)

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : UMR 5557 CNRS-Lyon1 Ecologie Microbienne (directeur : Y. Moëgne-Loccoz), équipe « Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement » (co-dirigée par B. Cournoyer et D. Thévenot-Sergentet).

Adresse : Université Lyon1, Laboratoire de Mycologie-Microbiologie (Pavillon Nétien 3ème étage)
Faculté de Pharmacie-ISPB
8, avenue Rockefeller, 69373 Lyon Cedex 08

Nom du candidat éventuellement proposé : KOSOVA, Delviana

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - ~~Non~~

Description du sujet au verso ⇒

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s), ...):

Contexte :

L'activité humaine entraîne le rejet de substances polluantes auxquelles l'homme peut être en contact directement (sédiments urbains des systèmes de traitement d'eau pluviale) ou indirectement (médicaments et d'autres rejets hospitaliers dans le milieu hydrique). La présence de ces polluants a un impact sur l'écologie microbienne de l'environnement pouvant favoriser la présence de certains pathogènes. L'étude de ces environnements contaminés a permis d'observer l'installation d'actinobactéries du genre *Nocardia*. Ces bactéries sont des pathogènes opportunistes responsables des formes de nocardioses différentes (pulmonaire, cérébrale ou cutanée), s'agissant d'infections granulomateuses et suppuratives, qui affecteraient environ 1 million de personnes par an dans le monde.

D'ailleurs, ces *Nocardia* peuvent aussi être responsables d'infections graves chez des personnes saines. Le cerveau est un site fréquent de dissémination et d'abcès cérébraux causés par *Nocardia*. Les infections cérébrales se rencontrent dans 23 à 33% des nocardioses et sont les plus souvent secondaires à un foyer pulmonaire mais peuvent aussi être isolées. Le tableau clinique rend compte de l'existence d'un processus expansif intracrânien, avec des signes (raideur, photophobie, hémiparésie, ...) et des symptômes focaux variables (céphalées, ...) en fonction de la localisation. La nocardiose cérébrale, malgré de moyens diagnostiques et thérapeutiques de plus en plus efficaces, demeure une affection grave au pronostic réservé.

Notre équipe de recherche a retrouvé à plusieurs reprises par des méthodes culturales dans les sédiments urbains d'un système de récupération d'eau pluviale (Bassin d'Infiltration) des souches de l'espèce pathogène *N. abscessus* (Thèse Vautrin Florian). Ce constat met en évidence les capacités de résistance aux polluants de *N. abscessus* et sa capacité à s'en servir comme source de nutriment et de survie pour ainsi proliférer dans des environnements anthropiques. *N. abscessus* est une espèce pathogène incriminée dans la formation des abcès cérébraux chez l'immunocompétent en France et à l'étranger (Marchandin et al., 2006, Al Tawfiq et al., 2013). A ce jour, aucune étude n'a été faite concernant les processus physiopathologiques de l'atteinte cérébrale par *N. abscessus* et aucune donnée n'existe à ce jour sur la fréquence de souches neuroinvasives dans l'environnement.

Dans ce travail nous allons donc nous intéresser à l'étude de deux souches de *N. abscessus* qui présentent un lien avec des environnements pollués. D'abord nous étudierons une souche de *N. abscessus* isolée d'un patient immunocompétent qui présentait un abcès cérébral avec des crises d'épilepsie généralisée et des complications neurologiques à type hémiparésie. Ce patient présentait la particularité d'avoir été exposé pendant plusieurs années à des environnements pollués avec des hydrocarbures issus de l'industrie pétrolière. D'autre part, nous nous intéresserons aussi à une souche de *N. abscessus* isolée des sédiments urbains d'un système de traitement d'eaux pluviales (bassin d'infiltration, Lyon, France). Ces sédiments urbains contiennent des hauts niveaux de polluants comme des hydrocarbures, pesticides, métaux lourds ou autres et peuvent donc sélectionner certaines formes pathogènes de *N. abscessus*.

Hypothèses :

- 1) La souche de *Nocardia abscessus* issue du Bassin d'Infiltration présente un tropisme cérébral similaire à celui de la souche clinique et provoque des signes neurologiques similaires.
- 2) La souche clinique de *N. abscessus* est génétiquement proche de celles issues d'un milieu urbain pollué tel qu'un bassin d'infiltration et ces souches ont, à leur tour, le matériel génétique nécessaire pour être capables d'envahir et d'infecter le cerveau chez l'homme.

Objectifs :

- Validation du modèle murin chez *Nocardia abscessus*.
- Evaluer le tropisme cérébral des souches de *N. abscessus* (clinique, environnementale) à partir d'un modèle murin.
- Etudier la diversité de souches de *N. abscessus* retrouvées dans l'environnement (Bassin d'Infiltration) avec de souches issues de patients par MLSA et évaluer leurs capacités neuroinvasives utilisant un modèle d'invasion/traversée de la barrière hématoencéphalique (modèle déjà établi).
- Réaliser une comparaison de gènes potentiellement impliqués dans la virulence lors de l'infection cérébrale entre les souches humaines et environnementales.

Démarche expérimentale :

i) Dans un premier temps nous testerons deux souches de *N. abscessus* (clinique et environnementale), une souche de référence appartenant à l'espèce *N. cyriacigeorgica* qui a déjà été rapportée comme agent responsable d'atteinte cérébrale et une souche appartenant à une espèce non pathogène de *Nocardia* afin d'évaluer leur tropisme cérébral chez la souris. Des inoculations par voie Intra Veineuse (IV) d'une dose sublétales de différentes souches en phase exponentielle de croissance seront réalisées chez des souris BALB/c suivant le protocole de Beaman et al. (1992). La dissémination systémique sera évaluée à différents jours (3h, 24h, 48h, 72h et 168h) par PCR et par culture ainsi que par des analyses histologiques du cerveau et autres organes tels que le poumon et les reins. La présence de facteurs inflammatoires (TNF α , interleukines (1, 6, 8, 10, 12) et NGF (nerve growth factor)) sera également évaluée au cours du processus infectieux.

ii) Pour comprendre le passage de *N. abscessus* au cerveau, nous testerons également la capacité d'invasion/traversée de la barrière hématoencéphalique sur modèle in vitro des souches étudiées (voir ci-dessus) à des concentrations différentes. Ce modèle sera suivi selon les recommandations de l'équipe de recherche des Mycobactéries de l'hôpital de la Croix Rouse, Lyon.

iii) Si le temps le permet, des gènes candidats seront recherchés chez des souches isolées de l'environnement et de cas humains. La comparaison des données permettra d'identifier de potentiels gènes impliqués dans le processus infectieux cérébral.

Collaborations :

Ce projet sera effectué en collaboration avec l'EAM- Hémostase, Inflammation et Sepsis-VetAgroSup (modèle murin) et l'hôpital de la Croix Rouse (analyses histologiques du cerveau et profilages de cytokines).