

## Promotoren

---

Prof. dr. F. Haesebrouck  
Faculteit Diergeneeskunde, UGent

Dr. Ir. A. Smet  
Faculteit Diergeneeskunde, UGent

Prof. dr. R. Ducatelle  
Faculteit Diergeneeskunde, UGent

## Leden van de Examencommissie

---

Prof. dr. E. Cox, voorzitter  
Faculteit Diergeneeskunde, UGent

Prof. dr. K. Hermans, secretaris  
Faculteit Diergeneeskunde, UGent

Prof. dr. H. De Rooster  
Faculteit Diergeneeskunde, UGent

Prof. dr. M. Rossi  
Faculty of Veterinary Medicine,  
University of Helsinki

Prof. dr. L. Maes  
Faculteit Farmaceutische, Biomedische en  
Diergeneeskundige Wetenschappen,  
Universiteit Antwerpen

Dr. D. De Groot  
Business Development Manager,  
UGent DISCOVERE

## Curriculum Vitae

---

Myrthe Joosten werd geboren op  
14 juni 1988 in Turnhout.

Na het doorlopen van haar middelbare  
studies Latijn-Wiskunde aan het Sint-  
Pietersinstituut in Turnhout, startte zij in  
2006 met de opleiding Biomedische  
Wetenschappen aan de Universiteit Gent.  
In 2011 studeerde zij af als  
Master of Science in de Biomedische  
Wetenschappen, major Immunologie en  
Infectie, met grote onderscheiding.

Onmiddellijk daarna startte zij als  
doctoraatsstudente aan de vakgroep  
Pathologie, Bacteriologie en  
Pluimveeziekten van de Faculteit  
Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.  
Gedurende het eerste jaar verrichtte zij er,  
in het kader van een Geconcerteerde  
Onderzoeksactie (GOA), onderzoek naar  
de pathogenese van zoönotische  
*Helicobacter heilmannii* infecties. Eind 2012  
diende zij een projectvoorstel in met  
betrekking tot *Helicobacter heilmannii*  
infecties bij hond, kat en mens, bij het  
Instituut voor Innovatie door Wetenschap  
en Technologie (IWT). Na een succesvolle  
projectverdediging behaalde zij een  
persoonsgebonden doctoraatsbeurs met  
aanvang in 2013, voor een periode van 4  
jaar. Dit doctoraatsonderzoek resulteerde in  
het huidige proefschrift. Daarnaast werd  
ook de doctoraatsopleiding met succes  
voltooid.

Myrthe Joosten is auteur en mede-auteur  
van meerdere publicaties in internationale  
tijdschriften en zij was meermaals spreker  
op internationale congressen.



## UITNODIGING

Openbare verdediging van het  
doctoraal proefschrift

**Myrthe Joosten**

23 januari 2017

Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en  
Pluimveeziekten



U wordt vriendelijk uitgenodigd voor de openbare verdediging van het doctoraal proefschrift van

Myrthe JOOSTEN

Titel van het proefschrift:

**The zoonotic pathogen  
*Helicobacter heilmannii* from  
feline origin: aspects of virulence  
and gastric colonization**

De verdediging zal plaatsvinden op  
maandag 23 januari 2017 om 18.00 uur  
in Auditorium B van de  
Faculteit Diergeneeskunde,  
Universiteit Gent  
Salisburylaan 133, Merelbeke

**Na de verdediging volgt een receptie  
waarop u vriendelijk wordt uitgenodigd**

Indien u de receptie zult bijwonen, gelieve dit  
per mail (myrthe.joosten@UGent.be)  
te melden vóór 16 januari 2017

## Samenvatting van het proefschrift

Gastrale *Helicobacter* species, afkomstig van dieren, kunnen net zoals de typisch humane bacterie *Helicobacter pylori* de maag van de mens koloniseren en ziekte veroorzaken. Deze zogenaamde niet-*H. pylori* *Helicobacter* species (NHPH) werden reeds geassocieerd met gastritis, maagulcera en mucosa-geassocieerde-lymfoïd-weefsel (MALT) lymfomen. Bovendien is het risico op het ontwikkelen van MALT lymfomen hoger na een infectie met gastrale NHPH dan met *H. pylori*. NHPH omvatten een groep van nauwverwante maar verschillende *Helicobacter* species die worden teruggevonden in verschillende diersoorten. Zo koloniseren *H. felis*, *H. salomonis*, *H. bizzozeronii*, *H. heilmannii*, *H. cynogastricus* en *H. baculiformis* de maag van hond en kat, terwijl *H. suis* voornamelijk wordt teruggevonden in varkens. Gastrale NHPH zijn bijzonder moeilijk te kweken in het laboratorium, waardoor er wereldwijd maar weinig *in vitro* isolaten beschikbaar zijn. *H. heilmannii* werd in 2011 voor het eerst succesvol geïsoleerd uit kattenmagen en *in vitro* in cultuur gebracht.

Dit doctoraatsonderzoek had tot doel om een beter inzicht te verwerven in de pathogenese van maaginfecties met *H. heilmannii*, om de mogelijke virulentiefactoren van *H. heilmannii* in kaart te brengen en om het repertoire aan buitenste membraanproteïnen van deze kiem te vergelijken met deze van andere gastrale *Helicobacter* species.

In **hoofdstuk 1** werden de kiem-gastheer interacties *in vivo* bestudeerd voor negen verschillende *H. heilmannii* stammen, die geïdentificeerd werden op basis van de sequentie van hun 16S rRNA en *ureAB* genen. Hierbij werd gebruik gemaakt van een Mongools gerbilmodel. Negen weken na de experimentele infectie werden er duidelijke verschillen gedetecteerd in de mate waarin deze stammen de maag van de gerbils konden koloniseren en in de intensiteit van de geïnduceerde gastritis. De *H. heilmannii* stammen die geassocieerd werden met een chronische, actieve gastritis veroorzaakten een stijging van het pro-inflammatoire cytokine IL-1 $\beta$  in het antrum van de maag. Op basis van de resultaten van deze studie werden vijf stammen geclassificeerd als hoog-virulent en vier stammen als laag-virulent.

In **hoofdstuk 2** werd er onderzocht of de verschillen in kolonisatie en virulentie tussen de negen *H. heilmannii* stammen gerelateerd konden worden aan de aanwezigheid of afwezigheid van specifieke virulentie-geassocieerde genen. Hiertoe werden de genomen van alle stammen gesequeneerd en geanalyseerd. Daarnaast werden *in vitro*

bindingsstesten uitgevoerd om verschillen in bindingscapaciteit aan de maagmucosa in kaart te brengen. Op basis van fylogenetische analyse werd er aangetoond dat de laag-virulente isolaten niet behoren tot de species *H. heilmannii*, maar tot een nieuwe, nauwverwante species die *H. ailurogastricus* werd genoemd. Beide species zijn morfologisch en biochemisch zeer gelijkaardig en konden niet onderscheiden worden op basis van de 16S rRNA en *ureAB* gensequenties. Er werden echter verschillende homologen van virulentiefactoren van *H. pylori* teruggevonden in *H. heilmannii*, maar niet in *H. ailurogastricus*. Tot deze homologen behoren het ulcer-geassocieerde eiwit IceA1, het HrgA eiwit dat deel uitmaakt van een DNA restrictie-modificatiesysteem en een jhp0562-like glycosyltransferase dat betrokken is bij immuun-evasie. Zowel *H. heilmannii* als *H. ailurogastricus* beschikken over een homolog van de 'vacuolating-cytotoxin (VacA)-like' autotransporter van *H. pylori*, die een rol speelt tijdens kolonisatie van de maag. Dit eiwit was echter opmerkelijk groter bij *H. ailurogastricus* dan bij *H. heilmannii* en *H. pylori*. Bovendien vertoonde *H. heilmannii* een duidelijk hogere *in vitro* bindingscapaciteit aan maagepitheelcellen dan *H. ailurogastricus*. Deze verschillen dragen mogelijk bij tot het meer virulente karakter van *H. heilmannii* in vergelijking met *H. ailurogastricus*.

De buitenste membraanproteïnen (OMPs) van gastrale helicobacters spelen een belangrijke rol bij het koloniseren van de maagmucosa. Daarom werden in **hoofdstuk 3** de OMPs van *H. heilmannii* en *H. ailurogastricus* gekarakteriseerd en vergeleken met deze van andere gastrale en enterohepatische helicobacters, *Campylobacter* en *E. coli*, door middel van fylogenetische analyse. Er werden verschillende OMP-families met een mogelijke functie in kolonisatie of virulentie geïdentificeerd. De TonB-afhankelijke receptoren met een functie in opname van metalen en vitamines, een buitenste membraan factor betrokken in antimicrobiële resistentie en een buitenste membraan fosfolipase dat een rol speelt in kolonisatie, waren aanwezig zowel in *Helicobacter*, *Campylobacter* als *E. coli*. Een Imp/OstA porine, betrokken in antimicrobiële resistentie, was enkel geconserveerd in *Campylobacter* en in *Helicobacter*. Daarnaast werden er verschillende *Helicobacter*-specifieke OMP-families gedetecteerd en dit voornamelijk in gastrale species. Deze families omvatten SfpA/LpxR dat een rol speelt in immuun-evasie, twee *Helicobacter*-specifieke porine families met mogelijke functies in adhesie, en het 'VacA-like' cytotoxine met een rol in kolonisatie. Deze OMPs zijn van grote waarde voor toekomstige *in vitro* en *in vivo* kolonisatiestudies.