

Microbiologie et maladies infectieuses

M. Philippe SANSONETTI, membre de l'Institut
(Académie des sciences), professeur

ENSEIGNEMENT : LE « MICROBIOME », FACE CACHÉE
DE LA PLANÈTE « MICROBE-HOMME »

Il y a plus d'animaux qui vivent dans les dépôts qui s'accumulent sur les dents
dans la bouche de chacun qu'il n'y a d'êtres humains dans un royaume entier,
en particulier chez ceux qui ne se lavent jamais les dents...

Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723)

Le cours a proposé une description et une analyse de la symbiose largement mutualiste établie entre l'homme et son microbiote, c'est-à-dire les flores microbiennes peuplant ses surfaces cutanées et muqueuses. Nous avons insisté sur la reconnaissance croissante de la diversité et de la profondeur de cette symbiose. Le cours a aussi montré que, si elle est essentielle à la constitution et au maintien d'un certain nombre de mécanismes homéostatiques, particulièrement immunitaires, nutritionnels et métaboliques, ses dysfonctionnements semblent responsables de pans importants de pathologie (figure 1).

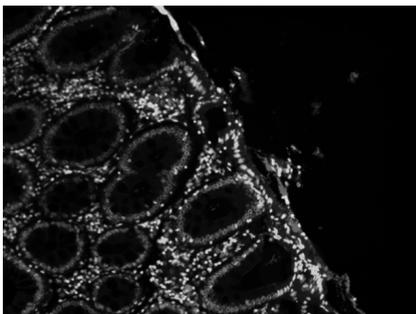


Figure 1 : *Fluorescence in situ hybridization* (FISH = fluorescence rouge) montrant la présence de bactéries constituant le microbiote intestinal à la surface de l'épithélium intestinal (fluorescence verte)

Les vidéos de l'ensemble des cours et séminaires, ainsi que les fichiers PDF contenant les diapositives présentées aux cours, sont disponibles sur le site Internet du Collège de France^a.

Cours 1 : Les microbiomes de l'homme

Dès que les êtres multicellulaires sont apparus sur terre, ils ont été colonisés par des microbes, premiers habitants de la biosphère. La pertinence et la robustesse de la symbiose homme-microbes est donc le fruit d'une co-évolution microbes-eucaryotes multicellulaires d'un milliard d'années. Le terme de « symbiose » a été introduit par Anton de Bary au XIX^e siècle comme la règle de vie commune de plusieurs espèces, « l'association vivante d'espèces différentes ». L'association symbiotique est souvent construite autour d'un grand partenaire, l'hôte, et de plus petits partenaires, les symbiotes. Cette vue est très subjective car, dans la symbiose homme-microbes, les microbes dépassent largement l'homme en nombre de cellules ($\times 10$) et en nombre de gènes ($\times 150$).

Dans cette relation symbiotique, largement mutualiste, les bactéries profitent d'un environnement stable (température, oxygène, pH, nutriments). L'hôte y gagne un large spectre de capacités digestives, métaboliques et nutritionnelles, une capacité de protection contre l'intrusion de microorganismes allogènes/pathogènes (effet de barrière), une stimulation contrôlée de l'immunité muqueuse et systémique, voire d'autres fonctions dont la diversité commence à être reconnue.

Chacun des sites corporels correspond à une niche écologique spécialisée et caractérisée par ses propres *consortia* microbiens, des dynamiques communautaires différentes et des interactions étroites avec les tissus. Le plus étudié des *consortia* microbiens humains est le microbiote intestinal. Il est extrêmement divers (biodiversité taxonomique, génétique et fonctionnelle).

Si la reconnaissance et l'étude du microbiote ont débuté dès la fin du XIX^e siècle et se sont prolongées sur la première moitié du XX^e siècle avec des chercheurs comme Theodor Escherich, Elie Metchnikoff, Theobald Smith, Arthur Kendall et Theodor Rosebury, elles sont largement demeurées au second plan des travaux de Louis Pasteur et Robert Koch et de leurs écoles respectives sur les microbes pathogènes. Il fallut attendre les années 60 pour que soient établies les propriétés essentielles du microbiote intestinal : sa composition par des centaines d'espèces souvent incultivables, largement dominée par des espèces anaérobies ; son établissement chez le nourrisson selon un schéma de « succession écologique » ; son obéissance à des lois écologiques contrôlées par des facteurs environnementaux, l'hôte et les populations bactériennes elles-mêmes. La notion d'organe supplémentaire apparaît alors. Les années 80 vont voir l'application des méthodes d'identification moléculaire, particulièrement la séquence de portions variables des gènes codant les ARN 16S ribosomiaux qui vont permettre de s'abstraire des méthodes classiques de culture, permettant d'apprécier dans sa quasi-intégralité la diversité d'espèces composant le microbiote, les étapes de son implantation et sa résilience en présence d'antibiotiques. Plus récemment, l'analyse métagénomique permise par les progrès

a. Voir <http://www.college-de-france.fr/site/philippe-sansonetti/course-2013-2014.htm> pour les cours et http://www.college-de-france.fr/site/philippe-sansonetti/seminar-2013-2014__1.htm pour les séminaires [NdÉ].

spectaculaires du séquençage de nouvelle génération et de la bioinformatique a permis de substituer au concept de « microbiote » celui de « microbiome », à savoir le *pool* de l'ensemble des gènes du microbiote, ses constantes et ses variables. Cette métagénomique descriptive a permis d'évaluer davantage encore l'extrême diversité du microbiote. Elle peut être aussi corrélative : notion d'entérotypes, corrélation entre appauvrissement de la diversité et pathologies. Elle peut enfin être analytique, comme décrit dans les cours suivant.

Séminaire 1 : Le microbiome intestinal humain, un organe négligé qui a des effets importants sur la santé

Dusko Ehrlich (directeur de recherche émérite, INRA, Jouy-en-Josas)

Dusko Ehrlich s'est récemment illustré par la coordination du programme européen MetaHit qui a permis l'analyse métagénomique du microbiome intestinal humain sur la base de plus d'une centaine d'individus. Le nombre d'individus étudiés et leur diversité d'origine vont croissant, révélant les communautés et les variations de composition génique du microbiome entre individus et permettant ainsi l'établissement d'une plate-forme reflétant l'homéostasie. Cette plate-forme sert maintenant de base pour développer une métagénomique corrélative associant en particulier diminution de la diversité et maladies comme les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI) et les pathologies métaboliques comme obésité et diabète de type 2.

Cours 2 : Être ou ne pas être un pathogène, telle est la question

La coévolution a créé un « paradoxe immunologique » forçant l'hôte à conjuguer tolérance au microbiote commensal et rapide reconnaissance des microbes pathogènes. De ce fait, une question essentielle se pose : comment l'hôte discrimine un pathogène d'un symbiote ? La question est d'autant plus complexe que les molécules en charge de la reconnaissance innée des microbes reconnaissent essentiellement des motifs (PAMP) qui sont communs au monde procaryote (pathogène ou non), par rapport au monde eucaryote. Il apparaît maintenant clairement qu'au-delà de la reconnaissance de la nature procaryote de la cellule rencontrée (premier signal ou *priming*), l'hôte reconnaît un second signal, ou « signal de danger » qui est la marque de l'attitude agressive du pathogène. Ce « signal de danger » est très variable : libération massive d'ATP dans le milieu extracellulaire par les cellules engagées par le pathogène, perception d'altérations de la membrane plasmique de la cellule infectée induites par le contact du pathogène ou une toxine membranolytique, perception de la présence de bactéries ou de molécules bactériennes comme le peptidoglycane dans le cytoplasme cellulaire. Beaucoup de ces altérations convergent vers une voie de signalisation unique, l'inflammasome, dont l'activation entraîne l'activation de caspase-1, la maturation de l'IL-1 beta, une cytokine puissamment pro-inflammatoire et sa sécrétion dans le milieu extracellulaire. En retour, ces signaux de danger qui alertent sur la nature pathogène du microorganisme concerné aident aussi à l'orientation et à l'activation de la réponse immunitaire adaptative (effet adjuvant).

Séminaire 2 : Quand les microbes dialoguent avec le système immunitaire

Gérard Eberl (chef de laboratoire, Institut Pasteur)

Gérard Eberl est un expert international de l'immunité des muqueuses. Il a contribué à démontrer le rôle important de la perception du peptidoglycane par la molécule Nod1 de l'épithélium intestinal dans la génération de signaux de maturation des organes lymphoïdes tertiaires ou « cryptopatches ». Son séminaire a illustré comment le microbiote induit la maturation et maintient l'état de veille du système immunitaire muqueux.

Cours 3 : Microbiome et immunité, de l'homéostasie à la pathologie

La coévolution hôte-microbes a établi un équilibre symbiotique extrêmement robuste en réponse probable à la nécessité de maintenir une relation mutualiste dans laquelle chaque « partie » trouve un indiscutable bénéfice. Cette leçon a montré que le système immunitaire muqueux contrôlait la composition du microbiote intestinal et que le microbiote intestinal contrôlait en retour le système immunitaire. Les molécules régulant cet équilibre subtil commencent à être connues. Il s'agit entre autre des peptides antimicrobiens : peptides cationiques, cathélicidine, Reg3gamma. Ces molécules, produites de façon constitutive ou inductible, assurent la ségrégation spatiale du microbiote par rapport à la muqueuse, particulièrement grâce à leur capacité à imprégner la couche de mucus couvrant l'épithélium en y créant une zone d'exclusion microbienne. D'autres acteurs ont été récemment identifiés, en particulier les lymphocytes innés ou ILC. Cette leçon s'est conclue par la démonstration de l'apport extraordinaire du modèle des souris axéniques (sans flore) dans l'analyse des fonctions immunorégulatrices du microbiote.

Séminaire 3 : Le système immunitaire intestinal : arbitre du dialogue entre l'hôte et son microbiote

Nadine Cerf-Bensussan (directeur de recherche de classe exceptionnelle, INSERM)

Nadine Cerf-Bensussan est une immunologiste des muqueuses de réputation internationale. C'est une spécialiste de la maladie cœliaque et plus récemment de la programmation du système immunitaire muqueux par le microbiote. Une découverte clé a été la démonstration du rôle de la bactérie SFB (*segmented filamentous bacterium*), un *Clostridium* qui, lors de sa colonisation précoce de l'intestin, programme la maturation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes « pro-inflammatoires » de type Th17. Cette observation est doublement intéressante car elle montre que, au sein de la diversité du microbiote, des espèces particulières rendent compte d'effets très spécifiques dans la maturation immunitaire. Elle montre aussi qu'au sein des symbiotes relativement peu réactifs existent des espèces plus réactives (pathobiotiques) qui, en nombre limité, assurent la maturation immunitaire et le maintien d'un état de veille et de protection que l'on qualifie « d'inflammation physiologique ». En dépit de sa robustesse, ce système peut être amené à dysfonctionner, donnant lieu en particulier à une inflammation pathologique. Ces

processus sont probablement au cœur de la physiopathologie des MICI comme la maladie de Crohn.

Cours 4 : Microbiome, nutrition et métabolisme, de l'homéostasie à la pathologie

La relation microbiote-nutrition est sans doute l'un des domaines les plus visibles du mutualisme homme-microbes. Le microbiote intestinal métabolise des aliments ingérés par l'hôte et des éléments de l'hôte (mucines). Inversement, des produits du métabolisme microbien peuvent être convertis par l'hôte. Le profil des métabolites présents dans l'intestin dépend donc de la combinaison du métabolisme eucaryote de l'hôte et du métabolisme procaryote du microbiote.

Des différences importantes sont observées au niveau des produits du métabolisme intestinal des souris axéniques, par comparaison avec les souris conventionnelles. L'administration d'antibiotiques peut exercer un effet sur le profil métabolique de l'intestin, mais aussi sur le profil métabolique systémique de l'animal traité. Le traitement de souris par la streptomycine affecte les niveaux de 87 % des métabolites identifiés dans les selles. Des voies métaboliques importantes comme le métabolisme des sels biliaires, des lipides pro-inflammatoires et des hormones stéroïdes sont affectés. Ces effets ne sont pas confinés aux selles. Le traitement de rats par une combinaison de pénicilline et de streptomycine donne lieu à un changement des profils des métabolites dans les selles, mais aussi dans les urines, signant un effet systémique.

Les souris axéniques ont une adiposité réduite et requièrent un régime alimentaire accru pour atteindre le même poids que des souris conventionnelles. Elles ont une capacité réduite d'extraction d'énergie à partir d'un régime riche en hydrates de carbone. Elles sont résistantes à un régime alimentaire de type occidental, riche en graisses et en sucrose et quasiment sans hydrates de carbone. Par comparaison avec les souris conventionnelles, l'intestin grêle de souris axéniques montre une expression plus élevée de *angiotensin-like protein 4* (ANGPTL4) ou *fasting-induced adipose factor* (FIAF) qui induit l'oxydation des acides gras dans le muscle squelettique. Le microbiote intestinal apparaît donc capable de moduler directement le métabolisme de l'hôte, en particulier lipidique.

Microbiote et obésité

Les souris axéniques ont une adiposité réduite, comparées aux souris conventionnelles. Leur adiposité est restaurée lorsqu'elles sont recolonisées par une flore conventionnelle. La « collecte » excessive d'énergie par le microbiote au cours de l'obésité a été étudiée/démontrée chez des souris conventionnelles génétiquement obèses ob/ob qui présentent une augmentation d'acides gras à chaînes courtes (SCFA) dans leur cæcum et une diminution de la quantité d'énergie dans leurs selles, par comparaison avec les souris conventionnelles non génétiquement obèses. L'analyse métagénomique du microbiote cæcal a montré un enrichissement en gènes/fonctions en rapport avec la dégradation des polysides alimentaires chez les souris ob/ob. Le phénotype « obèse » a pu être transmis par la transplantation de microbiote. Les souris axéniques transplantées avec le microbiote de donneuses « obèses » gagnent deux fois plus de poids que celles colonisées avec le microbiote de souris minces.

Chez l'homme, les observations demeurent généralement indirectes et corrélatives. Les études métagénomiques montrent une différence de composition entre le microbiote des sujets obèses et des sujets de poids normal, mais les résultats demeurent dans l'ensemble relativement conflictuels. Les sujets obèses ont un microbiote altéré avec une nette réduction de la diversité des espèces présentes, sans que la signification précise de cette observation soit comprise. Ce microbiote fécal montre néanmoins une capacité accrue d'extraire l'énergie.

Obésité : une maladie inflammatoire chronique ?

Le microbiote intestinal peut aussi entraîner une résistance à l'insuline et un diabète de type 2 en causant une inflammation chronique de faible niveau. L'inflammation de faible niveau fait maintenant partie du syndrome métabolique. L'endotoxémie et la translocation bactérienne sont deux paramètres clés liant microbiote intestinal, inflammation de faible niveau et syndrome métabolique. Dans un modèle murin : une alimentation riche en graisse entraîne une augmentation (2 à 5 fois plus) de l'endotoxémie métabolique.

Ces découvertes modifient significativement notre vision de l'obésité et du diabète et offrent pour le futur de nouvelles interventions comme la transplantation fécale.

Séminaire 4 : Chaînes trophiques au sein des microbiotes : une symbiose dans la symbiose

Marion Leclerc (directeur de recherche, INRA, Jouy-en-Josas)

Marion Leclerc est une spécialiste de la microbiologie anaérobie, incluant les populations microbiennes anaérobies de nature complexe au sein desquelles s'organisent des relations symbiotiques microbe-microbe, d'où le titre du séminaire. Ce comportement de groupe s'élargit aux archéobactéries, particulièrement dans le contexte de voies trophiques essentielles comme le métabolisme du carbone et la méthanogénèse. Ces relations complexes qui se situent au sein du microbiote intestinal peuvent être modélisées *in vitro*. Les approches décrites par Marion Leclerc, qui conjuguent microbiologie, métagénomique, physiologie, écologie et évolution sont essentielles pour développer un « post-métagénome » fonctionnel à l'homéostasie et en conditions pathologiques.

Cours 5 : La dysbiose, nouvelle entité en médecine ?

La vision classique « un pathogène-une maladie » (postulats de Koch) ne recouvre pas l'ensemble des maladies liées à un conflit hôte-microbes. Elle en est un sous-ensemble. Il faut adopter une vision plus large dans laquelle des anomalies de l'hôte (génétiques ou environnementales) amènent à la constitution d'une flore déséquilibrée pathogène, ou à une rupture de la tolérance au microbiote causant en retour ce déséquilibre (effet de l'inflammation et d'autres facteurs). De telles flores peuvent donner lieu à des pathologies de nature variable, locales ou systémiques : maladies allergiques, MICI voire cancer, obésité, et probablement d'autres...

Dans ce contexte, on remplace la notion de pathogène unique par celle de communauté de microorganismes représentant collectivement une entité pathogène : c'est la dysbiose.

La dysbiose (intestinale) est l'altération soutenue de l'équilibre normal du microbiote intestinal. Deux possibilités schématiques : « état stable alternatif » *a priori* sans conséquence pathologique et « état pathologique » caractérisant un microbiote pathogène.

La connaissance du microbiote « sain » et de sa variabilité intra/interindividuelle est un préalable indispensable à la définition d'un microbiote « pathologique/pathogène ». Cette définition doit se faire à l'échelle du microbiote de chaque site colonisé (intestin, peau, cavité buccale, voies respiratoires, vagin) car les différences intersites à l'échelle individuelle sont bien plus importantes que les différences intrasites à l'échelle interindividuelle. Les paramètres de définition d'une dysbiose sont donc difficiles et le champ est en perpétuelle évolution. L'aspect le plus visible est la réduction de diversité.

Par ailleurs, la compréhension des rapports composition-fonction du microbiote intestinal est une question clé. Les études exclusivement centrées sur la composition en genres/espèces des microbiotes (ARNr 16S) ne peuvent informer sur les fonctions sans ambiguïté. Des microbiotes de composition très différente peuvent être fonctionnellement proches, certaines espèces taxonomiquement distinctes partageant des fonctions communes (particulièrement métaboliques).

La validation expérimentale des propriétés pathogènes de la flore est difficile chez l'homme. La valeur corrélative des données est améliorée lorsqu'on travaille chez des jumeaux (homozygotes). Le transfert de microbiote homme-animal est possible. Un effet pathogène est souvent observé, mais l'extension des résultats à l'homme reste problématique. Les expériences de contamination de souris par une flore dysbiotique par *co-housing* sont faciles chez la souris (coprophagie), mais chez l'homme, les cas de transmission sont rares et discutables (pour autant qu'étudiés).

Une grande distance existe entre une expérience en animal gnotoxénique, où une espèce candidate va sembler pathogène (pathobionte), alors qu'elle ne l'est pas lorsqu'elle fait partie d'une flore complexe. Le seuil et la signification du déséquilibre sont difficiles à fixer.

Ces études permettent néanmoins d'espérer l'identification de « signatures » ou « biomarqueurs » dysbiotiques de situations pathologiques. Il faut pour cela un effort accru sur l'analyse métagénomique « au lit du malade », au niveau génomique par séquençage profond. Les difficultés soulignées concernant l'identification d'une signature d'espèce ou de genre microbien pourraient faire émerger des biomarqueurs non pas microbiologiques, mais métaboliques et/ou immunologiques.

En dépit de ces réserves, la « pharmacobiotique » se développe avec l'objectif de manipuler le microbiote intestinal avec un but thérapeutique. Des données encourageantes existent dans les modèles expérimentaux, mais on relève peu de succès en clinique humaine. Quatre approches sont considérées :

- les *probiotiques*, qui sont des microorganismes vivants qui, après ingestion en quantité adéquate, sont censés conférer un bénéfice en matière de santé à l'hôte (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* et autres) ;
- les *prébiotiques*, dont des ingrédients alimentaires, essentiellement des sucres non absorbables (oligofructose, inuline, galacto-oligosaccharides, lactulose,

oligosides du lait maternel ou HMO) censés promouvoir de façon sélective la croissance de certaines bactéries de type probiotique ou l'activité du microbiote ;

- les *postbiotiques* : les nouveaux développements en métagénomique et métabolomique du microbiome intestinal et de la réponse de l'hôte permettent d'envisager ces nouvelles approches identifiant des *postbiotiques*, c'est-à-dire des molécules effectrices des effets bénéfiques éventuels ;

- la transplantation fécale, qui est pour l'instant la seule approche ayant apporté des résultats satisfaisants, en particulier dans la prévention des récurrences des colites pseudo-membraneuses à *Clostridium difficile*.

Séminaire 5 : Les flores du mal

Mattias Chamailard (directeur de recherche INSERM, Institut Pasteur, Lille)

Ce séminaire porte sans contestation le plus beau titre de cette série de leçons et séminaires...

Mattias Chamailard est un expert de la maladie de Crohn et des approches expérimentales permettant d'en apprécier la physiopathologie. Il s'est plus récemment intéressé au thème de la dysbiose et de l'oncogénèse colique. Il a pu en particulier démontrer que les flores dysbiotiques générées par une inflammation intestinale chronique telle qu'elle existe chez un animal portant une mutation dans le système des récepteurs de la famille Nod (Nod2, NLRP6) étaient particulièrement agressives et capables de transférer d'animal malade à animal sain des propriétés oncogènes. La notion de transmissibilité de l'oncogénèse colique par une flore dysbiotique, même si elle reste actuellement limitée à des modèles expérimentaux chez la souris, ouvre des perspectives fascinantes en cancérologie.

Cours 6 : Microbe-homme : jusqu'où va la symbiose ?

L'espèce humaine et ses ancêtres ont co-évolué avec leur microbiote/microbiome.

L'existence d'un *core microbiome* chez l'ensemble des individus indique que ce microbiote a conféré un avantage sélectif. Certains de ces microorganismes – pathobiotiques – ont un potentiel pathogène. Certes... mais les grands équilibres façonnés par la co-évolution contrôlent leurs effets délétères potentiels grâce à une contrebalance par des microorganismes symbiotes mutualistes, les cantonnant – entre autre – dans un rôle d'inducteurs et de régulateurs des réponses immunitaires (réponses Th1, Th17, etc.).

L'hygiène : la perte de microorganismes, incluant les pathogènes, a créé une situation favorable au développement harmonieux de l'homme. Cette perte de microorganismes clés d'équilibres ancestraux semble néanmoins avoir créé ou facilité les conditions de survenue d'une pathologie « postmoderne » largement marquée par une rupture de l'homéostasie de l'inflammation : asthme/atopie, MICI, obésité... Ainsi apparaît « l'hypothèse hygiéniste ». Inversement, des situations contemporaines nous rappellent ce que devaient être les conséquences physiologiques du manque d'hygiène chez l'homme « prémoderne ». C'est le cas de l'entéropathie environnementale pédiatrique, première cause de malnutrition et de retard de croissance et de maturation psychomotrice chez le très jeune enfant dans les régions les plus défavorisées comme l'Afrique sub-saharienne, Madagascar et l'Asie du Sud.

L'immunopathologie des maladies atopiques, asthme, eczéma, commence à être bien comprise. Pas de consensus par contre sur la nature des mécanismes immunologiques pouvant expliquer l'augmentation soutenue de l'incidence de ces maladies. La pollution, en particulier urbaine (microparticules), est certainement un facteur important, mais une place importante semble exister pour l'« hypothèse hygiéniste ». Des données essentiellement expérimentales suggèrent un rôle important du microbiote (intestinal). Le microbiote « postmoderne » auquel est exposé l'enfant après sa naissance, caractérisé entre autre par une diminution de diversité, en particulier une perte de pathobiotés régulateurs et de pathogènes, n'assure pas efficacement la programmation immunitaire du nourrisson qui développe une hypersensibilité aux allergènes.

L'usage précoce des antibiotiques appauvrissant la diversité microbiotique pourrait être un paramètre essentiel dans ce domaine comme dans celui de l'obésité des enfants.

De nombreuses données indiquent que le microbiote intestinal communique avec le système nerveux central. Cette communication peut emprunter plusieurs canaux : neurologiques, endocrines et immunitaires. Le rôle direct de produits microbiens n'a pas été suffisamment exploré jusqu'à présent.

Les effets de cette communication peuvent porter sur plusieurs fonctions, selon l'âge de l'individu en particulier : phases finales du développement du système nerveux central en période postnatale, fonctions cérébrales et comportement tout au long de la vie, notamment : cognition/mémoire, anxiété, humeur, douleur.

Le concept « microbiote-intestin-cerveau » est porteur de possibles surprises et d'applications thérapeutiques, particulièrement en psychiatrie. Deux problèmes cependant : la complexité des études cliniques et la validité des modèles animaux, notamment murins, relativement à des effets potentiels chez l'homme.

Le périmètre précis de la symbiose microbe-homme reste encore à définir dans sa profondeur et sa diversité.

Séminaire 6 : La théorie hygiéniste : le rôle respectif des bactéries pathogènes et commensales

Jean-François Bach (professeur des universités, secrétaire perpétuel de l'Académie des sciences)

Jean-François Bach, éminent immunologiste, a été le pionnier du concept de l'« hypothèse hygiéniste », montrant en 2002 le croisement des courbes d'incidence décroissante des maladies infectieuses et croissante de maladies inflammatoires comme l'atopie, l'asthme, les maladies inflammatoires de l'intestin, la sclérose en plaques. Son séminaire était centré sur l'asthme et l'atopie. Tant les données épidémiologiques comparant populations urbaines et rurales que les modèles expérimentaux d'asthme murin convergent vers l'idée du rôle de la diversité de l'environnement microbien dans la survenue de ces pathologies émergentes.

**Colloque : *Microbiota, nutrition and metabolism*, les trois âges de la vie
2-3 juin 2014. Symposium international en anglais**

Ce symposium a été organisé grâce à une collaboration entre le Collège de France (chaire de Microbiologie et maladies infectieuses) et le Peter Wall Institute for Advanced Studies (PWIAS), université de British Columbia, Canada. Il a bénéficié d'un fort soutien de la Fondation Hugot. Point d'orgue de l'enseignement 2013-2014 de la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses sur le microbiome, il a réuni quelques-uns des meilleurs experts internationaux de l'interface microbiome-nutrition et métabolisme. Le programme avait été organisé selon trois thèmes structurant les sessions : les trois âges de la vie.

Le premier thème considérait la colonisation bactérienne du nouveau-né stérile, ses mécanismes et ses conséquences physiologiques et physiopathologiques en matière de nutrition et de métabolisme. Qu'il s'agisse d'une approche corrélatrice chez l'homme ou expérimentale chez la souris ou la mouche, l'ensemble des données convergent pour confirmer un rôle immédiat mais aussi une programmation à moyen-long terme de l'état de santé de l'enfant, particulièrement pour ce qui concerne les risques d'obésité.

Le second thème considérait le rôle du microbiome dans l'homéostasie nutritionnelle chez l'adulte et ses ruptures. Ici encore, les présentations étaient très centrées sur le rôle du microbiote dans la survenue de la résistance à l'insuline, de l'obésité et du diabète. En parallèle, le rôle du microbiote dans la métabolisation des médicaments (activation ou dégradation) a été abordé. Cette « microbiopharmacologie » représente un nouvel angle d'approche dans le domaine de la médecine personnalisée.

Le dernier thème considérait le rôle possible du microbiome comme élément de l'équation sénescence–nutrition/métabolisme–inflammation–cancer. C'est un des domaines qui a semblé devoir être développé plus activement, compte tenu de la tendance générale au vieillissement de la population.

Ce symposium a été clos par la tenue d'un *brain storming* réunissant essentiellement orateurs et organisateurs à la Fondation Hugot lors du second après-midi. Cette réunion restreinte avait pour but de définir les grands défis du domaine tels qu'ils avaient pu être perçus à l'occasion du symposium.

Programme :

Introduction, par Philippe Sansonetti (Institut Pasteur, France), Brett Finlay (PWIAS, UBC, Canada) et Janis Sarra (PWIAS, UBC, Canada).

Session 1 : Microbiota and perinatal physiology and medicine

Stanislav Dusko Ehrlich (INRA, France) : Human gut microbiome in Health and Disease (*keynote lecture*).

Catherine Michel (INRA, France) : Potential roles of the intestinal microbiota in nutritional imprinting: immediate relay and/or long-term memory?

Eric Brown (UBC, Canada) : The impact of malnutrition on host-microbial interactions in the small intestine.

Laura Cox (NYU, États-Unis) : The role of early-life microbiota in shaping body composition.

François Leulier (IGFL-ENS, France) : Lactobacilli-mediated juvenile growth promotion : « learning on the fly ».

Sven Pettersson (Karolinska Institute, Suède) : The Maternal Microbiome: A metabolic checkpoint that tunes developmental programming and influence body function later in life.

Session 2 : Microbiota and adult homeostasis

Elaine Holmes (Imperial College, Royaume-Uni) : Gut microbiome-host metabolic interaction: a Metabolome-Wide Association Study (*keynote lecture*).

Rémy Burcelin (I2MC, France) : Microbiota and metabolic diseases: shifting the paradigm from the gut to tissues.

Valentina Tremaroli (University of Gothenburg, Suède) : Interactions between gut microbiota and host metabolism.

Karine Clément (UPMC, France) : The role of our microbiomic genome in cardiometabolic health.

William Mohn (UBC, Canada) : Microbiome dynamics – the myth of adult homeostasis.

Marion Leclerc (INRA, France) : Diet and human gut microbiota: from nutritional studies to mathematical modelling.

Peter Turnbaugh (Harvard University, États-Unis) : Contributions of the human gut microbiome to drug metabolism.

Session 3 : Microbiota and aging

Bernard Thorens (Université de Lausanne, Suisse) : Liver and brain glucose sensing in the control of pancreatic islet cell plasticity (*keynote lecture*).

Mathias Chamaillard (Institut Pasteur de Lille, France) : Remote control of inflammation and cancer by the intestinal microbiota.

Filipe Cabreiro (UCL, Royaume-Uni) : Metformin: an old drug with new tricks. Gut microbial effects on host physiology and ageing.

Klara Sjögren (University of Gothenburg, Suède) : Regulation of bone mass by the gut microbiota.

Paul O'Toole (UCC, Irlande) : Diet-microbiota-health interactions in elderly people.

Tak Mak (University Health Network, Canada) : Toso: a Master Regulator of Inflammation (*keynote lecture*)

Les vidéos de la présentation du colloque sont disponibles sur le site Internet du Collège de France : www.college-de-france.fr/site/philippe-sansonetti/index.htm#course^b.

RECHERCHE : UNITÉ DE PATHOGENIE MICROBIENNE MOLÉCULAIRE
ET UNITÉ INSERM 786

Contexte scientifique et cadre de réalisation des travaux

Naturellement rattachée à la chaire de Microbiologie et maladie infectieuse, l'unité de Pathogénie microbienne moléculaire (PMM) que je dirige à l'Institut Pasteur est aussi une composante de l'unité INSERM 786. Notre unité était ces dernières années largement centrée sur l'analyse moléculaire et cellulaire de la rupture, de l'invasion et de la destruction inflammatoire de l'épithélium intestinal par la bactérie *Shigella*, l'agent de la dysenterie bacillaire et le développement de vaccins contre cette infection. Cette bactérie à Gram négatif invasive a été déterminante dans plusieurs axes de recherche fondamentale qui ont montré la

b. http://www.college-de-france.fr/site/philippe-sansonetti/seminar-2013-2014__1.htm [NdÉ].

valeur d'organismes modèles comme moteurs de découverte fondamentale : naissance du concept de microbiologie cellulaire ; découverte des mécanismes d'invasion cellulaire par le processus du *trigger*, découverte des systèmes de sécrétion de type III (TTSS) chez les protéobactéries pathogènes, découverte de la motilité intracytosolique actine-dépendante de certaines bactéries invasives comme *Shigella* et *Listeria monocytogenes*, découverte des systèmes de perception intracellulaire par l'hôte des bactéries (molécules Nod), découverte et analyse des mécanismes de modulation de la réponse innée de l'hôte par les microorganismes pathogènes, y compris par des mécanismes épigénétiques, ce que j'appelle volontiers le Yin et le Yang de l'immunité innée contre les pathogènes. Plus récemment encore, nous avons montré comment *Shigella* assure la subversion de la réponse immunitaire adaptative en engageant directement ses cellules effectrices comme les lymphocytes T et B. De ce cœur de recherche se sont récemment développées de nouvelles thématiques qui viennent enrichir la multidisciplinarité de l'unité PMM, comme l'étude de l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire épithélial intestinal. Cette étude vise non seulement à découvrir les mécanismes fondamentaux du rôle que joue le microbiote sur la maturation de l'épithélium intestinal, mais encore à mieux comprendre comment ces mêmes microorganismes peuvent participer à la réparation de cet épithélium après un processus infectieux et/ou inflammatoire, ou comment une dysbiose de la crypte intestinale colique peut participer à la survenue d'un cancer colique.

Projets scientifiques

Microbiote et homéostasie de l'axe crypto-villositaire intestinal

1. Identification d'une flore spécifique de la crypte intestinale (*crypt-specific core microbiota* ou CSCM).

Par une combinaison d'approches de coloration classique et de méthodes moléculaires associant microdissection LASER, extraction de l'ADN microbien, amplification des séquences 16S et séquençage de nouvelle génération, nous avons identifié des genres bactériens spécifiques de la crypte intestinale colique que nous avons qualifiés de *crypt-specific core microbiota* (CSCM). Après analyse bioinformatique, nous avons pu établir une liste très courte de quelques genres bactériens retrouvés dans tous les animaux étudiés et appartenant à des familles telles que les *Moraxellaceae*, *Burkholderiaceae* et *Pseudomonadaceae* (Pédrón *et al.*, 2012, *Mbio*). Grâce à la mise au point d'une méthode efficace de prélèvement et de culture, nous avons pu isoler et identifier un certain nombre d'espèces appartenant toutes aux genres *Acinetobacter*, *Delftia* et *Stenotrophomonas*. Ces protéobactéries sont toutes aérobies strictes, non fermentatives et capables d'un large spectre d'activités biodégradatives (bactéries issues de l'environnement). L'identification inattendue de bactéries aérobies strictes dans un environnement supposé anaérobie pose la question de la présence d'oxygène dans la crypte intestinale, que nous avons déjà démontrée (Marteyn *et al.*, 2010, *Nature*), et des bases du tropisme de ces bactéries pour la crypte. Nous avons pu montrer que, quelles que soient les circonstances, *Acinetobacter* se localisait dans le fond de la crypte colique. Ceci soulève la question du rôle possible de CSCM dans l'homéostasie de la crypte : en particulier un éventuel effet de barrière contre des

pathobiotiques et des pathogènes et une fonction immunomodulatrice contrôlant le niveau de base inflammatoire, fonction essentielle au contrôle de l'oncogénèse colique. Des études similaires soutenues par l'ARC et la direction des Applications de la recherche de l'Institut Pasteur, en collaboration avec le Pr. Iradj Sobhani (gastroentérologie, hôpital Henri Mondor), sont maintenant menées chez l'homme.

2. La CSCM identifiée ci-dessus est en contact avec l'entité régénérative de la crypte intestinale, à savoir les cellules souches et leur environnement cellulaire comme les cellules de Paneth, les cellules mésenchymateuses et les cellules immunitaires environnant la crypte. Nous avons fait l'hypothèse que les espèces membres de la CSCM, vivantes ou tuées comme cela semble être le cas dans l'intestin grêle, interagissaient avec les cellules souches de la crypte intestinale. Nous avons mis au point la production d'organoïdes à partir des cryptes intestinales et la préparation directe à partir des cryptes de cellules souches intestinales exprimant le marqueur *Lgr5*. Ces cryptes sont obtenues à partir de souris rapporteuses *lgr5-GFP*. Grâce à cette approche, nous avons démontré l'existence d'une voie de signalisation aboutissant à la protection des cellules souches, particulièrement à la suite de leur exposition à un stress toxique. Cette voie concerne le senseur intracellulaire *Nod2* qui est exprimé à haut niveau dans les cellules souches elles-mêmes et son agoniste microbien, le muramyl-dipeptide ou MDP (Nigro *et al.*, 2014, *Cell Host Microbe*). C'est la première démonstration du rôle d'un composant du microbiote intestinal dans la régénération épithéliale intestinale par action directe sur les cellules souches.

3. Après avoir développé un système de mutagenèse chez *Lactobacillus casei* (Licandro-Séraut *et al.*, 2012, *Appl. Environm. Microbiol.*), nous l'avons adapté pour permettre une approche STM (*signature tagged mutagenesis*) visant à identifier les effecteurs de ce symbiote permettant la colonisation de la niche intestinale. Ce travail est réalisé en collaboration avec le groupe de Jean-François Cavin, AgroSup, université de Bourgogne (Dijon). Une librairie de 10 000 mutants a été obtenue. L'ensemble de ces mutants a été séquencé et 1 100 mutants dans des ORF indépendants sont disponibles et ont été testés par pools dans le modèle intestinal de l'anse iléale ligaturée du lapin. Nous avons identifié une cinquantaine de mutants qui sont largement altérés dans leurs propriétés de survie/colonisation de la lumière intestinale. Ces derniers mutants se réunissent dans plusieurs catégories : (i) métabolisme/synthèse des acides aminés soufrés, (ii) biosynthèse/maturation du peptidoglycane bactérien, (iii) expression de peptidases (Licandro-Séraut *et al.*, 2014, *PNAS*). Nous continuons à analyser le phénotype de ces mutants et à comprendre la fonction de leurs produits dans la survie/symbiose de *L. casei*. Nous avons aussi développé les outils *in vitro* et *ex vivo* permettant d'étudier comment deux symbiotes comme *L. casei* et *E. coli* affectent le transport et le métabolisme transépithélial des lipides alimentaires. La conjonction de la génétique réverse de *L. casei* et de ces outils cellulaires va permettre d'établir une véritable microbiologie cellulaire du rôle du microbiote dans la nutrition et le métabolisme.

4. Nous avons réussi à cultiver le *Clostridium* SFB (*segmented filamentous bacterium* ou *Arthromitus candidatus*) *ex vivo*, dans un milieu combinant microaérophilie, milieu synthétique riche composé sur la base des déficiences métaboliques identifiées sur le génome de la bactérie, ainsi qu'une monocouche de cellules eucaryotes en culture. C'est un progrès majeur dans l'étude de cette bactérie

clé de la maturation du système immunitaire muqueux (Schnupf *et al.*, 2015, *Nature*). Les bactéries cultivées *in vitro* sont non seulement capables de croissance, mais aussi du processus de différenciation complexe donnant lieu à la formation de filaments et d'endospores qui, libérées, permettent de boucler le cycle. Ces bactéries sont infectieuses *in vivo*.

Étude du dialogue moléculaire établi entre un pathogène et l'épithélium intestinal (figure 2)

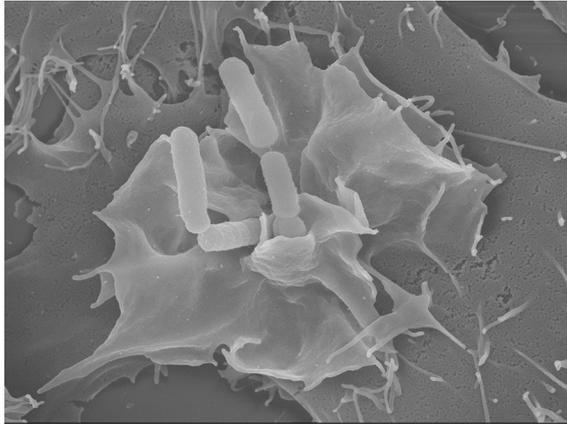


Figure 2 : Entrée de *Shigella* dans une cellule épithéliale. Microscopie électronique à balayage, Institut Pasteur.

1. L'étude des conditions prévalant à la surface épithéliale et des mécanismes génétiques et moléculaires par lesquels la bactérie s'adapte représente un domaine d'intérêt croissant pour notre groupe. Nous avons récemment démontré que l'appareil de sécrétion de type III de *Shigella* (TTSS) qui permet l'injection des effecteurs de pathogénicité dans les cellules eucaryotes est incompetent lorsque la bactérie fait face à des conditions d'anaérobiose, mais acquiert sa compétence en présence de faibles concentrations d'O₂ que dont nous avons montré qu'elles existent à la surface épithéliale intestinale (Marteyn *et al.*, 2010, *Nature*). La suite de ce travail consiste à préciser les conditions prévalant à la surface épithéliale et comment elles affectent les propriétés pathogènes du microorganisme. Nous avons identifié un gène de *Shigella*, *zapE*, qui code pour une protéine régulatrice du fuseau de division bactérien uniquement en anaérobiose (Marteyn *et al.*, 2014, *mBio*). Nous avons par ailleurs développé ce point en mettant une GFP d'activation et de dégradation rapide sous le contrôle d'un promoteur *mxIE* activé par la perception de l'activité en cours de l'appareil de sécrétion de type III des bactéries rapporteuses permettant de suivre en temps réel l'activation de l'appareil de sécrétion de type III de *Shigella*, tant *in vitro* qu'*in vivo* (Campbell-Valois *et al.*, 2014, *Cell Host Microbe*). Ces outils nous permettent de commencer à définir précisément les conditions locales d'activation de la virulence de *Shigella*. Dans ce contexte, nous avons aussi montré le tropisme très fort de *Shigella* pour la crypte colique (Arena *et al.*, en préparation).

2. L'étude des mécanismes de subversion des systèmes de défense innés et adaptatifs, humoraux et cellulaires par *Shigella* est un autre domaine prioritaire. Par ailleurs, nous avons démontré, dans un projet collaboratif avec Guy Tran Van Nhieu (CIRB, Collège de France) que les cellules épithéliales infectées par une bactérie produisaient de l'ATP rapidement libéré *via* l'ouverture des hémicanaux-connexines dans le milieu extracellulaire. Cette libération est un signal de danger alertant immédiatement l'hôte de son engagement par un pathogène. Cependant, *Shigella* est rapidement capable, lors de l'infection, d'entraîner la fermeture des hémicanaux-connexines, empêchant ainsi la sortie de l'ATP et supprimant de fait ce signal de danger. Nous avons pu identifier IpgD, un enzyme à activité phosphatidyl-inositol phosphatase (hydrolysant le PI(4,5)P₂ en PI5P) comme l'effecteur microbien injecté par le TTSS assurant cette fermeture des hémicanaux et la suppression du signal de danger. Ce processus a été validé *in vitro* et *in vivo* (Puhar *et al.*, 2013, *Immunity*). Cette découverte illustre la subtilité des mécanismes de subversion immunitaire appliqués par les pathogènes aux tissus/organes qu'ils infectent. Outre qu'il s'agit du premier exemple de régulation négative d'un signal de danger par un pathogène, l'identification des mécanismes moléculaires de la suppression d'un signal de danger offre une piste originale pour la découverte de nouvelles molécules anti-inflammatoires.

Autres travaux

D'autres travaux fondamentaux se sont déroulés dans l'unité PMM, sous la supervision directe de mes collaboratrices et collaborateurs chercheurs permanents dans l'unité : Claude Parsot, Laurence Arbibe, Armelle Phalipon et Brice Sperandio.

1. Nous avons continué à identifier et caractériser la fonction d'un groupe d'effecteurs sécrétés par le TTSS de *Shigella*, les protéines Osp et IpaH qui sont pour l'essentiel des régulateurs de l'immunité innée. L'accent est actuellement mis sur l'analyse de la fonction de deux catégories d'effecteurs sécrétés : les molécules OspC1,2,3 et les molécules IpaH dont la fonction d'E3 ligase justifie maintenant d'identifier les cibles protéiques ubiquitinylées dans les cellules infectées par *Shigella* (Campbell-Valois *et al.*, en préparation).

2. Nous avons par ailleurs montré que la subversion de la réponse innée affectait considérablement le profil de la réponse adaptative, ceci en particulier du fait de l'expression de la protéine OspF dont l'étude de la spécificité de la régulation épigénétique pour un certain nombre de promoteurs de la réponse immunitaire innée, y compris ceux qui comme l'IL-12 et l'IFN γ orientent la réponse adaptative. Nous avons disséqué le mode d'association de OspF avec la chromatine (Harouz *et al.*, accepté, *EMBO J*). Nous poursuivons une analyse dynamique des interactions entre lymphocytes T et cellules présentatrices d'antigènes au sein des ganglions infectés par *Shigella*. Il s'agit d'une combinaison d'approches *in vitro* et *in vivo*. Une première série de données indique que l'injection d'effecteurs par le TTSS entraînait un net ralentissement de la motilité des lymphocytes T *in vitro* et *in vivo* dans un modèle de ganglion infecté (Konradt *et al.*, 2011, *Cell Host Microbe* ; Salgado-Pabon *et al.*, 2013, *PNAS*). Nous avons récemment montré que l'environnement immunosuppresseur créé par *Shigella* était aussi dû à l'induction de la mort apoptotique des lymphocytes B par l'action de la protéine IpaD positionnée à l'extrémité de l'appareil de sécrétion de type III (Nothelfer *et al.*, 2014, *J. Exp Med*).

3. Nous avons progressé dans la dissection de la régulation de l'expression des peptides antimicrobiens produits par l'épithélium intestinal, en particulier les bêta-défensines. Nous avons démontré que l'expression de HBD2, le plus inductible, était sous contrôle épigénétique et pouvait par exemple être considérablement augmentée par les inhibiteurs des histones déacétylases (HDAC) de la famille de la trichostatine. Ces données ont été enrichies des résultats de criblages siRNA sur l'ensemble du génome humain. Ces travaux vont faire l'objet d'une thèse soutenue en septembre et d'un article (Fischer *et al.*, en préparation). Nous avons par ailleurs grâce à un criblage à haut débit de dizaines de milliers de composés issus de bibliothèques de la pharmacopée réalisé avec nos outils rapporteurs à l'Institut Pasteur de Corée à Séoul, identifié des molécules capables d'induire des hauts niveaux d'expression des bêta-défensines et de la cathélicidine (brevet en cours).

4. Projet européen STOPENTERICS (FP7)

Depuis décembre 2010, j'assure la coordination du projet européen STOPENTERICS (FP7). Ce programme va permettre de stimuler la recherche européenne dans le domaine des vaccins contre des maladies infectieuses négligées comme les diarrhées, particulièrement celles, souvent graves chez le jeune enfant, causées par *Shigella* et par les *Escherichia coli* Entérotoxigènes (ETEC). Ce programme va nous permettre un véritable changement de paradigme de développement vaccinal puisque, pour la première fois, nous allons tenter dans les deux cas de nous extraire de la logique d'une protection dépendante des multiples sérotypes pour entrer dans la recherche d'antigènes protéiques entraînant une protection croisée sérotype-indépendante. Les premiers résultats sont encourageants. Grâce au développement d'un modèle de shigellose chez le cobaye, nous avons pu montrer les caractéristiques protectrices d'une des protéines clés de la virulence de *Shigella*, ce travail faisant l'objet d'une collaboration étroite avec Sanofi-Pasteur. Par ailleurs, nous avons progressé dans la preuve du concept d'un nouveau vaccin sous-unité basé sur la synthèse chimique de polysides complexes couplés à une protéine porteuse. La longueur et la densité de greffage idéales ont été déterminées et l'immunogénicité prouvée chez la souris. Ce vaccin candidat dirigé contre le sérotype 2a de *S. flexneri* est maintenant arrivé au stade de production d'un lot GMP pour un essai clinique et sera testé en Israël (professeur Dani Cohen, université de Tel Aviv) au cours d'une phase 1 dans le cadre de STOPENTERICS.

Sur ces bases, l'évaluation de notre unité par l'AERES en décembre 2013 a été A+ et a amené à sa recréation pour cinq ans par le Conseil scientifique de l'Institut Pasteur.

PUBLICATIONS

Articles

LICANDRO-SERAUT H., SCORNEC H., PÉDRON T., CAVIN J.-F. et SANSONETTI P.J., « Functional genomics of *Lactobacillus casei* establishment in the gut », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(30), 29 juillet 2014, E3101-E3109, DOI : 10.1073/pnas.1411883111.

NIGRO G., ROSSI R., COMMERE P.-H., JAY P. et SANSONETTI P.J., « The cytosolic bacterial peptidoglycan sensor Nod2 affords stem cell protection and links microbes to gut epithelial regeneration », *Cell Host & Microbe*, 15(6), 11 juin 2014, 792-798, DOI : 10.1016/j.chom.2014.05.003.

NOTHELFER K., ARENA E.T., PINAUD L., NEUNLIST M., MOZELESKI B., BELOTSEKOVSKY I., PARSOT C., DINADAYALA P., BURGER-KENTISCHER A., RAQIB R., SANSONETTI P.J. et PHALIPON A., « B lymphocytes undergo TLR2-dependent apoptosis upon *Shigella* infection », *The Journal of Experimental Medicine*, 211(6), 2 juin 2014, 1215-1229, DOI : 10.1084/jem.20130914.

GAUTHIER C., CHASSAGNE P., THEILLET F.-X., GUERREIRO C., THOURON F., NATO F., DELEPIERRE M., SANSONETTI P.J., PHALIPON A. et MULARD L.A., « Non-stoichiometric O-acetylation of *Shigella flexneri* 2a O-specific polysaccharide: synthesis and antigenicity », *Organic & Biomolecular Chemistry*, 12(24), 28 juin 2014, 4218-4232, DOI : 10.1039/c3ob42586j.

LERY L.M.S., FRANGEUL L., TOMAS A., PASSET V., ALMEIDA A.S., BIALEK-DAVENET S., BARBE V., BENGOCHEA J.A., SANSONETTI P., BRISSE S. et TOURNEBIZE R., « Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* genomes identifies a phospholipase D family protein as a novel virulence factor », *BMC biology*, 12, 2014, 41, DOI : 10.1186/1741-7007-12-41.

Rossez Y., Gosset P., Boneca I.G., Magalhães A., Ecobichon C., Reis C.A., Cieniewski-Bernard C., Joncquel Chevalier Curt M., Léonard R., Maes E., Sperandio B., Slomianny C., Sansonetti P.J., Michalski J.-C. et Robbe-Masselot C., « The LacdiNAc-Specific Adhesin LabA Mediates Adhesion of *Helicobacter pylori* to Human Gastric Mucosa », *The Journal of Infectious Diseases*, 21 avril 2014, DOI : 10.1093/infdis/jiu239.

MARTEYN B.S., KARIMOVA G., FENTON A.K., GAZI A.D., WEST N., TOUQUI L., PREVOST M.-C., BETTON J.-M., POYRAZ O., LADANT D., GERDES K., SANSONETTI P.J. et TANG C.M., « ZapE is a novel cell division protein interacting with FtsZ and modulating the Z-ring dynamics », *MBio*, 5(2), 2014, e00022-00014, DOI : 10.1128/mBio.00022-14.

CAMPBELL-VALOIS F.-X., SCHNUPF P., NIGRO G., SACHSE M., SANSONETTI P.J. et PARSOT C., « A fluorescent reporter reveals on/off regulation of the *Shigella* type III secretion apparatus during entry and cell-to-cell spread », *Cell Host & Microbe*, 15(2), 12 février 2014, 177-189, DOI : 10.1016/j.chom.2014.01.005.

PUHAR A., TRONCHÈRE H., PAYRASTRE B., NHIEU G.T.V. et SANSONETTI P.J., « A *Shigella* effector dampens inflammation by regulating epithelial release of danger signal ATP through production of the lipid mediator PtdIns5P », *Immunity*, 39(6), 12 décembre 2013, 1121-1131, DOI : 10.1016/j.immuni.2013.11.013.

LE BOURHIS L., DUSSEAUX M., BOHINEUST A., BESSOLES S., MARTIN E., PREMEL V., CORÉ M., SLEURS D., SERRIARI N.-E., TREINER E., HIVROZ C., SANSONETTI P., GOUGEON M.-L., SOUDAIS C. et LANTZ O., « MAIT cells detect and efficiently lyse bacterially-infected epithelial cells », *PLoS pathogens*, 9(10), 2013, e1003681, DOI : 10.1371/journal.ppat.1003681.

DURAN C., NATO F., DARTEVELLE S., THI PHUONG L.N., TANEJA N., UNGEHEUER M.N., SOZA G., ANDERSON L., BENADOF D., ZAMORANO A., DIEP T.T., NGUYEN T.Q., NGUYEN V.H., OTTONE C., BÉGAUD E., PAHIL S., PRADO V., SANSONETTI P. et GERMANI Y., « Rapid diagnosis of diarrhea caused by *shigella sonnei* using dipsticks; comparison of rectal swabs, direct stool and stool culture », *PLoS One*, 8(11), 2013, e80267, DOI : 10.1371/journal.pone.0080267.

SPERANDIO B., FISCHER N., JONCQUEL CHEVALIER-CURT M., ROSSEZ Y., ROUX P., ROBBE MASSELOT C. et SANSONETTI P.J., « Virulent *Shigella flexneri* affects secretion, expression, and glycosylation of gel-forming mucins in mucus-producing cells », *Infection and Immunity*, 81(10), octobre 2013, 3632-3643, DOI : 10.1128/IAI.00551-13.

Zarantonelli M.L., Skoczynska A., Antignac A., El Ghachi M., Deghmane A.-E., Szatanik M., Mulet C., Werts C., Peduto L., d'Andon M.F., Thouron F., Nato F., Lebourhis L., Philpott D.J., Girardin S.E., Vives F.L., Sansonetti P., Eberl G., Pedron T., Taha M.-K. et Boneca I.G., « Penicillin resistance compromises Nod1-dependent proinflammatory activity and virulence fitness of *neisseria meningitidis* », *Cell Host & Microbe*, 13(6), 12 juin 2013, 735-745, DOI : 10.1016/j.chom.2013.04.016.

Revues

CAMPBELL-VALOIS F.-X. et SANSONETTI P.J., « Tracking bacterial pathogens with genetically-encoded reporters », *FEBS letters*, 588(15), 1^{er} août 2014, 2428-2436, DOI : 10.1016/j.febslet.2014.05.022.

SALGADO-PABÓN W., KONRADT C., SANSONETTI P.J. et PHALIPON A., « New insights into the crosstalk between *Shigella* and T lymphocytes », *Trends in Microbiology*, 22(4), avril 2014, 192-198, DOI : 10.1016/j.tim.2014.02.002.

SANSONETTI P.J., « Microbiota and the immune system, an amazing mutualism forged by co-evolution », *Seminars in Immunology*, 25(5), 30 novembre 2013, 321-322, DOI : 10.1016/j.simm.2013.10.003.

KLENK H.-D., RON E., SANSONETTI P. et TØNJUM T., « The synergies of microorganisms enlightened - convergent approaches to delineating coinfections », *Pathogens and Disease*, 69(2), novembre 2013, 71, DOI : 10.1111/2049-632X.12101.

Chapitres d'ouvrages

LHOCINE N. et SANSONETTI P.J., « Host Interactions with Bacteria: From "Entente Cordiale" to "Casus Belli" », dans D'AMATO M. et RIOUX J.D. (éd.), *Molecular Genetics of Inflammatory Bowel Disease*, New York, Springer, 2013, 281-305, DOI: 10.1007/978-1-4614-8256-7_14.

SPERANDIO B. et SANSONETTI P.J., « Manipulation of the Host-Cell Pathways by Bacterial Entero-Pathogens », dans SCHIFFRIN E.J., MARTEAU P. et BRASSART D. (éd.), *Intestinal microbiota in health and disease: modern concepts*, Boca Raton, CRC Press/Taylor & Francis Group, 2014.

Brevets

Polypeptides targetting glycosylated Muc2 proteins, methods of synthesis, their nucleic acids and uses thereof. Marteyn B.S., Coïc Y.M., Baleux F., Sansonetti P.J. EP112904032.

Financement de la recherche

Pour l'ensemble de nos travaux, je bénéficie de crédits institutionnels (Collège de France, Institut Pasteur, INSERM) et d'un *grant* annuel (100 000 \$, 2012-2017) en tant que *senior foreign scholar* du Howard Hughes Medical Institute (HHMI).

Pour l'étude de l'impact du microbiote sur l'homéostasie de l'axe cryptovillositaire, j'ai bénéficié d'un *advanced grant* de l'ERC (2 000 000 €, HOMEOPATH) du 1^{er} avril 2009 au 31 mars 2014. J'ai obtenu « dans la foulée » un second *grant* ERC à compter du 1^{er} avril 2014 pour cinq ans (2 500 000 €, DECRYPT) qui va nous permettre de renforcer notre approche de l'interface homme-microbe prenant en compte microbiotes, pathogènes, homéostasie et pathologie.

Avec Nadine Cerf-Bensussan (INSERM, Necker) comme coordinatrice, nous bénéficions d'un financement ANR sur l'étude des symbiotes/pathobiotes comme la bactérie SFB qui entraînent un niveau inhabituel de réponse innée/inflammatoire au niveau de la muqueuse intestinale et semblent faire partie du contingent des bactéries entretenant l'« inflammation physiologique » nécessaire à l'état de préparation de la réponse anti-infectieuse de la muqueuse : *si vis pacem, para*

bellum. Nous avons par ailleurs un financement de l'Association pour la recherche contre le cancer (ARC) afin d'étudier l'implication possible de certaines bactéries dans l'oncogénèse colique.

Depuis octobre 2013, nous bénéficions d'un financement dans le cadre d'un projet UE-Horizon 2020 (400 000 €, ATHEROFLUX) coordonné par le Pr. Claudia Monaco (université d'Oxford). Le thème général est la relation dyslipidémies-athérome. Notre *work package* est focalisé sur le rôle du microbiote dans le transport et le métabolisme intestinal des lipides.

Nous bénéficions enfin de financements privés par Danone Research dans le cadre de notre programme visant à caractériser une flore spécifique de la crypte intestinale. Nous bénéficions aussi d'un financement par Sanofi Aventis et Biomérieux, dans le cadre d'AVIESAN, couvrant notre recherche de molécules stimulant l'expression des molécules antimicrobiennes de l'épithélium intestinal.

Nous bénéficions dans le domaine de la pathogénicité d'un financement ANR obtenu en tant que coordinateur (PATHIMMUN) dans le cadre de l'action thématique « inflammation ». Il vise à identifier de nouvelles cibles pour le développement de molécules anti-inflammatoires en se laissant guider par l'analyse de la fonction des effecteurs anti-immunité des bactéries pathogènes comme *Shigella* qui régulent la réponse innée de l'hôte par l'injection d'effecteurs protéiques dédiés. L'accent est mis sur IpgD, une phosphatidyl-inositol phosphatase qui se comporte *in vitro* et *in vivo* comme une puissante molécule anti-inflammatoire.

Je suis enfin coordonnateur de deux grands projets :

– l'un est le LabEx « *Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases* » (30 000 000 €) qui s'inscrit sur dix ans dans le cadre des Programmes d'investissement d'avenir (PIA).

– l'autre est un programme européen (FP7, 2010-2015), dans le cadre de la vaccination contre les maladies infectieuses négligées (12 000 000 €, STOPENTERICS). Ce programme vise à renouveler totalement la recherche de nouveaux vaccins contre *Shigella* et les *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC).

AUTRES ACTIVITÉS

Conférences (sélection)

03.06.2013 : Séminaire, Institut Curie, Paris, « Commensals and pathogenic bacteria : decrypting signals in the intestinal crypt ».

14-18.06.2013 : Invitation du service pour la science et la technologie de l'Ambassade de France, Madrid (Collège de France) ;

Conférence grand public à l'Institut français ;

Conférences à l'université Complutense, Centro Nacional de Biotecnologia, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa : « War and Peace at mucosal surfaces » ;

25.06.2013 : Keynote Lecture, FINOVI, Lyon, « Commensals and pathogenic bacteria : decrypting signals in the intestinal crypt » ;

17-21.09.2013 : International Advisory Committee, Peter Wall Institute for Advanced Studies at the University of British Columbia, Vancouver, Canada ;

2-5.10.2013 : EIMID Meeting, St Mavimin, France (organisateur) ;

- 13-14.10 : Life Sciences Call 2013, New Ventures beyond established frontiers panel, Vienne, Autriche ;
- 12-13.12.2013 : Conférence invitée, inauguration GENOPOLYS, Montpellier, « Bactéries symbiotiques et bactéries pathogènes : Guerre et Paix à la surface des muqueuses ».
- 16.12.2013 : « *Gain of function* » meeting, Royal Society, Londres.
- 6-7.03.2014 : EMBO Membership Committee Meeting, Heidelberg.
- 7-8.03.2014 : EASAC (Association des Académies des sciences européennes), « Antimicrobial drug discovery, greater steps ahead », Academia Leopoldina, Hanovre.
- 12-13.03.2014 : Conférence invitée, « New Horizons for Vaccine Research and Innovation », Commission européenne, Bruxelles, « Current limitations in parenteral vaccination against mucosal infections : research should help ».
- 28-29.03 : Retraite/réflexion de l'« European Academy of Microbiology », Segovie, Espagne.
- 23-25.04.2014 : Conférence invitée, *HHMI Scientific Meeting*, Bethesda, États-Unis, « Decrypting Microbe-Host Signals in the Intestinal Crypt » ;
- 26-29.04 : « National Academy of Sciences », meeting annuel, Washington DC, États-Unis ;
- 14-16.04.2014 : Séminaire invité, Queen's University, Belfast, Kenneth B. Fraser Memorial Lecture, « Pathogens and commensals : War and Peace at mucosal surface » ;
- 10-13.05.2014 : Conférence invitée, ECCMID 2014, Barcelone « *Shigella* and the gut : an inflamed debate » ;
- 17-20.05.2014 : Conférence invitée, 114th ASM General meeting 2014, Boston, États-Unis, « Decrypting bacteria-host signals in the crypt » ;
- 21.05.2014 : Ker Memorial Lecture, Édimbourg, « Pathogenesis of *Shigella* infection in humans » ;
- 9-11.06.2014 : New Fellows Seminar, Royal Society, Londres, « Pathogens and commensals : War and Peace at mucosal surfaces ».

Activités en tant qu'éditeur de journaux scientifiques internationaux.

Durant l'année 2013-2014, j'ai poursuivi mes activités d'éditeur de *Cellular Microbiology*, le journal de référence de notre discipline que j'ai créé en 1999 avec Richard Stephens (États-Unis) et David Sibley (États-Unis).

Je suis par ailleurs éditeur sénior d'un nouveau journal de la série *EMBO : EMBO Molecular Medicine*. Je m'occupe dans ce journal de la section « *Molecular medicine and infectious diseases* ». Je suis par ailleurs membre du comité éditorial et conseiller spécial pour la microbiologie de plusieurs journaux comme *EMBO Journal*, *EMBO Reports*, *Cell Host & Microbe*.

Organisation de réunions scientifiques

J'ai organisé le symposium annuel EIMID (*European Initiative for Microbiology and Infectious Diseases*) qui s'est tenu en France en octobre 2013. Il regroupe de prestigieuses institutions européennes impliquées dans la recherche en microbiologie et maladies infectieuses comme l'Institut Pasteur (Paris), l'Imperial College (Londres), l'Institut Karolinska (Stockholm), l'Institut Max Planck für Infektionsbiologie (Berlin) et Novartis Vaccine Institute (Sienne). J'ai été à l'initiative de ce réseau il y a dix ans. Il garde une grande vitalité et s'est enrichi ces deux dernières années de deux programmes du FP7 : IAPP pour la promotion

d'échanges entre le monde industriel et académique et ITN pour la formation d'étudiants au stade PhD.

J'ai organisé en octobre 2013 à Paris la réunion annuelle du réseau européen FP7 STOPENTERICS que je coordonne, sur l'innovation en matière de vaccination contre *Shigella* et ETEC.

J'ai organisé en avril 2014 le colloque Charles Nicolle en collaboration avec la Société française de microbiologie. Ce colloque vise à faire connaître les meilleurs jeunes chercheurs travaillant dans un laboratoire français de microbiologie.

Évaluation scientifique

Membre du Conseil scientifique et membre du conseil de fondation de la fondation Louis Jeantet, Genève : deux réunions annuelles de chacun des deux conseils ;

21-23.10.2013 : Présidence du 59^e « *Scientific Advisory Committee* » (ESAC) de la faculté de médecine de Genève.

DISTINCTIONS

Président de l'European Academy of Microbiology (EAM) ;

11 juillet 2014 : admission comme *foreign member of the Royal Society*, Londres.

