

## **Microbiologie et maladies infectieuses**

M. Philippe SANSONETTI, professeur

Ceci représente le premier rapport d'activité annuel de la chaire nouvellement créée de Microbiologie et maladies infectieuses. Il comprendra trois parties : un rapport sur l'enseignement, un rapport sur la recherche et se conclura par quelques perspectives concernant ces deux domaines pour l'année académique 2009-2010. Cette chaire a pour but d'offrir une vision renouvelée de la microbiologie en présentant les travaux les plus fondamentaux qui la concernent, tant le cœur de la discipline que ses interfaces qui ont été très fécondes de découvertes ces deux dernières décades, particulièrement avec la biologie cellulaire et l'immunologie. Sur ce socle fondamental sont présentés les développements récents concernant les maladies infectieuses : mécanismes physiopathologiques et immunopathologiques, applications dans le domaine du diagnostic, de la thérapeutique et de la prévention, en particulier vaccinale.

### ENSEIGNEMENT

Le 20 novembre, j'ai donné ma leçon inaugurale intitulée « Des microbes et des hommes ». Elle comportait trois parties principales que j'avais voulu telles afin d'afficher ce que seraient les grands thèmes de mon enseignement pour les premières années : (1) le monde microbien qui nous environne, organismes commensaux et pathogènes, (2) les mécanismes moléculaires et cellulaires des infections illustrés par une revue de notre travail sur les processus d'invasion de l'épithélium intestinal par *Shigella*, (3) enfin les grands défis du contrôle des maladies infectieuses ouvrant un plaidoyer fort pour le rôle que doit y jouer la recherche.

Les cours se sont déroulés de fin novembre à fin janvier. Pour cette première année, j'ai voulu faire un bloc relativement générique visant à faire émerger la notion de pathogènes par rapport aux microorganismes commensaux qui colonisent nos surfaces, muqueuses en particulier, et voir comment le système immunitaire, en

particulier inné, interagit avec ces microorganismes et assure la discrimination entre les commensaux qu'il faut tolérer et les pathogènes qu'il faut reconnaître et détruire. D'où le titre général : « Des microbes et des hommes : guerre et paix aux surfaces muqueuses ». Le premier cours était une mise à jour concernant les flores commensales, en particulier intestinales, et donnait un panorama très à jour sur le rôle de ces flores dans le développement et le maintien de l'homéostasie tissulaire, largement sous l'angle de l'immunologie et des mécanismes de tolérance. À ce cours était couplé un séminaire donné par le Dr Joël Doré, directeur de recherche à l'INRA, sur l'approche révolutionnaire que représente la métagénomique dans l'analyse des flores complexes et largement incultivables comme c'est le cas pour la flore intestinale. Le second cours portait sur la définition génétique et moléculaire d'une bactérie pathogène avec un accent très fort mis sur les données les plus récentes sur les mécanismes par lesquels se sont construits les pathogènes. L'ensemble de ce cours avait une forte perspective évolutionniste, anticipant de peu l'année Darwin. Le troisième cours était plus mécanistique. Je me suis efforcé de faire une revue très à jour des bases génétiques, moléculaires et cellulaires de l'adhésion des bactéries pathogènes aux cellules et, pour certains pathogènes, de l'invasion de ces cellules. Le quatrième cours répondait fort à l'actualité, voire l'anticipait, puisqu'il portait sur l'émergence des maladies infectieuses, ses conditions de survenue et ses bases moléculaires, cellulaires et immunologiques. Cet ensemble s'intégrait en particulier dans une tentative de définition du programme moléculaire que représente le passage de la barrière d'espèce, la condition première actuelle de l'émergence virale à partir de l'animal domestique ou sauvage. Ce cours a été complété par un séminaire donné par le Dr Antoine Gessain de l'Institut Pasteur sur la veille épidémiologique, moléculaire et anticipatrice au passage de la barrière d'espèce par des virus et des rétrovirus, du singe à l'homme, essentiellement en Afrique. Le cinquième cours a porté sur les mécanismes moléculaires et cellulaires de la manipulation de la réponse immunitaire par les agents pathogènes. C'est un thème très en pointe sur lequel travaille mon Unité de recherche, qui a permis une revue très à jour des grandes stratégies et des mécanismes tels qu'on commence à les connaître, les analyser et les mettre en perspective. Le sixième et dernier cours a tenté de faire émerger la notion d'erreurs ou de dérapages du système immunitaire inné dans la gestion des crises infectieuses. Il a par ailleurs pris en compte le fait que ce type d'erreurs peut aussi conduire à des situations d'intolérance des flores microbiennes commensales comme observé au cours de la maladie de Crohn. Ce cours s'est efforcé de mettre en avant le facteur génétique qui semble de plus en plus essentiel dans la manière dont nous gérons notre interface avec le monde microbien.

L'enseignement de cette année s'est officiellement clos avec un mini symposium international d'une journée qui s'est tenu le 27 avril dans l'amphithéâtre Marguerite de Navarre et s'intitulait : *Seeing is believing : imaging infectious processes in vitro and in vivo*. Le programme (voir en annexe) faisait le point sur l'importance de l'imagerie, en particulier dynamique, dans le processus de découverte des mécanismes des infections. Il s'est voulu aussi prospectif avec un fort accent mis

sur les développements technologiques, particulièrement l'irruption des approches fondamentales de traitement de l'image, ces ouvertures ayant été résumées dans la présentation finale par le D<sup>r</sup> Jean-Christophe Olivo-Marin, chef de laboratoire à l'Institut Pasteur, spécialiste d'optique microscopique et des algorithmes mathématiques développés en soutien de l'imagerie photonique statique et dynamique : *the future of imaging : less photons, more numbers...* Ce mini symposium a rencontré un succès indiscutable et mérite d'être renouvelé, j'y reviendrai dans le chapitre des perspectives.

Une note un peu pessimiste : la faible assistance d'étudiants et de jeunes chercheurs aux cours. Je reprendrai ce point aussi dans le chapitre des perspectives. J'ai néanmoins tiré de cette première année l'impression que la thématique était à propos et le public initial s'est maintenu de manière stable sur l'ensemble du cycle.

#### RECHERCHE

L'Unité de Pathogénie microbienne moléculaire (PMM) que je dirige à l'Institut Pasteur est naturellement rattachée à la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses. Elle représente par ailleurs une des deux équipes de l'Unité INSERM 786 dont je suis directeur. Je suis par ailleurs chercheur étranger du *Howard Hughes Medical Institute*, jusqu'en 2010, car le programme s'arrêtera à ce moment. 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 étiologique 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 valeur d'organismes modèles pertinents comme moteurs de découvertes fondamentales : 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 des systèmes de perception intracellulaire des bactéries par les cellules (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 aux pathogènes. De ce cœur de recherche se sont récemment développées de nouvelles thématiques qui viennent enrichir la multidisciplinarité de l'Unité PMM : l'étude de l'homéostasie de l'axe cryptovillositaire épithélial intestinal. Ceci correspond non seulement à une étude visant à découvrir les mécanismes fondamentaux du rôle développemental que joue le microbiote commensal sur la maturation de l'épithélium intestinal, mais encore à mieux comprendre comment ces même microorganismes peuvent participer à la restitution de cet épithélium après un processus infectieux et/ou inflammatoire. L'autre axe de recherche récent correspond à l'analyse des mécanismes moléculaires

et cellulaires de l'infection de la muqueuse respiratoire par le genre *Klebsiella*. L'objectif est de comparer deux microorganismes appartenant à la même espèce d'entérobactérie : *Klebsiella pneumoniae* var. *pneumoniae* responsable d'une pneumonie aiguë nécrosante, bénéficiant d'un excellent modèle murin mimant la maladie humaine et *Klebsiella pneumoniae* var. *rhinoscleromatis* responsable d'une infection granulomateuse chronique des voies aériennes, le rhinosclérome. Face à la séquence de plusieurs génomes de *K. pneumoniae*, nous avons fait séquencer le génome de *K. rhinoscleromatis* que nous annotons actuellement, de manière à assurer une analyse de génomique fonctionnelle comparative permettant de dégager des éléments génomiques candidats à la différence physiopathologique majeure existant entre ces deux microorganismes. Nous avons aussi développé un modèle murin à l'évidence pertinent, car il donne lieu à l'apparition de cellules de Mickulicz, des macrophages spumeux caractéristiques du rhinosclérome, liés à la phagocytose de *K. rhinoscleromatis* qui est une bactérie produisant une quantité massive de capsule polyosidique .

Cette année a été marquée par un certain nombre d'événements heureux.

- Tout d'abord, le Dr Guy Tran Van Nhieu, DR2 à l'INSERM, s'est vu attribuer une Unité INSERM (U971), ce qui lui a permis de s'autonomiser. Après accord de l'Assemblée des Professeurs du Collège de France en fin d'année 2008, il a pu s'installer en avril 2009 dans des locaux du bâtiment B totalement rénové. Nous continuerons heureusement à collaborer, en particulier par l'intermédiaire d'une chercheuse post-doctorale, qui demeure dans mon Unité.

- Dans le courant du mois de mars 2009, l'ensemble de l'Unité PMM a déménagé dans de nouveaux locaux totalement rénovés dans l'aile Bertrand du bâtiment Duclaux de l'Institut Pasteur. Les conditions de confort et de travail dont nous bénéficions désormais sont incomparablement supérieures à ce dont nous disposions antérieurement.

- L'Unité INSERM 786 a été évaluée extrêmement positivement par l'AERES (A+) en novembre 2008. Une évaluation tout aussi positive a été faite par un autre groupe d'experts pour l'AERES à l'occasion de l'évaluation du département de Biologie cellulaire et infection de l'Institut Pasteur auquel appartient l'Unité PMM (voir les deux rapports de l'AERES en annexe). Les deux comités d'experts ont par ailleurs insisté sur la nécessité d'un soutien financier significatif à l'Unité PMM pour lui permettre de relever les défis qu'elle s'est fixée. L'un est la nécessité de renforcer le potentiel d'imagerie, en particulier dans le domaine de la microscopie bi-photonique indispensable à l'analyse des processus infectieux *in vivo*, au sein des tissus et organes infectés, l'autre est la nécessité de disposer de moyens accrus en matière d'animaleries hébergeant des animaux axéniques ou mono-contaminés afin de progresser efficacement dans les nouveaux axes de recherche qui ont été présentés dans le domaine de l'étude de l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire intestinal.

- À titre personnel, l'année académique 2008-2009 a été marquée par plusieurs distinctions, en particulier :
  - élection comme Membre étranger de la société Max Planck ;
  - élection comme Membre étranger de l'Académie royale de Suède des Sciences et Technologies ;
  - attribution par l'*American Society for Microbiology* et l'*American Academy of Microbiology* du *GlaxoSmithKline International Scientist of the Year Award* pour l'année 2009.

### PROJETS SCIENTIFIQUES

L'année 2008-2009 a été particulièrement fructueuse, d'abord concernant l'obtention de financements qui m'ont permis de débiter un projet ambitieux sur le rôle des bactéries commensales dans le développement et l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire intestinal et la rupture de ces processus par les bactéries pathogènes. Ce projet fondamental comporte aussi une dimension de recherche appliquée avec la recherche de molécules stimulant l'expression de facteurs anti-infectieux innés de l'épithélium intestinal.

Ces trois financements sont en complémentarité pour soutenir un programme intégré d'ores et déjà en cours :

Un financement industriel par Danone Vitapole soutient un projet visant à identifier, initialement chez la souris, des bactéries spécifiques de la crypte intestinale, au niveau de l'intestin grêle et du colon. Les conditions extrêmes régnant dans la crypte du fait de la production de puissants facteurs anti-microbiens par l'épithélium nous font émettre l'hypothèse que des bactéries « extrémophiles » habitent ces zones et ont probablement été sélectionnées comme telles car elles permettent l'établissement d'une relation symbiotique avec l'hôte. Nous qualifions ces bactéries encore hypothétiques de « vrais probiotiques ». Nos résultats préliminaires, après avoir coloré les coupes intestinales par la technique de Whartin-Starry et mis au point une méthode de microdissection LASER des cryptes et de leur contenu, montrent qu'il existe une population bactérienne limitée mais constante dans la crypte colique, rare et inconstante dans la crypte de l'intestin grêle. Ceci soulève la question passionnante du rôle possible de la flore commensale de la crypte colique dans la carcinogénèse colique, en cas de déséquilibre ou de substitution. Nous avons débuté l'identification moléculaire de ces microorganismes par la mise au point de deux techniques complémentaires utilisant comme sondes des séquences conservées ou spécifiques des gènes codant pour la sous-unité 16S du ribosome bactérien : le PCR et le FISH. Nous espérons que l'année à venir nous apportera l'identification moléculaire, mais aussi la capacité de cultiver certaines de ces bactéries afin de pouvoir passer à une étape plus physiologique visant à confirmer que ces bactéries sont tout ou partie spécifiques de la crypte et

établisent une symbiose réelle avec l'axe épithélial intestinal. Le financement permet en particulier de couvrir le salaire d'une technicienne. L'autre partie de ce projet vise à identifier les conséquences de l'interaction avec les cellules épithéliales intestinales de bactéries commensales généralement considérées comme probiotiques tels les lactobacillus et les bifidobactéries. Nous avons mis au point un système de culture de cellules de la crypte murine (lignée mICcl2) à des stades variés de densité, polarité et différenciation et exposons ces cellules à des espèces représentatives des deux groupes mentionnés, en particulier *Lactobacillus casei* et *Bifidobacterium breve*. Ces deux espèces colonisent très précocement le nourrisson après le naissance lorsqu'il établit son microbiote. Nous avons pu démontrer par une combinaison d'approches moléculaires et cellulaires que *L. casei* affectait le cycle cellulaire, activait la différenciation et diminuait la programmation pro-inflammatoire de ces cellules épithéliales. Ce travail est plus particulièrement effectué par un chercheur post-doctoral japonais.

J'ai reçu fin 2008 l'annonce que mon projet intitulé HOMEOPITH visant à disséquer les mécanismes du développement et de l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire en présence de bactéries commensales ou pathogènes serait financé par l'*European Research Council* (ERC) à hauteur de 2 millions d'euros sur 4,5 ans dans le cadre des « Advanced Grants ». C'est un encouragement extraordinaire qui va me permettre d'assurer directement le développement de la thématique « interface flores commensales/pathogènes et développement de l'axe crypto-villositaire intestinal ». Ce projet est entré en action dès le mois de février et comporte plusieurs axes dont chacun est confié pour l'essentiel à un chercheur post-doctoral. Il comporte quatre grands axes :

1 – Développement d'un système de mutagénèse chez *Lactobacillus casei*, comprenant si possible une approche STM (*Signature Tagged Mutagenesis*) visant, à terme, à pouvoir identifier les effecteurs de ce commensal/probiotique affectant l'axe crypto-villositaire intestinal, ainsi que les facteurs permettant la colonisation de la niche intestinale par cette espèce modèle. Ce travail est réalisé en collaboration avec le groupe de Jean-François Cavin à l'Université de Bourgogne (Dijon). Il a d'ores et déjà commencé par le choix d'une souche référence sur des critères incluant l'absence de résistance aux antibiotiques, la transformabilité génétique et l'induction d'un profil transcriptionnel canonique sur des cellules intestinales en culture.

2 – Étude de l'interaction des cellules souches avec les produits microbiens (PAMPs) et nos bactéries modèles (*L. casei* et *S. flexneri* en particulier) ainsi que les microorganismes en cours d'identification dont nous espérons qu'ils représentent une flore spécifique de la crypte intestinale. Nous avons commencé avec des cellules ES dont nous venons de mettre au point les conditions de culture. Nous voulons voir si la cellule souche reconnaît le microbiote auquel elle est éventuellement exposée, comment elle y organise sa réponse, et si cette réponse comporte un effet sur l'engagement vers un ou plusieurs des lignages caractéristiques de l'épithélium intestinal. Inversement, si la cellule souche ne perçoit ou ne répond pas aux

bactéries ou à leurs composants, quelles sont les bases moléculaires de cette protection et sa signification ? Nous voulons très rapidement être en position de disposer de véritables cellules souches intestinales murines.

3 – Étude de l'effet du microbiote (global ou représenté par les bactéries modèles déjà citées) dans la dynamique du développement de l'axe cryptovillosoitaire. Ce travail va essentiellement s'efforcer au début de déchiffrer l'effet des microorganismes sur les grandes voies de différenciation de l'intestin tels Wnt et Notch. Il comportera des modèles cellulaires et des modèles de monocolonisation de l'intestin de souris axéniques. Ceci demande l'extension à l'Institut Pasteur de structures d'animaleries axéniques. Ce travail est réalisé par un chercheur post-doctoral en collaboration avec le D<sup>r</sup> Philippe Jay à l'institut de Génomique moléculaire de Montpellier.

4 – La dernière partie du projet est proche de thèmes déjà développés dans l'unité, à savoir l'étude de l'interface entre la bactérie et l'apex de la cellule épithéliale. Elle comporte trois grandes parties :

- L'étude des microconditions prévalant à la surface cellulaire et les mécanismes génétiques et moléculaires par lesquels la bactérie s'y adapte. 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, ce qui correspond essentiellement aux conditions rencontrées dans la lumière intestinale, mais acquiert de nouveau cette compétence en présence d'oxygène. Nous avons pu montrer que l'oxygène rétrodiffusait de la cellule épithéliale vers la lumière intestinale, permettant ainsi à la bactérie de récupérer sa compétence au site stratégique où elle doit envahir la cellule grâce à son TTSS fonctionnel (MARTEYN et coll., *Nature*, en révision). La suite de ce travail visera à préciser les conditions d'oxygénation tissulaires au cours de l'infection et comment elles affectent les propriétés pathogènes du microorganisme. Elle visera aussi à mettre en évidence le rôle d'autres facteurs anti-infectieux produits par les cellules épithéliales et myéloïdes au cours de l'infection, non tant sous l'angle de la bactéricidie que sous celui de l'altération de fonctions propres à la pathogénicité comme la sécrétion, la motilité bactérienne intracellulaire, la capacité à tuer les cellules cibles.

L'étude très précise des mécanismes de subversion des systèmes de défense cellulaire par *Shigella*. Nous avons démontré que la bactérie sauvage, grâce à l'injection dans les cellules, via le TTSS, d'effecteurs microbiens comme les protéines Osp et IpaH, était capable de supprimer trois composants essentiels de la réponse muqueuse : la production par l'épithélium des peptides anti-microbiens, ce qui permet à *Shigella* de coloniser profondément l'épithélium, jusque dans la crypte ; la production d'IL-8 qui assure le recrutement des polynucléaires neutrophiles et la production de CCL-20, bloquant ainsi le recrutement de cellules dendritiques (SPÉRADIO et coll., 2008, *J. Exp. Med.*). C'est donc à une véritable subversion des mécanismes intégrés de la défense anti-infectieuse de l'épithélium

intestinal que se livre *Shigella*. D'autres chimiokines/cytokines pro-inflammatoires sont d'ailleurs affectées. Nous avons par ailleurs observé que *Shigella* entraînait des modifications majeures du mucus. Ce sujet a démarré en collaboration avec un groupe de glycochimie de Lille.

La dernière partie consistera à étudier l'interaction de *Shigella* avec la bordure en brosse de l'apex cellulaire épithélial. Nous avons démontré que l'absence de villine, un composant majeur de la régénération de la bordure en brosse bloquait totalement les capacités invasives de *Shigella*. En collaboration avec le groupe de Sylvie ROBINE (Institut Curie) et de Françoise POIRIER (Institut Jacques Monod), nous allons étudier le rôle du microbiote dans la maturation de la cellule épithéliale, en particulier sa différenciation apicale. Nous étudierons aussi le rôle de la villine dans l'invasion ainsi que de la Galectin-3 qui est recrutée aux foyers d'entrée de *Shigella* et est maintenant démontrée être un facteur important de la mise en place de la polarité de la cellule épithéliale.

- J'ai reçu en fin d'année 2008 l'accord de l'Institut Pasteur pour un projet intitulé MAXIMMUN qui vise, pour l'essentiel, à précisément caractériser les mécanismes de la régulation transcriptionnelle, génétique et épigénétique, des gènes codant pour les facteurs anti-microbiens de l'épithélium intestinal, en comparaison des gènes codant pour les médiateurs de l'inflammation (IL-8, TNE, IL-6) et des gènes codant pour les facteurs de restitution (TGF $\beta$ , Mucines, Trefoil factors). Nous espérons trouver des éléments permettant d'induire une expression différentielle en combinant une analyse fondamentale des systèmes transcriptionnels et un criblage à haut débit de molécules permettant d'obtenir, sur une batterie de cellules rapportrices de chacun de ces gènes, le profil espéré : molécules anti-infectieuses (+++), molécules pro-inflammatoires (+/-), si possible molécules de restitution (+++). Ce criblage sera réalisé à l'Institut Pasteur de Corée, en collaboration avec le groupe de Thierry CHRISTOPHE. Les cellules rapportrices sont maintenant construites, plusieurs clones sont disponibles pour chacune d'entre elles qui doivent être maintenant validés pour s'assurer que le transgène est régulé génétiquement et épigénétiquement comme le gène sauvage. Ce point est essentiel. La construction de souris rapportrices a aussi été entamée en collaboration avec le groupe de Sylvie MÉMET à l'Institut Pasteur. L'objectif est de trouver des molécules exerçant un puissant effet stimulateur des défenses innées épithéliales dont le besoin se fait sentir dans de nombreuses situations cliniques : (1) infections entériques (voire respiratoires) itératives chez l'enfant dans les pays en voie de développement, amenant à des situations de dénutrition responsables de retards staturaux-pondéraux et psycho-moteurs, (2) translocations de microorganismes de la flore intestinale dans la circulation chez des patients aplasiques sous polychimiothérapie causant une septicémie souvent mortelle, (3) maladies inflammatoires de l'intestin, comme la maladie de Crohn, où un déficit des mécanismes anti-infectieux innés semblent faire partie de la physiopathologie. Dans toutes ces situations où les antibiotiques ont des limites, voire de sérieux inconvénients, la stimulation des mécanismes anti-infectieux innés apparaît comme une approche prometteuse.



- 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 ARBBE, Guy TRAN VAN NHIEU, Armelle PHALIPON et Régis TOURNEBIZE.

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 des régulateurs de l'immunité innée. Pour certains d'entre eux, nous avons pu non seulement identifier leurs cibles et mécanismes moléculaires d'action, mais aussi démontrer comment, *in vivo*, ils assurent la subversion de la barrière épithéliale intestinale. Ceci fait définitivement de *Shigella* un modèle d'étude de la manipulation du système immunitaire par un pathogène. Quatre découvertes clés dans ce domaine :

1 – OspG est une kinase bloquant l'ubiquitination de I- $\kappa$ B, OspF déphosphoryle Erk et P38 dans le noyau, régulant ainsi l'expression de gènes clés de l'immunité innée au niveau épigénétique, les protéines IpaH sont une nouvelle famille d'enzymes E3/ubiquitine ligases. Cette dernière propriété a été définie sur la base d'une étude de la structure d'une des 10 protéines IpaH réalisée en collaboration avec le *Canadian Genomic Consortium* à Toronto. L'ensemble de ces effecteurs régule le trafic des cellules immunitaires, polynucléaires neutrophiles et cellules dendritiques et, comme déjà mentionné, supprime l'expression par l'épithélium des principaux peptides anti-microbiens, les bêta-défensines.

2 – Nous avons précisé les mécanismes de sécrétion des effecteurs, démontré leur polarité initiale et découvert une nouvelle structure de la surface cellulaire, les micropodes, capables de capter les bactéries dans le milieu, de se rétracter activement et d'amener le corps bactérien à la surface de la cellule, permettant la mise en place du processus d'internalisation. Nous avons aussi montré le rôle essentiel de la kinase c-src dans l'extension des remaniements du cytosquelette cellulaire amenant à l'entrée efficace de *Shigella* dans la cellule épithéliale.

3 – 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. Dans le domaine de l'immunité acquise contre *Shigella*, nous avons aussi 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 au stade de production d'un lot GMP pour un essai clinique.

4 – Enfin, notre projet plus récent portant sur les diverses formes de l'infection pulmonaire par *Klebsiella* émerge avec l'identification de cibles originales dans l'appareil respiratoire pour *K. pneumoniae* et la caractérisation de la nature de la cellule clé (cellule de Mickulicz) du rhinosclérome, infection chronique des voies aériennes supérieures causée par *K. rhinoscleromatis*.

L'année écoulée a été marquée par la publication, suivant l'essai clinique et l'analyse de ses résultats, du premier essai de phase II d'un vaccin vivant oral atténué (Souche SC599), dirigé contre *S. dysenteriae* 1 ou bacille de Shiga, l'agent étiologique de la forme épidémique de la dysenterie bacillaire. La tolérance à SC599 est bonne et les résultats d'immunogénicité sont très encourageants. Sous réserve d'un essai de phase III à organiser en région de prévalence de la maladie, nous sommes sur le chemin de pouvoir offrir une prophylaxie contre les épidémies à très fort taux d'attaque et de mortalité qui surviennent assez régulièrement dans certaines zones du globe comme le golfe du Bengale, mais accompagnent aussi les grandes crises humanitaires : guerres civiles, camps de réfugiés. La gravité de ces situations est accentuée par l'extrême multirésistance aux antibiotiques des souches responsables.

#### PERSPECTIVES POUR L'ANNÉE 2009-2010

L'enseignement que je prévois de dispenser sera centré sur le principe et les conséquences de la symbiose microbes-animal. Cette notion a été introduite cette année, mais seulement présentée comme l'un des modes possibles d'interaction. Nous en envisagerons les bases fondamentales, étudiées également dans des systèmes modèles qui s'éloignent de l'homme et des primates supérieurs, car la complexité des processus justifie souvent de s'adresser à des modèles dits « alternatifs » comme la drosophile, le ver *Caenorhabditis* et le poisson zèbre. Il faut d'ailleurs savoir que l'un des processus de base de la vie sociale des communautés bactériennes, le *quorum sensing*, a été découvert chez le calamar... Ce cours sera illustré de séminaires spécialisés donnés par des experts francophones de renommée internationale. Afin de renforcer la présence d'étudiants à ces cours, j'ai contacté les professeurs responsables des principales écoles doctorales de Paris et Ile-de-France comportant de la microbiologie. Le programme et calendrier des cours leur a été fourni dès la fin du mois d'avril pour un début fin novembre. L'idée est que ce bloc de cours soit reconnu comme un « crédit » par les écoles doctorales intéressées.

En complément de cet enseignement, nous organiserons, en collaboration avec le Professeur Philippe Kourilsky, un symposium mixte, chaire d'Immunologie moléculaire – chaire de Microbiologie et maladies infectieuses, sur la vaccinologie. Nous avons décidé de placer ce symposium sous l'angle original de l'étude de l'apport de l'analyse des processus infectieux et de la réponse immunitaire de l'hôte dans le développement des vaccins de demain, en particulier pour des maladies complexes comme le SIDA, la tuberculose et le paludisme. Le concept sera : « comment apprendre de la nature pour faire mieux que la nature ? » Ce symposium se tiendra sur deux jours en avril 2010.

J'aimerais par ailleurs pérenniser l'idée d'un mini symposium, si possible annuel, sur l'imagerie cellulaire et tissulaire, gardant le thème de *seeing is believing*. La question est de savoir si nous sortons d'un thème centré sur l'infection et si nous en faisons de ce fait une réunion plus ouverte à l'ensemble des groupes du Collège

de France, voire au delà : ENS, Curie, ESPCI, Jacques Monod, Institut Cochin, par exemple. Une option alternative serait d'alterner les thèmes d'application de l'imagerie, gardant celle-ci, dans ses aspects de pointe, comme le thème central.

Concernant la recherche, je continuerai à amplifier les nouveaux thèmes de l'Unité, en particulier celui sur l'étude de la fonction du microbiote commensal dans le maintien de l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire intestinal, et de la rupture de cette homéostasie par les pathogènes. Je soutiendrai bien entendu les autres thèmes porteurs de l'Unité qui ont été reconnus comme prioritaire par l'AERES.

Je vais aussi proposer de coordonner un programme « vaccination contre les infections pédiatriques à *Shigella* et *E.coli* entérotoxigènes » dont l'appel d'offre par le 7<sup>e</sup> PCRD vient de sortir.

#### RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 2008-2009

##### *Articles originaux*

BHATTACHARYA S., BLACK R., BOURGEOIS L., CLEMENS J., CRAVIOTO A., DEEN J.L., DOUGAN G., GLASS R., GRAIS R.F., GRECO M., GUST I., HOLMGREN J., KARIUKI S., LAMBERT P.H., LIU M.A., LONGINI I., NAIR G.B., NORRBY R., NOSSAL G.J., OGRA P., **SANSONETTI P.J.**, VON SEIDLEIN L., SONGANE F., SVENNERHOLM A.M., STEELE D., WALKER R. Public health. The cholera crisis in Africa. *Science*, 2009 May 15, 324(5929), 885.

CORON E., FLAMANT M., AUBERT P., WEDEL T., PEDRON T., LETESSIER E., GALMICHE J.P., **SANSONETTI P.J.**, NEUNLIST M. Characterisation of early mucosal and neuronal lesions following *Shigella flexneri* infection in human colon. *PLoS ONE*, 2009, 4(3), e4713. Epub 2009 Mar 5.

CARNEIRO L.A., TRAVASSOS L.H., SOARES F., TATTOLI I., MAGALHAES J.G., BOZZA M.T., PLOTKOWSKI M.C., **SANSONETTI P.J.**, MOLKENTIN J.D., PHILPOTT D.J., GIRARDIN S.E. *Shigella* induces mitochondrial dysfunction and cell death in nonmyeloid cells. *Cell Host Microbe*, 2009 Feb 19, 5(2), 123-36.

PHALIPON A., TANGUY M., GRANDJEAN C., GUERREIRO C., BÉLOT F., COHEN D., **SANSONETTI P.J.**, MULARD L.A. A synthetic carbohydrate-protein conjugate vaccine candidate against *Shigella flexneri* 2a infection. *J Immunol*, 2009 Feb 15, 182(4), 2241-7.

MOUNIER J., POPOFF M.R., ENNINGA J., FRAME M.C., **SANSONETTI P.J.**, VAN NHIEU G.T. The IpaC carboxyterminal effector domain mediates Src-dependent actin polymerization during *Shigella* invasion of epithelial cells. *PLoS Pathog*, 2009 Jan, 5(1), e1000271. Epub 2009 Jan 23.

LAUNAY O., SADORGE C., JOLLY N., POIRIER B., BÉCHET S., VAN DER VLIET D., SEFFER V., FENNER N., DOWLING K., GIEMZA R., JOHNSON J., NDIAYE A., VRAY M., **SANSONETTI P.J.**, MORAND P., POYART C., LEWIS D., GOUGEON M.L. Safety and immunogenicity of SC599, an oral live attenuated *Shigella dysenteriae* type-1 vaccine in healthy volunteers: results of a Phase 2, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Vaccine*, 2009 Feb 18, 27(8), 1184-91. Epub 2009 Jan 9.

VIKLUND I.M., ASPENSTRÖM P., MEAS-YEDID V., ZHANG B., KOPEC J., AGREN D., SCHNEIDER G., D'AMATO M., OLIVO-MARIN J.C., **SANSONETTI P.J.**, VAN NHIEU G.T., PETTERSSON S. WAFL, a new protein involved in regulation of early endocytic transport at the intersection of actin and microtubule dynamics. *Exp Cell Res*, 2009 Apr 1, 315(6), 1040-52. Epub 2008 Dec 16.

SINGER A.U., ROHDE J.R., LAM R., SKARINA T., KAGAN O., DILEO R., CHIRGADZE N.Y., CUFF M.E., JOACHIMIAK A., TYERS M., **SANSONETTI P.J.**, PARSOT C., SAVCHENKO A. Structure of the Shigella T3SS effector IpaH defines a new class of E3 ubiquitin ligases. *Nat Struct Mol Biol*, 2008 Dec, 15(12), 1293-301. Epub 2008 Nov 9.

DE PONTUAL L., OVETCHKINE P., RODRIGUEZ D., GRANT A., PUEL A., BUSTAMANTE J., PLANCOULAIN S., YONA L., LIENHART P.Y., DEHESDIN D., HUERRE M., TOURNEBIZE R., **SANSONETTI P.J.**, ABEL L., CASANOVA J.L. Rhinoscleroma: a French national retrospective study of epidemiological and clinical features. *Clin Infect Dis*, 2008 Dec 1, 47(11), 1396-402.

SPERANDIO B., REGNAULT B., GUO J., ZHANG Z., STANLEY S.L. JR, **SANSONETTI P.J.**, PÉDRON T. Virulent Shigella flexneri subverts the host innate immune response through manipulation of antimicrobial peptide gene expression. *J Exp Med*, 2008 May 12, 205(5), 1121-32. Epub 2008 Apr 21.

FERNANDEZ M.I., REGNAULT B., MULET C., TANGUY M., JAY P., **SANSONETTI P.J.**, PÉDRON T. Maturation of paneth cells induces the refractory state of newborn mice to Shigella infection. *J Immunol*, 2008 Apr 1, 180(7), 4924-30.

CHAMEKH M., PHALIPON A., QUERTAINMONT R., SALMON I., **SANSONETTI P.J.**, ALLAOU A. Delivery of biologically active anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1ra in vivo by the Shigella type III secretion apparatus. *J Immunol*, 2008 Mar 15, 180(6), 4292-8.

HACHANI A., BISKRI L., ROSSI G., MARTY A., MÉNARD R., **SANSONETTI P.J.**, PARSOT C., VAN NHIEU G.T., BERNARDINI M.L., ALLAOU A. IpgB1 and IpgB2, two homologous effectors secreted via the Mxi-Spa type III secretion apparatus, cooperate to mediate polarized cell invasion and inflammatory potential of Shigella flexneri. *Microbes Infect*, 2008 Mar, 10(3), 260-8. Epub 2007 Dec 8.

MAZURKIEWICZ P., THOMAS J., THOMPSON J.A., LIU M., ARBIBE L., **SANSONETTI P.J.**, HOLDEN D.W. SpvC is a Salmonella effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases. *Mol Microbiol*, 2008 Mar, 67(6), 1371-83. Epub 2008 Feb 15.

CLAIR C., COMBETTES L., PIERRE F., **SANSONETTI P.J.**, TRAN VAN NHIEU G. Extracellular-loop peptide antibodies reveal a predominant hemichannel organization of connexins in polarized intestinal cells. *Exp Cell Res*, 2008 Apr 1, 314(6), 1250-65. Epub 2008 Jan 11.

BODY-MALAPEL M., DHARANCY S., BERREBI D., LOUVET A., HUGOT J.P., PHILPOTT D.J., GIOVANNINI M., CHAREYRE F., PAGES G., GANTIER E., GIRARDIN S.E., GARCIA I., HUDAULT S., CONTI F., **SANSONETTI P.J.**, CHAMAILLARD M., DESREUMAUX P., DUBUQUOY L., MATHURIN P. NOD2: a potential target for regulating liver injury. *Lab Invest*, 2008 Mar, 88(3), 318-27. Epub 2008 Jan 28.

SADORGE C., NDIAYE A., BEVERIDGE N., FRAZER S., GIEMZA R., JOLLY N., JOHNSON J., LIDDY H., COSGROVE C.A., ALLAVENA P., MANTOVANI A., BÉCHET S., FONTAINE-THOMPSON A., GRIFFIN G.E., DUPONT F., **SANSONETTI P.J.**, LEWIS D.J. Phase 1 clinical trial of live attenuated Shigella dysenteriae type-1 DeltaicaA Deltaent Deltaefp DeltastxA:HgR oral vaccine SC599 in healthy human adult volunteers. *Vaccine*, 2008 Feb 13, 26(7), 978-87. Epub 2007 Dec 3.

JAUMOILLÉ V., FRANCETIC O., **SANSONETTI P.J.**, TRAN VAN NHIEU G. Cytoplasmic targeting of IpaC to the bacterial pole directs polar type III secretion in Shigella. *EMBO J*, 2008 Jan 23, 27(2), 447-57. Epub 2008 Jan 10.

*Revues*

RAY K., MARTEYN B., **SANSONETTI P.J.**, TANG C.M. Life on the inside: the intracellular lifestyle of cytosolic bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2009 May, 7(5), 333-40.

GERMANI Y., **SANSONETTI P.J.** Neglected diseases: it is better to respond to future challenges--the model of a pilot North-South program on enteric infections integrating many research components]. *C R Biol*, 2008 Dec, 331(12), 973-81. Epub 2008 Oct 10. Review. French.

PHALIPON A., MULARD L.A., **SANSONETTI P.J.** Vaccination against shigellosis: is it the path that is difficult or is it the difficult that is the path? *Microbes Infect*, 2008 Jul, 10(9), 1057-62. Epub 2008 Jul 10.

**SANSONETTI P.J.** Host-bacteria homeostasis in the healthy and inflamed gut. *Curr Opin Gastroenterol*, 2008 Jul, 24(4):435-9.

PÉDRON T., **SANSONETTI P.J.** Commensals, bacterial pathogens and intestinal inflammation: an intriguing ménage à trois. *Cell Host Microbe*, 2008 Jun 12, 3(6), 344-7.

**SANSONETTI P.J.** Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal barrier by *Shigella*: the yin and yang of innate immunity. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, 2006 Mar, 17(2), 117-9.

**SANSONETTI P.J.** War and peace at the intestinal epithelial surface: an integrated view of bacterial commensalism versus bacterial pathogenicity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2008 Apr, 46 Suppl 1, E6-7.

**SANSONETTI P.J.** Molecular and cellular bases of bacterial virulence: guessing the future episodes of an ongoing saga. *Res Microbiol*, 2008 Jan-Feb, 159(1), 59-61. Epub 2007 Nov 12.

*Ouvrages et chapitres d'ouvrages*

**SANSONETTI P.J.** Des Microbes et des Hommes. *Leçon inaugurale* n° 200, Editions Fayard/Collège de France.

**SANSONETTI P.J.**, BERGOUNIOUX J. Shigellosis in Harrison's Principles of Internal Medicine. 17th Edition. FAUCI et al., Edts, pp. 962-965, 2008.

PARSOT C., **SANSONETTI P.J.** Evolution of *Shigella* and enteroinvasive *Escherichia coli*. In Evolutionary Biology of bacterial and fungal pathogens. Baquero, Nombela, Cassel, Gutiérrez-Fuentes Edts. *ASM Press*, pp. 421-43, 2008.

TRAN VAN NHIEU G., **SANSONETTI P.J.** The role of phagocytic cells during *Shigella* invasion of the colonic mucosa. in « The multiple faces of the phagocyte ». ASM Press. Eds. David Russell and Siamon Gordon (In press).

TRAN VAN NHIEU G., **SANSONETTI P.J.** *Shigella*, a not so accidental invador. in « Intracellular niches of pathogens ». Wiley / VHC book. Eds. Albert Haas and Ulrich Schaible (In press).

## ACTIVITÉS EN TANT QU'ÉDITEUR DE JOURNAUX SCIENTIFIQUES INTERNATIONAUX

Durant l'année 2008-2009, 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).

J'ai par ailleurs participé au lancement en 2009, en tant que « senior editor », d'un nouveau journal de la série EMBO : *EMBO Molecular Medicine*. Ce journal très attendu avait été discuté depuis plusieurs années alors que Frank GANON était Directeur de l'EMBO. Je m'occupe dans ce journal de la section *Molecular Medicine and Infectious Diseases* et vient d'ailleurs d'écrire un éditorial afin d'assurer le cadrage du champ des articles attendus dans ce journal dans notre discipline de microbiologie et maladies infectieuses.

#### ORGANISATION DE RÉUNIONS SCIENTIFIQUES

J'ai été amené à organiser plusieurs réunions scientifiques nationales et internationales au cours de l'année 2008-2009.

#### *Cours, organisation, participation à des réunions internationales*

#### **2008**

##### 1) Cours :

- Cours SFI, Carry le Rouet, 12-14/03 :
  - 1 - « Homéostasie épithéliale intestinale en présence de la flore commensale et ses ruptures : Guerre et Paix aux surfaces muqueuses »
  - 2 - « Rupture, invasion et destruction inflammatoire de l'épithélium intestinal par *Shigella*, le Yin et le Yang de l'immunité innée »
- *Summer School, Helmholtz International Research School, Quedlinburg, 19-21/05* : « Commensal and pathogenic bacteria in action : war and peace at mucosal surface » et « Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal epithelium by *Shigella*, the Yin and the Yang of innate immunity »

##### 2) Réunions scientifiques internationales

- Co-organisateur et orateur : *Joint Pasteur - WEHI Meeting on imaging*, Melbourne, 28-01/03-02 : « Rupture, invasion and inflammatory destruction of the intestinal epithelium by *Shigella*, the Yin and the Yang of innate immunity »
- Orateur : *Genome 2008 Institut Pasteur*, 8-11/04 : « *Shigella's* tool box for tinkering with the host immune response ».
- *Keynote Speaker* : *Digestive Disease Center (DDC) Symposium, Stanford, 3/05* : « *Shigella's* tool box for tinkering with the host immune response ».
- Orateur : *ISF Sepsis International Forum, ISF 7th Annual Summer Colloquium on Systems Biology and Molecular Diagnostics in Sepsis*, Chapel Hill (NC), 12-14/05 : « Lessons learnt from the co-volution between the mammal innate immune system and the microbial community ».
- *Keynote Lecturer, Presidents' Symposium* : *ASM General Meeting, Boston, 4-8/06* : « Pathogenic mechanisms for avoidance of host recognition ».
- Orateur : *HHMI 2008 Meeting of international Research Scholars, Lisbonne, 19-22/06* : « *Shigella's* tool box for tinkering with the host immune response ».
- Orateur : *IUMS 2008, Istanbul 7-9 /08* : « Subverting innate immune defenses : the survival strategy of *Shigella* ».
- Orateur : *Inter Academy Meeting, Berlin 18-20/09* : « Nosocomial infections and host susceptibility ».

– *Keynote Lecturer, 25th Anniversary of the Louis-Jeantet Prize in Medicine* : Fondation Louis Jeantet, Geneva, 7-9/10.

– Co-organisateur et orateur de la 7<sup>e</sup> Conférence Louis Pasteur : Conférence Louis Pasteur - 120 ans Institut Pasteur, Paris, 10-13/11 : « Stratégies of *Shigella* to survive at mucosal surfaces : the Yin and the Yang of innate immunity ».

– *Keynote Lecturer* : « 100th Anniversary of the Nobel Prize of Paul Ehrlich and Elie Metchnikoff », Berlin, 12/12 : « Innate immunity – general aspects (in reminiscence of Paul Ehrlich) ».

### 3) Séminaires

– Orateur : Medical School, Hannover, Braunschweig, Séminaire, 29-30/04.

– University of Calgary, Visite et Séminaires, 4-6/06.

– University of Toronto, Visite et Séminaire, 7-10/09 : « Bacterial pathogenesis : time for a new agenda ? Some consideration from the *Shigella* model ».

## 2009

### 1) Cours

– Cours 1 University of Hong-Kong – Institut Pasteur Cell Biology Course, Hong Kong, 4-8/04 : « The cell biology of *Shigella* invasion ».

### 2) Réunions scientifiques internationales

– Animation de débat : BIOVISION, Lyon, 8-9/03 : « Managing urban epidemics, Infectious Diseases ».

– 109th General Meeting of the American Society for Microbiology, GSK International Scientist of the Year Award, Philadelphia, 16-21/05 : « Meeting challenges at epithelial cell surface: learning lessons from *Shigella* ».

– Seminar Institut Gustave Roussy, 03/06 : « Epithelial invasion by *Shigella* : the Yin and the Yang of innate immunity ».

### 3) Séminaires

– Séminaire Sanger Institute, Cambridge, UK, 20/03. « Molecular and cellular strategies of *Shigella* survival on epithelial surfaces : the Yin and Yang of innate immunity »

## BREVETS ET DEMANDES D'INVENTION 2007-2008

Use of the catalytic domain of bacterial E3 ubiquitin ligases to target eukaryotic proteins for degradation by the proteasome DI (2007) 207006

Patent applications: USA = US685122

Cell-based beacon barcode reporter. DI (2007) 207007

Patent applications: EU072912938

Emergency diagnostic of bloody diarrhea. DI (2005) 20504B.

Patent applications : before Sept 12, 2008

This includes protection of a series of monoclonal antibodies for serotype-specific or generic diagnosis of dysentery

Oligosaccharides specific for serotypes 3 (3a & 3b) and X of *Shigella flexneri*. DI (2007) 207023

Patent applications: in progress

New methods for selecting compounds useful for treating and/or preventing microbial infection. DI (2008) 08305094.8-2402

Patent application : in progress

Design of functional mimics of polysaccharide antigens as vaccine components or diagnostic tools: *Shigella flexneri* 2a. DI (2008) 208034

Patent applications: in progress

#### RAPPORTS D'ÉVALUATION DE L'UNITÉ PAR L'AERES

### 1 – Dans le cadre de l'évaluation de l'Unité INSERM 786 en novembre 2008

#### Équipe 1 (Sansonettti)

The overall scientific quality of this laboratory is outstanding. It has reached and in some cases surpassed the goals proposed in the previous evaluation. In the past 5 years this laboratory has been at the leading front of bacterial pathogenesis research in the fields of both cellular microbiology and host immune response. The team has significantly contributed to the advancement of bacterial pathogenesis research by pursuing novel projects, such as the epigenetic regulation of pro-inflammatory genes, which are proving to be common themes in the control of the immune response by many pathogens. This innovative force has resulted in several publications in prestigious journals, such as *Science*, *Nature Immunology*, *Journal of Experimental Medicine* and *Immunity*, several patents and numerous presentations at highly regarded scientific meetings.

The proposed research projects for the next 5 years are ambitious, original and will further advance the field of microbial pathogenesis. Two most promising themes are emerging: first, the characterization of commensal bacteria populations in the intestine, particularly the crypt; this project, which is presently highly debated among the scientific community, will study their impact on the developmental biology of the intestinal tissue as well as understand their interplay with bacterial pathogens, namely *Shigella*. Second, the study of epigenetic regulation of immune innate genes during *Shigella* infection should provide unifying ideas on the subversion of the immune system by pathogens and will continue to aid the development of new vaccine and treatment strategies. The development of this project is also based on strong collaborations with well established “epigenetic



laboratories". In addition increased emphasis is also being placed on the infection of the lung by *Klebsiella pneumonia*, a project that will involve sophisticated imaging technologies.

The team has been very successful in training and promoting young research scientists, as demonstrated by the numerous post-doctoral and senior researchers that now pursue their own independent research careers. The review committee was genuinely impressed by the quality and breadth of the work presented. The perspectives of future research in the team concerning five major areas, i.e. search for type III secretion effectors, epigenetic modulation, adaptive immunity, the new *K. pneumonia* model and gut homeostasis and colonization is likely to provide fascinating and rewarding new insights. The intended addition of studies involving axenic mice would be costly and time consuming; however, the committee believes such studies could add a crucial dimension to the understanding of infections *in vivo* and supports this risky effort as well. Altogether, the intended research approach of the team is promising and important new insights and discoveries are likely to result from the team's activity.

## **2 – Dans le cadre de l'évaluation du département de Biologie cellulaire et infections, Institut Pasteur (2008)**

This Unit has displayed outstanding productivity in the years 2004-2008 (research findings published in *Nature Immunology*, *Science*, *Nature Cell Biology*, and the like). The Unit and its Director are rightly recognized as international leaders in their field, cellular microbiology. Their current project stems logically from their research achievements in previous years, accommodating new areas of interest that have emerged. Five topics of research are proposed, dealing with the interaction of bacteria (two model systems: *Shigella* and *Klebsiella*) with the host, and the commensal flora; taken together, they tackle both basic and applied aspects of research. The group's research is very novel and creative, addressing issues that are 'hot' topics in host-pathogen interactions, including the ability of the microorganisms to affect host gene transcription via epigenetic modifications, and the capacity of bacterial effectors to interfere with innate and adaptive immunity. The Unit is composed of subgroups, each responsible for a different topic, and each led by very talented investigators who are generously guided by the Director toward scientific independence. This attitude fosters the development of highly motivated, independent investigators, as attested by several 'spinoffs' from the group observed in recent years. The different investigators also contribute to fundraising activities. In this respect, the Unit has been very successful in being awarded both internal and external grants, including a recent ERC advanced grant awarded to the Unit Director. Remarkable is the ability of the Unit Director to continue to approach new areas of research with great enthusiasm and professionalism. The committee also recognized another very strong point in the

'translational' aspect of the research aimed at the development of *Shigella* vaccines (both traditional and glyconjugate-based).

It is foreseen that the Unit will continue to be highly productive in the coming four years.

Scientifically speaking, the Unit is very well developed, and the projects being undertaken are clearly defined. Hence there are no special improvements to be recommended.

The Unit recently initiated a new area of research funded by the ERC, on the role of commensals in protecting the host against infection. For this purpose, the Unit will need more space in the animal facility for germ-free breeding, and for performance of experiments with reconstituted mice. The committee recognized this requirement, and proposes increased allocation of space in the germ-free facility, and specialized personnel to accommodate this request. Similarly, the Unit will need more advanced imaging technologies, including access to multiphoton microscopy for infected animals.

Outstanding performance, at the cutting edge of international standards.