

## **Microbiologie et maladies infectieuses**

M. Philippe SANSONETTI, professeur

Ce rapport d'activité annuel de la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses comprend un rapport sur l'enseignement, un rapport sur la recherche et se conclura par des perspectives concernant ces deux domaines pour l'année académique 2012-2013. Cette chaire veut offrir une vision renouvelée de la microbiologie et des maladies infectieuses en présentant les travaux les plus fondamentaux en microbiologie, le cœur de la discipline, ainsi que sur ses interfaces, particulièrement avec la biologie cellulaire et l'immunologie, qui sont très fécondes de découvertes originales. Sur ce socle fondamental sont présentés les développements récents concernant les maladies infectieuses : mécanismes physiopathologiques et immunopathologiques, applications dans le domaine du diagnostic, de l'épidémiologie, de la thérapeutique et de la prévention, en particulier vaccinale. Chaque cours est illustré par un séminaire développant un thème en rapport, donné par un(e) scientifique francophone incontournable du domaine. Un symposium international en anglais clôt le programme annuel.

### ENSEIGNEMENT : COMMENT LES MICROBES PATHOGÈNES PRENNENT LE CONTRÔLE DE L'HÔTE

Le 20 novembre 2008, j'avais donné ma leçon inaugurale intitulée *Des microbes et des hommes*. Elle comportait trois parties principales qui affichaient ce que seraient les grands thèmes de mon enseignement pour les premières années : (1) le monde microbien qui nous environne, commensaux et pathogènes ; (2) les mécanismes moléculaires et cellulaires des infections ; (3) enfin les grands défis du contrôle des maladies infectieuses avec un plaidoyer fort pour le rôle que doit y jouer la recherche.

Les cours 2011-2012 se sont déroulés de début décembre à début février. Le titre de cette session était : comment les microbes pathogènes prennent le contrôle de l'hôte. Le concept était résumé dans une citation mise en exergue, tirée de *Un mathématicien aux prises avec le siècle* de Laurent Schwartz : « On ne peut pas avancer si on n'est pas subversif. » Il consistait à envisager comment les

microorganismes pathogènes sont capables d'assurer la subversion des mécanismes moléculaires intimes permettant aux cellules impliquées dans la réponse immunitaire innée et adaptative d'assurer leurs fonctions de défense.

L'ensemble de ces cours est disponible sur le site Internet du Collège de France (<http://www.college-de-france.fr>), en vidéo et sous forme de fichiers PDF téléchargeables comportant des schémas pertinents et l'essentiel des références à jour.

L'irruption d'un microorganisme pathogène au sein des tissus et organes de l'hôte représente un danger en réponse auquel s'est développé le système immunitaire. La réponse à ce danger infectieux est d'abord *générique*, c'est-à-dire la *réponse innée* s'exprimant largement sous forme d'inflammation en réponse à l'activation de récepteurs reconnaissant des motifs moléculaires propres au monde microbien et plus généralement des molécules de l'hôte produites en situation de danger. *La réponse immunitaire est aussi adaptative*, c'est-à-dire *spécifique*, d'antigènes exprimés par les pathogènes. Elle assure la complétion de l'éradication de l'agent infectieux entamée par la réponse innée et la protection de l'hôte contre une infection subséquente par ce même agent. De la qualité et de l'intensité de la réponse immunitaire innée va dépendre l'orientation et l'efficacité de la réponse immunitaire adaptative.

La virulence des microorganismes pathogènes a été jusqu'à présent largement analysée sous l'angle du dialogue moléculaire engagé par les facteurs de pathogénicité microbiens avec les cellules de l'hôte, aboutissant à la subversion des grandes barrières de l'organisme capables de faire obstacle à la progression du microorganisme agresseur : adhésion, invasion, mort cellulaire sont les thèmes dominant de ce qu'il est convenu d'appeler *la microbiologie cellulaire*. Les études récentes montrent cependant qu'il convient d'ajouter à la panoplie de ces facteurs de pathogénicité des molécules capables d'assurer *la subversion des réponses immunitaires*, non seulement innées, mais aussi adaptatives. Certains pathogènes bactériens, viraux et parasitaires sont en effet passés maîtres dans l'art du camouflage, voire de la manipulation des voies de signalisation clés des réponses immunitaires. *L'immunomanipulation/immunosubversion* fait donc intégralement partie des stratégies de pathogénicité par le biais d'effecteurs moléculaires d'une extrême sophistication faisant souvent appel à des activités enzymatiques : protéases, kinases, phosphatases, ubiquitine-transférases et déubiquitinasés, etc. – un arsenal de ressources phénoménal construit à l'aune d'une longue *co-évolution hôte-pathogènes*. Ces facteurs et leurs cibles souvent inattendues représentent par ailleurs une source encore non exploitée de cibles innovantes en thérapeutique anti-infectieuse, anti-inflammatoire et immunomodulatrice, et en vaccinologie.

L'enseignement 2011-2012 de la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses a abordé sous forme de cours et de séminaires par d'éminents experts du domaine l'ensemble de ces aspects de manipulation de l'hôte par les pathogènes. Il a par ailleurs été illustré par un symposium sur l'imagerie des processus infectieux, en particulier dans le contexte de l'immunomanipulation.

### **Contrôle du cytosquelette cellulaire par les pathogènes : invasion et motilité**

Le premier cours a repris l'historique des travaux ayant permis de montrer que certaines toxines bactériennes, particulièrement issues de *Clostridium* (mais pas exclusivement), interféraient avec la dynamique de la nucléation et de la polymérisation

de l'actine, ces travaux ayant d'ailleurs permis de découvrir le rôle fondamental des petites GTPases de la famille Rho comme commutateurs moléculaires des grandes étapes de la dynamique de l'actine, car ces molécules (Rho, Rac et Cdc42) sont les cibles favorites de modifications post-traductionnelles par ces toxines. Ce que l'on appelle communément la microbiologie cellulaire s'est largement créé à l'interface de la toxinologie microbienne et de la biologie cellulaire. Depuis ces travaux pionniers des années 80, le champ d'investigation s'est considérablement élargi et on a montré que de nombreuses bactéries pathogènes sont capables d'altérer le cytosquelette cellulaire, par exemple en cas de nécessité d'entrer dans la cellule, d'interférer avec l'adhésion cellulaire. De nouveaux effecteurs sécrétés ou injectés dans les cellules par des systèmes de sécrétion dédiés sont régulièrement identifiés.

### **Comment des toxines bactériennes atteignent le cytoplasme : le sanctuaire de la cellule**

Ce cours a été suivi d'un séminaire intitulé : « Comment des toxines bactériennes atteignent le cytoplasme : le sanctuaire de la cellule » donné par le Pr Gisou Van der Goot (EPFL, Lausanne), spécialiste internationale de toxinologie moléculaire et cellulaire qui a « disséqué » étape par étape les stratégies empruntées par les toxines bactériennes pour passer du compartiment d'endocytose où elles sont piégées de par leurs mécanismes d'entrée vers le cytosol, seul environnement dans lequel elles peuvent exprimer leurs fonctions.

### **La vie, la mort, le cycle**

Le second cours m'a permis de traiter des mécanismes de subversion par les virus du cytosquelette cellulaire (actine et microtubules) et de grandes fonctions cellulaires comme le cycle et l'équilibre vie-mort. Bien que relativement familier du domaine, j'ai pu réaliser à cette occasion à quel point ce champ avait rapidement progressé ces dernières années, tant chez les virus à gros génome ADN (Herpes, Pox), que chez les virus ARN.

### *Escherichia coli : l'ennemi de l'intérieur ?*

Le séminaire associé à ce cours et intitulé : « *Escherichia coli* : l'ennemi de l'intérieur ? » a été donné par le Pr Éric Oswald (INRA, INSERM & École nationale vétérinaire, Toulouse), un spécialiste des « cyclomodulines », une large famille de toxines régulant, par des activités enzymatiques variées, le cycle de la cellule infectée. C'est particulièrement le cas de la colibactine qu'il a découverte il y a quelques années avec son groupe. Ce séminaire a permis de montrer à quel point bactéries et virus pathogènes partageaient des stratégies communes pour ce qui concerne la subversion de grandes fonctions cellulaires comme le cycle.

### **Subversion de l'immunité - (1) les bactéries**

Le troisième cours m'a permis de faire un point très exhaustif sur les stratégies des bactéries pathogènes qui leur permettent d'altérer les réponses immunitaires de l'hôte. Une grande partie des exemples traités a concerné la manipulation de la

réponse innée, particulièrement de l'inflammation, dont le caractère puissamment bactéricide a sans doute représenté une pression sélective pour l'acquisition et le maintien de gènes codant pour des effecteurs à puissante activité anti-inflammatoire. En fait, il s'avère que la capacité de manipuler l'inflammation est une des caractéristiques fondamentales des bactéries pathogènes, ce qui met en valeur l'existence d'une véritable tension antagoniste de type Yin & Yang où le pathogène utilise et « antagonise » à la fois l'inflammation pour assurer le succès de son offensive infectieuse. Dans de nombreux cas, cette manipulation est due à des effecteurs sécrétés ou injectés par la bactérie qui assurent des modifications post-traductionnelles (phosphorylation/déphosphorylation, ubiquitination, etc.) ciblées sur des molécules clés des cascades de signalisation pro-inflammatoires comme la voie NF-kappaB et la voie des MAPKinases. Des données récentes indiquent aussi l'existence d'effecteurs altérant la réponse adaptative.

*La chorégraphie des réponses immunitaires et sa subversion par les pathogènes*

Ce cours a été complété par un séminaire de Philippe Bousso (Institut Pasteur), un expert de l'analyse dynamique par imagerie du trafic des cellules du système immunitaire. Ce séminaire intitulé « La chorégraphie des réponses immunitaires et sa subversion par les pathogènes » a montré à quel degré de résolution il était possible maintenant d'étudier le trafic et les interactions des cellules du système immunitaire, particulièrement les lymphocytes T et les cellules dendritiques. Le microscope biphotonique est devenu l'outil incontournable de ces approches d'analyse intravivante. Ces méthodes fournissent une base exceptionnelle pour étudier comment les pathogènes perturbent la chorégraphie pourtant bien établie des cellules du système immunitaire.

**Subversion de l'immunité - (2) les virus**

Le quatrième et cinquième cours se sont intitulés : « Subversion de l'immunité – (2) les virus ». Ce furent le pendant viral de l'immuno-subversion bactérienne traitée dans le cours précédent. Cours complexe car autant les stratégies bactériennes, bien que diverses, restent relativement dans le cadre de mécanismes moléculaires assez communs d'un pathogène à l'autre, en particulier chez les bactéries à Gram négatif, autant les stratégies virales sont d'une infinie variété et d'une immense complexité. J'ai donc dû faire deux cours et non un seul sur ce sujet et ai malgré cela dû être sélectif. J'ai regroupé les grandes stratégies d'immunomanipulation : altération de la présentation des antigènes viraux, induction de la mort apoptotique des cellules effectrices, protection contre la cytotoxicité des cellules NK, blocage de la synthèse des interférons de type 1. J'ai ensuite reclassé les virus en fonction de ces stratégies et ai fait le bilan des effecteurs et mécanismes connus. L'ensemble de ce gros travail de revue et de synthèse est disponible sous forme de fichier PDF sur le site Internet de la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses.

*Le VIH pirate la cabine de pilotage du système immunitaire*

Ce cours a été efficacement illustré par un séminaire portant sur « Le VIH pirate la cabine de pilotage du système immunitaire », donné par le Dr Anne Hosmalin

(INSERM, Institut Cochin), experte internationale dans l'étude des perturbations de la réponse lymphocytaire T et de la fonction des cellules dendritiques par le VIH.

### *Peau et immunité anti-palustre*

Le cinquième cours a été suivi d'un séminaire de parasitologie donné par le Dr Robert Ménard (Institut Pasteur), grand spécialiste de la physiopathologie du paludisme et en particulier des étapes précoces du cycle de *Plasmodium* chez le mammifère hôte. Ce séminaire intitulé « Peau et immunité anti-palustre » a permis de révéler les stratégies ultraprécoces d'engagement des cellules immunitaires de l'hôte suivant l'inoculation intra-cutanée du trophozoïte par l'anophèle et les étapes secondaires du développement intra-hépatique de ce même sporozoïte. Ce travail a permis de définir certaines étapes inattendues de contrôle immunitaire du développement du parasite chez l'hôte et indique de possibles stratégies vaccinales originales.

### **Les vaccins à venir : nouveaux besoins, nouveaux concepts, nouvelles approches, quel paradigme vaccinal pour le XXI<sup>e</sup> siècle ?**

Le sixième cours devait initialement porter sur les causes infectieuses des cancers, mais voyant la longueur et la complexité de la thématique choisie sur l'immunosubversion par les pathogènes, j'ai préféré modifier le thème de ce dernier cours et, pour rester dans le contexte de la relation hôte-pathogène vue sous l'angle de la réponse immunitaire, j'ai donné un cours sur la vaccination. Au fond l'idée qui a prévalu fut : comment peut-on contrer les stratégies subversives des bactéries et virus pathogènes contre le système immunitaire en développant des vaccins nouveaux ? D'où le titre de ce cours : « Les vaccins à venir : nouveaux besoins, nouveaux concepts, nouvelles approches, quel paradigme vaccinal pour le XXI<sup>e</sup> siècle ? »

### *Helicobacter pylori, une bactérie à l'origine de cancers gastriques*

J'ai cependant gardé, afin que la thématique « cancer et agents infectieux » persiste dans l'enseignement de cette année, un séminaire donné par le Dr Hilde de Reuse (Institut Pasteur) intitulé : « *Helicobacter pylori*, une bactérie à l'origine de cancers gastriques ». Une des spécialistes de ce domaine a déchiffré les mécanismes moléculaires complexes par lesquels une bactérie comme *Helicobacter pylori* s'adapte à son hôte et engage avec lui un processus chronique de colonisation/infection dont certains aspects du *trade off* peuvent engager l'activation de voies oncogènes.

## COLLOQUES

### **Colloque Charles Nicolle**

Ce colloque, organisé le 16 décembre 2011, fut le premier d'une série qui auront lieu annuellement, co-organisés par la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses et la Société française de microbiologie (SFM) dans le cadre de sa section de Pathogénicité microbienne.

L'objectif est de faire connaître les travaux d'excellence de jeunes chercheurs français et étrangers travaillant dans des laboratoires français, essentiellement thésards et post-doctorants. Le critère de sélection est simple : avoir publié dans l'année écoulée, en premier ou dernier auteur, un article sur le thème de la microbiologie fondamentale et des interactions microbes-cellules/hôtes dans un journal scientifique à très fort impact. Les huit chercheurs ont été « chaperonnés » par deux chercheurs internationalement reconnus pour des contributions exceptionnelles, qui ont donné une *keynote lecture*. L'un, David Holden (Imperial College, Londres), a fait le point sur les travaux de son groupe sur la subversion des compartiments cellulaires par *Salmonella*. L'autre, Didier Trono (EPFL, Lausanne), a présenté les travaux de son groupe sur les mécanismes de surveillance et de contrôle des rétrovirus endogènes présents dans le génome des mammifères. Les présentations des jeunes chercheurs ont été d'une exceptionnelle qualité et originalité, couvrant des domaines divers mais très cohérents de la bactériologie et de la virologie cellulaires.

Des avancées récentes spectaculaires ont ainsi pu être présentées. Le matin : l'identification du récepteur du méningocoque à la surface de l'endothélium vasculaire, la régulation de la fonction de l'appareil de sécrétion essentiel à la pathogénicité de *Shigella* par l'oxygène, la découverte d'un complexe moléculaire assurant la régulation épigénétique de l'expression de l'interféron dans les cellules infectées par *Listeria*, et la caractérisation du système CRISPR/Cas qui assure la protection du génome des archéobactéries.

L'après-midi : la découverte de « biofilms » viraux facilitant l'infection cellulaire, la dissection, sur des bases structurales, du mode d'action des protéines fusogènes des virus, la découverte d'un mécanisme accéléré de dissémination de cellule à cellule du virus de la vaccine, et la découverte de mutations dans TRAF3 à l'origine des encéphalites herpétiques.

Ce colloque, dédié à Charles Nicolle, prix Nobel, professeur au Collège de France de 1932 à 1936 et théoricien visionnaire de la notion d'émergence des maladies infectieuses, répond à la vocation de la chaire de Microbiologie et maladies infectieuses et de la SFM de promouvoir la connaissance des travaux d'excellence en microbiologie et des chercheurs qui les réalisent.

### *Seeing is believing (2) : Superresolution meets superbugs*

Point d'orgue de l'enseignement 2011-2012, un symposium en anglais, *Seeing is believing (2) : superresolution meets superbugs*, s'est tenu le 4 juin 2012 dans l'amphithéâtre Marguerite de Navarre. Guy Tran Van Nhiu (Collège de France) et Régis Tournebize (Institut Pasteur) ont activement participé à définir les objectifs de ce symposium et à en choisir les orateurs participant.

### *A vision of cell infection at superresolution*

La session du matin illustre les progrès réalisés en matière de « super-résolution » en imagerie cellulaire. La « barrière optique » en matière de résolution est de 200 nm. Il existe donc un fossé entre ce niveau maximum de résolution imposé par les lois fondamentales de l'optique et celui de la microscopie électronique qui est de l'ordre du nanomètre, c'est-à-dire de l'ordre de résolution d'une molécule. Il

serait pourtant essentiel de combler ce fossé car l'incursion de la microscopie photonique dans cette zone y apporterait sa flexibilité (sondes multicolores, observation tri-dimensionnelle, interactions moléculaires (FRET), imagerie en temps réel), toutes propriétés essentielles à l'analyse fine des interactions moléculaires présidant au développement des processus infectieux. Un certain nombre de nouveaux outils optiques, éventuellement combinés au traitement mathématique des images (STED, PALM), amènent maintenant régulièrement la résolution aux alentours de 10 nm. Ceci représente déjà un énorme pas dans ce qu'il est maintenant convenu d'appeler la « super-résolution ». Ce progrès a été illustré par la *keynote lecture* donnée par Antoine Triller (IBSEN, ENS, Paris), dont l'étude de la dynamique des récepteurs synaptiques a amené des avancées significatives, y compris par l'utilisation de nouveaux chromophores comme les *quantum dots*. C'est une véritable chimie de l'imagerie *in cellulo* qui est en train de se mettre en place. Plusieurs présentations ont complété ces approches : microscopie de force atomique, *light sheet based fluorescence* – permettant une approche directe de l'imagerie tridimensionnelle des objets. D'autres, plus appliquées, ont montré comment l'imagerie optique « super-résolutive » ou tendant à la « super-résolution » permettait de déchiffrer efficacement les propriétés des microbes et parasites pathogènes et leur mode d'interaction avec cellules et tissus.

#### *A vision of tissue infection at superresolution*

La session de l'après-midi considérait le terme de « super-résolution » dans un contexte beaucoup plus large d'amélioration de l'imagerie des processus pathologiques au sein des tissus comme infection, cancer, fibrose, allant de l'amélioration de la résolution de l'analyse optique de la cellule au sein des tissus jusqu'à l'analyse de son contenu moléculaire par spectrométrie de masse. La session a été introduite par une *keynote lecture* de Vasilis Ntziachristos (Technische Universität et Helmholtz Center, Munich) qui a montré la puissance tant pour les approches fondamentales que pour l'imagerie médicale de la combinaison d'approches comme la fluorescence et l'optoacoustique. Cette session s'est terminée par la démonstration de la puissance d'approche de la microscopie biphotonique dans la dissection des voies de progression des microorganismes au sein des tissus et leur effet sur les cellules épithéliales et immunitaires.

## RECHERCHE

### **Contexte scientifique et cadre de réalisation des travaux**

Naturellement rattachée à la chaire de Microbiologie et maladie infectieuse est l'unité de Pathogénie microbienne moléculaire (PMM) que je dirige à l'institut Pasteur. Elle représente par ailleurs une des deux équipes de l'unité INSERM 786 dont je suis directeur. 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 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 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 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 crypto-villositaire épithélial intestinal. Ceci correspond non seulement à une étude visant à découvrir les mécanismes fondamentaux du rôle que joue le microbiote commensal sur la maturation de l'épithélium intestinal, mais aussi à mieux comprendre comment ces mêmes microorganismes peuvent participer à la restitution 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. Un autre axe de recherche correspond à l'analyse des mécanismes moléculaires et cellulaires de l'infection de la muqueuse respiratoire par les bactéries du genre *Klebsiella*.

Pour l'étude de l'impact du microbiote sur l'homéostasie de l'axe crypto-villositaire, outre l'*advanced grant* de l'ERC (HOMEOPITH) qui a débuté en 2009, je dispose, sous la coordination de Sven Pettersson (Karolinska Institute), d'un financement FP7 de l'Union européenne (TORNADO) afin d'étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires de l'homéostasie de la crypte intestinale établis avec les bactéries commensales et rompus par les pathogènes. Avec Rémy Burcelin (INSERM, Toulouse) comme coordinateur, nous bénéficions d'un financement de l'ANR (TRANSFLORA) afin d'étudier les mécanismes de la translocation des bactéries à Gram négatif à travers la barrière intestinale épithéliale et leur rôle subséquent dans l'induction de l'inflammation de la graisse mésentérique et la résistance à l'insuline. Avec Nadine Cerf-Bensussan (INSERM, Necker) comme coordinatrice, nous bénéficions d'un autre financement ANR sur l'étude des dysbiontes/pathobiontes comme la bactérie SFB (*segmented filamentous bacteria*) 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 obtenu cette année 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.

Je bénéficie dans le domaine de la pathogénicité de deux financements obtenus en tant que coordinateur. L'un, financé par l'ANR (PATHIMMUN) dans le cadre de l'action thématique « Inflammation », vise à identifier de nouvelles cibles pour le développement de molécules anti-inflammatoires par le biais de 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. L'autre est un programme européen dans le cadre de la vaccination contre les maladies infectieuses



négligées (STOPENTERICS). Ce programme doté de 12 millions d'euros vise à renouveler totalement la recherche de nouveaux vaccins contre *Shigella* et les *Escherichia coli* entérotoxigènes (ETEC).

## Projets scientifiques

### *Microbiote et homéostasie de l'axe crypto-villositaire intestinal*

1. Le projet « Identification d'une flore spécifique de la crypte intestinale (*Crypt-Specific Core Microbiota* ou CSCM) » vise à identifier, initialement chez la souris, puis chez l'homme, 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 CSCM de « vrais probiotiques ». Nos résultats, par coloration par la technique de Whartin-Starry ont montré qu'il existait une population bactérienne limitée mais constante dans les cryptes cécales et coliques, mais pas dans l'intestin grêle. Ceci soulève la question passionnante du rôle possible de modifications de cette CSCM dans la carcinogénèse colique, en cas de déséquilibre ou de substitution par des pathobiontes plus agressifs. Nous avons procédé à l'identification moléculaire de ces microorganismes par la mise au point de trois techniques complémentaires : (1) la microdissection LASER des cryptes caecales et coliques permettant d'extraire les acides nucléiques correspondant à la CSCM présente ; (2) l'amplification de séquences variables spécifiques de phyla/genres et espèces en utilisant comme sondes des séquences conservées encadrant les portions variables des gènes codant pour l'ARNr de la sous-unité 16S du ribosome bactérien. Après amplification, nous avons procédé au pyroséquençage de ces multiples amplicons. Après analyse bioinformatique, nous avons pu établir une liste très courte de quelques genres bactériens retrouvés dans tous les animaux étudiés, quelque soit leur lignage, leur élevage d'origine ou leur alimentation. Cette liste est dominée par des bactéries aérobies strictes inattendues dans un tel environnement, en particulier le genre *Acinetobacter*. (3) La méthode d'hybridation FISH utilisant des sondes spécifiques de ce genre bactérien a permis de confirmer sa présence au sein des cryptes. L'article rapportant ce travail vient d'être publié (Pédrón *et coll.*, *mBio*, 2012). Des études similaires soutenues par l'ARC et la Direction des applications de la recherche de l'Institut Pasteur (DARRI), en collaboration avec le Pr. I. Sobhani (service de gastroentérologie, hôpital Henri Mondor) sont maintenant menées chez l'homme.

2. La CSCM identifiée ci-dessus est en contact étroit avec l'entité régénérative de la crypte intestinale, à savoir les cellules souches et leur environnement cellulaire, c'est-à-dire les cellules de Paneth ou leur équivalent dans le colon, les cellules mésenchymateuse et les cellules du système immunitaire environnant la crypte au sein de la *lamina propria*. Nous avons fait l'hypothèse que les espèces membres de la CSCM interagissaient directement – essentiellement *via* leurs motifs structurels ou PAMP – 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 rapporteurs lgr5-GFP. Grâce à cette nouvelle approche, nous avons pu démontrer l'existence d'une réponse des cellules souche à des PAMP et nous analysons actuellement les PAMP en cause, les mécanismes de leur perception et leur effet précis sur l'environnement de la cellule souche et surtout la cellule souche elle-même.

3. Une conséquence logique déjà mentionnée du remplacement de la CSCM par un pathobionte plus « agressif » serait la rupture de l'équilibre homéostatique et la survenue d'un processus de cancérisation de la cellule souche dû à un effet indirect par l'induction d'une inflammation chronique dans l'environnement cellulaire de la crypte, voire – c'est notre hypothèse – par une action directe sur la cellule souche. Nous développons, grâce aux outils mentionnés dans le paragraphe précédent, un projet visant à définir si une souche d'entérocoque dont la présence est corrélée au cancer colique, *Streptococcus gallolyticus*, est susceptible de donner lieu à des modifications génétiques et épigénétiques de la cellule souche compatibles avec l'établissement d'un programme de carcinogénèse. Ce sujet est soutenu par l'ARC et la DARRI de l'Institut Pasteur.

4. À côté de ces approches, nous continuons notre analyse génétique, moléculaire et cellulaire des bases fondamentales du commensalisme en utilisant *Lactobacillus casei* comme microorganisme modèle. Nous avons mis au point un système de culture de cellules de la crypte murine (lignée mCcl2) 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*. 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. L'arrêt du cycle cellulaire est essentiellement lié à l'arrêt de la transcription de la cycline E1. Cet arrêt de transcription survient en réponse au lactate qui est produit par *L. casei*. Nous avons donc pu identifier l'effecteur principal de l'arrêt du cycle cellulaire, ce qui nous amène maintenant à étudier plus précisément la réponse de la cellule aux acides monocarboxyliques et plus généralement au stress acide. Nous avons aussi noté que les acides gras à chaîne légère comme le butyrate bloquent aussi le cycle cellulaire, mais en induisant le blocage transcriptionnel de la cycline D1, et ceci, indépendamment du pH. Nos efforts sont maintenant centrés sur les mécanismes de la régulation du cycle. Il est donc intéressant de noter que le rôle des probiotiques peut être d'agir sur le compartiment prolifératif de la crypte intestinale et de permettre d'arrêter la prolifération tout en induisant la différenciation en cellules épithéliales intestinales matures (Matsuki T., Pédrón T. et coll., article en révision).

5. Afin de faciliter cette analyse, nous avons développé un système de mutagenèse chez *Lactobacillus casei* permettant une approche STM (*Signature Tagged Mutagenesis*) visant à identifier les effecteurs de ce commensal/probiotique affectant l'axe crypto-villositaire intestinal, ainsi que les facteurs permettant la colonisation de la niche intestinale. Ce travail est réalisé en collaboration avec le groupe de Jean-François Cavin à l'université de Bourgogne (Dijon). Une librairie de 7000 mutants a été obtenue et contrôlée. L'ensemble de ces mutants est en cours de séquençage. Ceci permettra de constituer des « *input pools* » administrés dans le modèle intestinal dont la nature des mutants les constituant aura été préalablement fixée. Nous avons par ailleurs éprouvé l'ensemble de la librairie de mutants STM

dans le modèle de l'anse intestinale ligaturée de lapin. Nous avons identifié une quarantaine de mutants qui ont soit acquis une capacité de « supercroissance » intestinale, ou le plus souvent sont largement altérés dans leurs propriétés de survie/colonisation dans la lumière intestinale. Ces derniers mutants se réunissent dans plusieurs catégories : (i) métabolisme/synthèse des acides aminés soufrés, (ii) biosynthèse du peptidoglycane bactérien, (iii) expression de peptidases. Nous réalisons actuellement des expériences visant à comprendre le phénotype de ces mutants. Ces expériences sont d'un intérêt fondamental vis-à-vis des enjeux biotechnologiques et agricoles d'une nation fortement agricole comme la France.

### **Étude du dialogue moléculaire établi entre un pathogène et la bordure en brosse de l'épithélium intestinal : un *cross talk* singulier**

1. L'étude des microconditions prévalant à la surface cellulaire et des mécanismes génétiques et moléculaires par lesquels la bactérie s'y 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, ce qui correspond essentiellement aux conditions rencontrées dans la lumière intestinale, mais acquiert cette compétence en présence d'oxygène. L'incompétence est due à la régulation négative par le régulateur transcriptionnel FNR du mécanisme moléculaire permettant, lors de la construction du TTSS, le passage de la sécrétion de la protéine MxiH qui assure la formation de l'aiguille à la sécrétion des effecteurs de l'invasion cellulaire. De ce fait, les aiguilles du TTSS apparaissent démesurément allongées et sont non fonctionnelles. Nous avons pu montrer que l'oxygène rétrodiffusait de la cellule épithéliale vers la lumière intestinale, permettant ainsi à la bactérie de réacquies sa compétence à l'endroit stratégique où elle doit envahir la cellule grâce à un TTSS fonctionnel. La suite de ce travail consiste à préciser les conditions précises prévalant à la surface épithéliale et comment elles affectent les propriétés pathogènes du microorganisme. Nous développons des outils permettant d'analyser précisément cette zone : sonde fluorescente marquant le mucus, sondes phosphorescentes permettant de mesurer la tension locale en oxygène. Nous évaluons par ailleurs le rôle d'autres facteurs anti-infectieux produits par les cellules épithéliales et myéloïdes au cours de l'infection (NO, radicaux oxygène, enzymes protéolytiques, peptides anti-microbiens), non seulement sous l'angle de la bactéricidie mais aussi de l'altération de fonctions propres à la pathogénicité, comme la sécrétion des effecteurs de pathogénicité, la motilité bactérienne intracellulaire et la capacité de tuer les cellules cibles.

2. Autre axe de recherche : 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. *Shigella* se livre donc à une subversion des mécanismes intégrés de la défense anti-infectieuse de l'épithélium intestinal. D'autres

chimiokines/cytokines pro-inflammatoires sont d'ailleurs affectées et nous avons par ailleurs observé que *Shigella* entraînait des modifications majeures du mucus de l'apex cellulaire, à la fois en composition chimique, mais aussi en organisation spatiale. Ce sujet continue d'être développé en collaboration avec le groupe de glycochimie de Jean-Pierre Michalsky à Lille. Par ailleurs, nous avons démontré, dans un projet collaboratif avec Guy Tran Van Nhieu (INSERM U971, Collège de France) que les cellules épithéliales infectées par une bactérie produisaient de l'ATP rapidement libéré *via* l'ouverture des héli-canaux-connexines dans le milieu extracellulaire. Cette libération est un signal de danger alertant l'hôte de son engagement par un pathogène. Il permet aussi de stimuler les cellules à former des structures filopodiales de surface qui capturent les bactéries dans le milieu extracellulaire, se rétractent dans un processus déclenché par le phénotype invasif et implique l'actine et les MAPKinasés Erk1/2 (Romero *et coll.*, 2011, *Cell Host Microbe*). Cependant, *Shigella* est capable, lors de l'infection, d'entraîner la fermeture des héli-canaux-connexines, empêchant ainsi la sortie de l'ATP et supprimant de fait ce signal de danger. Nous avons pu identifier IpgD, une 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 héli-canaux et la suppression du signal de danger – un autre exemple des stratégies subtiles des pathogènes pour déjouer les défenses immunitaires de l'hôte (Puhar *et coll.*, soumis).

3. Nous étudions aussi 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 étudions le rôle de la villine dans l'invasion ainsi que de la *Galectin-3* qui est recrutée aux foyers d'entrée de *Shigella* et dont on a maintenant démontré qu'elle est un facteur important de la mise en place de la polarité de la cellule épithéliale. Nous avons mis en place les outils cellulaires et les modèles animaux nécessaires à cette étude que nous avons élargie, de manière comparative, à *Salmonella*. En effet, curieusement, *Shigella* est très inefficace pour envahir l'apex de l'épithélium, en particulier la bordure en brosse, ce qui n'est pas le cas de *Salmonella*, qui remanie les microvillosités sur le site de l'interaction et pénètre très efficacement. La biologie comparative de ces deux systèmes devrait beaucoup nous apprendre sur les événements très précoces d'interaction entre des pathogènes invasifs et les barrières épithéliales.

Dans le cadre du projet MAXIMMUN sélectionné comme « programme transversal de recherche » par l'Institut Pasteur, nous avons commencé à très 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, TNF, 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-rapporteurs de chacun de ces gènes, le profil espéré : molécules anti-infectieuses (+++), molécules pro-inflammatoires (+/-), si possible molécules de restitution (+++). Ce criblage est en cours de réalisation à

l'Institut Pasteur de Corée. Les cellules-rapporteurs sont maintenant construites et plusieurs clones sont disponibles pour chacune d'entre elles et validées pour s'assurer que le transgène est régulé génétiquement et épigénétiquement comme le gène sauvage. Ce point est essentiel. La construction de souris-rapporteurs est en cours de réalisation et de validation, en collaboration avec le groupe de Sylvie Mémet maintenant au CIML à Marseille-Luminy. Une première génération de souris exprimant la beta-défensine 3 humaine est disponible, le gène humain étant couplé à la luciférase et à la GFP afin d'assurer un suivi de l'expression dans les tissus. 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.

#### *Autres travaux*

D'autres travaux de 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 Régis Tournebize.

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 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. 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 et 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 antimicrobiens, les beta-défensines. 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*.

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 $\gamma$ , orientent la réponse adaptative. 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* par observation en microscopie bi-photonique. Une première série de données indique que l'injection d'effecteurs par le TTSS entraîne un net ralentissement de la motilité des lymphocytes T, résultant d'une incapacité à se polariser selon un gradient chémoattractant. Nous avons démontré que l'effecteur IpgD, en hydrolysant le PI(4,5)P2 associé à la membrane lymphocytaires empêchait la phosphorylation de l'ezrine qui est essentielle à l'établissement de la polarité des cellules T (Konradt *et coll.*, *Cell Host & Microbe*, 2011).

3. 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* (Fèvre C., Almeida A.M. *et coll.*, soumis). Nous avons maintenant obtenu que soient réalisées les séquences de plusieurs génomes de klebsielles dont *K. rhinoscleromatis* et une chercheuse post-doctorante assure l'analyse génétique comparative entre ces différentes espèces et sous-espèces afin d'identifier des gènes candidats à l'expression différentielle de la pathogénicité. En parallèle, une étudiante développe une analyse génétique par mutagenèse de *K. rhinoscleromatis*, en particulier des bases moléculaires de l'induction des macrophages spumeux ou cellules de Mickulicz caractéristiques du rhinosclérome.

Enfin, 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 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 polyosides 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.

### Perspectives pour l'année 2012-2013

L'enseignement que je prévois de dispenser sera centré sur « L'inégalité devant les maladies infectieuses ». Il explorera essentiellement deux aspects : les inégalités sociale qui font que les individus les plus exposés, tant dans les pays industrialisés que dans le tiers-monde, sont les enfants vivant dans les conditions les plus précaires. Nous envisagerons aussi la sensibilité aux maladies infectieuses aux âges extrêmes de la vie qui se combine à une réponse insuffisante aux vaccins. Nous verrons enfin le rôle joué par le « terrain », essentiellement la génétique dans la sensibilité différentielle aux infections, une thématique émergente permettant aussi de mieux comprendre – et de manière non biaisée – les mécanismes immunologiques de protection contre les maladies infectieuses.

### PUBLICATIONS 2011-2012

#### Articles originaux en relation avec les résultats rapportés

Pedron T., Mulet C., Dauga C., Frangeul L., Chervaux C., Grompone G., Sansonetti P.J., « A crypt Specific Core Microbiota resides in the mouse colon », *mBio*, 3(3), 2012 ; pii: e00116-12.

Bongrand C., Sansonetti P.J., Parsot C., « Characterization of the promoter, MxiE box and 5' UTR of genes controlled by the activity of the type III secretion apparatus in *Shigella flexneri* », *PLoS One*, 7(3), 2012 ; doi: e32862.

Coïc Y.M., Baleux F., Poyraz O., Thibeaux R., Labruyere E., Chretien F., Sobhani I., Lazure T., Wyplosz B., Schneider G., Mulard L., Sansonetti P.J., Marteyn B.S., « Design of a specific colonic mucus marker using a human commensal bacterium cell surface domain », *J. Biol. Chem.*, 287(19), 2012, 15916-22.

Licandro-Seraut H., Brinster S., van de Guchte M., Scornec H., Maguin E., Sansonetti P., Cavin J.F., Serror P., « Development of an efficient *in vivo* Pjunc-TpaseIS1223 system for random transposon mutagenesis of *Lactobacillus casei* », *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012.

Bergounioux J., Elisee R., Prunier AL., Donnadiou F., Sperandio B., Sansonetti P.J., Arbibe L., « Calpain activation by the *Shigella flexneri* Effector VirA regulates key steps in the formation and life of the bacterium's epithelial niche », *Cell. Host. Microbe*, 11(3), 2012, 240-52.

Konradt C., Frigimelica E., Nothelfer K., Puhar A., Salgado-Pabon W., di Bartolo V., Scott-Algara D., Rodrigues C.D., Sansonetti P.J., Phalipon A., « The *Shigella flexneri* type three secretion system effector IpgD inhibits T cell migration by manipulating host phosphoinositide metabolism », *Cell. Host. Microbe*, 9(4), 2011, 263-72.

Romero S., Grompone G., Carayol N., Mounier J., Guadagnini S., Prevost M.C., Sansonetti P.J., Tran van Nhieu G., « ATP-Mediated Erk1/2 Activation Stimulates Bacterial Capture by Filopodia, which Precedes *Shigella* Invasion of Epithelial Cells », *Cell. Host. Microbe*, 9(6), 2011, 508-19.

Ramel D., Lagarrigue F., Pons V., Mounier J., Dupuis-Coronas S., Chicanne G., Sansonetti P.J., Gaits-Iacovoni F., Tronchere H., Payrastra B., « *Shigella flexneri* infection generates the lipid PI5P to alter endocytosis and prevent termination of EGFR signaling », *Sci. Signal.*, 4(191), 2011, ra61.

Amar J., Chabo C., Waget A., Klopp P., Vachoux C., Bermudez-Humaran L.G., Smirnova N., Berge M., Sulpice T., Lahtinen S., Ouwehand A., Langella P., Rautonen N., Sansonetti P.J., Burcelin R., « Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal

bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment », *EMBO Mol. Med.*, 3(9), 2011, 559-72 ; doi: 10.1002/emmm.201100159.

### Autres articles originaux

Taneja N., Nato F., Dartevelle S., Sire J.M., Garin B., Thi Phuong L.N., Diep T.T., Shako J.C., Bimet F., Filliol I., Muyembe J.J., Ungeheuer M.N., Ottone C., Sansonetti P., Germani Y., « Dipstick test for rapid diagnosis of *Shigella dysenteriae* 1 in bacterial cultures and its potential use on stool samples », *PLoS One*, 6(10), 2011 ; e24830.

Ehsani S., Santos J.C., Rodrigues C.D., Henriques R., Audry L., Zimmer C., Sansonetti P., Tran van Nhieu G., Enninga J., « Hierarchies of host factor dynamics at the entry site of *Shigella flexneri* during host cell invasion », *Infect Immun.*, 2012.

### Revue / chapitres d'ouvrages

Marteyn B., Gazi A., Sansonetti P.J., « Shigella: a model of virulence regulation in vivo », *Gut. Microbes*, 3(2), 2012.

Kufer T.A., Sansonetti P.J., « 2011 NLR functions beyond pathogen recognition », *Nat. Immunol.*, 12(2), 2011, 121-8.

Sansonetti P.J., « To be or not to be a pathogen: that is the mucosally relevant question », *Mucosal Immunol.*, 4(1), 2011, 8-14.

Payrastré B., Gaits-Iacovoni F., Sansonetti P., Tronchère H., « Phosphoinositides and cellular pathogens », *Subcell. Biochem.*, 59, 2012, 363-88.

## AUTRES ACTIVITÉS

### Édition de journaux scientifiques internationaux

Durant l'année 2011-2012, 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 « senior editor » 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 la composante pasteurienne du symposium annuel EIMID (European Initiative for Microbiology and Infectious Diseases) qui s'est tenu à Sienne en octobre 2011. 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 7 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 décembre 2011 à Tel Aviv 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 décembre 2011 le colloque Charles Nicolle en collaboration avec la Société française de microbiologie (voir *supra*).

J'ai co-organisé le symposium interacadémique « The New Microbiology » qui s'est tenu à Paris, à l'Académie des sciences, en mai 2012, sous les auspices de l'Académie allemande Leopoldina, de la Royal Society et de l'Académie des sciences.

#### DISTINCTIONS

Mai 2012 : élection comme membre étranger de la National Academy of Sciences des États-Unis.

Juin 2012 : élevé au grade de Commandeur de l'Ordre national du mérite.

Septembre 2011 : élu président de l'European Academy of Microbiology.

Avril 2011 : coordination du laboratoire d'excellence « Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases » dans le cadre du programme gouvernemental « Investissements d'Avenir » (30 millions d'euros).

#### PARTICIPATION À DES COURS/ÉVÉNEMENTS SCIENTIFIQUES INTERNATIONAUX (SÉLECTION)

Peter Wall Institute for Advanced Studies visit, UBC, Vancouver, 14-24/06/2011 : *visiting distinguished professor*, 3 conférences.

FASEB Meeting, Carefree, Arizona, États-Unis, 24-29/07/2011 : « Maintenance of intestinal homeostasis by commensals and its rupture by pathogens ».

VED 2011 (Enteric Vaccine Meeting), Cannes, 14-16/09/2011 : *keynote lecture*, « *Shigella* vaccines : why is the path so difficult ? ».

3rd Symposium and Workshop on Microbial Pathogenesis, Rotterdam, 17-18/11/2011 : *keynote lecture* et 2 *master classes*.

Séminaire, McGill University, Department of Microbiology and Immunology, Montreal, 20-22/11/2011 : « Symbionts and pathogens at mucosal surface, the Yin and the Ying of innate immunity ».

EMBO Molecular Medicine Meeting, Heidelberg, 01-03/12/2011 : *keynote lecture*, « Microbiota and pathogens: War and Peace at mucosal surfaces ».

Hunter Meeting, Hunter Valley Pokolbin, Australia, 27-30/03/2012 : *keynote and EMBO lecture* : « Microbiota and pathogens: War and Peace at mucosal surfaces ».

Séminaire, Melbourne University, Victoria, 04/04/2011 et Monash Institute of Medical Research, Victoria, 05/04/2011 : « Pathogens and commensals: War and Peace at mucosal surfaces ».

Séminaire, Center for Molecular Medicine, Vienne, 23/04/2011 : « Commensals and pathogens at mucosal surface: the Yin and the Yang of innate immunity ».

EMBO Conference, Villars sur Ollon, 09-10/05/2011 : « Symbionts and pathogens at mucosal surfaces: the Yin and the Yang of immune modulation ».

Séminaire, William Dunn School, University of Oxford, 31/05/2011 : « *Shigella* as a model of mucosal immune subversion ».

