

## **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 2011-2012. 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 : EFFRACTION DES « BARRIÈRES » DE L'ORGANISME PAR LES PATHOGÈNES

Le 20 novembre 2008, j'avais donné ma leçon inaugurale intitulée « Des microbes et des hommes<sup>1</sup> ». Elle comportait trois parties principales qui affichaient ce que seraient les grands thèmes de mon environnement pour les premières années : (1) le monde microbien qui nous environne, commensaux et pathogènes, (2) les mécanismes moléculaires et cellulaire 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.

---

1. Le texte intégral de cette leçon est disponible en ligne : <http://lecons-cdf.revues.org/193> et est éditée aux Éditions Fayard (collection du Collège de France).

Les cours 2010-2011 se sont déroulés de fin-novembre à fin-janvier. Le titre de cette session était : « Effraction des “barrières” de l’organisme par les pathogènes ». Le concept était de considérer le développement des maladies infectieuses sous l’angle de la subversion par les pathogènes responsables d’une ou de plusieurs barrières intégrées supposées les arrêter dans le cours de leur diffusion. J’avais illustré cette série par une citation de Mao Tsé-toung qui me semblait parfaitement résumer, bien qu’exprimée dans un tout autre contexte, l’idée maîtresse : *Sans destruction pas de construction ; sans barrière pas de courant ; sans arrêt pas d’avance...* L’idée était de tenter de définir en termes moléculaires, cellulaires et immunologiques les aspects intégrés anatomiques, histologiques et physiologiques de surfaces/structures, organes formant barrière (barrière intestinale, cutanée, hémato-encéphalique, respiratoire, génito-urinaire) et comment ce processus intégré complexe pouvait être subverti, voire détruit par un microorganisme, lui permettant de disséminer plus avant dans son hôte, éventuellement, vers la barrière suivante, à subvertir de nouveau. À plusieurs occasions, lorsque c’était pertinent, les bases de la transition du commensalisme vers la pathogénicité ont aussi été abordées : comment un microorganisme saprophyte d’une surface muqueuse, par exemple, peut soudain « décider » de traverser cette barrière muqueuse et devenir invasif ? Un certain nombre de cofacteurs, notamment les co-infections virales facilitant le développement d’une infection bactérienne, ont été considérés.

L’ensemble de ces cours est disponible en vidéos et sous forme de fichiers PDF téléchargeables comportant, outre les schémas pertinents, l’essentiel des références à jour.

### **Une barrière au cœur de l’émergence infectieuse : la barrière d’espèce**

Le premier cours, intitulé « Une barrière au cœur de l’émergence infectieuse : la barrière d’espèce », traitait de la barrière la plus complexe et sans doute la moins bien définie qui soit. Il s’agissait en effet, dans ces périodes où l’émergence de nouvelles maladies et/ou de nouveaux pathogènes est un phénomène si aigu, de mieux comprendre comment un microorganisme pathogène, adapté le plus souvent à une ou plusieurs espèces animales, pouvait « sauter » et s’établir dans l’espèce humaine. À l’aide de modèles bien étudiés, les grandes étapes du saut d’espèce ont été reprises et analysées : conditions de facilitation du contact, apparition d’animaux réservoirs en contact étroit avec l’homme, partage de récepteurs primaires au niveau des grandes barrières de l’organisme, de la muqueuse respiratoire en particulier, capacité de réplication dans l’hôte humain. Ces deux propriétés sont essentielles pour le succès d’une émergence virale. Leur extrême complexité rend cependant difficile leur modélisation car elles répondent à de nombreuses étapes pas toujours élucidées et difficile à modéliser en termes moléculaires, cellulaires et immunologiques chez la souris du fait de la nécessité d’introduire un très grand nombre de transgènes humains (échec de la modélisation de l’infection VIH chez la souris, par exemple). Ce cours a par ailleurs insisté sur le fait qu’il n’y avait pas d’émergence infectieuse sans capacité de dissémination interhumaine. Or cette dernière propriété, si elle est bien mesurée par des paramètres tels le facteur de reproduction ( $R_0$ ), est encore très mal connue pour ce qui concerne les aspects fondamentaux de sa dynamique.

### *L'émergence des gripes*

Ce cours fut illustré par un séminaire intitulé « l'émergence des gripes » donné par le professeur Antoine Flahault, directeur de l'école des Hautes Études en santé publique, et expert internationalement reconnu de l'analyse des infections virales émergentes (grippe, virus Chikungunya). Dans ce séminaire, les grands paramètres prospectifs et rétrospectifs de l'émergence, de la détection et de l'analyse de la dynamique du développement des épidémies de grippe ont été présentés, analysés et mis dans la perspective de leur utilisation lors des choix décisionnels de santé publique, choix dont l'extrême sensibilité fut illustrée par la récente épidémie de grippe H1N1.

### **La barrière intestinale : rupture, invasion et destruction inflammatoire par les pathogènes**

Le second cours intitulé « La barrière intestinale : rupture, invasion et destruction inflammatoire par les pathogènes » avait été initialement prévu comme une revue relativement exhaustive des diverses stratégies employées par les bactéries et les virus pour traverser, de manière plus ou moins « bruyante », l'épithélium et la muqueuse intestinale, ce que l'on appelle des pathogènes entéro-invasifs. Comme ce point avait déjà été traité en partie lors des cours 2008-2009, j'ai préféré recentrer cette présentation sur des données très récentes mettant en évidence une symbiose beaucoup plus profonde que prévue entre les mammifères et leur microbiote intestinal, le processus symbiotique s'effectuant *via* la translocation de bactéries ou de motifs bactériens (*pathogen-associated molecular pattern* ou PAMP) comme l'endotoxine ou les muropeptides, des fragments du peptidoglycane, le mur bactérien. Ce concept de « translocation bactérienne physiologique » s'avère jouer un rôle essentiel au niveau local dans la maturation de la vascularisation et de son système immunitaire, par exemple, mais elle module aussi la maturation du système immunitaire périphérique. De plus, et de manière jusqu'à présent non appréciée, cette translocation bactérienne semble jouer un rôle majeur dans le métabolisme, particulièrement dans la résistance à l'insuline qui, si elle n'est pas régulée, peut conduire à l'obésité et au diabète. Un des mécanismes principaux en serait l'accumulation de produits bactériens dans la masse lipidique mésentérique, y causant une inflammation elle-même cause du dysfonctionnement des adipocytes. Nous ne sommes qu'au début de l'observation de ces aspects inattendus de la symbiose homme-microbes. Il semble en effet que la présence d'un microbiote soit essentielle, par exemple, au maintien à niveau des mécanismes immunitaires de défense anti-infectieuse, aux phases tardives de maturation du système nerveux central, avec des conséquences possiblement notables sur son fonctionnement et sur le comportement. C'est peut-être la diminution de l'intensité de cette symbiose depuis plusieurs décades, du fait de l'hygiène, de la vaccination et des antibiotiques qui donne lieu à l'émergence de nouvelles pathologies, en particulier dysimmunitaires (atopie, asthme, maladies inflammatoires de l'intestin, etc.). Les bases rationnelles de l'« hypothèse hygiéniste » commencent donc à se dessiner...

### *Listeria : le pari de la traversée*

Ce cours fut illustré par un séminaire intitulé « *Listeria* : le pari de la traversée » donné par le professeur Marc Lecuit, PU-PH à la faculté de médecine Necker-

Enfants malades et responsable d'un groupe de recherche à l'Institut Pasteur. Ce séminaire a permis d'illustrer la puissance de la combinaison des outils de la génomique, de la génétique moléculaire, de la biologie cellulaire, des méthodes modernes d'imagerie et de la conception/manipulation de modèles murins afin d'élucider la complexité des mécanismes utilisés par un pathogène comme *Listeria monocytogenes* pour franchir une barrière intégrée aussi cohérente et bien défendue que la barrière épithéliale intestinale. Ce cours a par ailleurs bien illustré la notion de spécificité d'espèce et comment la souris peut être « humanisée » par transgénèse afin de répondre à cette question clé.

### **La barrière uro-génitale, de la rupture aiguë au parasitisme chronique**

Le troisième cours intitulé « La barrière uro-génitale, de la rupture aiguë au parasitisme chronique », a repris les grandes lignes de l'anatomo-histologie de l'appareil urogénital afin de définir les forces et les faiblesses potentielles de cette barrière en regard de la colonisation et de l'invasion de l'arbre urinaire par des bactéries pathogènes. *Escherichia coli* uropathogène (UPEC), l'agent étiologique le plus fréquemment retrouvé lors d'infections urinaires, a été pris comme modèle. La « panoplie » de gènes et îlots de pathogénicité sous-tendant le pathovar UPEC a été envisagée, avec un accent particulier mis sur la différenciation entre souches responsables d'infections chroniques/récurrentes du bas appareil urinaire (cystite) et les souches responsables de pyélonéphrites. La physiopathologie de ces deux types d'infections a été revue en détail dans ce contexte. Au niveau de l'infection vésicale, des données récentes comme l'internalisation et la formation de « biofilms intracellulaires » par les souches exprimant des pili de type 1 a été détaillée car s'adressant à des cellules épithéliales de très longue durée de vie (6 mois) : elle pourrait expliquer récurrence et chronicité, sans avoir, chez la femme, à envisager un réensemencement régulier à partir de la flore intestinale. Cette hypothèse modifierait considérablement les schémas de prévention.

Concernant l'infection du haut appareil urinaire, les bases physiopathologiques de la pyélonéphrite ont été détaillées, avec une insistance particulière sur le type de facteurs d'adhésion bactériens requis (les pili Pap adhérent à des résidus di-galactosides sur les cellules épithéliales) et sur de nouveaux développements concernant la physiopathologie de l'infection du parenchyme rénal une fois la barrière tubulaire rompue. Le rôle de l'anoxie et de la coagulation dans le développement et le contrôle local de la diffusion du pathogène a été développé. Enfin, l'accent a été mis sur les incertitudes actuelles concernant la compréhension de la progression rétrograde des UPEC dans l'uretère en l'absence de reflux.

### *Placenta, l'ultime barrière*

Ce cours a été complété par un séminaire intitulé « Placenta, l'ultime barrière », donné par le professeur François Forestier (faculté de pharmacie de Chatenay-Malabry). Cet expert en médecine fœtale et périnatale a bien rappelé la spécificité, la physiologie et les enjeux majeurs du bon fonctionnement du placenta humain dans le développement de l'enfant. Cet « organe transitoire » n'en est pas moins d'une extrême sophistication. Son effet de barrière très régulé protégeant le fœtus

contre les métabolites toxiques et les agents infectieux peut cependant être subverti par certains agents pathogènes comme des virus (CMV), une bactérie (*L. monocytogenes*) et des parasites, surtout *Toxoplasma gondii*. Les enjeux du diagnostic précoce et de la prévention de ces infections ont été largement détaillés.

### **La barrière cutanée, l'autre grande interface avec le monde microbien, commensalisme et pathogénicité**

Le quatrième cours, intitulé « La barrière cutanée, l'autre grande interface avec le monde microbien, commensalisme et pathogénicité », a traité d'un sujet relativement négligé dans le domaine de la pathogénicité des infections. Ce cours s'est efforcé de présenter les cellules et les processus intégratifs très sophistiqués assurant l'effet de barrière de la peau, laquelle conjugue en une seule entité plusieurs exigences protectrices : contre les agressions physiques et chimiques et les UV, contre la déshydratation, et bien sûr contre les agents infectieux. Le jeu subtil entre kératinocytes et cellules de Langerhans, la transition entre épiderme et couche cornée, qui s'accompagne de la sécrétion de puissants moyens anti-infectieux (peptides antimicrobiens, lipides), ont été envisagés, de même que la nature de la flore commensale, sa composition et son rôle possible dans l'homéostasie de l'ensemble du « dispositif ». Sur cette base, les grands mécanismes de subversion de cette puissante barrière ont été envisagés avec un accent particulier mis sur le modèle que représente l'infection à *Streptococcus pyogenes*, éventuellement responsable de cellulites dramatiques. Le rôle central des cellules souches dans l'homéostasie et les processus de réparation a été envisagé.

#### *Les papillomavirus, du col à la peau*

Ce cours a été illustré par un séminaire intitulé « Les papillomavirus, du col à la peau » donné par le professeur Gérard Orth (Institut Pasteur), expert international et pionnier dans le domaine de l'oncogénèse induite par ces virus. Plusieurs points clés ont été soulevés lors de ce séminaire concernant la susceptibilité génétique au développement viral, le ciblage prioritaire sur les cellules souches lors de l'infection cutanée, les mécanismes moléculaires de l'oncogénèse. Une discussion animée s'en est suivie, concernant la pertinence de la mise en place du vaccin anti HPV susceptible de prévenir la survenue des cancers du col utérin dans un environnement où le suivi gynécologique des femmes reste insuffisant.

### **La barrière hémato-encéphalique, protection du dernier sanctuaire, force et fragilité en présence des pathogènes bactériens et viraux**

Le cinquième cours était intitulé « La barrière hémato-encéphalique, protection du dernier sanctuaire, force et fragilité en présence des pathogènes bactériens et viraux ». Comme la barrière placentaire, la barrière hémato-encéphalique correspond à une monocouche de cellules endothéliales, voire épithéliale au niveau des plexus choroïdes. Elle peut de ce fait être considérée comme potentiellement extrêmement fragile en regard de sa responsabilité de gardienne de l'intégrité du système nerveux central et relativement facile à subvertir pour un pathogène. Ce n'est pas le cas. La vascularisation cérébrale est marquée par le maintien d'une

impermeabilité très stricte de la monocouche endothéliale et un contrôle très serré du passage des molécules. Ce cours a néanmoins permis de montrer comment les grands pathogènes bactériens et viraux responsables de méningites et de méningo-encéphalites assurent leur passage à travers la barrière hémato-encéphalique. Un certain nombre d'inconnues persistent néanmoins, qui ont été soulignées. La compréhension de ces mécanismes est essentielle à l'amélioration des approches thérapeutiques et préventives. De plus, la compréhension des mécanismes de subversion par les pathogènes permet de mieux comprendre certains aspects de la physiologie du passage de molécules dans le sanctuaire que représente le système nerveux central.

*Neisseria meningitidis, les secrets révélés de la subversion de l'endothélium vasculaire cérébral*

Ce cours a été illustré par un séminaire intitulé « *Neisseria meningitidis*, les secrets révélés de la subversion de l'endothélium vasculaire cérébral », donné par le professeur Xavier Nassif (PU-PH à la faculté de médecine Necker-Enfants malades et directeur d'unité INSERM), spécialiste international de l'infection par le méningocoque. Il a récemment, avec son équipe, déchiffré avec une extrême précision comment *Neisseria meningitidis* adhère à la cellule endothéliale, dans ses zones jonctionnelles, grâce à l'engagement du récepteur beta-adrénérique et, via une efficace mobilisation du cytosquelette cellulaire, traverse la monocouche endothéliale. Ce séminaire a par ailleurs permis d'insister sur cette catégorie particulière de microorganismes appelés « commensaux-pathogènes », dont l'essentiel du mode de vie consiste en la colonisation « pacifique » d'une surface muqueuse comme celle du rhinopharynx pour *N. meningitidis* et *Streptococcus pneumoniae*, mais qui, dans certaines circonstances, sont capables de transloquer au travers de cette barrière muqueuse et de devenir des pathogènes redoutables par leur efficacité de dissémination systémique et leur capacité de franchir la barrière hémato-encéphalique.

**La barrière respiratoire, du commensalisme à la pathogénicité, recherche de nouveaux paradigmes**

Le sixième et dernier cours de l'année académique était intitulé « La barrière respiratoire, du commensalisme à la pathogénicité, recherche de nouveaux paradigmes ». Ce cours a permis de détailler la complexité de l'arbre respiratoire en regard de son interface avec le monde microbien. C'est en effet un espace ouvert, marqué par la présence d'une abondante flore commensale dans sa partie haute, en particulier dans le rhinopharynx, puis par un bas appareil respiratoire (trachée, bronches et alvéoles) généralement considéré comme stérile. Cette stérilité est relative et l'on peut plutôt parler de « stérilité dynamique », assurée par une mécanique épithéliale trachéo-bronchique complexe combinant la production de mucus piégeant les microorganismes et sa mobilisation rétrograde par les cellules ciliées qui assurent la permanence de l'évacuation des microorganismes et des particules contaminants. L'alvéole pulmonaire a son propre dispositif de protection grâce à la présence permanente de macrophages alvéolaires et le rapide recrutement de cellules inflammatoires en cas d'agression comme les polynucléaires neutrophiles. Sur ces bases maintenant solidement établies, les mécanismes de subversion de

cette barrière éminemment fragile par des bactéries pathogènes et des virus ont été examinés. Deux microorganismes modèles ont été essentiellement considérés : *S. pneumoniae* (pneumocoque) et virus grippal. Une partie importante de ce cours a été dédiée à la compréhension du concept de « commensal-pathogène » illustré par *S. pneumoniae* et à l'identification des mécanismes permettant cette transition. Le rôle d'une infection virale préalable à la diffusion de *S. pneumoniae* a été développé, s'appuyant sur les évidences d'un rôle « préparateur » de la grippe dans la diffusion de l'infection à pneumocoque. Les mécanismes de cette « préparation » ont été envisagés, allant d'une altération du profil des réponses immunitaires à une altération des mécanismes de réparation épithéliale facilitant la translocation du pneumocoque au travers de la barrière respiratoire et/ou sa colonisation jusqu'aux espaces alvéolaires. Il est probable que la grande majorité des décès observés lors de l'épidémie de grippe espagnole de 1918 furent liés à une surinfection pulmonaire et systémique à pneumocoque.

#### *Polynucléaires neutrophiles, du nouveau sur le NET*

Ce cours a été illustré par un séminaire intitulé « Polynucléaires neutrophiles, du nouveau sur le NET » donné par le professeur Arturo Zychlinsky (Max Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin). Ce spécialiste international de la pathogénie microbienne et expert dans le domaine des polynucléaires neutrophiles a découvert il y a quelques années un nouveau mécanisme par lequel ces cellules phagocytaires assurent leur activité bactéricide, les NET pour « Neutrophil Extracellular Trap ». Ces structures correspondent à une libération d'ADN par certains neutrophiles mourant d'un processus jamais décrit de « netose » induite par les radicaux oxygène. Ces molécules d'ADN s'organisent comme un filet (NET...) chargé de molécules cationiques puissamment antimicrobiennes permettant au neutrophile d'assurer une bactéricidie significative sur un mode extracellulaire ne nécessitant pas la phagocytose. De nombreux NETs sont observés lors de l'infection de l'alvéole pulmonaire par des bactéries ou des levures comme *Candida albicans*.

### **Symposium international**

#### **Le microbiote commensal : de l'homéostasie à la maladie**

Le point d'orgue de cet enseignement a été la tenue d'un symposium international intitulé « Le microbiote commensal : de l'homéostasie à la maladie / *The commensal microbiota : from homeostasis to disease* » qui s'est tenu les 23-24 mai 2011 dans l'amphithéâtre Marguerite de Navarre du Collège de France. Ce symposium a été organisé comme une manifestation conjointe associant le Collège de France (professeur Philippe Sansonetti), grâce à un financement de la Fondation Hugot, le Peter Wall Institute for Advanced Studies (Brett B. Finlay, Peter Wall Distinguished Professor at University of British Columbia), grâce à un soutien du PWIAS, et le réseau européen TORNADO, « The healthy gut » (professeur Sven Pettersson, Institut Karolinska, Stockholm). Ce symposium, qui a recueilli un grand succès, si l'on en juge par l'importance de l'assistance, visait à faire le point sur les diverses facettes de l'interface entre l'homme et sa flore microbienne, le microbiote. C'est un domaine extrêmement dynamique à l'heure actuelle qui vise essentiellement à définir la profondeur et les limites de la symbiose qui s'est établie par co-évolution entre l'homme et son microbiote, ainsi que les pathologies causées par des anomalies

généétiques ou environnementales amenant une dérégulation de l'homéostasie qui répond à cette symbiose. Les meilleurs spécialistes mondiaux de ce domaine très prometteur de la recherche en microbiologie et de la médecine ont participé à ce symposium de très haute tenue scientifique. Chaque présentation a été marquée par de nombreuses questions et des discussions très constructives.

La première session a traité des modalités d'étude de la diversité du microbiote. Les deux sessions suivantes ont traité des mécanismes moléculaires et cellulaires sous-tendant l'équilibre homéostatique entre l'homme et son microbiote. La dernière session traitait de la profondeur et des implications de la symbiose et de ses possibles dysfonctionnements. Des données nouvelles ont été apportées concernant en particulier l'impact du microbiote dans la régulation du métabolisme et dans les étapes tardives de maturation du système nerveux central. Pour résumer, ce symposium a donc marqué une étape dans notre appréciation de l'importance du microbiote dans la physiologie, une fusion des concepts pasteurien et de Claude Bernard.

Ce symposium a aussi concrétisé les liens très étroits établis entre le Collège de France et le Peter Wall Institute for Advanced Studies. Cette année a en effet été marquée par la venue du professeur Brett Finlay, qui a donné deux séminaires et a fait deux interventions au Collège de France, l'une durant l'inauguration du CIRB et l'autre à l'occasion du symposium Microbiota. Cette visite a été suivie par mon séjour au PWIAS sur le campus de UBC où j'ai donné trois séminaires, rencontré les PWIAS Distinguished Professors et ai discuté avec plusieurs scientifiques de mon domaine.

Enfin, le jour qui a suivi le symposium a été l'occasion d'une intense session de « *brain storming* » qui a réuni à la Fondation Hugot une dizaine de scientifiques ayant participé au symposium, dont cinq professeurs de UBC. Le thème des discussions a bien sûr été l'avenir de la discipline qui faisait l'objet du symposium. Excellente ambiance, brassage de nombreuses idées et point de départ de futures interactions puisque l'ensemble de ces réunions va amener à envisager un programme commun Europe-Canada sur les flores microbiennes.

## RECHERCHE

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

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. 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 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. Depuis 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 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 cryptovillositaire, outre l'« *advanced grant* » de l'ERC (HOMEOPATH) qui a débuté en 2009, je dispose, sous la coordination de Sven Pettersson (Karolinska Institutet), d'un financement FP7 de l'Union européenne (TORNADO) visant à 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 dans 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*.

Je bénéficie par ailleurs, 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 en se laissant guider par l'analyse de la fonction des effecteurs anti-immunité des bactéries pathogènes comme *Shigella* qui régulent la réponse innée de l'hôte par l'injection d'effecteurs protéiques dédiés. L'accent est mis sur IpgD, une phosphatidyl-inositol phosphatase qui se comporte *in vitro* et *in vivo* comme une puissante molécule anti-inflammatoire. 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). J'en ai organisé les programmes, lancés lors d'un « *kick off meeting* » que j'ai organisé à l'abbaye de Royaumont en décembre 2010.

## Projets scientifiques

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

1 – Identification d'une flore spécifique de la crypte intestinale (*Crypt-Specific Core Microbiota* ou CSCM).

Ce projet 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 préliminaires, obtenus par coloration (technique de Whartin-Starry) ont montré qu'il existait une population bactérienne limitée mais constante dans les cryptes coliques, particulièrement dans le caecum et le colon proximal, 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, quel que soit leur lignage, leur élevage d'origine ou leur alimentation. Cette liste est dominée par des bactéries aérobies strictes inattendues dans un tel environnement, le genre *Acinetobacter* en particulier. (3) La méthode d'hybridation FISH, qui utilise des sondes spécifiques de ce genre bactérien, a permis de confirmer sa présence au sein des cryptes.

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 : les cellules de Paneth ou leur équivalent dans le colon, les cellules mésenchymateuses 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 commencé, sans grand succès, à modéliser cette interaction avec des cellules souches embryonnaires murines (ES). Ces cellules souches se sont avérées totalement « réfractaires » à la perception des PAMP et même à l'infection par des bactéries pathogènes, ne modifiant en rien leur programme de différenciation. Ceci est rétrospectivement peu surprenant car il est évident que les cellules souches embryonnaires doivent être très protégées d'influences environnementales autres que les signaux physiologiques de différenciation (OCT4 et Nanog par exemple). Il est probable que les cellules souches adultes s'avèrent plus sensibles à des facteurs bactériens. Nous avons donc 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 claire d'une réponse des cellules souches 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 du 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 2 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.

4 – À côté de ces approches, nous continuons notre approche analytique, 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 mICc12) 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.

5 – Afin de faciliter cette analyse, nous avons développé un système de mutagénèse chez *Lactobacillus casei*, permettant une approche STM (*Signature Tagged Mutagenesis*) visant, à terme, 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 7 000 mutants a été obtenue et contrôlée. L'ensemble de ces mutants va être séquencé afin d'identifier, avant de pratiquer le criblage chez l'animal, la nature et localisation des mutations. Ceci permettra de constituer des « *input pools* » administrés dans le modèle intestinal dont la nature des mutants les constituant aura été préalablement fixée.

*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 incompétent 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 réacquérir sa compétence au site stratégique où elle doit envahir la cellule grâce à un TTSS fonctionnel. La suite de ce travail consiste à préciser les conditions précises régnant 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 – Nous menons une 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. 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, un enzyme à activité phosphatidyl-inositol phosphatase (hydrolysant le PI(4,5)P2 en PI5P) comme l'effecteur microbien injecté par le TTSS assurant cette fermeture des 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., en préparation).

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 est maintenant démontrée être 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 à 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 à son site d'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 caractériser très précisément 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 sera réalisé à l'Institut Pasteur de Corée. Les cellules-rapporteurs sont maintenant construites, plusieurs clones sont disponibles pour chacune d'entre elles qui sont en cours de validation 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 en collaboration avec le groupe de Sylvie Mémet à l'Institut Pasteur. 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 tissu. 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 psychomoteurs, (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 limitations, voire de sérieux inconvénients, la stimulation des mécanismes anti-infectieux innés apparaît comme une approche prometteuse.

### *Autres travaux*

D'autres travaux fondamentaux se sont déroulés dans l'unité PMM, sous la supervision directe de mes collaboratrices et collaborateurs chercheurs permanents dans l'unité : Claude Parsot, Laurence Arbibe, Armelle Phalipon et 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-kB, 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 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 découvert en collaboration avec Guy Tran Van Nhieu, maintenant chef d'équipe INSERM accueillie au Collège de France, une nouvelle structure de la surface cellulaire, actine-dépendante, induite par l'ATP, 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 (Romero et coll., *Cell Host & Microbe*, 2011).

3 – Nous avons par ailleurs montré que la subversion de la réponse innée affectait considérablement le profil de la réponse adaptative, du fait, en particulier, de l'expression de la protéine OspF. Son impact sur la régulation épigénétique d'un certain nombre de promoteurs de la réponse immunitaire innée, y compris l'IL-12 et l'IFN $\gamma$  réoriente fortement 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 lymphocytaire, empêchait la phosphorylation de l'eitrine qui est essentielle à l'établissement de la polarité des cellules T (Konradt et coll., *Cell Host & Microbe*, 2011).

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* (Fèvre et coll., en préparation). 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 mutagénèse de *K. rhinoscleromatis*, en particulier des bases moléculaires de l'induction des macrophages spumeux ou cellules de Mickulicz caractéristiques du rhinosclérome.

#### *Projet européen « stopenterics » (FP 7)*

Enfin, depuis décembre 2010, j'assume 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 2011-2012**

L'enseignement que je prévois de dispenser sera centré sur les mécanismes moléculaires de manipulation des réponses de l'hôte par les microorganismes pathogènes : bactéries, virus et parasites. Il reposera en partie sur nos travaux en cours au laboratoire. Le point d'orgue sera en juin 2012 l'organisation de « Seeing

is believing-2 », le second symposium dédié à l'imagerie des processus infectieux. Ce mini-symposium sera organisé grâce à la collaboration de Régis Tournebize et Guy Tran van Nhieu. Il insistera plus particulièrement sur les méthodologies d'imagerie de haute résolution et les méthodologies d'analyse dynamique comme la microscopie biphotonique.

## PUBLICATIONS

### Articles originaux

Paz I., Sachse M., Dupont N., Mounier J., Cederfur C., Enninga J., Leffler H., Poirier F., Prevost M.C., Lafont F., Sansonetti P., « Galectin-3, a marker for vacuole lysis by invasive pathogens », *Cell. Microbiol.*, 12(4), 2010, 530-44.

Sellge G., Magalhaes J.G., Konradt C., Fritz J.H., Salgado-Pabon W., Eberl G., Bandeira A., Di Santo J.P., Sansonetti P.J., Phalipon A., « Th17 cells are the dominant T cell subtype primed by *Shigella flexneri* mediating protective immunity », *J. Immunol.*, 184(4), 2010 Febr 15, 2076-85.

Ray K., Bobard A., Danckaert A., Paz-Haftel I., Clair C., Ehsani S., Tang C., Sansonetti P., Tran G.V., Enninga J., « Tracking the dynamic interplay between bacterial and host factors during pathogen-induced vacuole rupture in real time », *Cell. Microbiol.*, 12(4), 2010 Apr 1, 545-56.

Dharancy S., Body-Malapel M., Louvet A., Berrebi D., Gantier E., Gosset P., Viala J., Hollebecque A., Moreno C., Philpott D.J., Girardin S.E., Sansonetti P.J., Desreumaux P., Mathurin P., Dubuquoy L., « Neutrophil migration during liver injury is under nucleotide-binding oligomerization domain 1 control », *Gastroenterology*, 138(4), 2010 Apr, 1546-56, 1556.e1-5.

Marteyn B., West N.P., Browning D.F., Cole J.A., Shaw J.G., Palm F., Mounier J., Prevost M.C., Sansonetti P., Tang C.M., « Modulation of *Shigella* virulence in response to available oxygen *in vivo* », *Nature*, 465(7296), 2010 May 20, 355-8.

Flamant M., Aubert P., Roll-Derkinden M., Bourreille A., Neunlist M.R., Mahe M.M., Meurette G., Marteyn B., Savidge T., Galmiche J.P., Sansonetti P.J., Neunlist M., « Enteric glia protect against *Shigella flexneri* invasion in intestinal epithelial cells: a role for S-nitrosoglutathione », *Gut*, 60(4), 2011 Apr, 473-84.

Rahman K.M., Arifeen S.E., Zaman K., Rahman M., Raqib R., Yunus M., Begum N., Islam M.S., Sohel B.M., Rahman M., Venkatesan M., Hale T.L., Isenbarger D.W., Sansonetti P.J., Black R.E., Baqui A.H., « Safety, dose, immunogenicity, and transmissibility of an oral live attenuated *Shigella flexneri* 2a vaccine candidate (SC602) among healthy adults and school children in Matlab, Bangladesh », *Vaccine*, 29(6), 2011 Feb 1, 1347-54.

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 Jun 16, 508-19.

Fevre C., Passet V., Deletoile A., Barbe V., Frangeul L., Almeida A.S., Sansonetti P., Tournebize R., Brisse S., « PCR-Based Identification of *Klebsiella pneumoniae* subsp. rhinoscleromatis, the Agent of Rhinoscleroma », *PLoS Negl Trop Dis.*, 5(5), 2011 May, e1052.

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 Apr 21, 263-72.

Jehl S.P., Doling A.M., Giddings K.S., Phalipon A., Sansonetti P.J., Goldberg M.B., Starnbach M.N., « Antigen-specific CD8(+) T cells fail to respond to *Shigella flexneri* », *Infect. Immun.*, 79(5), 2011 May, 2021-30.

Flamant M., Aubert P., Rolli-Derkinderen M., Bourreille A., Neunlist M.R., Mahe M.M., Meurette G., Marteyn B., Savidge T., Galmiche J.P., Sansonetti P.J., Neunlist M., « Enteric glia protect against *Shigella flexneri* invasion in intestinal epithelial cells : a role for S-nitrosoglutathione », *Gut*, 60(4), 2011 Apr, 473-84.

## Revues

Garcia-Sastre A., Sansonetti P.J., « Host-pathogen interactions », *Curr. Opin. Immunol.*, 22(4), 2010 Aug, 425-7 ; PMID : 20621460 [PubMed]

Marteyn B., Scorza F.B., Sansonetti P.J., Tang C., « Breathing life into pathogens : the influence of oxygen on bacterial virulence and host responses in the gastrointestinal tract », *Cell. Microbiol.*, 13(2), 2011 Feb, 171-6.

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

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

## Édition de journaux scientifiques internationaux

Durant l'année 2010-2011, j'ai poursuivi mes activités d'éditeur de *Cellular Microbiology*, la revue 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'une nouvelle revue de la série EMBO : *EMBO Molecular Medicine*. Je m'occupe dans cette revue de la section « *Molecular Medicine and Infectious Diseases* ». Je suis par ailleurs membre de l'« *editorial board* » et conseiller spécial pour la microbiologie de plusieurs revues comme *EMBO Journal*, *EMBO Reports*, *Cell Host & Microbe*.

## COLLOQUES ET CONFÉRENCES

### Organisation de réunions scientifiques

J'ai créé l'année dernière une nouvelle section de la Société française de microbiologie (SFM), la section de pathogénicité microbienne. Il semblait indispensable que notre discipline soit clairement représentée au sein de la SFM. Cette création a donné lieu à deux mini-colloques inauguraux que j'ai organisés avec mes collègues Xavier Nassif, Jean Dubuisson et Eric Oswald lors du congrès de la SFM qui s'est tenu à Marseille du 2 au 4 juin 2010. J'ai par ailleurs organisé le premier colloque annuel Charles Nicolle sur la pathogénicité microbienne qui se tiendra le 16 décembre 2011 dans l'amphithéâtre Marguerite de Navarre du Collège de France sous les auspices de la SFM. Je continue donc à agir pour positionner visiblement la microbiologie et les maladies infectieuses au Collège de France.

J'ai organisé deux symposiums sur la thématique du microbiote :

- l'un à Lausanne en janvier 2011 qui a permis de faire le point sur l'avancée des travaux du « Workpackage 4 » dont je suis chargé dans le cadre du programme FP7 TORNADO ;

- l'autre, déjà mentionné, au Collège de France, en coopération avec le professeur Brett Finlay (PWIAS) et le professeur Sven Pettersson (TORNADO).

J'ai par ailleurs organisé la composante pasteurienne du symposium annuel EIMID (European Initiative for Microbiology and Infectious Diseases) qui regroupe de prestigieuses institutions européennes impliquées dans la recherche en microbiologie et maladies infectieuses comme l'Institut Pasteur (Paris), Imperial College (Londres), l'Institut Karolinska (Stockholm), le Max Planck Institut 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.

### Participation à des cours/événements scientifiques internationaux

- SAC Immunology and Infection Program, Instituto de Medicina Molecular, Lisbonne, 18-19 janvier 2010.

- ERC Evaluation Meeting, Bruxelles, 2-3 février 2010.

- Séminaire, université de Reims, 25 février 2010 : « Opération survie : le contrôle par *Shigella* des réponses innées de l'hôte à la surface de la muqueuse intestinale ».

- Conférence-débat, Académie des sciences, 9 mars 2010, « Immunité/réponse aux cellules cancéreuses ou agents infectieux ».

- Visite de Yakult Central Institute for Microbial Research, Tokyo, Japon, 24-26 mars 2010 ; 83<sup>rd</sup> Meeting of the Japanese Society for Bacteriology à Yokohama, Japon, 27-29/03/2010 : « Pathogens and commensals at mucosal surfaces : the Yin and the Yang of innate immunity ».

- 52<sup>th</sup> Meeting of the Scientific Committee, Fondation Louis-Jeantet de médecine, Genève, 21-22 avril 2010.

- Séminaire « Frontier leaders of today for the scientists of tomorrow » itqb Phd Program, Lisbonne, 30 avril 2010 : « *Shigella* at intestinal mucosal surface : the Yin and the Yang of innate immunity ».

- ERC Evaluation, Bruxelles, 4-6 mai 2010.

- Séminaire, MRC National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, 10 juin 2010 : « Life at epithelial surface : how *Shigella* deals with this microenvironment and controls innate defences ».

- « Emmanuelle Caron Memorial Lecture », Imperial College, London, 16 juin 2010 : « From commensals to pathogens, the Yin and the Yang of innate immunity ».

- International Organization for Mycoplasma Meeting, Chianciano Terme, 9-14 juillet 2010 : « Bacteria at epithelial surfaces: the Yin and the Yang of innate immunity ».

- Séminaire, IBMC, Porto, Portugal, 23 juillet 2010 : « Gut homeostasis in the presence of bacteria: The Yin and the Yang of pathogens ».

- Cours EMBO à Spetsai, 1<sup>er</sup>-4 septembre 2010.

- Inauguration of the Centre for Immunology and Infection, University of York, The Hull York Medical School, 10 septembre 2010.

- « Pathogens and commensals at mucosal surfaces : the Yin and the Yang of innate immunity ».

- Séminaire, université de Grenoble, 22 septembre 2010, « Rupture, invasion et destruction inflammatoire de l'intestin : le Yin et le Yang de l'immunité innée ».
- Réunion EIMID, Suède, 4-8 octobre 2010.
- Atelier INSERM Imaging Pathogens, Saint Raphael, 25-27 octobre 2010.
- John Innes Centre Norwich Seminar, 29 octobre 2010 : « Pathogens and commensals at epithelial surfaces: the Yin and the Yang of innate immunity ».
- Microbes for Health Symposium, Paris, 22-23 novembre 2010 : « From commensals to pathogens, the Yin and the Yang of innate immunity ».
- Congrès de la SFI, Marseille, 24-26 novembre 2010 : « Pathogens effectors regulating host innate and adaptive immune responses : the Yin and the Yang of *Shigella* ».
- Symposium interacadémique franco-indien, Delhi, 28 novembre-6 décembre 2010 : « Mechanisms of *Shigella* pathogenesis. From cellular microbiology to vaccine development ».
- Richard C Parker Memorial Lecture, Columbia University, New York, 25 mars 2011.
- University of Chicago, Visiting Professor. Two lectures and a minisymposium with students, 18 mars-1<sup>er</sup> avril 2011.
- Cours et *Immunology Seminar*, University of Chicago, 28 mars-3 avril 2011 : « Bacteria at epithelial surfaces : The Yin of commensals and the Yang of pathogens ».
- « Microbiota and Mucosal Immunology : the interface in health and disease » Meeting, San Francisco, 14-16 avril 2011 : « Symbionts and pathogens at mucosal surfaces : the Yin and the Yang of innate immunity ».
- Cross Talks Meeting, Milan, 28-29 avril 2011 : « Pathogens and commensal at the mucosal surfaces: the Yin and the Yang of innate immunity ».
- « Microbiology : Pathogens and Host Response » Meeting, Jerusalem, 10-13 mai 2011 : « Life on the edge for mucosal microbes ».
- « The Operon Model and its impact on Modern Molecular Biology » Meeting, Paris, 17-20 mai 2011 : « From virulence operon to pathogenesis: *Shigella* as a model of host subversion ».
- « Microbiota Symposium, The Commensal Microbiota: from homeostasis to disease », Collège de France, 23-24 mai 2011.
- Peter Wall Institute for Advanced Studies visit, UBC, Vancouver, 14-24 juin 2011 : Visiting Distinguished Professor, 3 conférences.

