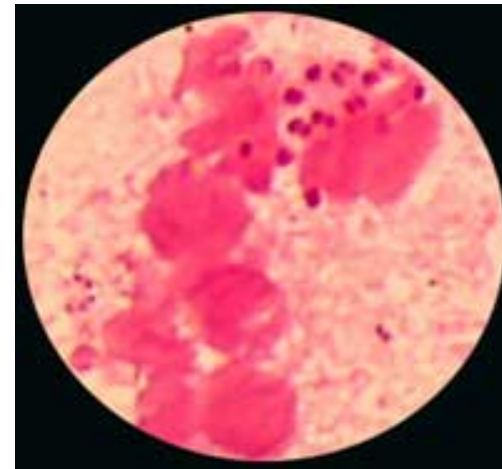
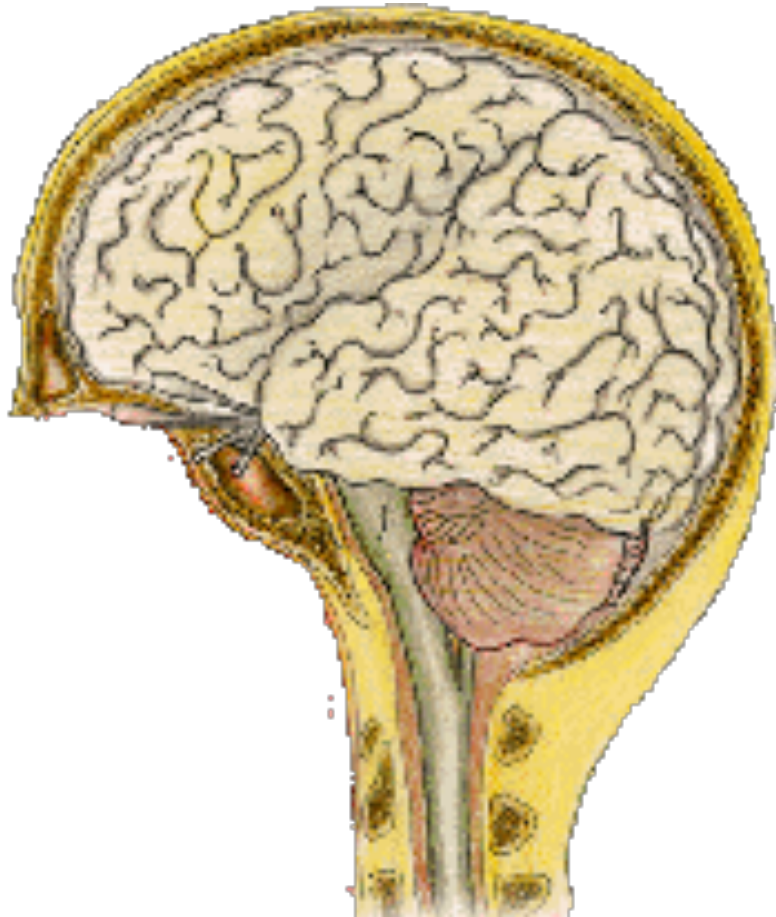


La barrière hémato-encéphalique, protection du dernier sanctuaire, force et fragilité en présence des pathogènes bactériens et viraux.

Philippe Sansonetti
Leçon No 5



La méningite: aspects cliniques

La méningite est une inflammation aiguë des méninges, essentiellement d'origine infectieuse.

Les méningites sont éventuellement associées à des signes d'encéphalite (méningo-encéphalite)

Les encéphalites correspondent à une inflammation du tissu cérébral marquée par des signes neurologiques correspondant au territoire affecté.

Les méningites infectieuses se divisent en deux grandes catégories:

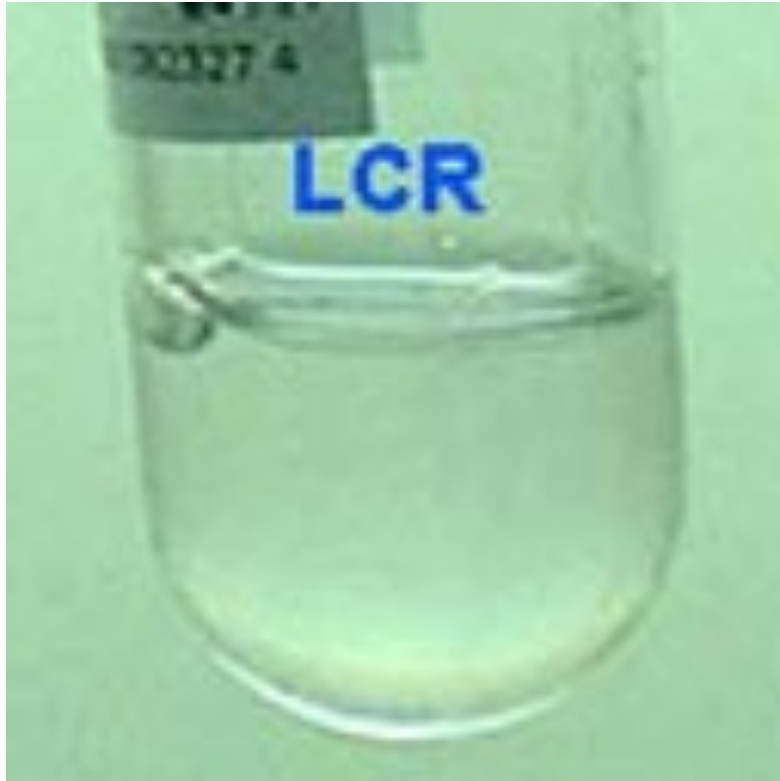
Méningites bactériennes: plus rares, plus graves, urgences médicales

Méningites virales: fréquentes, le plus souvent bénignes, mais...

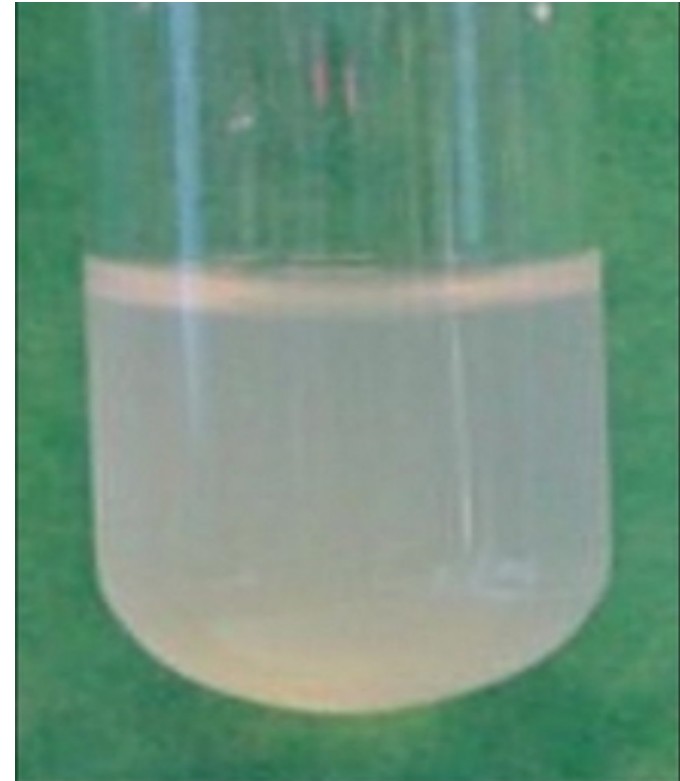
Symptômes: fièvre, céphalées, vomissements, raideur de la nuque, photophobie...

Un geste: ponction lombaire





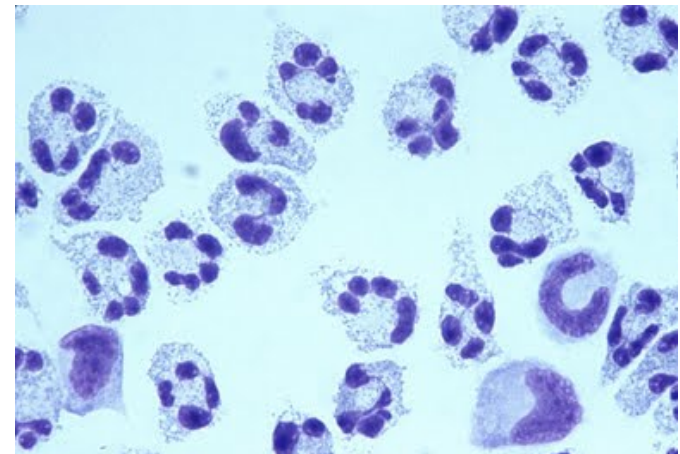
Méningite à liquide clair

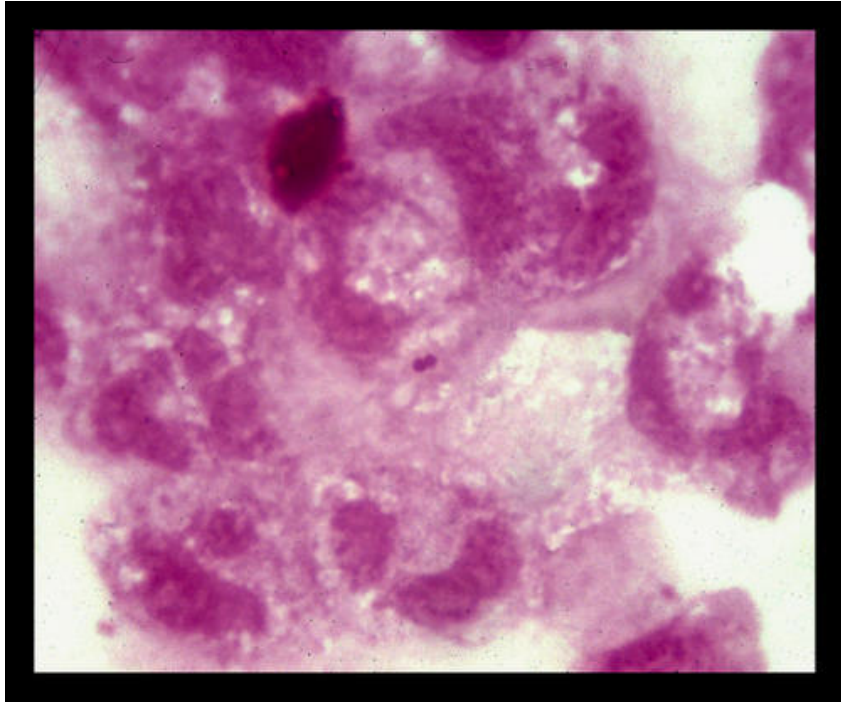


Méningite purulente

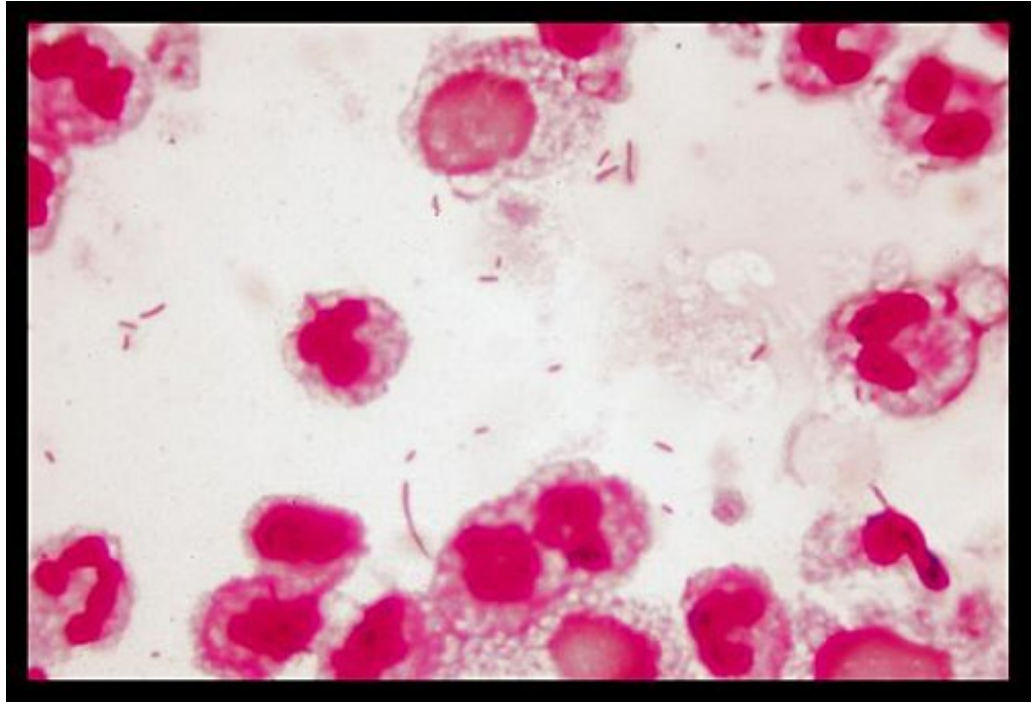
Liquide céphalo-rachidien

Polynucléaires neutrophiles

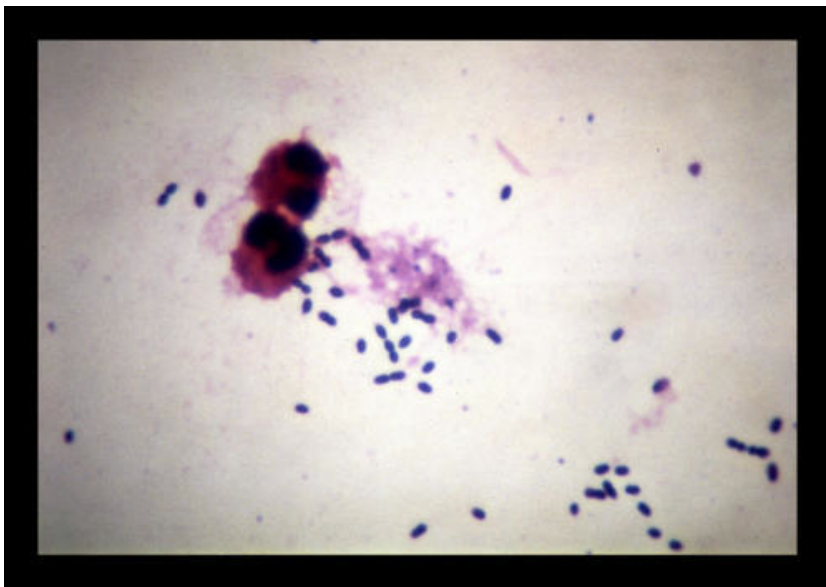




Neisseria meningitidis



Haemophilus influenzae



Streptococcus pneumoniae

LCR: coloration de Gram

Méningites bactériennes (20-25 % des méningites en France)

Fatales en l'absence d'antibiothérapie adaptée

Etiologies:

- ***Neisseria meningitidis*** (Méningocoque): enfance et adolescence

En France:

Sérotype B: 60 %, Sérotype C: 26 %, Sérotype W135: 6 %, Sérotype A et Y: 3 %

- ***Haemophilus influenzae***: nourrisson (1 à 6 mois). Quasiment éradiqué grâce à la vaccination

- ***Streptococcus pneumoniae*** (Pneumocoque): nourrisson (otite) et personnes âgées ou suite à un traumatisme crânien avec brèche. Sérotypes capsulaires « invasifs »: 1,2,3,4,5,6B,7F,8,9N,9V,10A,11A,12F,14,15B,17F,18C,19A,19F,20,22F,23F33F

- ***Mycobacterium tuberculosis*** (BK): migrants récents, particulièrement d'Afrique

Méningite du nouveau né:

-***Streptococcus agalactiae*** (Streptocoque B)

- ***Escherichia coli*** K1

- ***Listeria monocytogenes***

Méningo-encéphalites:

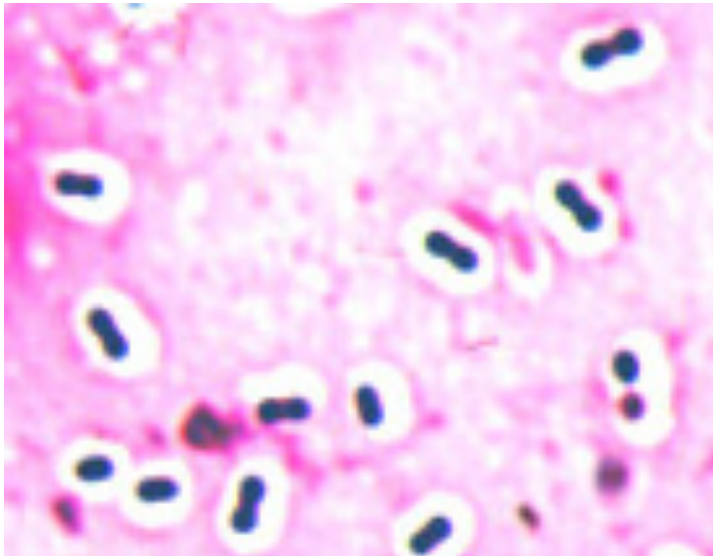
Listeria monocytogenes, S. pneumoniae

Autres: chirurgie/traumas (Staphylocoques), Syphilis, Leptospires, Borrelia, Entérobactéries

La capsule, un trait (quasi) commun aux bactéries responsables de méningites

A l'exception de *Mycobacterium tuberculosis* et de *Listeria monocytogenes* qui sont des parasites intracellulaires des monocytes/macrophages et circulent probablement au sein de ces cellules, s'en servant comme d'un « cheval de Troie » pour passer la barrière hémato-encéphalique, les « grands » pathogènes bactériens responsables de méningites aiguës sont capsulés:

N. meningitidis, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *E. coli* K1, *S. agalactiae*.



Capsule de *S. pneumoniae*

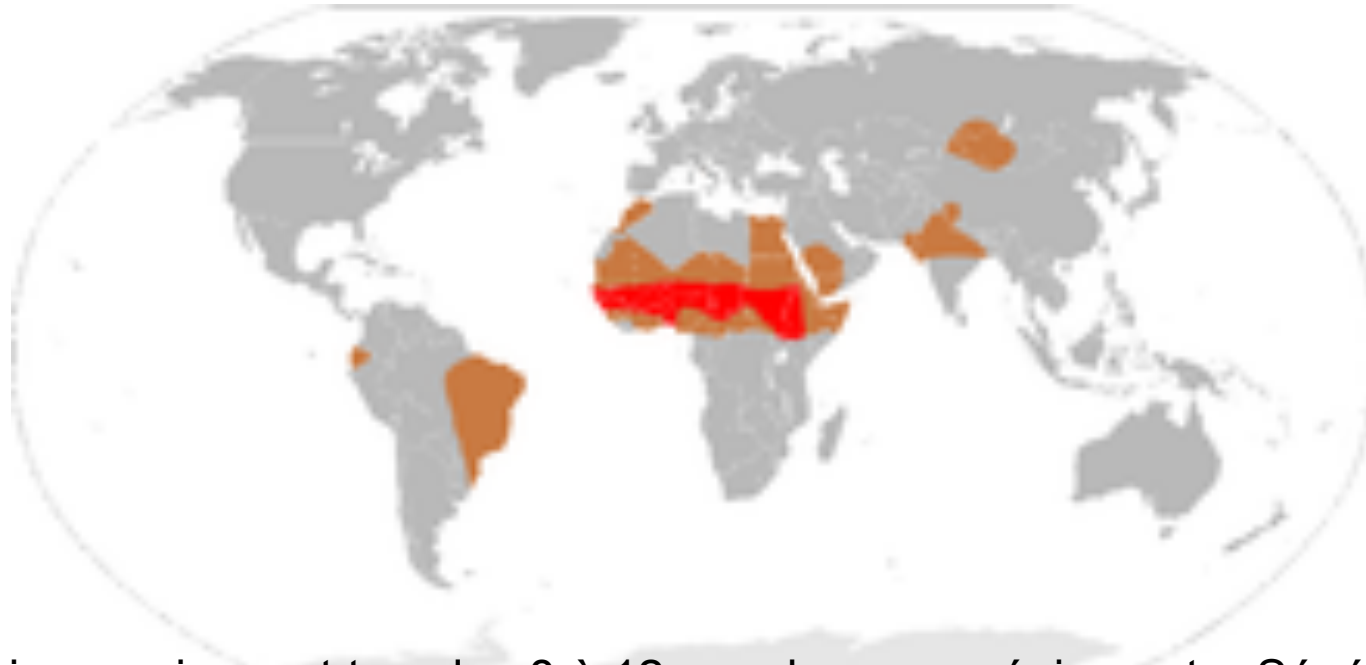
Deux grandes fonctions de la capsule:

Antiphagocytaire

Antagonise l'activation du complément sérique

Permet d'atteindre de grandes concentrations sériques ($>10^6/\text{ml}$) donc des concentrations critiques très élevées dans la circulation cérébrale augmentant probablement les chances statistiques de passage de la BHE

**Zones d'incidence élevée de méningites bactériennes (surtout méningocoque)
« Ceinture de la méningite » La Peyssonnie = Afrique sub-saharienne / Sahel
(entre 100 et 800 pour 100 000 habitants)**



Les épidémies surviennent tous les 8 à 12 ans dans une région entre Sénégal / Gambie à l'ouest à Ethiopie à l'est, durant la saison sèche (décembre à juin).

Facteurs de risque: **conditions médicales** (sensibilité immunitaire de la population), **conditions démographiques** (voyages et mouvements massifs de population: pèlerinages, marchés traditionnels), **conditions socioéconomiques** (surpopulation des habitations et pauvreté), **conditions climatiques** (sécheresse et tempêtes de sable), **infections concomitantes** (infections respiratoires aiguës). La plus grosse épidémie de tous les temps a balayé la ceinture de la méningite en 1996–1997, causant plus de 250 000 cas et 25 000 décès.

Méningites virales

Les méningites sont virales dans 80 % des cas

Les formes graves correspondent à des méningoencéphalites

« Méningites à liquide clair » = très peu de cellules inflammatoires dans le LCR,

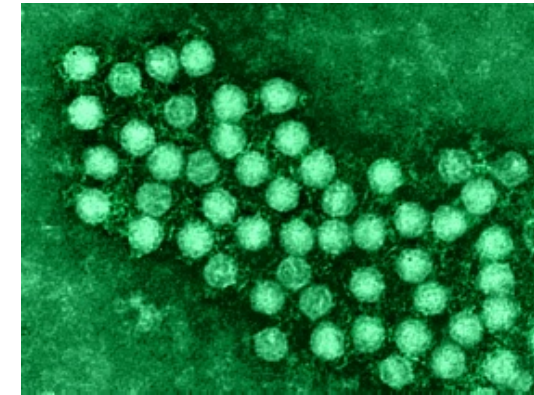
Essentiellement monocytes : lymphocytes, pas de polynucléaires neutrophiles.

La porte d'entrée du virus n'est pas obligatoirement hématogène, voie neurogène

Virus Coxsackie A le plus souvent, bénigne, excellent pronostic.

Virions icosaédriques. Capside = 60 copies de 4 protéines de structure (VP). VP1, VP2 et VP3 exposées à la surface de la capside, VP4 intérieure, en contact étroit avec le génome ssARN du virus. Hématogène (BHE)

Virus Coxsackie A

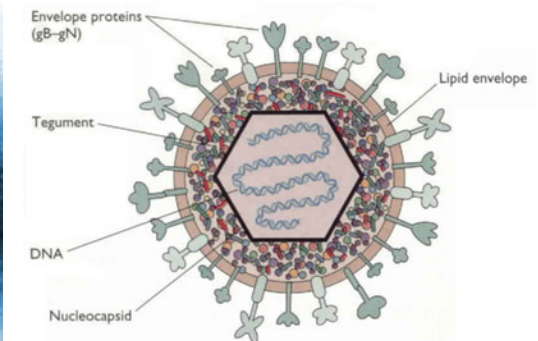
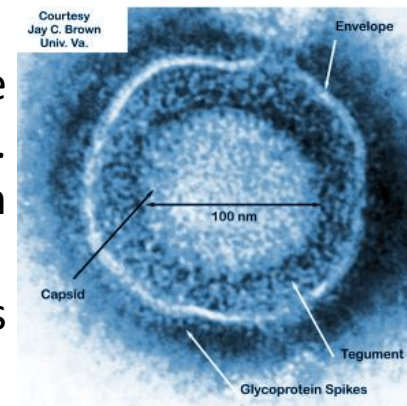


HSV1 très rare, méningo-encéphalite nécrosante dramatique, urgence diagnostique et thérapeutique

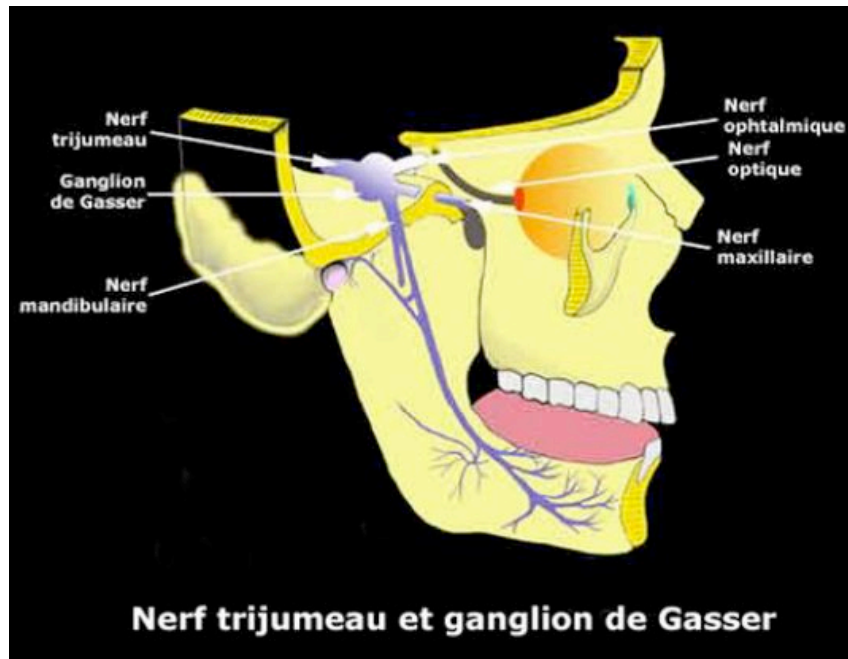
HSV1

Virions icosaédriques enveloppés. Espace entre capside et enveloppe = tégument. Glycoprotéines ou « spikes » protrudent en surface. Génome dsADN

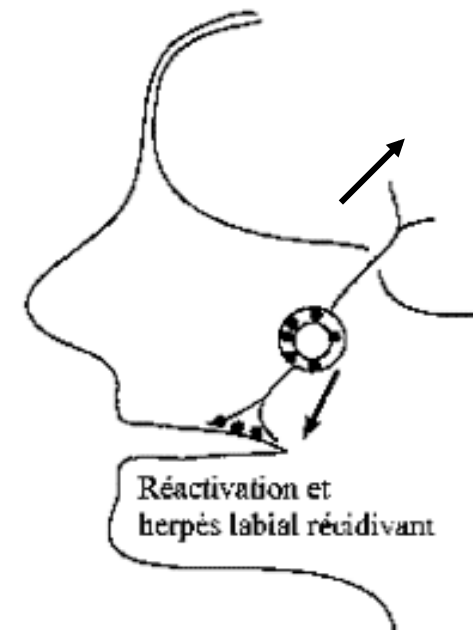
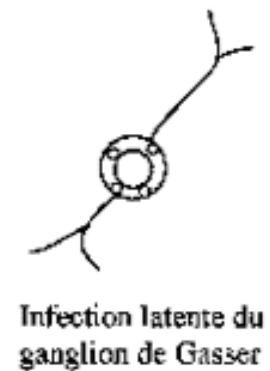
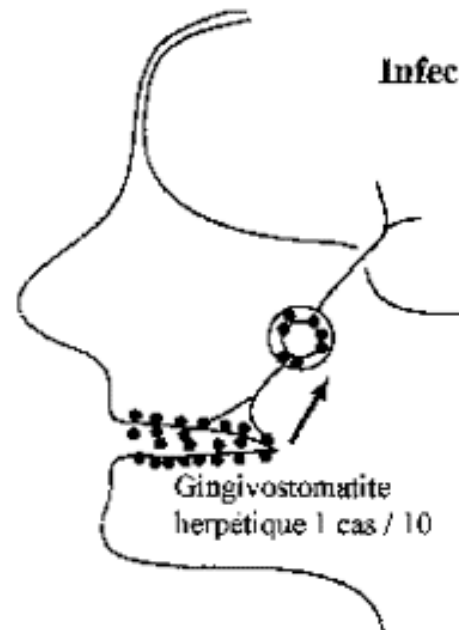
Neurogène, ggs nerveux, comme autres Herpes virus (VZ)



Accès neurogène de HSV1 au parenchyme cérébral



Dissémination neurogène
encéphalite



Méningo-encéphalite herpétique

Localisation frontale et temporale caractéristique de l'infection par HSV1

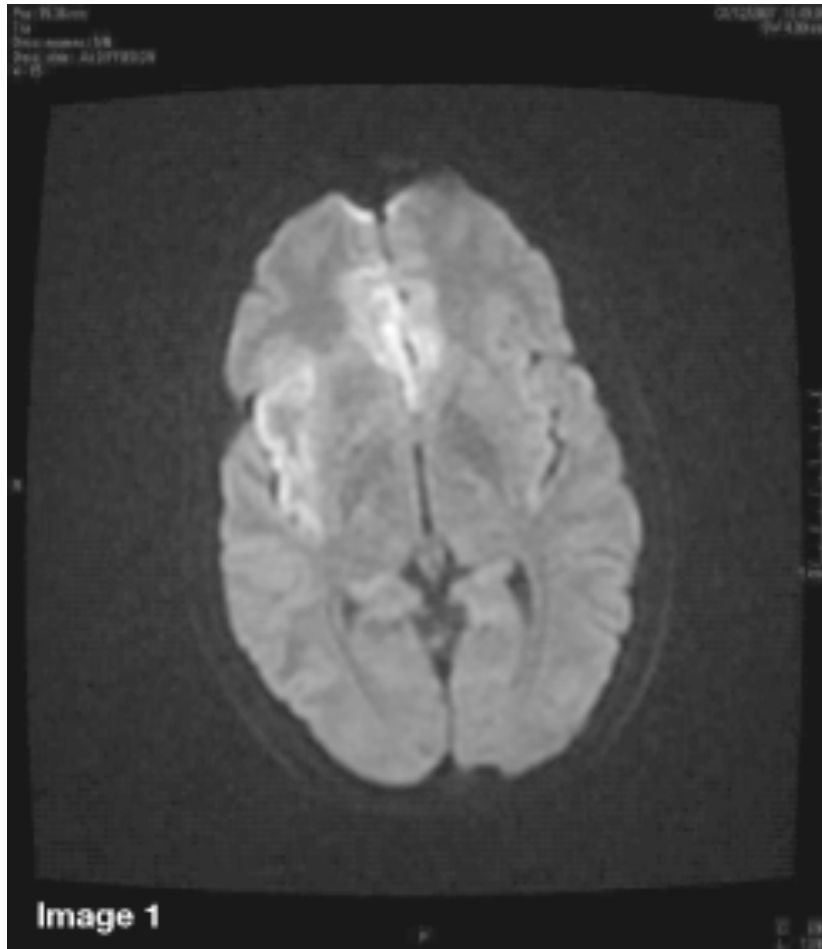


Image 1 : IRM cérébrale, séquence de diffusion: hypersignaux de l'insula et du girus cingulaire (topographie très évocatrice de ME herpétique).

Image 2 : IRM cérébrale, séquence FLAIR: hypersignal de la face interne de lobe temporal droit.

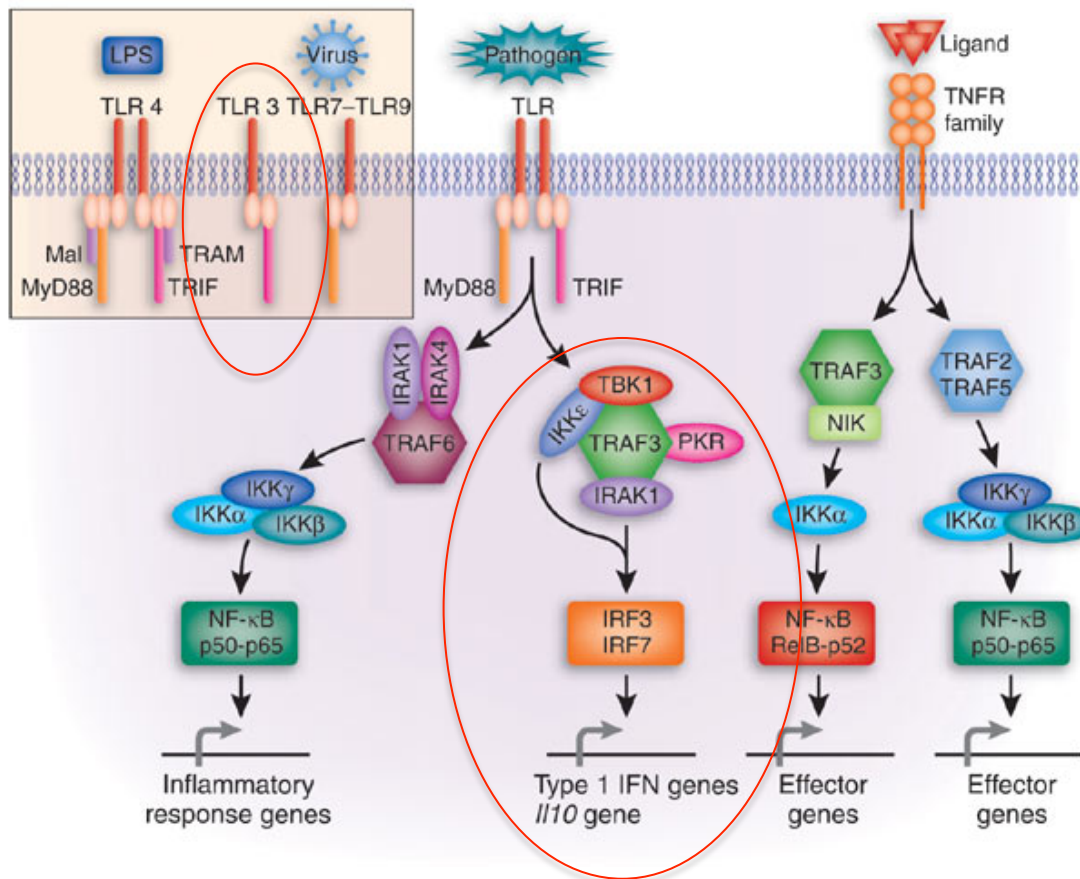
Gaudry S et coll. 2008. Les Essentiels, p. 481-494. Elsevier Masson SAS.

TLR3 Deficiency in Patients with Herpes Simplex Encephalitis

Shen-Ying Zhang et coll. 2007. Science, 317:1522-1527

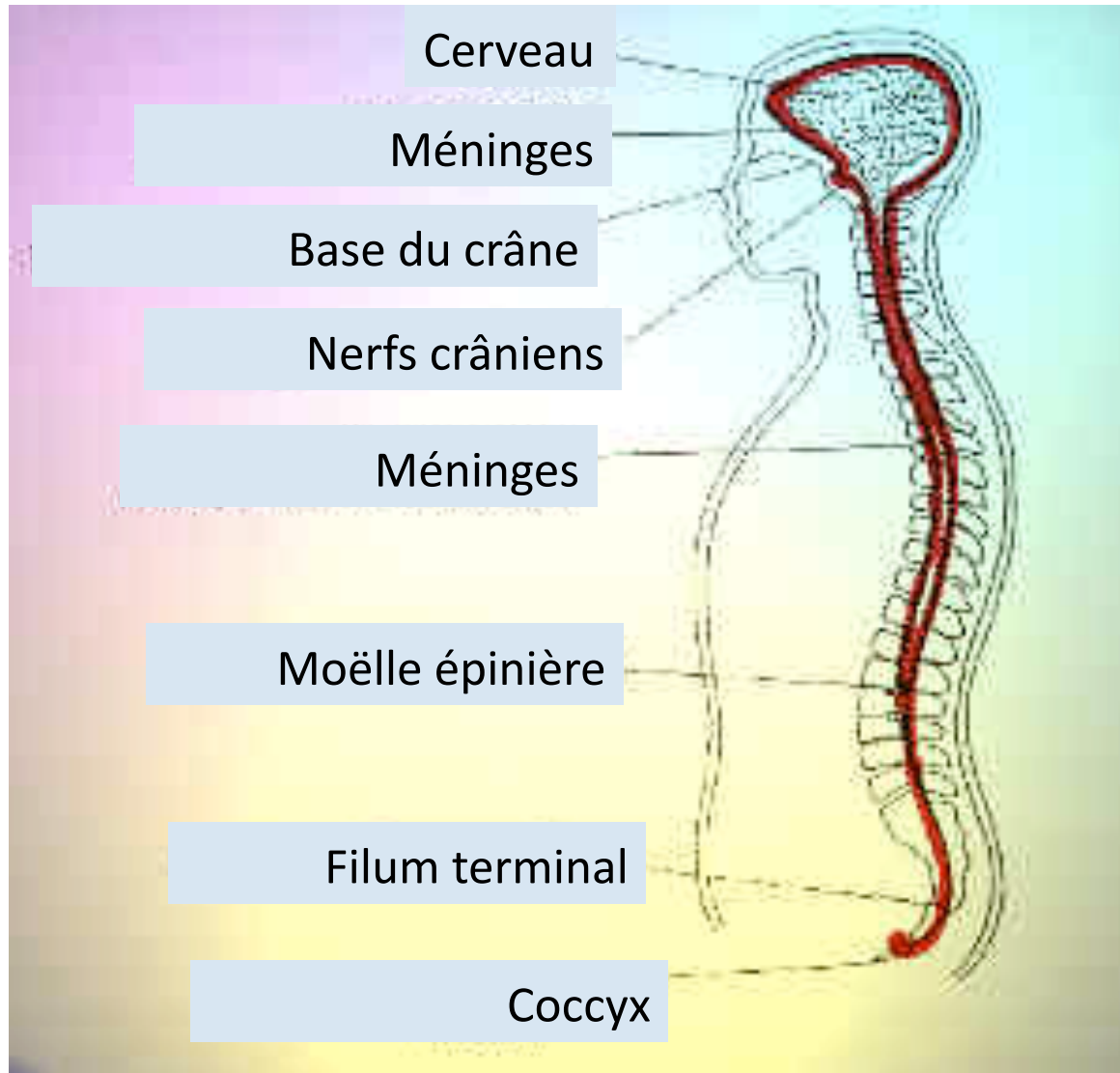
Human TRAF3 adaptor molecule deficiency leads to impaired Toll-like receptor 3 response and susceptibility to herpes simplex encephalitis.

Perez de Diego R et coll. 2010. Immunity, 33:400-411



Allèle muté de TLR3 ou TRAF3 avec effet dominant négatif

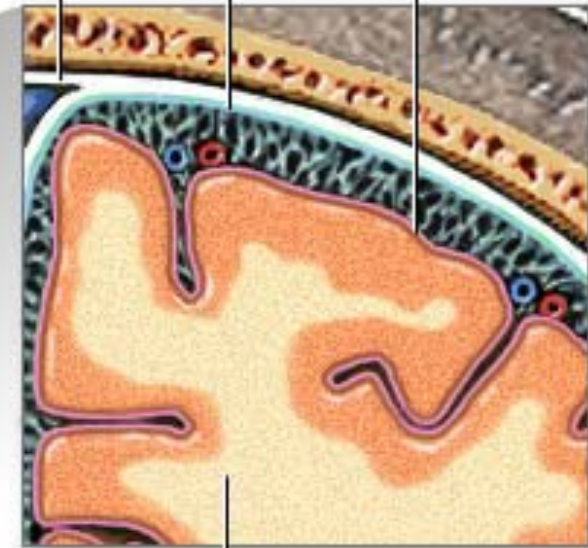
Les méninges sont des membranes couvrant et protégeant le cerveau et la moëlle épinière



Dure-mère (2 couches)

Arachnoïde

Pie-mère



Cerveau

© ADAM, Inc.



Le cerveau n'est pas en contact direct avec les os du crâne. Les méninges sont interposées entre l'os et le tissu nerveux. On distingue :

La dure mère: enveloppe rigide, fibreuse, entourant le cerveau et la moëlle épinière. Sa surface est hérissée de villosités et adhère à l'os au niveau du crâne, mais en reste séparée au niveau du rachis formant l'espace épidural. Sa face interne émet des prolongements qui séparent les unes des autres les différentes parties de l'encéphale: **tente du cervelet** recouvrant les deux hémisphères, s'étendant transversalement entre la face supérieure du cervelet et la face inférieure des lobes occipitaux. **Faux du cerveau** séparant les deux hémisphères cérébraux. **Faux du cervelet** séparant les deux hémisphères cérébelleux. **Tente de l'hypophyse** s'étendant au dessus de la fosse pituitaire.

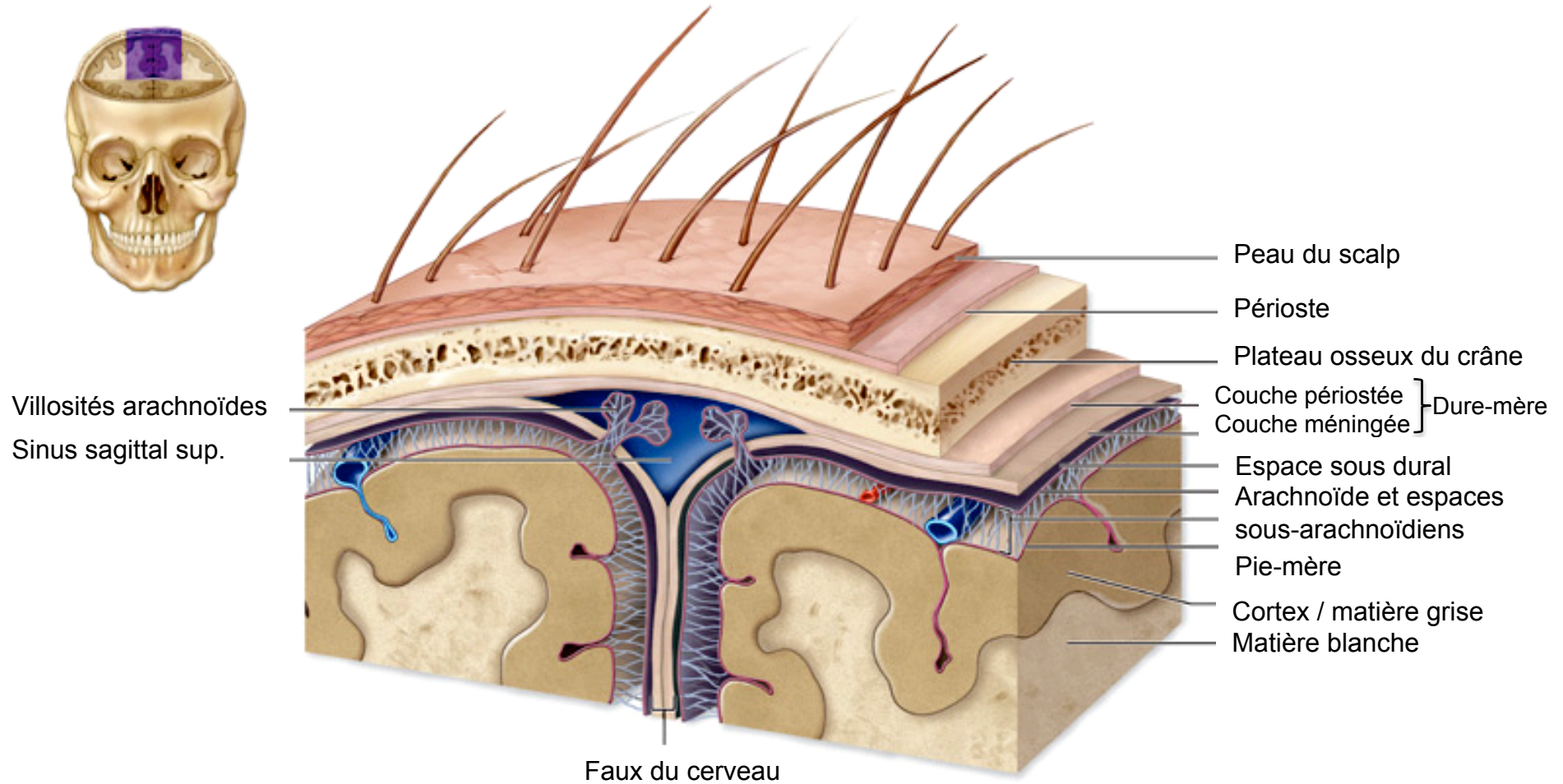
L'arachnoïde: prend l'apparence d'une toile d'araignée, fibreuse, translucide, dérive embryologiquement de la pie-mère.

La pie mère (pie mère rachidienne et pie mère crânienne): fine membrane adhérant fortement à la surface du cerveau, séparée de la membrane arachnoïde par un espace rempli par le liquide céphalo-rachidien (LCR). Riche en vaisseaux sanguins qui y cheminent avant de s'enfoncer dans la substance nerveuse. De ce fait, membrane nourricière..

L'arachnoïde et la pie mère forment **les leptoméninges**, ou « méninges molles ».

Anatomie des méninges

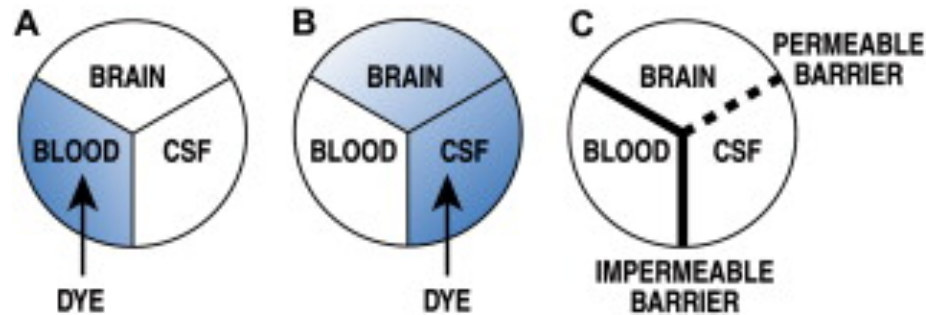
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Méningite bactérienne: œdème inflammatoire et hémorragique de la leptoméninge



Historique de la barrière Hémato-encéphalique



Paul Ehrlich



Edwin Goldmann



Lina Stern

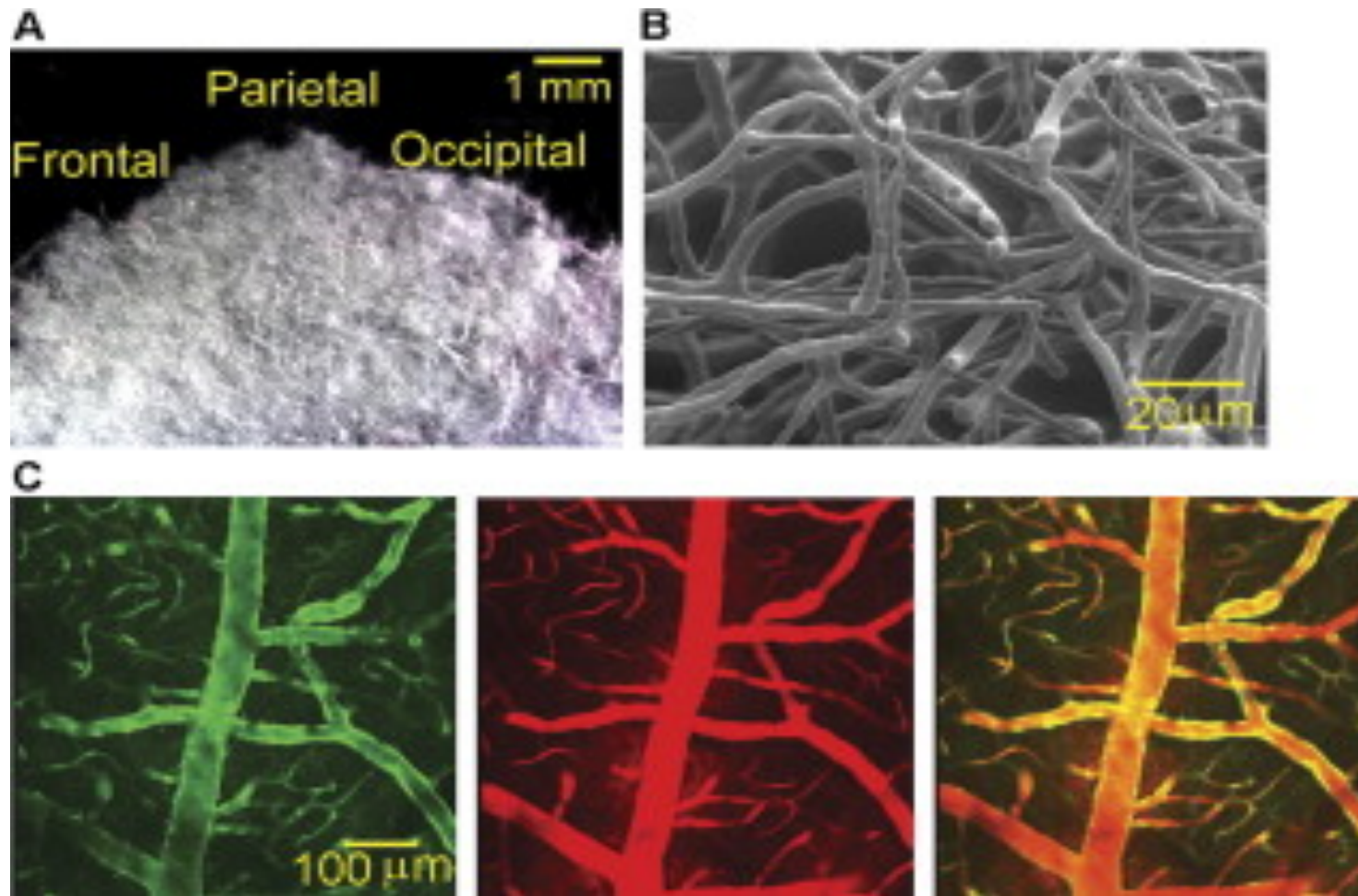
- Au début du 20^{ème} siècle, Paul Ehrlich utilisant un certain nombre de colorants dont l'aniline afin de mieux examiner la fine structure histologique des organes note que l'aniline colore tous les organes sauf le cerveau. Sa première interprétation est que le tissu cérébral ne peut fixer les colorants.

- En 1913, un de ses étudiants, Edwin Goldmann, injecte ce même colorant dans le liquide cérébro-spinal (LCR) de plusieurs animaux et montre que dans ce cas, le tissu cérébral est parfaitement coloré, mais pas le reste de l'organisme !

Ceci démontrait l'existence d'une véritable compartimentalisation entre le système nerveux central (CNS) et le reste de l'organisme. On pensa que les vaisseaux sanguins eux-mêmes étaient responsables de cet effet de barrière car aucune membrane n'était observable.

Le concept de barrière hémato-encéphalique (BHE), ou barrière hémato-cérébrale (BBB) fut proposé en 1921 par Lina Stern

Microcirculation cérébrale



A – Moulage de la microcirculation cérébrale de la souris (infusion méthyl-métacrylate puis dissolution en hydroxyde de potassium)

B – Microscopie électronique à balayage

C – Observation intravitale par microscopie biphotonique. Vert = transgène exprimant Tie-2-GFP (paroi vasculaire). Rouge = Tetra-meta-rhodamine (70 kDa) injectée et persistant dans les vaisseaux..

R. Love & Ziokovic RV

GENERALITES : DEFINITION ET HISTOLOGIE

- La barrière sang-cerveau ou barrière hémato-encéphalique (BHE) sépare les vaisseaux sanguins de l'espace extracellulaire du tissu nerveux.
- Les cellules endothéliales des capillaires cérébraux diffèrent de celles du reste de l'organisme par l'existence de jonctions serrées ayant une résistance électrique très élevée qui empêche la diffusion des molécules, même de petite taille (ex.: ions).
- La BHE se constitue très tôt au cours du développement embryonnaire mais toutes les parties du cerveau ne sont pas protégées par cette barrière. Elle est absente au niveau de l'hypophyse postérieure, de l'éminence médiane, de l'hypothalamus et des organes circum-ventriculaires (area postrema, organe subformical, organe sous commissural, organe vasculaire de la lame terminale).
- Cette absence de BHE répond à plusieurs nécessités : neuro-sécrétion par l'hypophyse postérieure et chémo- réception par l'organe subformical.
- Ces régions sont séparées du reste du cerveau par des cellules épendymaires spécialisées unies par des jonctions serrées.

PERMEABILITE

-La BHE est imperméable à un grand nombre de molécules, protégeant ainsi le cerveau contre les variations de concentration des ions et des neurotransmetteurs ou des neuro-hormones circulant dans le sang.

- Seules les molécules très lipophiles peuvent la franchir. Certaines molécules le font grâce à des systèmes de transport ; c'est le cas du glucose ou des AA ; pour lesquelles il existe 3 systèmes de transport différents :

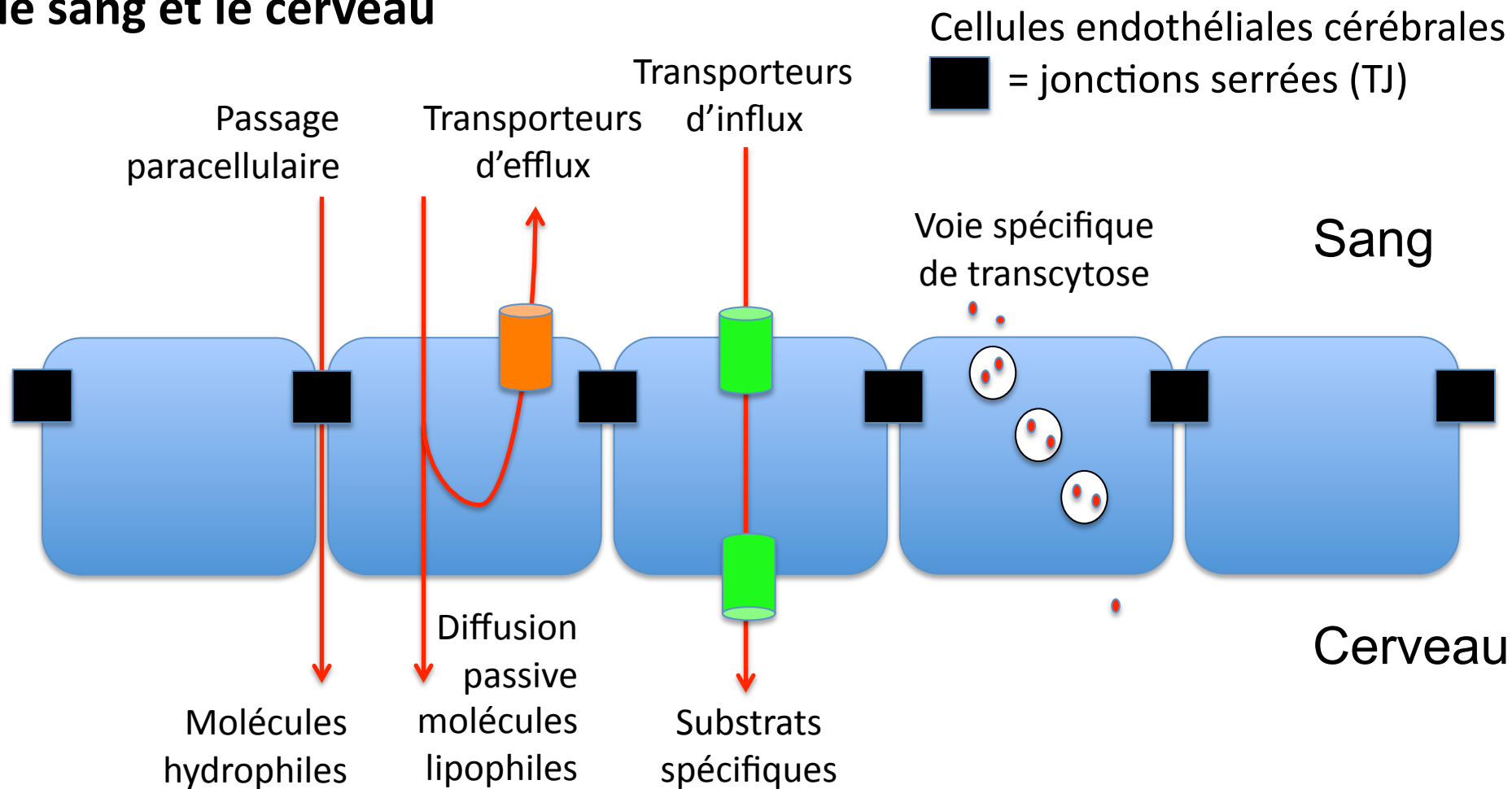
(1) Le passage du glucose, substrat énergétique fondamental de la cellule nerveuse, est très sélectif puisque seul le D-glucose intervient dans les besoins métaboliques.

(2) Les neurones : le D-glucose entrant est supérieur à la demande métabolique, mais la situation s'inverse si la glycémie est basse : il peut en résulter 1 coma hypoglycémique.

(3) Le passage des acides aminés indispensables pour la synthèse protéique dans le SNC est assuré par des transporteurs différents selon que l'AA est neutre ou basique.

La pénétration d'1 AA donné dépend de sa concentration plasmatique par rapport à celle des autres AA du même groupe. Cette situation a des conséquences sur la synthèse de diverses molécules comme les neurotransmetteurs. L'augmentation de l'apport alimentaire de tryptophane facilite la synthèse de sérotonine dont il est précurseur.

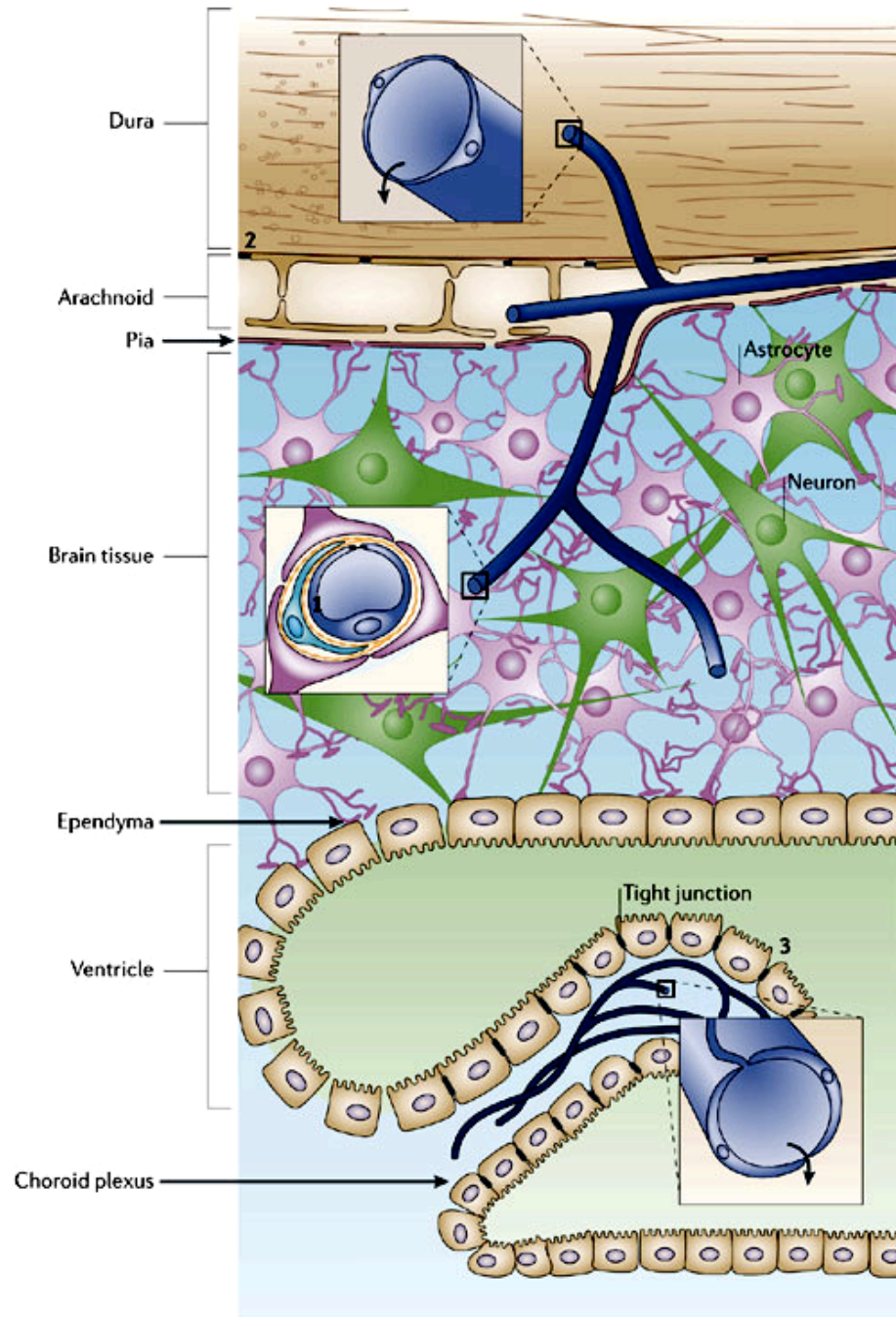
La barrière hémato-encéphalique est une barrière active permettant de maintenir l'homéostasie cérébrale en contrôlant les échanges entre le sang et le cerveau



Adapté de Vigicell

L'intégrité de la BHE est souvent altérée au cours maladies du système nerveux central : maladies neurodégénératives, tumeurs primaires ou métastatiques, infections virales ou bactériennes, sclérose en plaques, accident vasculaire cérébral.

Barrière hématoencéphalique / Barrières hématoencéphaliques



Les barrières sont présentes à trois sites principaux:

1 – **Endothélium vasculaire cérébral**, barrière hémato cérébrale (BBB) .

2 – **Epithélium arachnoïde**, couche intermédiaire de la méninge.

3 – **Plexus choroïdes sécrétant le LCR**
Barrière hémato-LCR.

A chacun de ces sites, la barrière physique est liée à la présence de jonctions serrées réduisant la perméabilité de la voie paracellulaire (intercellular cleft)

Barrière hémato-encéphalique (BHE / BBB): endothélium des microvaisseaux du SNC.

La BHE empêche la diffusion libre par voie paracellulaire des molécules hydrosolubles. Rôle essentiel **des jonctions serrées** (TJs) organisées dans un réseau complexe, de **l'absence de fenestration** et d'une **faible activité de micropinocytose** limitant le passage transcellulaire des molécules.

Combinaison à un grand nombre de mécanismes de transport assurant le « filtrage » des nutriments et médiateurs nécessaires au métabolisme et fonctions du cerveau, et le rejet des molécules sériques potentiellement toxiques.

Interaction avec plusieurs types cellulaires contribuant au maintien anatomique et fonctionnel de la barrière: astrocytes, péricytes, cellules présentatrices d'antigène.



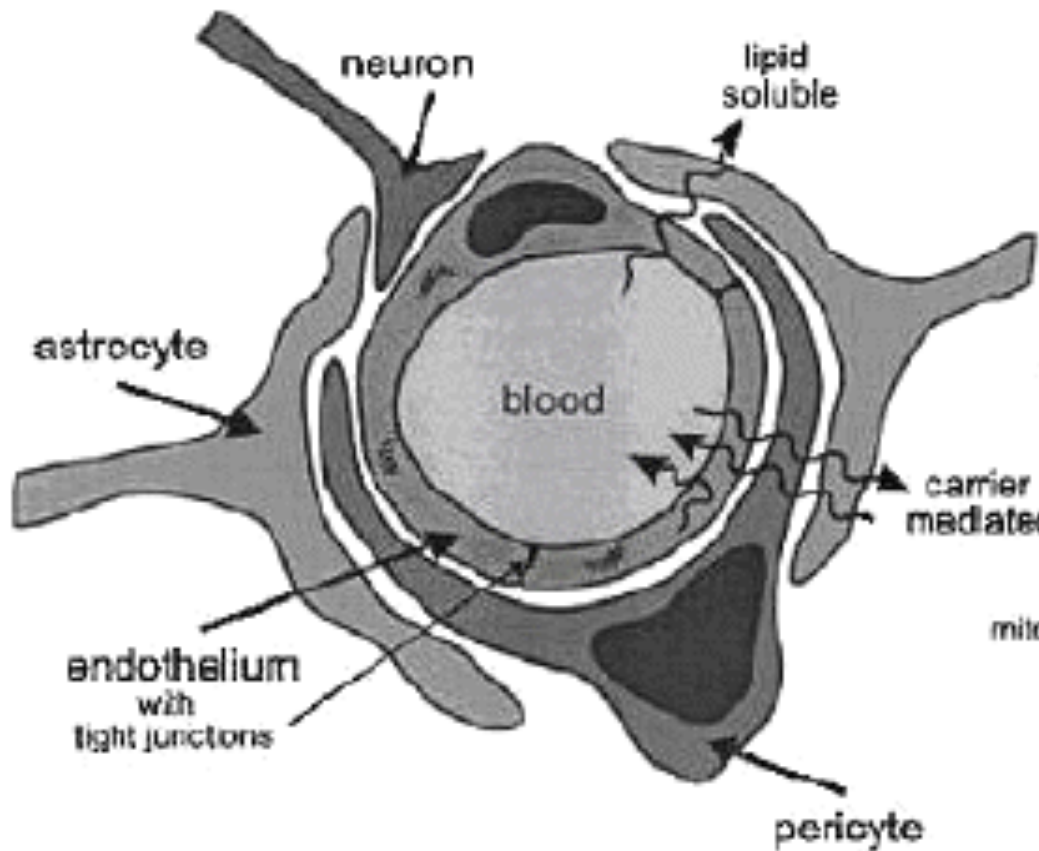
Moulage du réseau microvasculaire cérébral

Engelhardt B & Sorokin L. 2009.

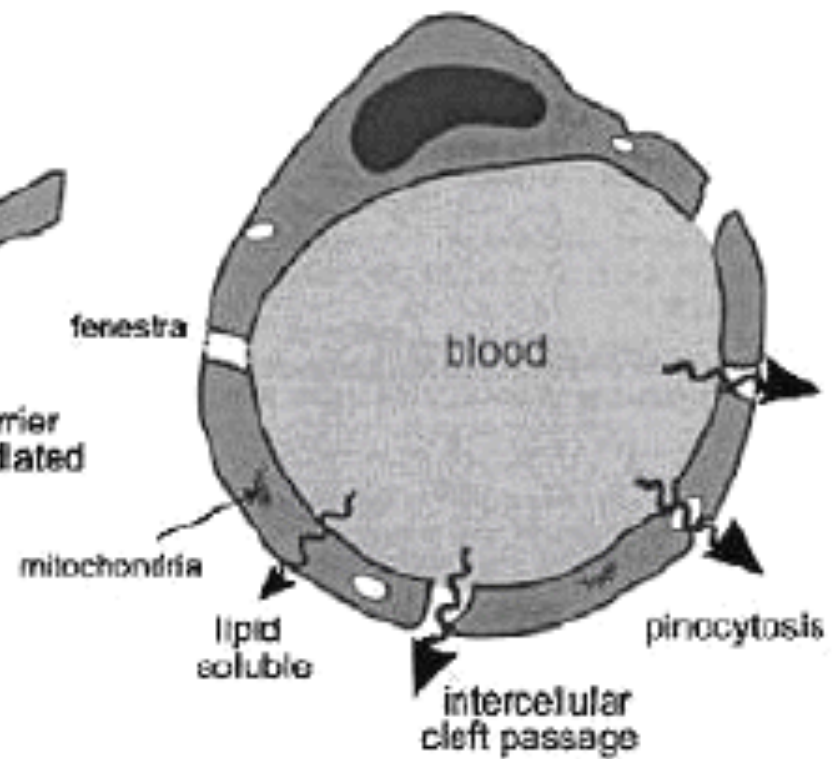
The blood brain barrier and the blood-cerebrospinal fluid barrier: function and dysfunction. Semin. Immunopathol., 31:497-511

Barrière hémato-encéphalique (BHE / BBB)

Microvaisseau cérébral



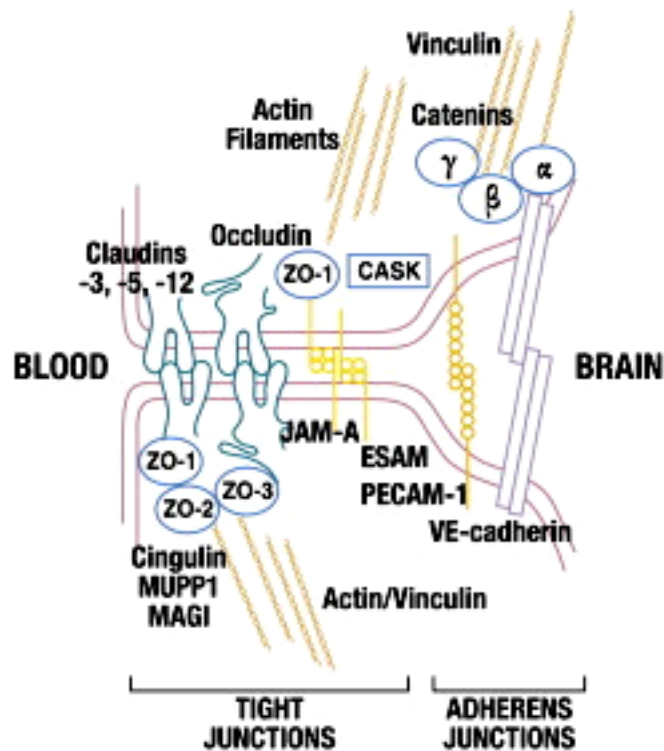
Microvaisseau « classique » fenêtré



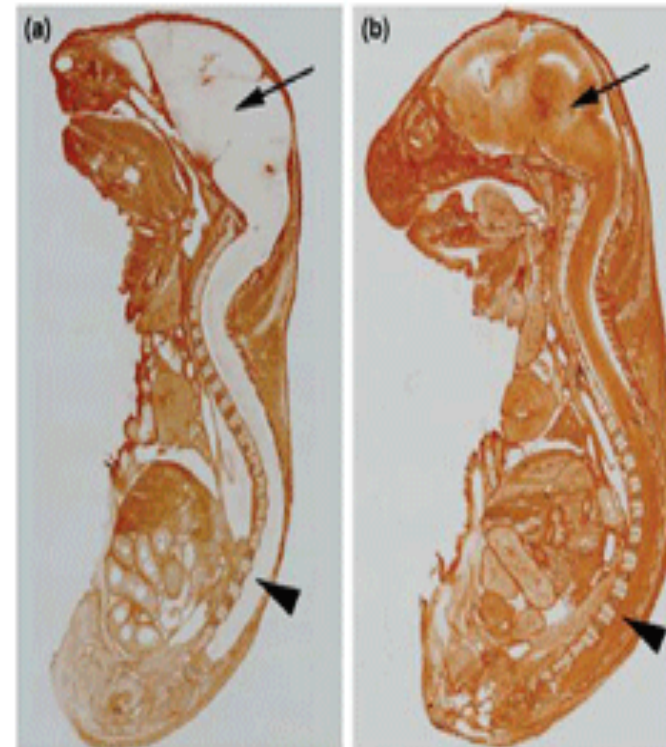
La BHE au niveau moléculaire

A

Rôle majeur de Claudine 5 dans l'imperméabilité de la BHE



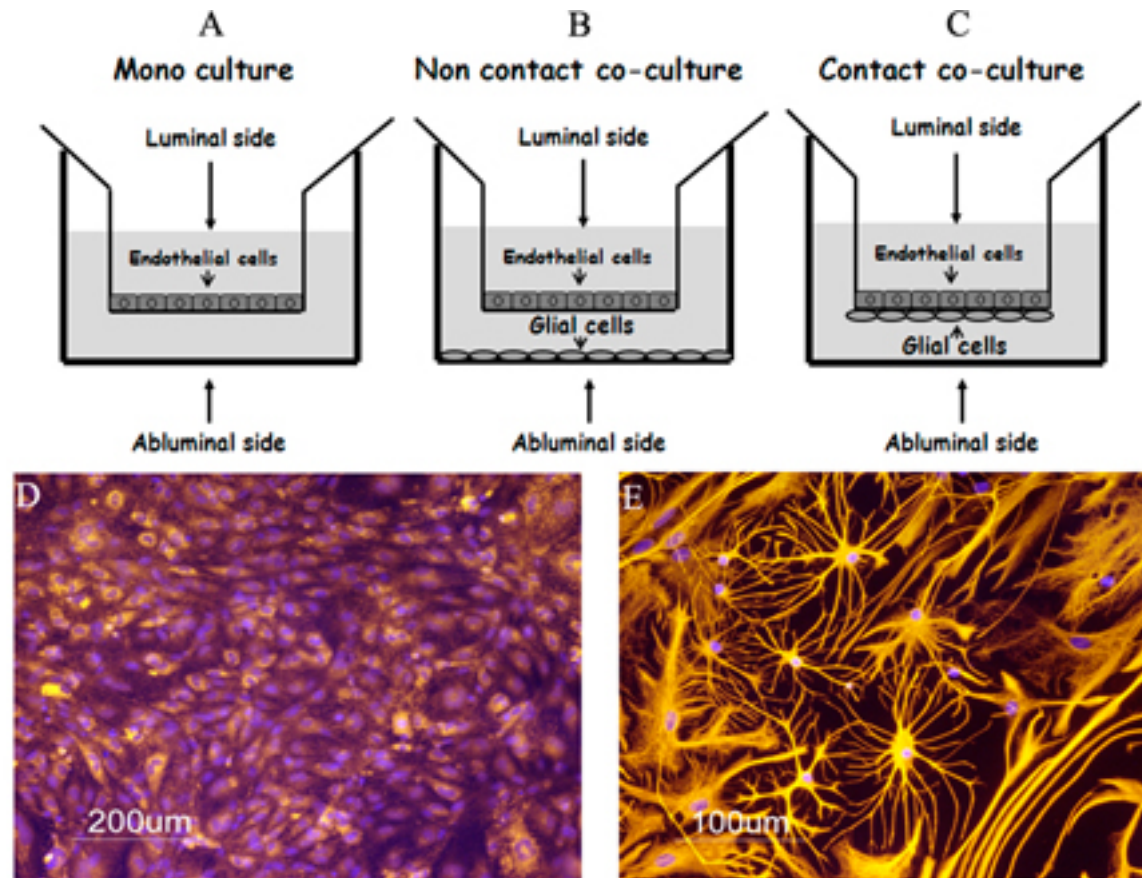
Jonctions serrées



Altération de la BHE dans un embryon de souris déficiente en claudine-5. Un traceur injecté par voie intracardiaque dans un embryon de souris de 18.5 jours est exclu du cerveau (flèche) et de la moelle épinière (tête de flèche) chez un animal normal (a), mais diffuse dans le système nerveux central d'une souris déficiente en claudine-5 (b) *Furuse & Tsukita, Trends Cell Biol. 2006, 16: 181-88*

Vers des modèles in vitro de BHE (1)

Cecchelli R et coll. 2007. Nat. Rev. Drug Discov., 6:650-661

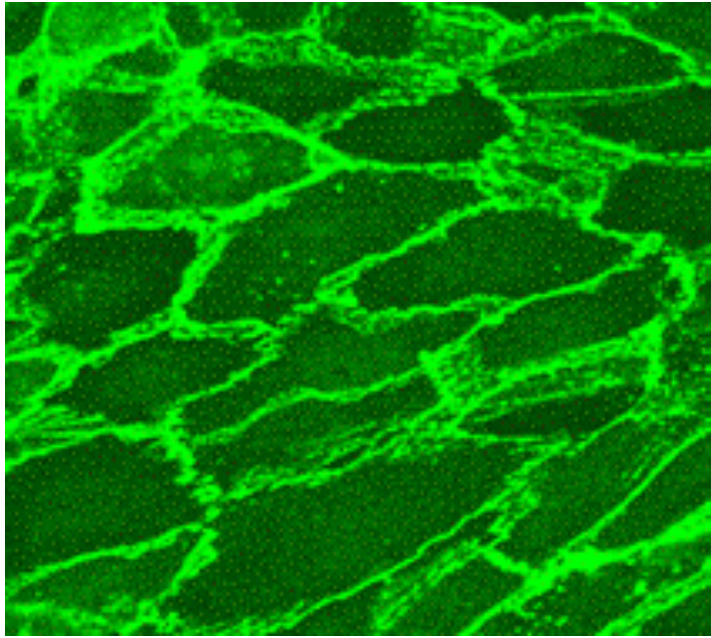


Capillaires cérébraux de porc
Ac anti-von Willebrand

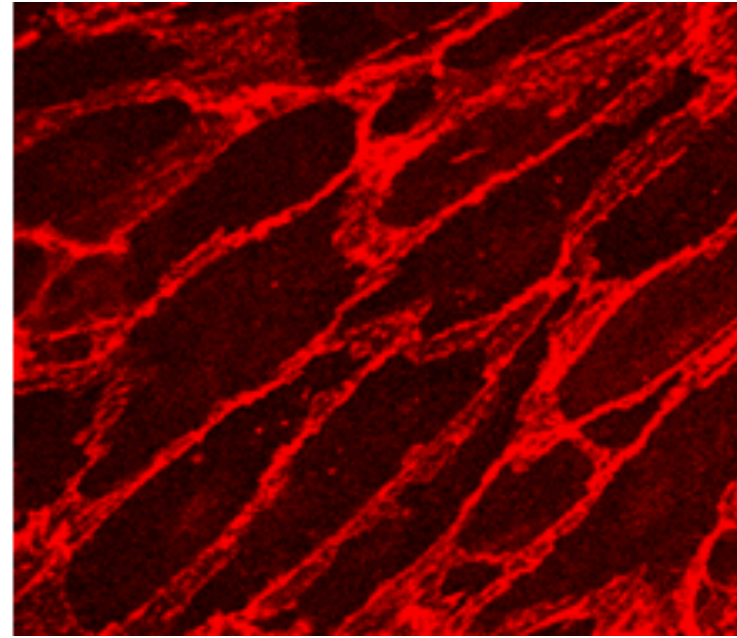
Cellules gliales
Ac anti-protéine fibrillaire acide

D'après Teichsberg V, The Weizmann Institute

Vers des modèles in vitro de BHE (2)



PECAM-1 (CD31)



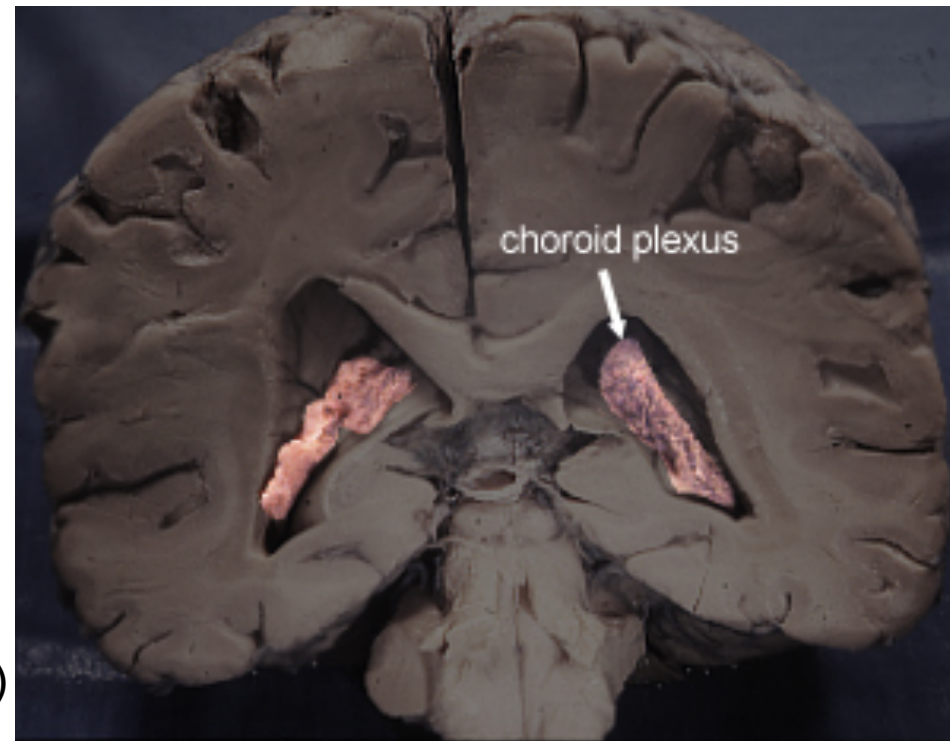
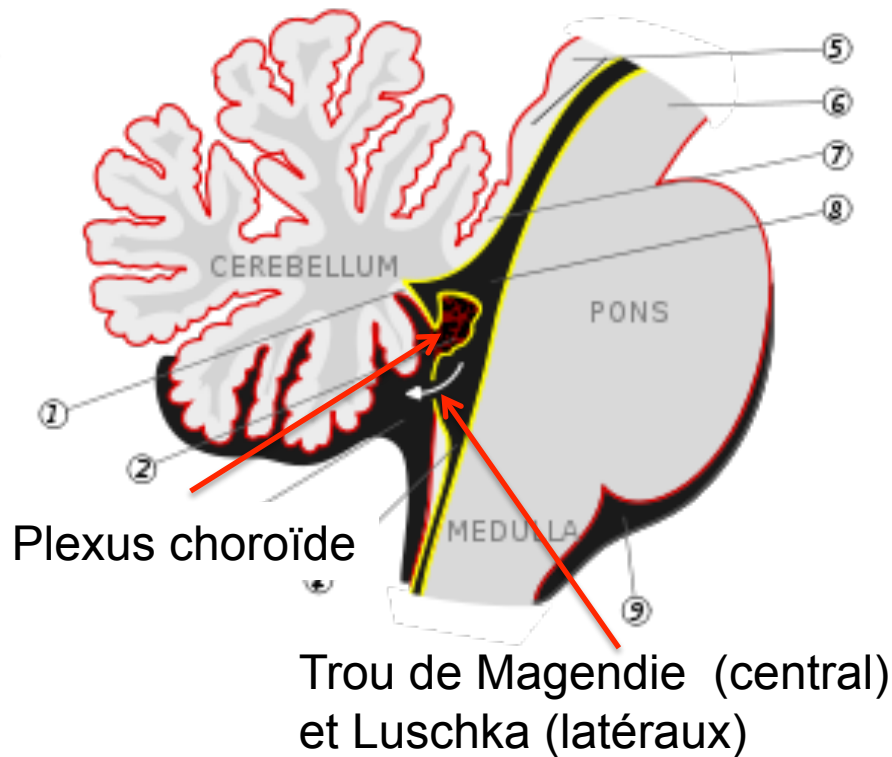
Béta-Caténine

Les modèles in vitro de BHE actuels utilisent des cultures primaires de cellules endothéliales cérébrales (bovines, porcines, murines) généralement co-cultivées avec des cellules gliales. Aucun modèle satisfaisant de BHE humaine actuellement disponible.

Une lignée endothéliale cérébrale humaine immortalisée (lentivirus-téломérase/lentivirus AgT de SV40), hCMEC/D3 a été mise au point par le groupe de **PO Couraud** à l'Institut Cochin. Cette lignée maintient stablement (>100 passages) un phénotype différencié de BHE. Elle présente une perméabilité restreinte aux molécules d'hydrophobicité variable qui est corrélée aux données in vivo de perméabilité à travers la BHE.

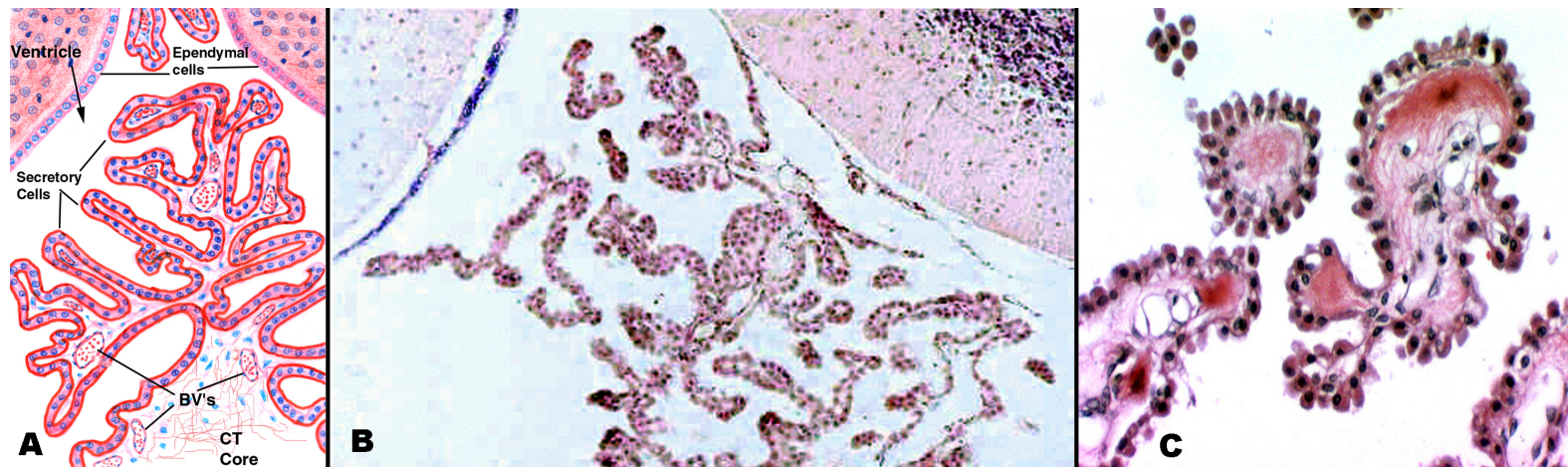
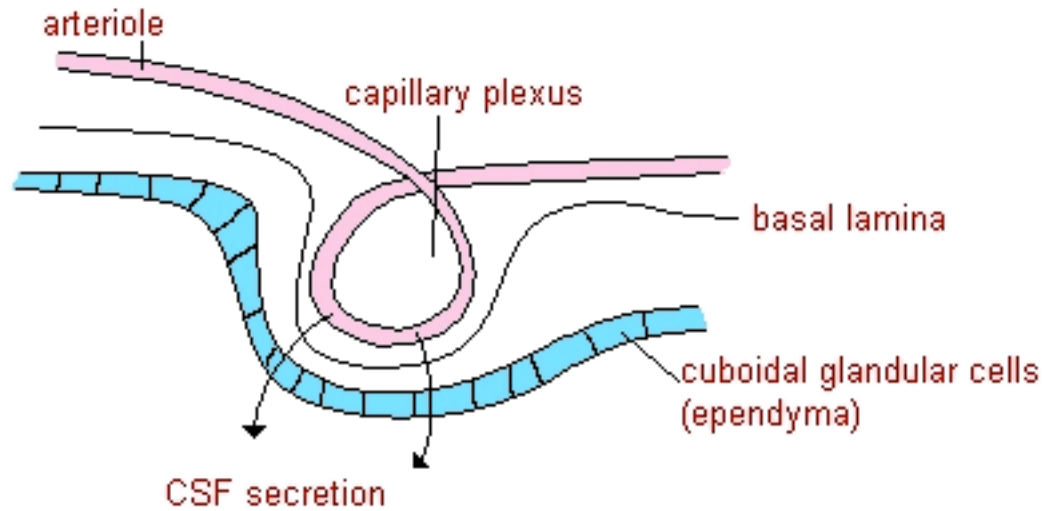
(Weksler BB et coll. 2005. FASEB J.,19:1872-1874)

Barrière hémato-liquide céphalorachidien



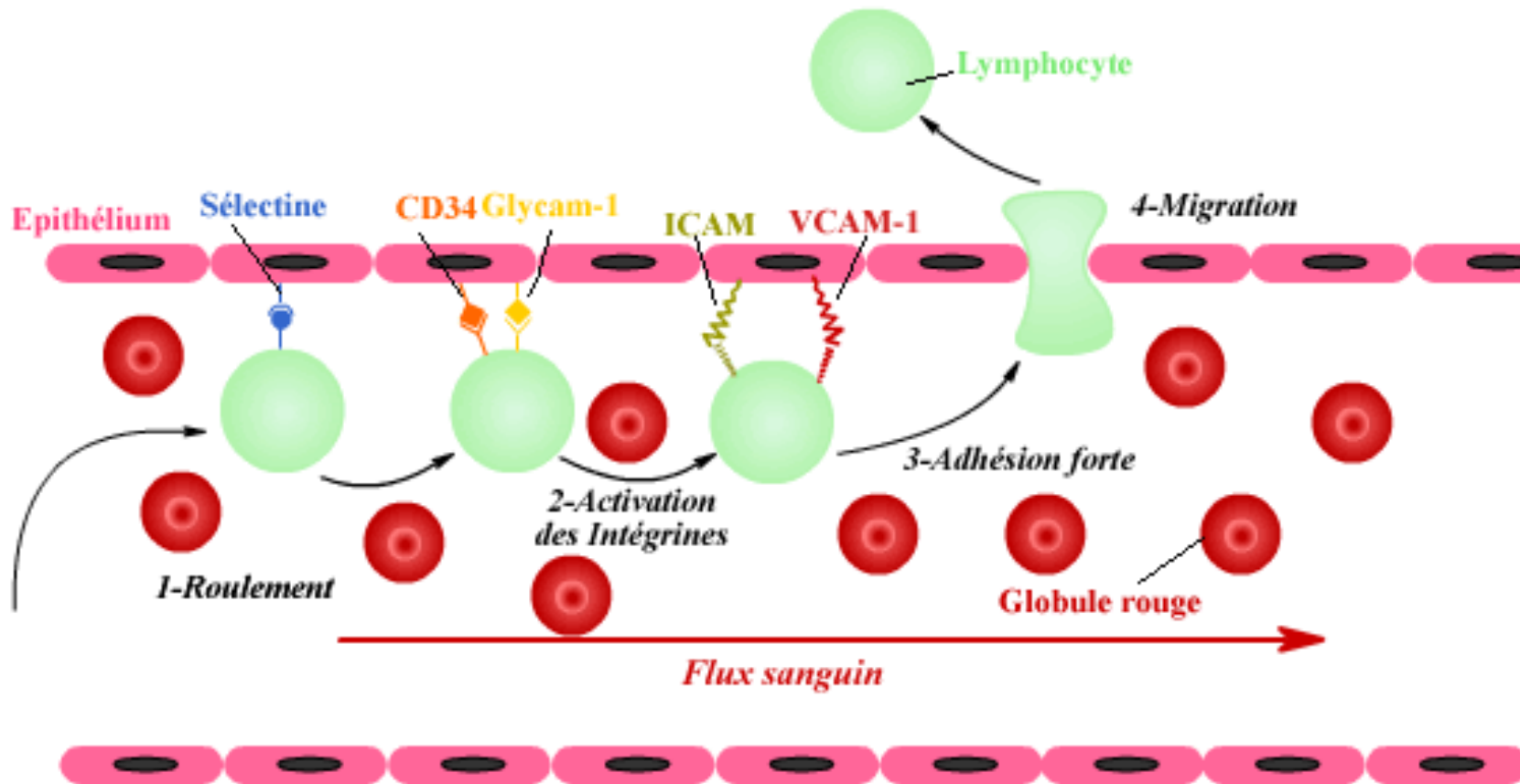
Les plexus choroïdes produisent le liquide céphalo-rachidien (LCR) qui se retrouve dans les ventricules cérébraux et dans les espaces sous-arachnoïdiens autour du cerveau et de la moelle épinière. Ils sont constitués d'un riche réseau capillaire, relativement fenêtré, de la pie-mère et de cellules épithéliales choroïdes. Ils sont localisés dans certaines zones du système ventriculaire: toit du 4^{ème} ventricule et jonction entre ventricules latéraux et 3^{ème} ventricule.

Anatomie fonctionnelle des plexus choroïdes



Structure des plexus choroïdes: dominance des jonctions serrées de l'épithélium épendymaire

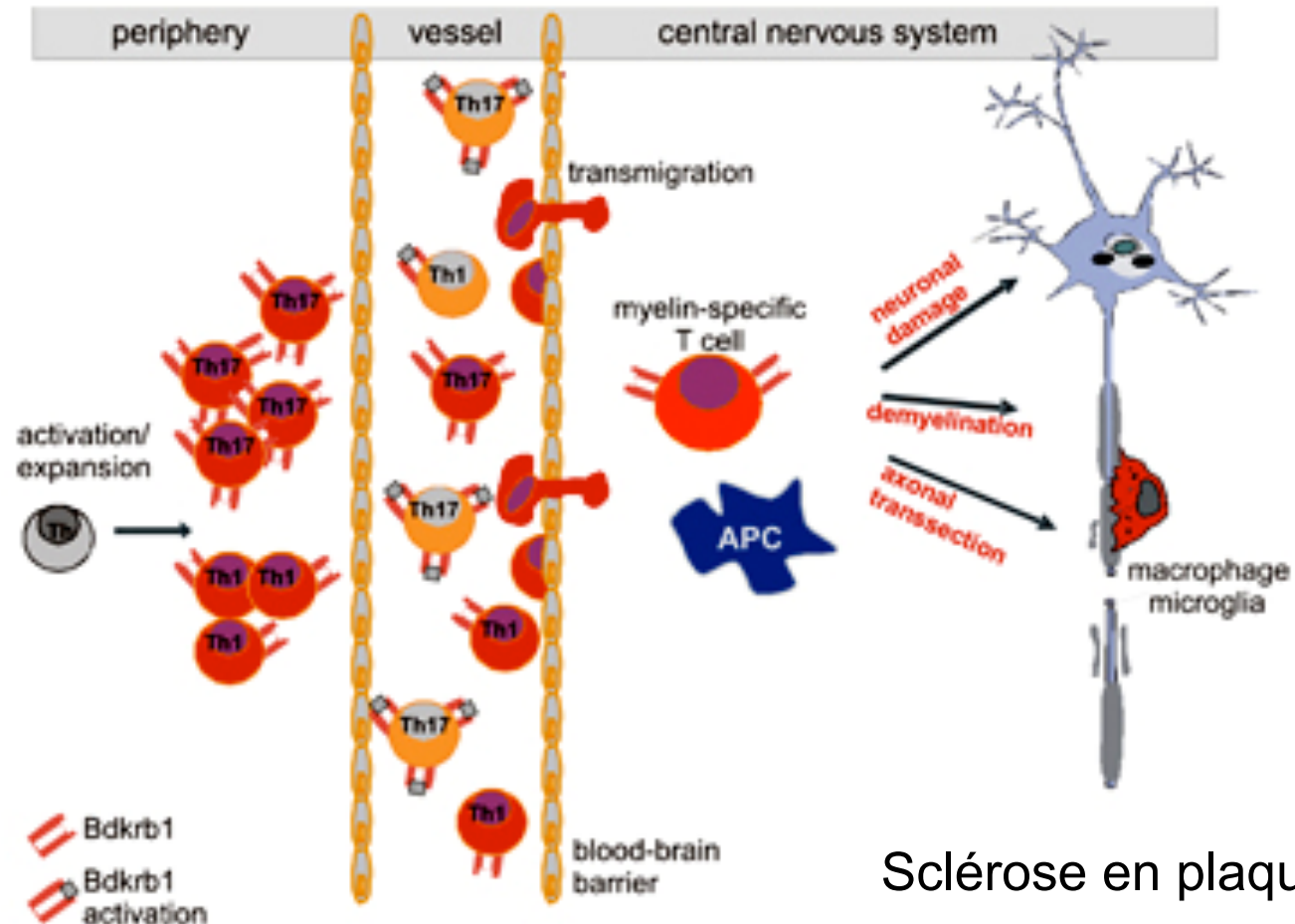
Le système nerveux central (SNC) est un organe immunoprivilégié. Dans des conditions normales, très peu de lymphocytes (et autres cellules immunitaires) traversent la BHE



Les cytokines $TNF-\alpha$, $IL-1$ et $IFN-\gamma$ induisent l'expression de ICAM et d'autres intégrines et favorisent l'attraction des lymphocytes et monocytes dans le SNC en leur permettant de traverser la BHE.

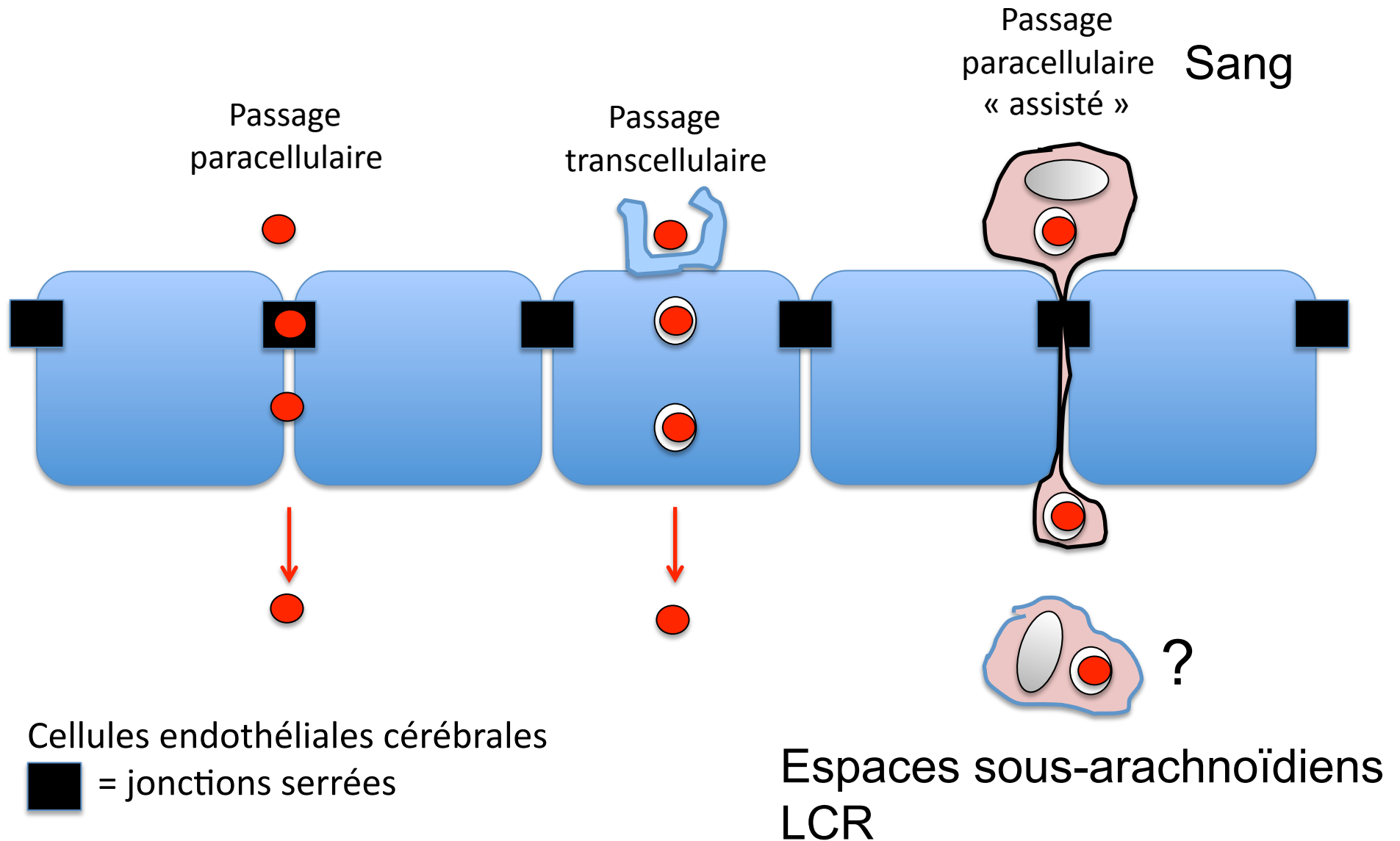
Monique Lafont, Cours de Virologie Générale, Institut Pasteur

Entrée des cellules T (Th1/Th17) dans le SNC via la microcirculation cérébrale (BHE)



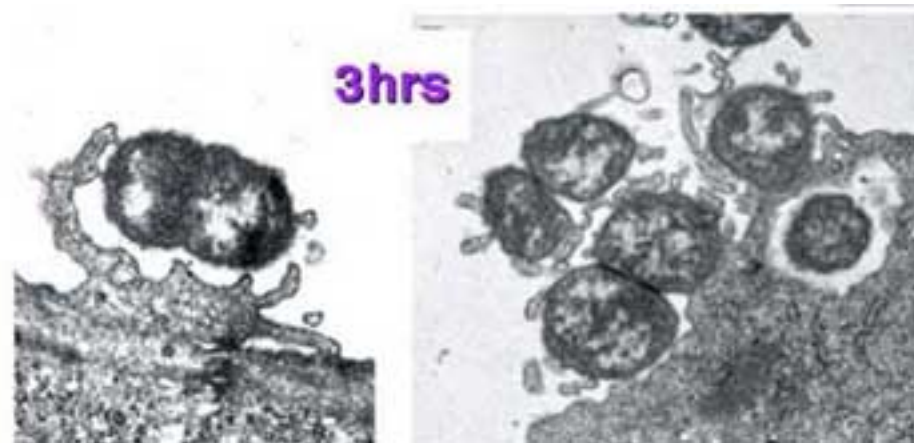
Schulze-Topphoff U, Prat A, Prozorovski T, Siffrin V, Paterka M, Herz J, Bendix I, Ifergan I, Schadock I, Mori MA, Van Horssen J, Schröter F, Smorodchenko A, Han MH, Bader M, Steinman L, Aktas O, Zipp F. 2009. Activation of kinin receptor B1 limits encephalitogenic T lymphocyte recruitment to the central nervous system. *Nat Med.* Jul;15(7):788-93. Epub 2009 Jun 28

Possibles stratégies de franchissement de la barrière hémato-encéphalique par les pathogènes bactériens



Méningocoques: questions. Physiopathologie (entrée plexus choroïdes ? Capillaires ?) Mécanismes ? Clones invasifs ?

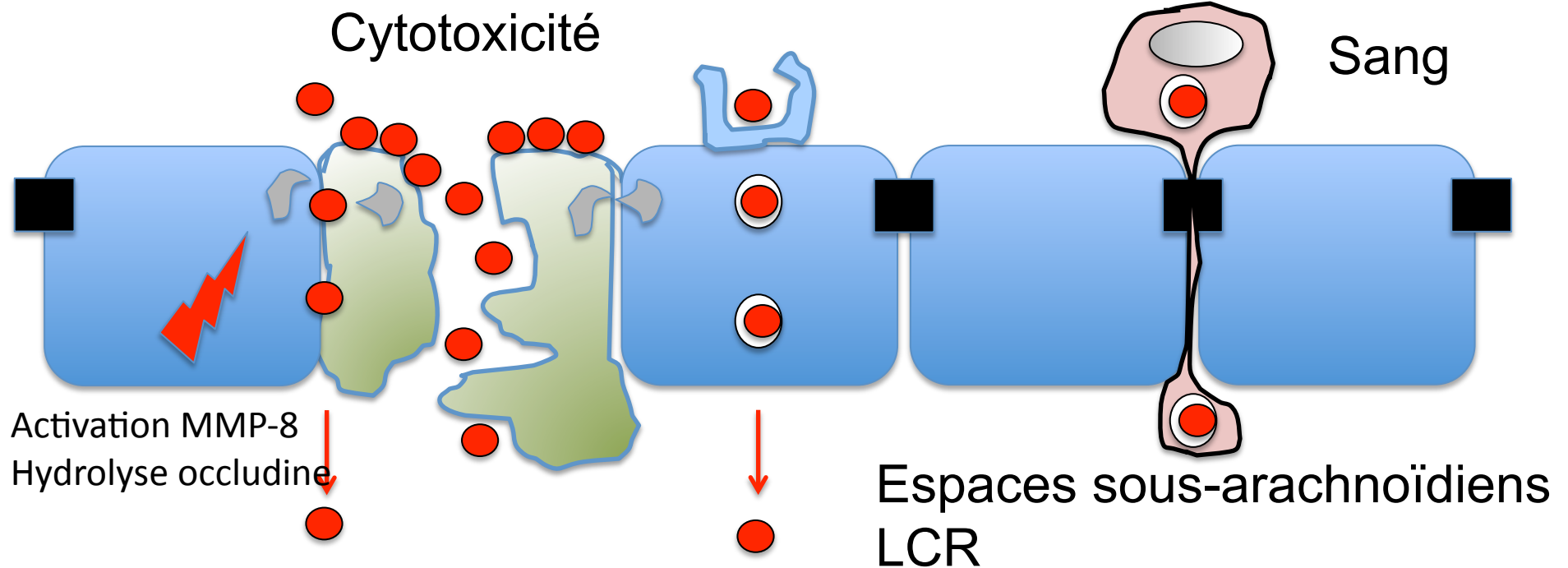
La bactérie a la capacité de franchir la barrière hémato-encéphalique au niveau des plexus choroïdes et/ou des capillaires méningés après internalisation et transcytose au travers ces couches cellulaires. Le principal facteur de virulence à ce niveau sont les **pili de type IV qui permettent à la bactérie d'adhérer aux cellules endothéliales.**



Bon nombre d'inconnues persistent quant à la virulence de *N. meningitidis*, notamment pour ce qui est spécifique aux souches des complexes clonaux invasifs. Le génome de plusieurs souches est actuellement connu et accessible sur <http://www.tigr.org/tigr-scripts/CMR2/CMRGenomes.spl>. Les comparaisons génomiques entre souches virulentes et non virulentes devraient permettre l'identification des facteurs spécifiques des souches invasives.

Possibles stratégies de franchissement de la barrière hémato-encéphalique par les pathogènes

Purpura fulminans méningococcique
Bactéries + médiateurs inflammatoires (TNF...)



Cellules endothéliales cérébrales

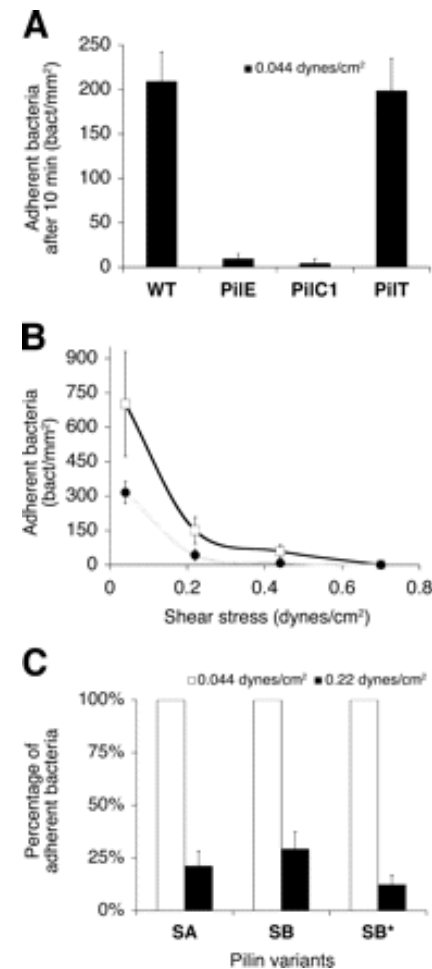
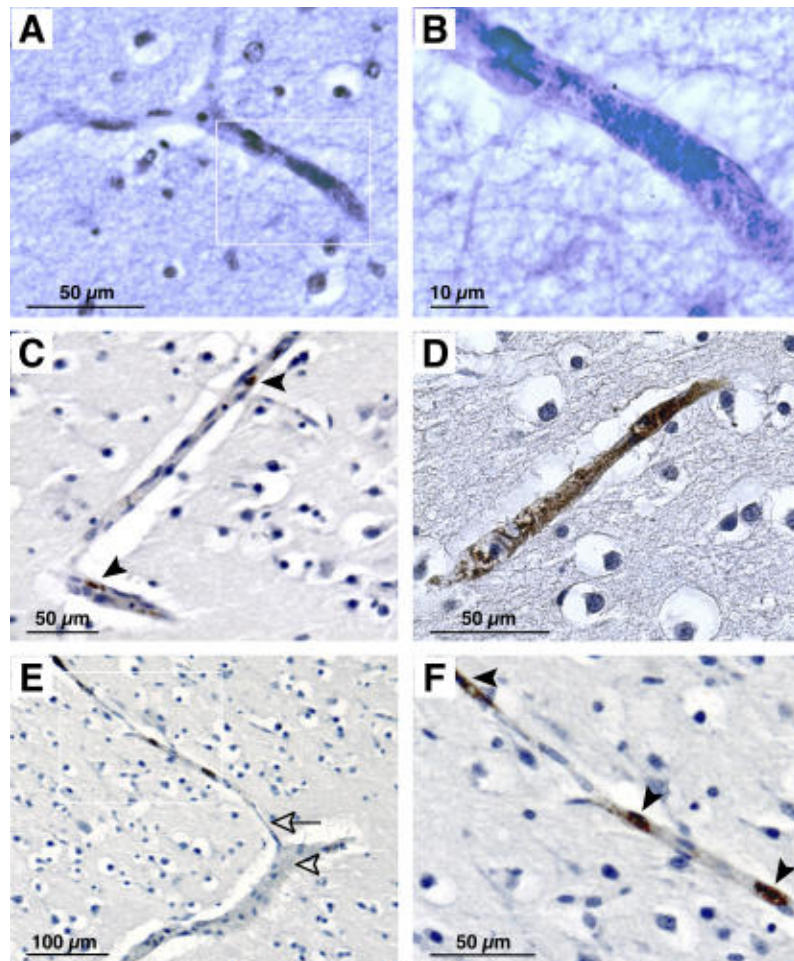
■ = jonctions serrées

Schubert-Unkmeir A et coll. 2010. PLoS Pathog., 6(4):e1000874

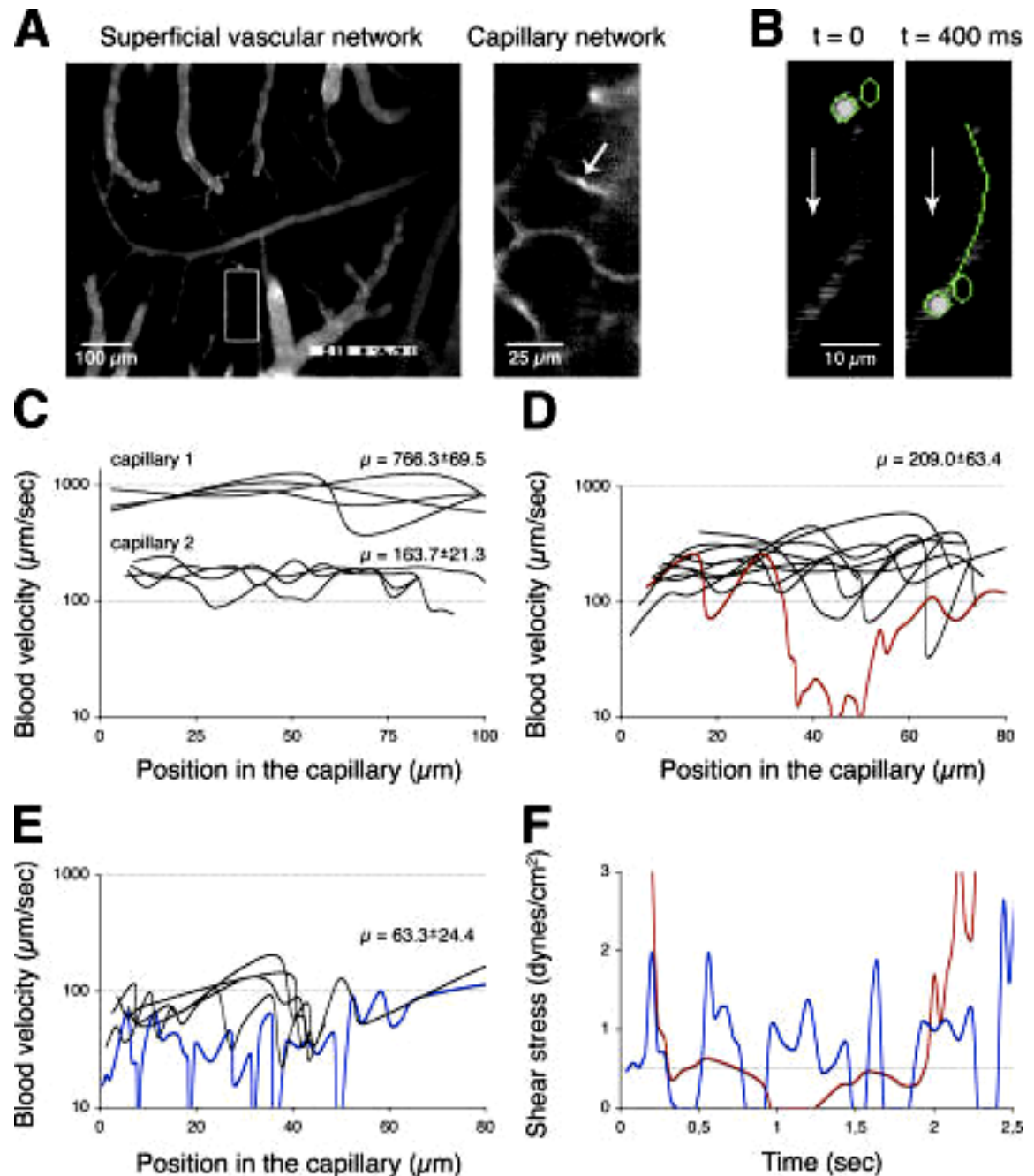
J Exp Med. 2006 Aug 7;203(8):1939-50.

Cerebral microcirculation shear stress levels determine *Neisseria meningitidis* attachment sites along the blood-brain barrier.

Mairey E, Genovesio A, Donnadiou E, Bernard C, Jaubert F, Pinard E, Seylaz J, Olivo-Marin JC, Nassif X, Duménil G.

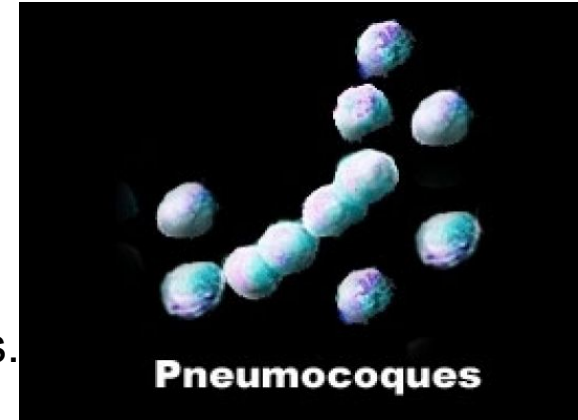


In vivo imaging of cerebral microcirculation in anesthetized rats equipped with a closed cranial window shows that local and transient blood flow reductions through cerebral capillaries provide conditions compatible with neisserial adhesion. A tracer dose of FITC-dextran was used to label the vascular network. Erythrocytes were labeled with FITC and injected into the animal.



Mauvais pronostic des méningites à pneumocoque

Les méningites à pneumocoque ont le plus mauvais pronostic concernant la mortalité, mais aussi les séquelles.

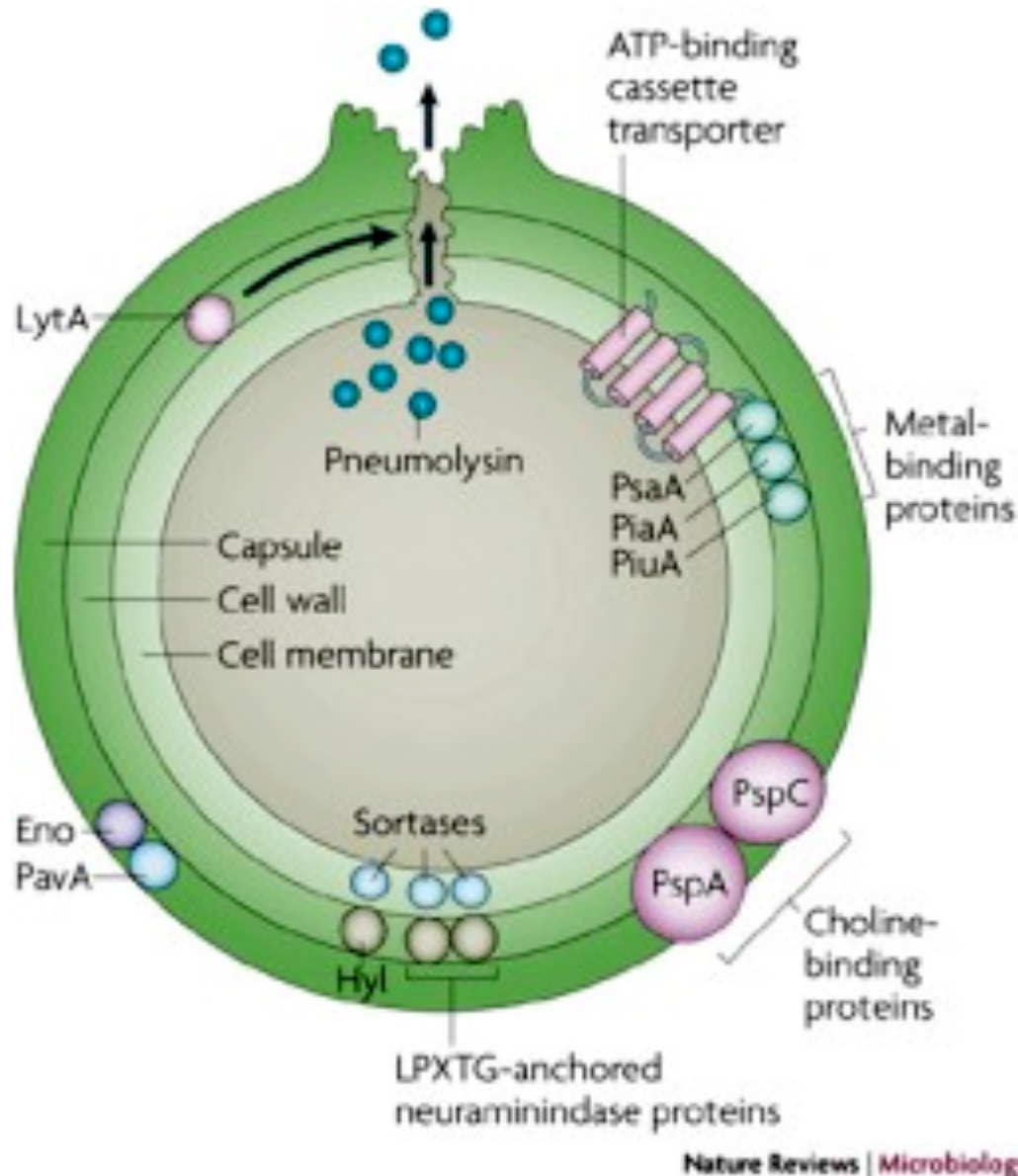


Le facteur dominant est l'état d'hyperinflammation causé au sein du tissu nerveux, au delà des méninges infectées/inflammées.

Les études réalisées dans une combinaison de modèles expérimentaux ont révélé un certain nombre d'éléments sous-tendant cette sévérité:

- Atteinte nécrotique du cortex superficiel médiée en partie par l'anoxie causée par les thromboses vasculaires et la libération de ROS.
- L'apoptose des neurones de l'hippocampe représente la cause dominante des déficits cognitifs et des troubles de l'apprentissage observés à titre de séquelles dans un fort pourcentage de survivants.
- L'oreille (cochlée et nerf auditif) sont des cibles habituelles expliquant les surdités résiduelles fréquentes (physiopathologie ?)

Facteurs de virulence de *Streptococcus pneumoniae* impliqués directement dans la génération de méningite ?



Capsule: anti-phagocytair par charge hydrophile et blocage de l'activation du complément (iC3b). Croissance dans le sang (Mitchell AM & Mitchell TJ. 2010. Clin. Microbiol.Infect.,16:411-418)

Pneumolysine (cholesterol-dependant Hly): diminution de la virulence d'un mutant Ply – dans un modèle de méningite chez la souris (Wellmer A et coll. 2002. Infect. Immun., 70:6504-6508)

Pneumolysine ou Autolysine: Diminution de la virulence de mutants Ply - ou Autolysine - dans un modèle de méningite (Hirst RA et coll. 2008. J. Infect. Dis.).

Choline: CBPs (Gehre F et coll. 2008. J. Intern. Med.)

Aucun modèle animal de méningite à Pneumocoque n'est pleinement satisfaisant. Explorent mal le passage de la BHE

Principaux modèles sur lesquels reposent les études actuelles:

Brandt CT. 2009. Danish Medical Bulletin

Souriceau nouveau-né (11 jours):

Grandgirard D et coll. 2007. Acta Neuropathol., 114:609-617

Efficace, en particulier pour mimer les altérations neurologiques et sensorielles,

Mais injection intracisternale

Souris: inoculation intranasale + hyluronidase (50 % méningo-encéphalite)

Zwijnenburg PJ et coll. 2001. J. Infect. Dis., 183:1143-1146

Rat nourrisson (10 jours):

Rodriguez AF et coll. 1991. J. Infect. Dis., 164:1207-1209

Three IP doses of $1-10 \times 10^8$ cfu of *S. pneumoniae* in 5-day-old rats result in 50 % bacteremia and 46 % meningitis.

Lapin:

Dacey RG & Sande MA. 1974. Antimicrob. Agents Chemother., 6:437-441

Mais injection intracisternale (court-circuite la barrière hémato-encéphalique) de $15-10^9$ CFU !

Modèles ultérieurs: doses IV importantes + altération des méninges (mucine intracisternale). *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, etc...

Vers une identification de complexes clonaux de *S. pneumoniae* « méningitogènes » ?

Extrême difficulté à définir les gènes éventuellement en cause dans la pathogénicité. **Virulome** de *S. pneumoniae* encore en devenir...

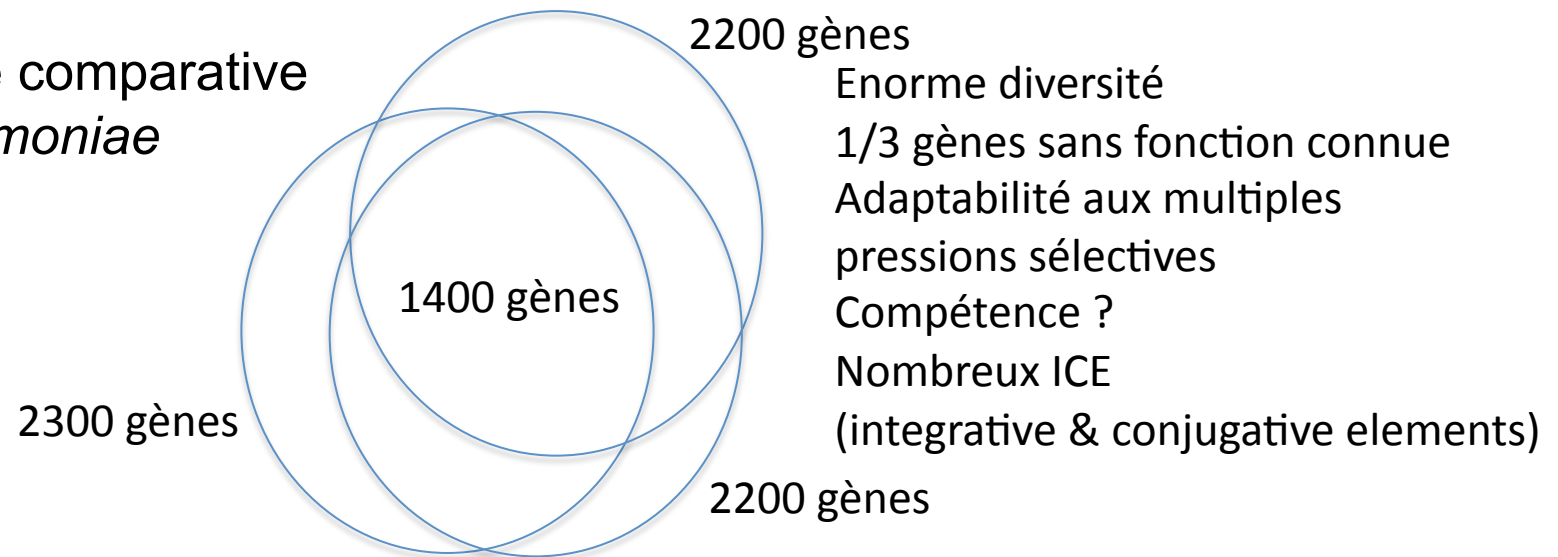
du fait – entre autre - de l'absence de modèle fiable pour explorer le passage de la barrière hématoencéphalique.

Nécessité d'approches complémentaires:

Génomique à haut débit: comparaison de génomes de souches responsables de méningites, en particulier de formes graves et détection de gènes/bactériophages / îlots de pathogénicité en association avec un phénotype « méningite grave ».

Difficile. Nombreux génomes de pneumocoque déjà séquencés

Génomique comparative
de *S. pneumoniae*



The surface protein HvgA mediates group B streptococcus hypervirulence and meningeal tropism in neonates.

Tazi A et al. 2010. J. Exp. Med., 207:2313-2322

Streptococcus agalactiae (GBS) est un constituant normal de la flore intestinale et la cause principale de méningites néonatales.

Un clone unique, GBS ST-17 épidémiologiquement fortement associé avec une forme gravissime de la maladie = méningite à début tardif (LOD) débutant une semaine après la naissance.

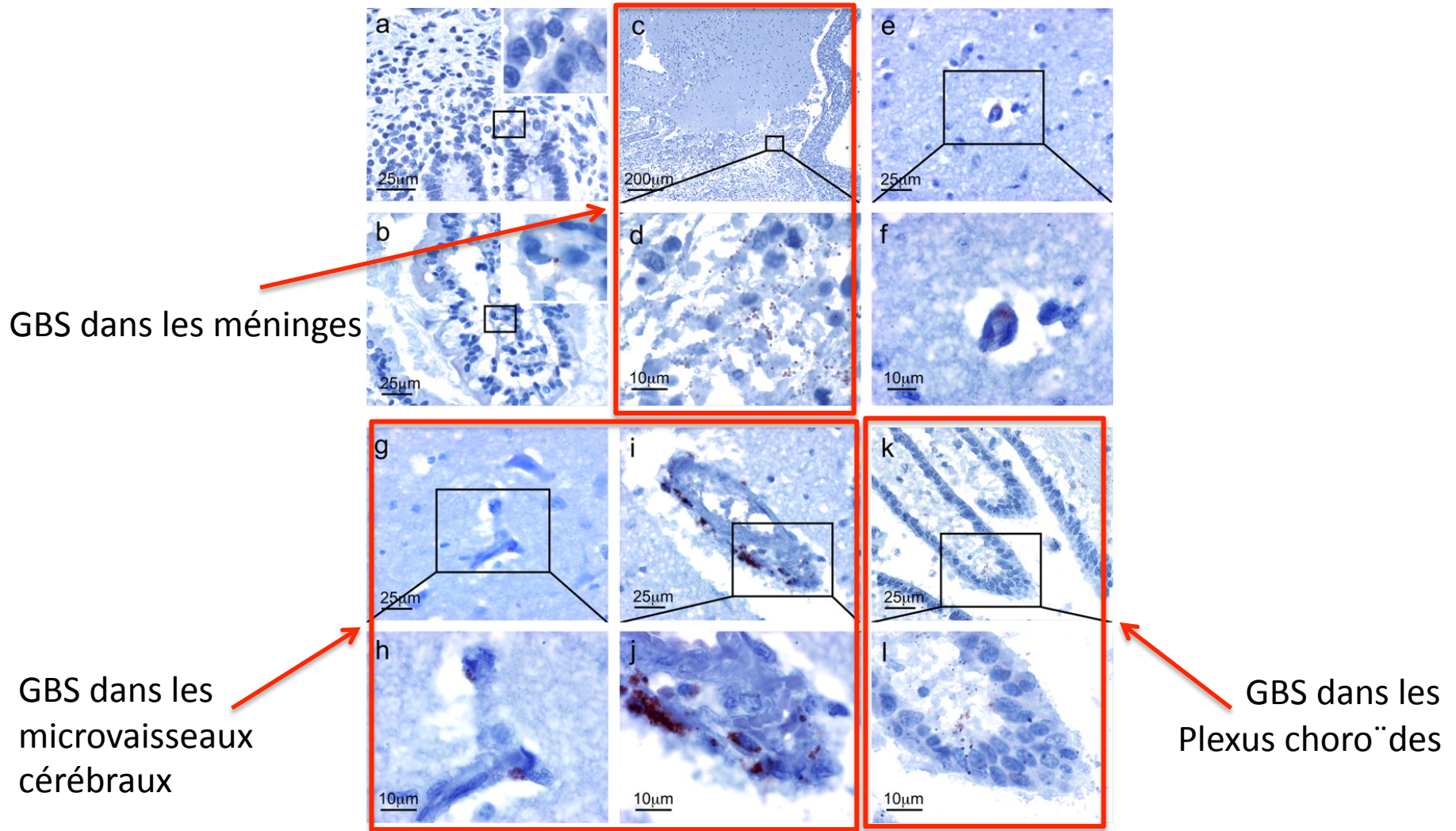
Contamination orale probable.

Identification d'une nouvelle protéine de surface ancrée / adhésine de surface par analyse génomique puis génétique et moléculaire: « hypervirulent GBS adhésin » (HvgA).

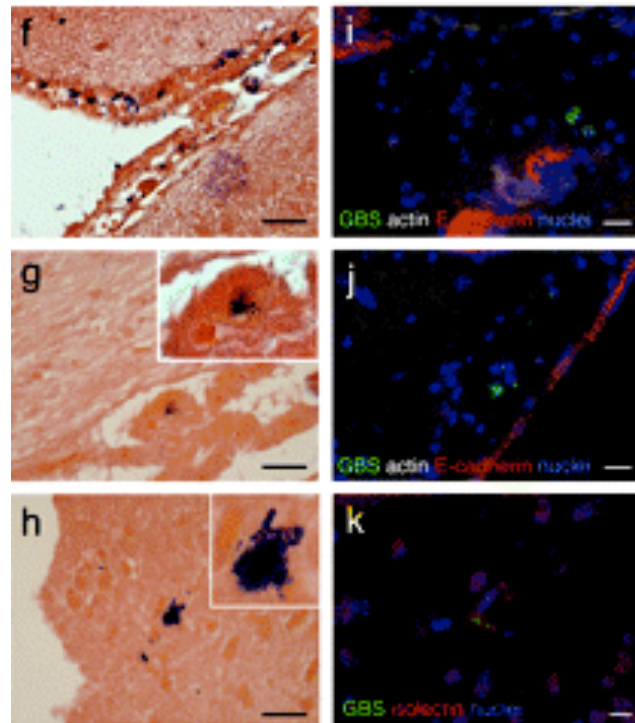
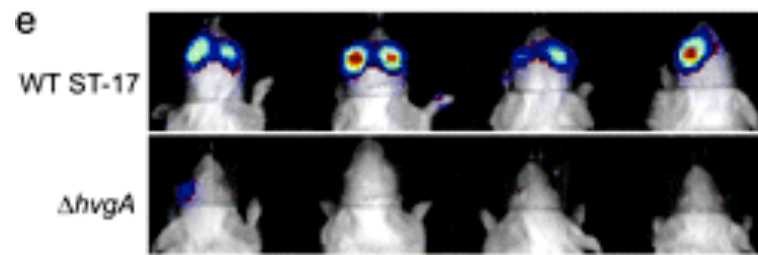
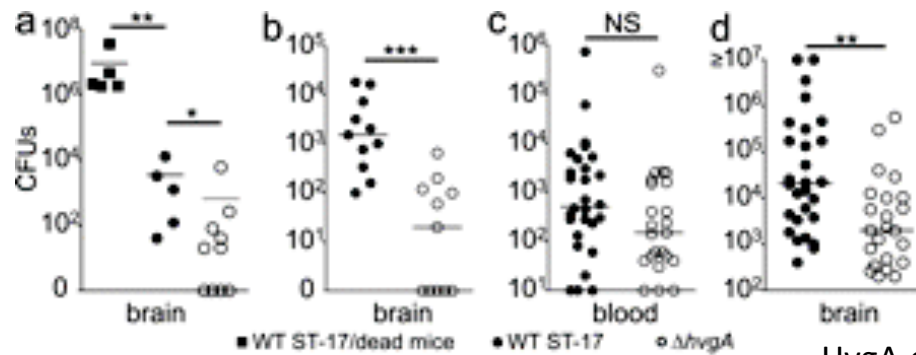
Médie une forte adhésion aux cellules épithéliales intestinales, mais aussi aux cellules des plexus choroïdes et de l'endothélium vasculaire.

In vivo: médie la translocation de la barrière intestinale et surtout la passage de la BHE dans un modèle murin, causant une méningite.

GBS ST-17 traverse barrière intestinale et BHE au cours d'un cas fatal de méningite néonatale à début tardif (LOD)



Tazi A et al. J Exp Med 2010;207:2313-2322



HvgA enables GBS crossing of the BBBs. (a and b) Groups of 15–21 d old BALB/c mice ($n > 8$) were inoculated orally with 10^9 (a) or 5×10^8 CFUs (b) WT ST-17 or $\Delta hvgA$ mutant strain and brain invasion was assessed 12-h after inoculation by CFUs enumeration. (c and d) Groups of 3–4-wk-old BALB/c mice ($n > 8$) were infected by repeated i.v. injections of 5×10^6 CFUs every 12 h and sacrificed at 48 h, and bacteria enumerated in blood (c) and brain (d). Data shown are the results of three independent experiments. (e) Real-time imaging of CNS infection. Groups of BALB/c mice ($n = 4$) were infected i.v. with 108 CFUs every 12 h. Bioluminescence was assessed every 12 h (the images shown correspond to the 36 h after injection time point). (f–h) Histopathological examination (Gram staining) of CNS tissue samples from WT-ST-17 infected mice reveals Gram-positive cocci in the meninges (f), in the choroid plexuses (g), in brain microvessel endothelial cells and the surrounding brain parenchyma (h). (i–k) Immunofluorescence staining of brain sections obtained from animals infected with the WT ST-17 in d, showing infection of meninges (i), submeningeal space (j), and brain microvessel endothelial cells (k). Bars: (f–h) 25 μm ; (i–k) 20 μm . All experiments were repeated at least three times. NS, not significant. Asterisks indicate significant differences as assessed by the Mann-Whitney test (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$).

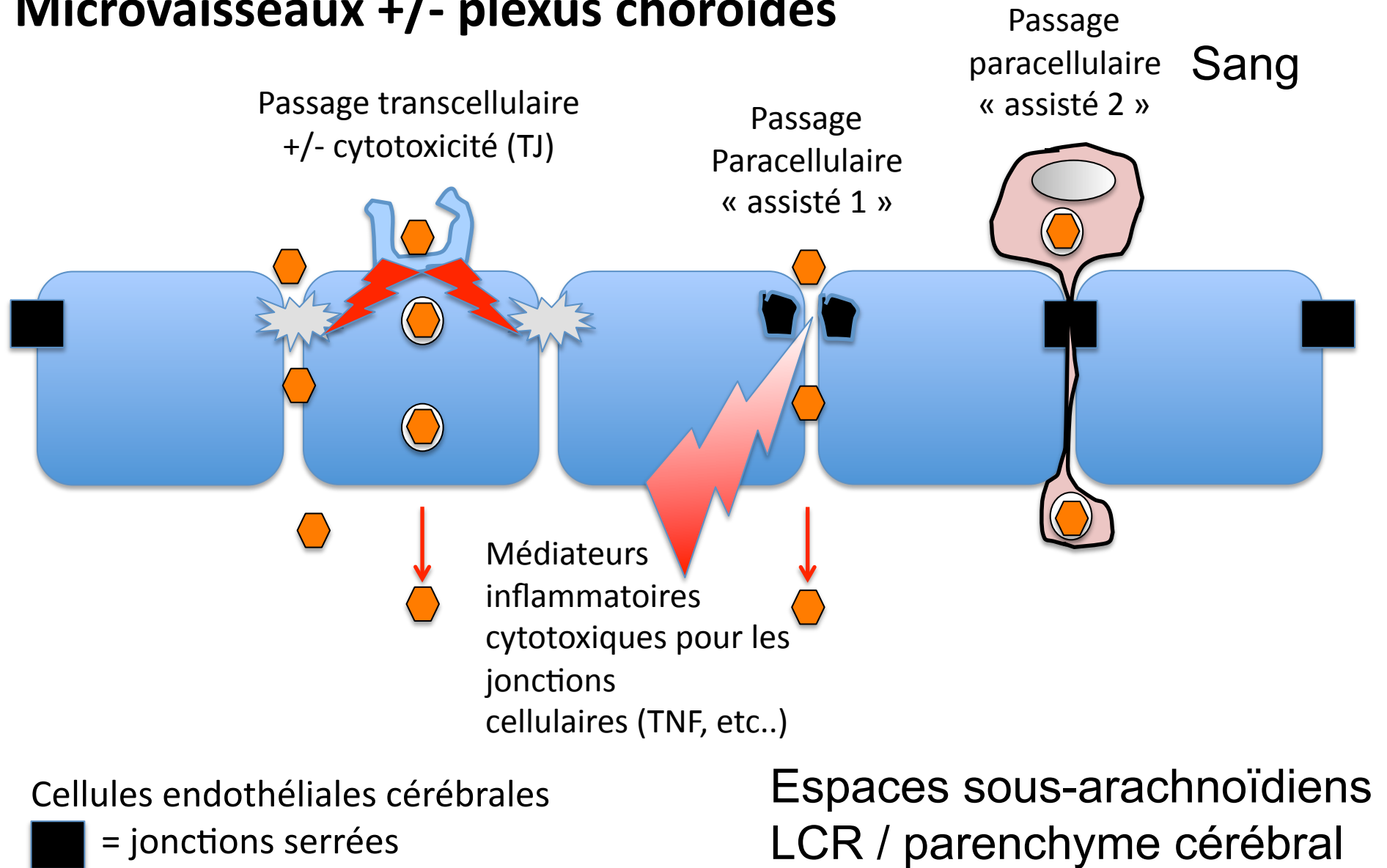
Voies d'accès des virus au SNC

Nécessité d'une réplication initiale dans un site primaire d'infection

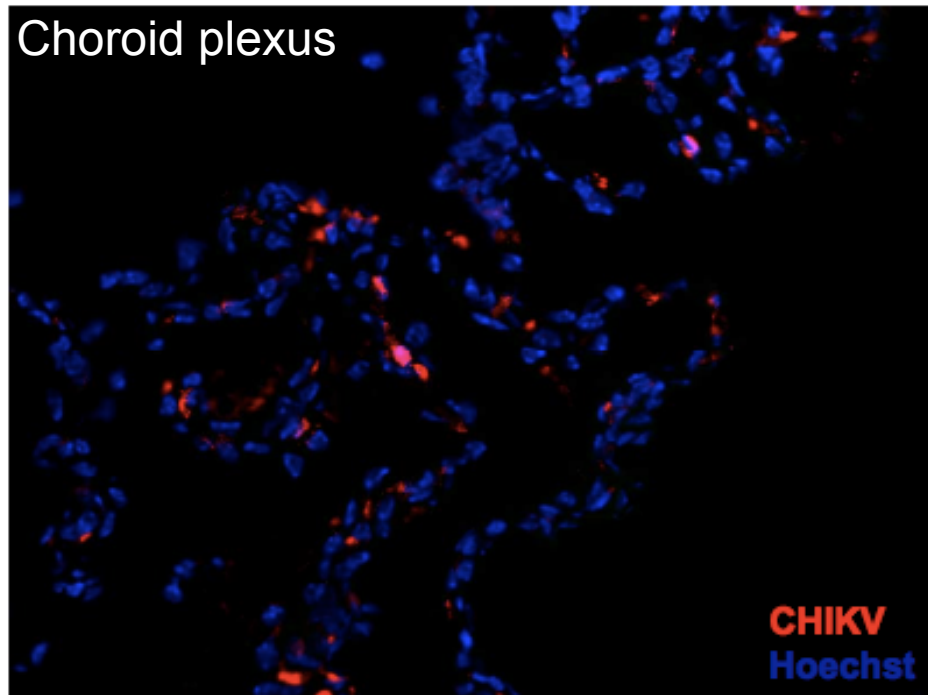
VOIE	VIRUS
Hématogène	Herpes simplex virus 2 (herpes néonatal) Cytomégalovirus, Virus d'Epstein-Barr HHV6, HHV7 Poliovirus, Coxsackievirus, Echovirus VIH Virus de la CML Arbovirus Rougeole, Oreillons
Nerveuse	Herpès simplex virus Virus de la varicelle et du zona Virus de la rage

Possibles stratégies de franchissement de la barrière hémato-encéphalique par les pathogènes viraux

Microvaisseaux +/- plexus choroïdes



Modèle d'infection de souris IFNAR par le virus Chikungunya



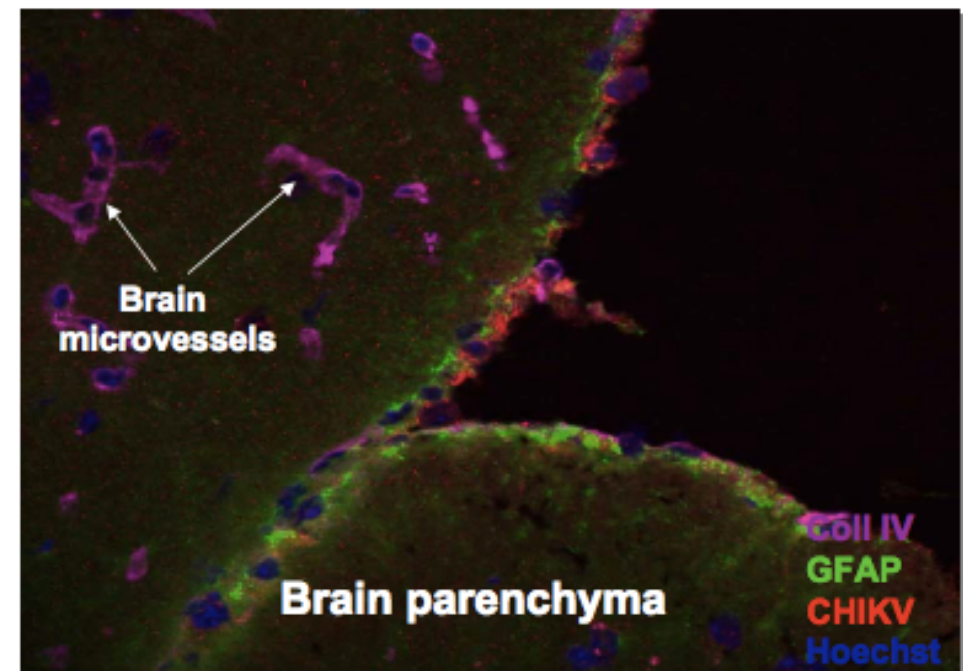
Le virus Chikungunya accède au système nerveux central en traversant la BHE au niveau des **plexus choroïdes** et non des microvaisseaux. Les méninges sont infectées mais pas le parenchyme cérébral

Couderc T et coll. 2008. PLoS Pathog., 4(2):e29

Seul modèle permissif pour l'infection systémique par le virus



Togavirus



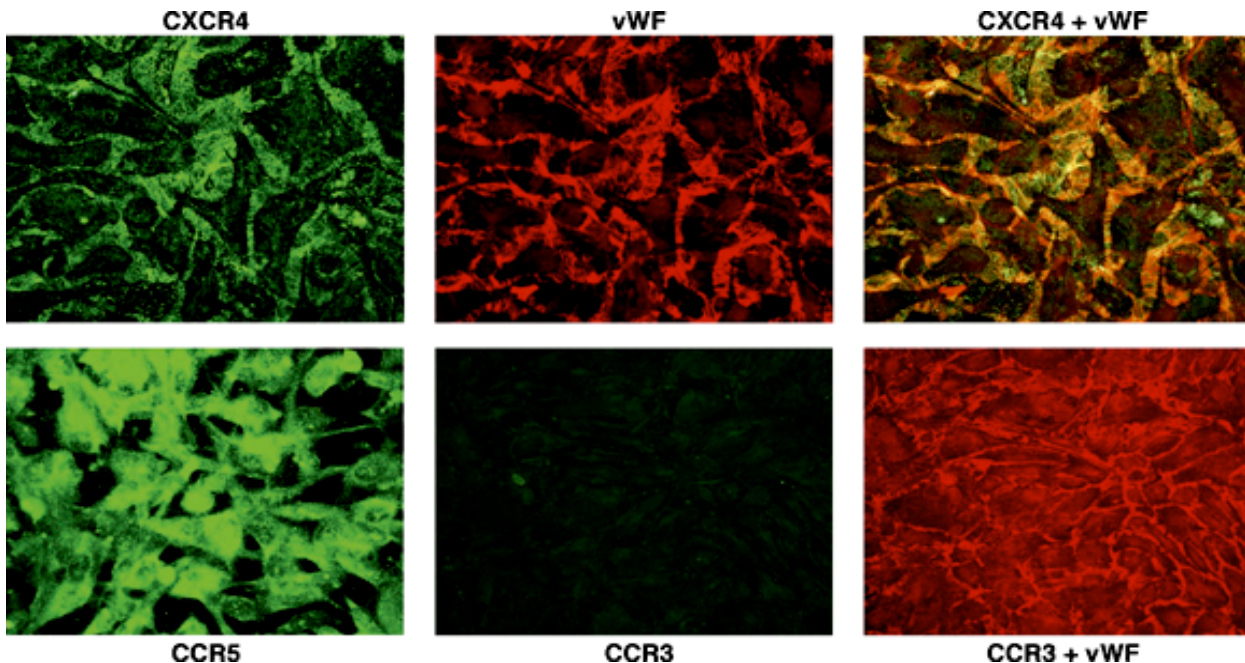
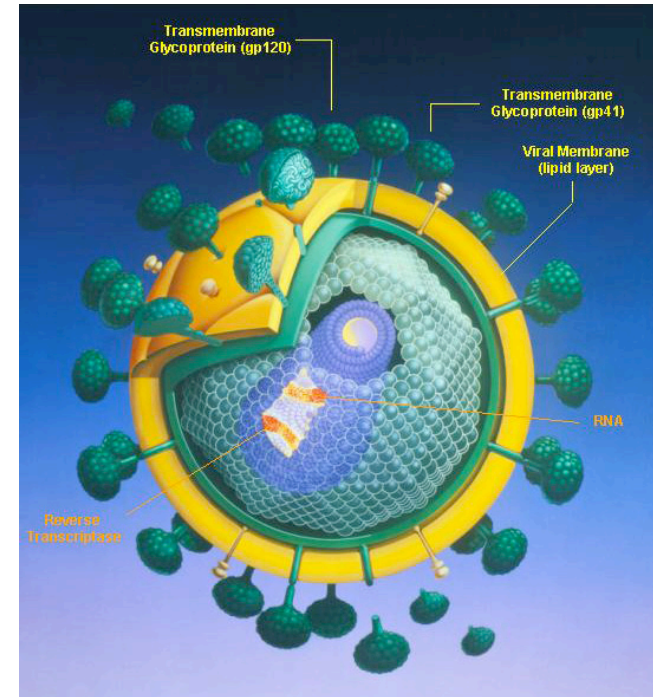
HIV-1 gp120 compromises blood-brain barrier integrity and enhances monocyte migration across blood-brain barrier: implication for viral neuropathogenesis.

Kanmogne GD, Schall K, Leibhart J, Knipe B, Gendelman HE, Persidsky Y
J. Cereb. Blood Flow Metab. 2007. 27:123-134

Etude *in vitro*

HBMEC = human brain microvascular endothelial cell.

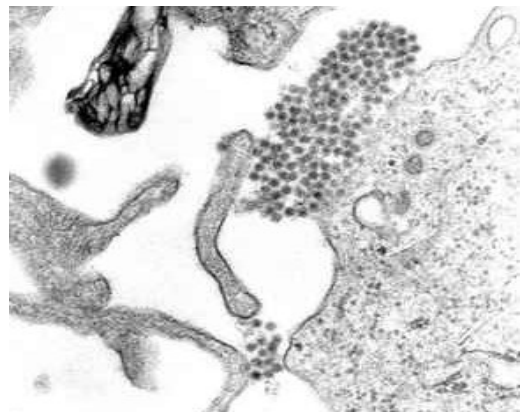
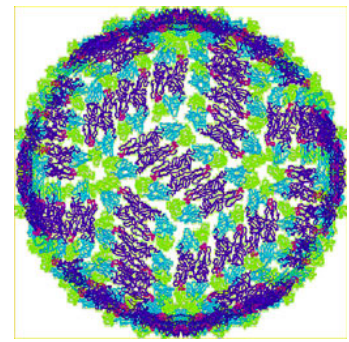
Exposure of HBMECs to gp120 derived from macrophage (CCR5) or lymphocyte (CXCR4)-tropic viruses decreased BBB tightness, increased permeability, and enhanced monocyte migration across *in vitro* BBB models.



Primary HBMECs expressed CCR5 and CXCR4

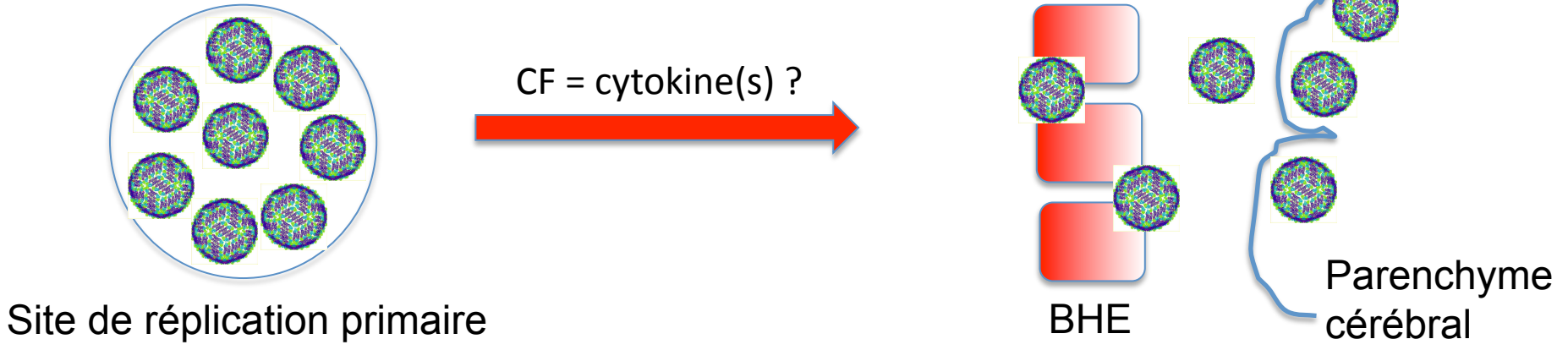
chemokine receptors, but they lack CCR3. Confluent HBMECs were fixed and stained with antibodies to CXCR4, CCR5, CXCR3 and von Willebrand factor (vWF). Original magnification: times 400.

Breakdown of the blood-brain barrier during dengue virus infection of mice
Chaturverdi UC et coll. 1991.
J. Gen. Virol., 72:859-866

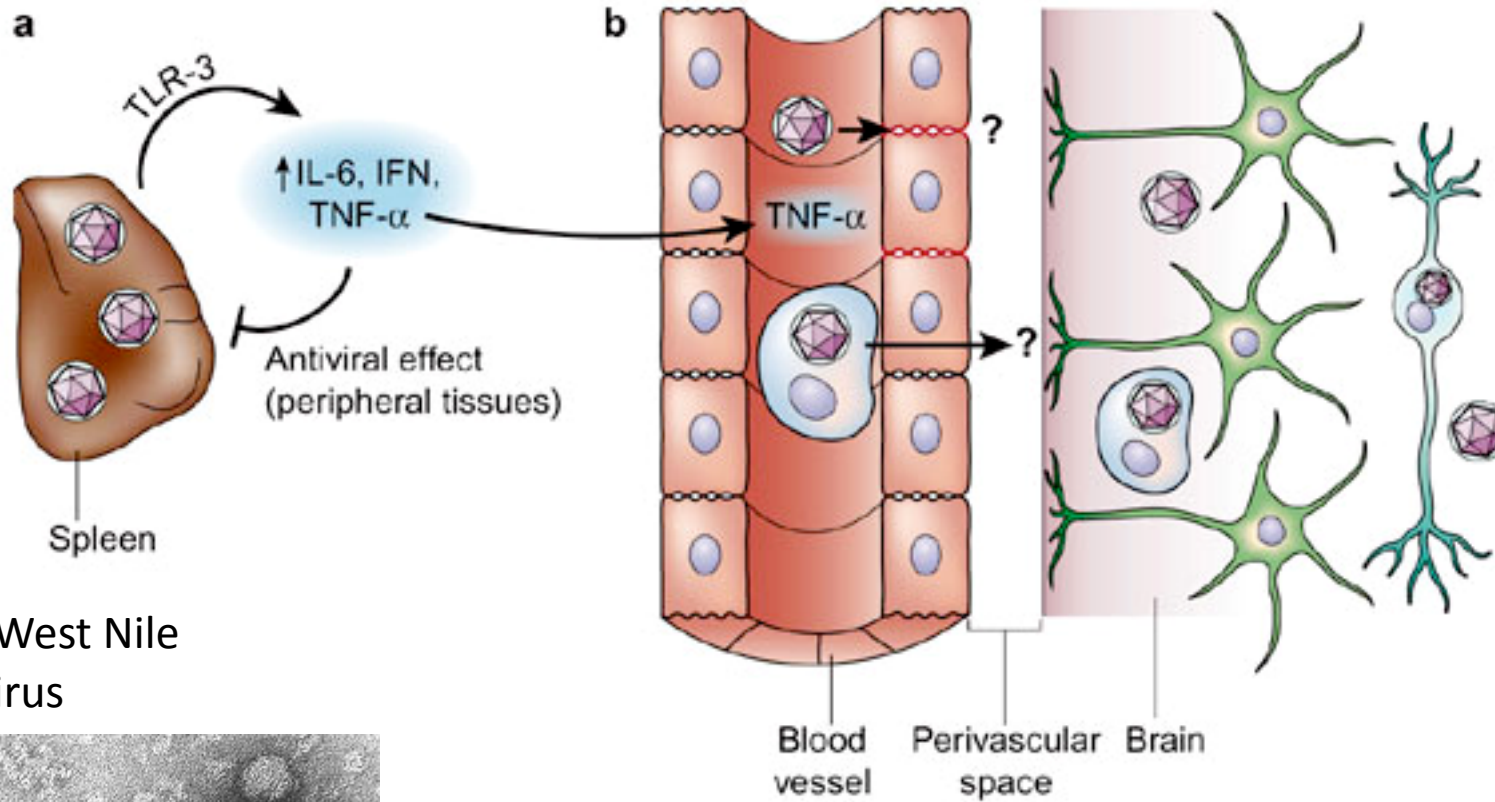


Virus de la dengue
Flavivirus ARN monobrin +

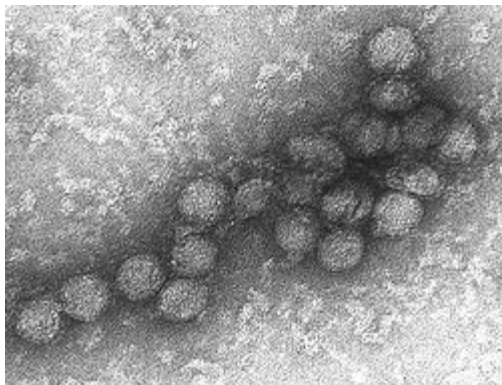
A breakdown of the blood-brain barrier occurred in mice inoculated intracerebrally (IC) or intraperitoneally (IP) with Dengue virus type 2 (DEN2). This resulted in leakage of protein-bound Evans blue dye and 51 Cr-labelled erythrocytes into the brain tissue. The leakage increased with time after infection and coincided with an increase of a DEN2-induced cytokine, the cytotoxicity factor (CF).



L'inflammation médiée par TLR3 dans les sites de réplication primaires (organes lymphoïdes) du Virus West Nile (WNV) permet le passage de la BHE

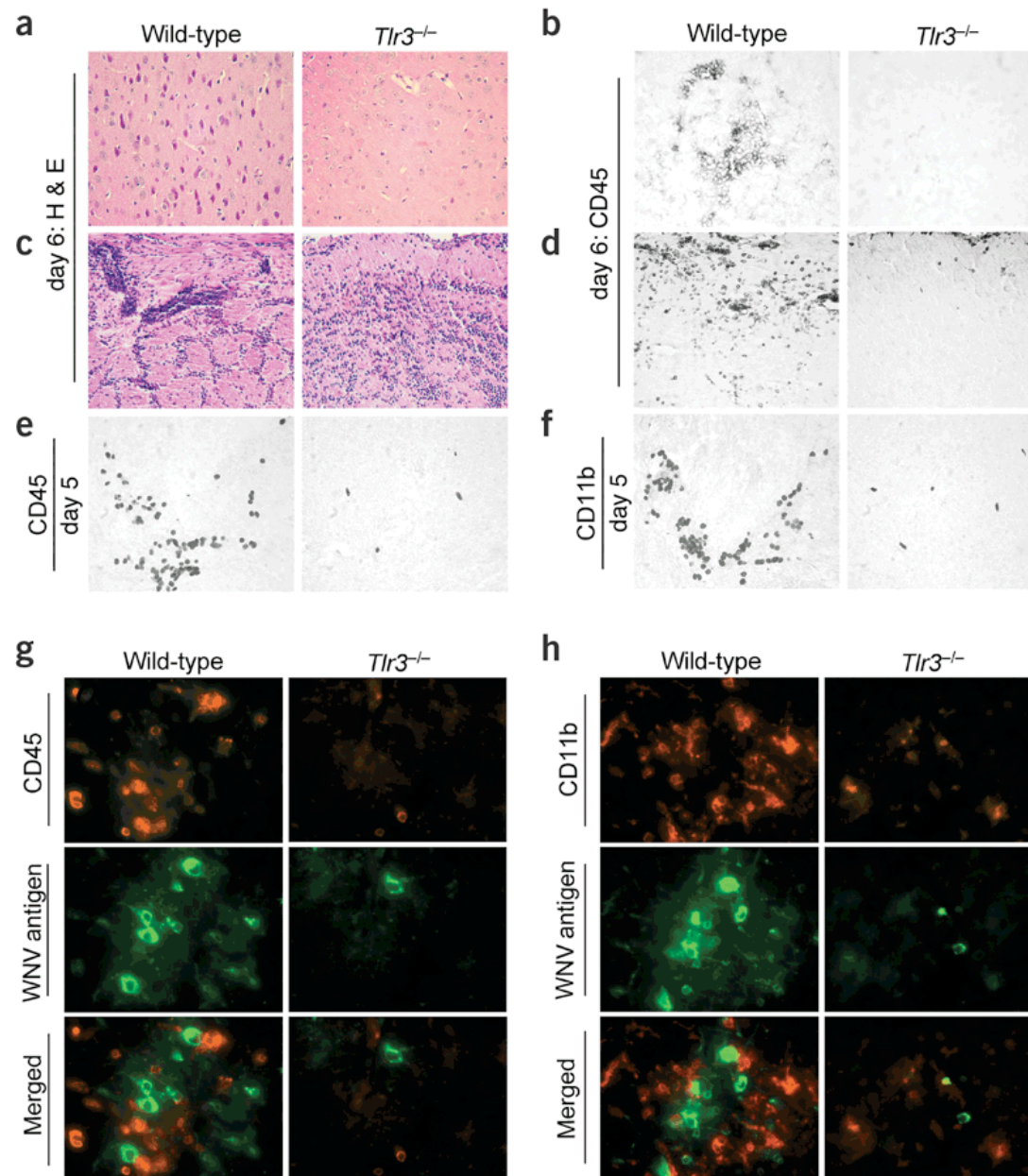


Virus West Nile
Flavivirus



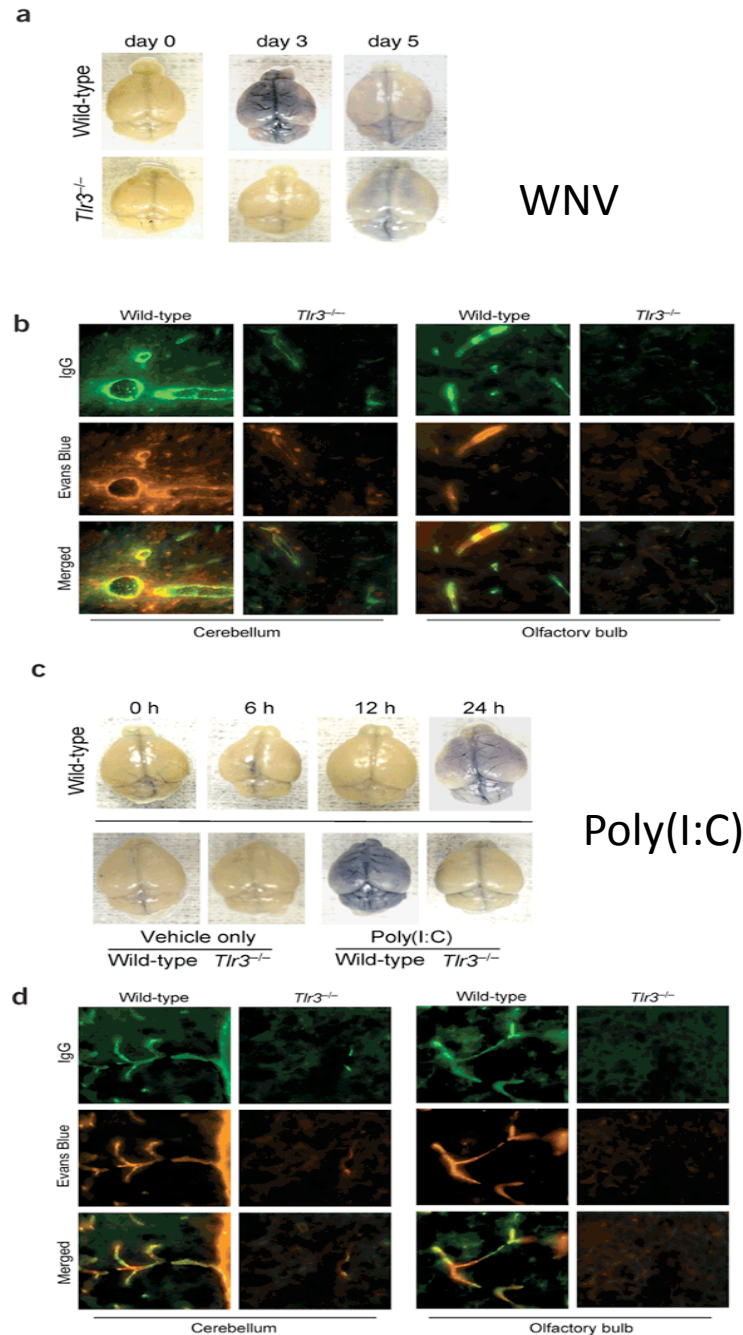
Wang T et coll. 2004. Nature Medicine, 10:1366-1373
Diamond MS & Klein RS. 2004. Nature Medicine, 10:1294-1295

Infection WNV intrapéritonéale à LD100



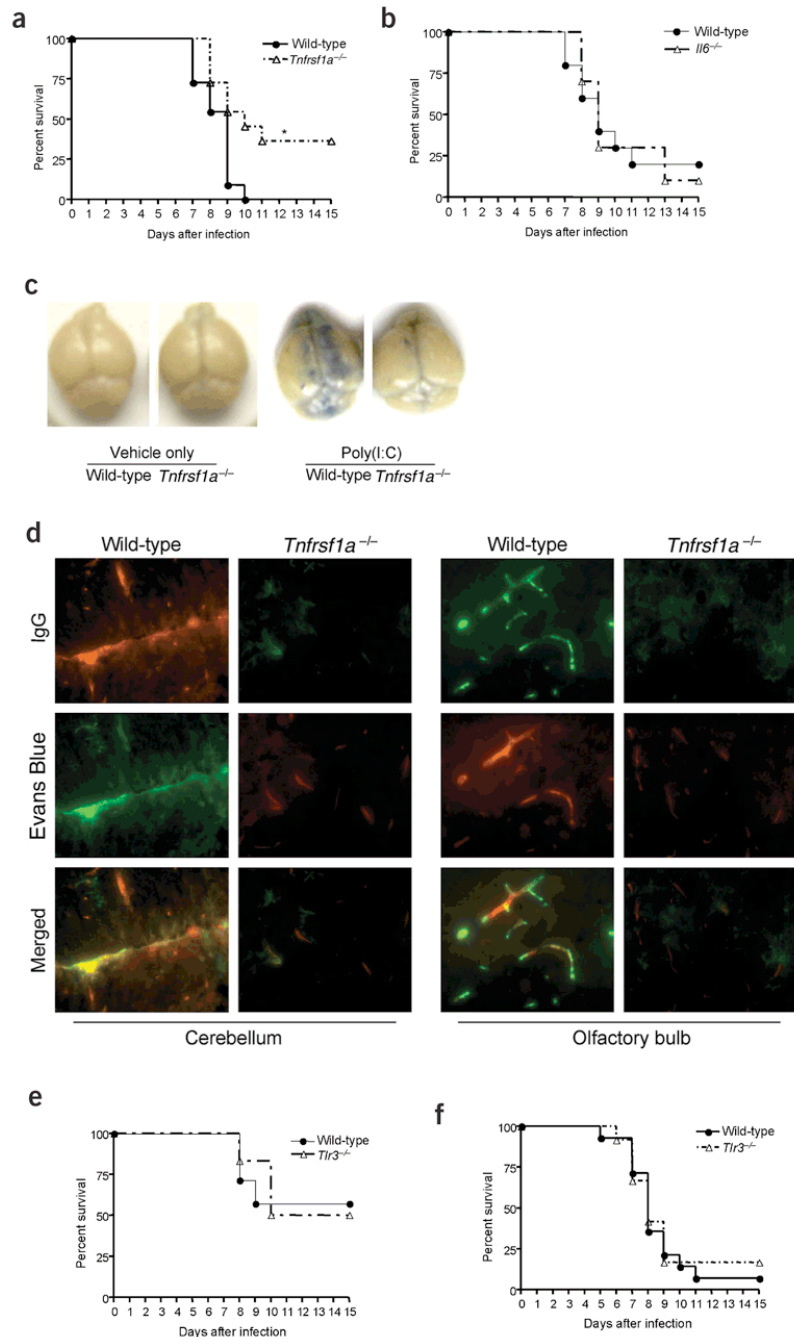
Reduced neuronal and inflammatory pathology in *Tlr3*^{-/-} mouse brains after WNV infection.

Panels are representative bright-field (a–f) or dark-field (g,h) photomicrographs from wild-type or *Tlr3*^{-/-} mouse brain sections at day 5 (e,f) or day 6 (a–d,g,h) after infection: (a) H & E staining in cerebral cortices. (b) CD45 immunohistochemistry in cerebral cortex. Images in c show H & E–stained sections; in d, images are serially adjacent sections in olfactory bulbs immunostained for CD45. Images in e are CD45 immunostained sections and images in f are serially adjacent sections (olfactory bulbs) stained for CD11b. (g,h) Immunofluorescent photomicrographs from olfactory bulbs double-stained for CD45 (g) or CD11b (h) and WNV antigen. In c and d, original magnification, times20; in a,b and e–h, original magnification, times40.



BBB permeability is increased after WNV infection or poly(I:C) injection in wild-type but not *Tlr3*^{-/-} mice.

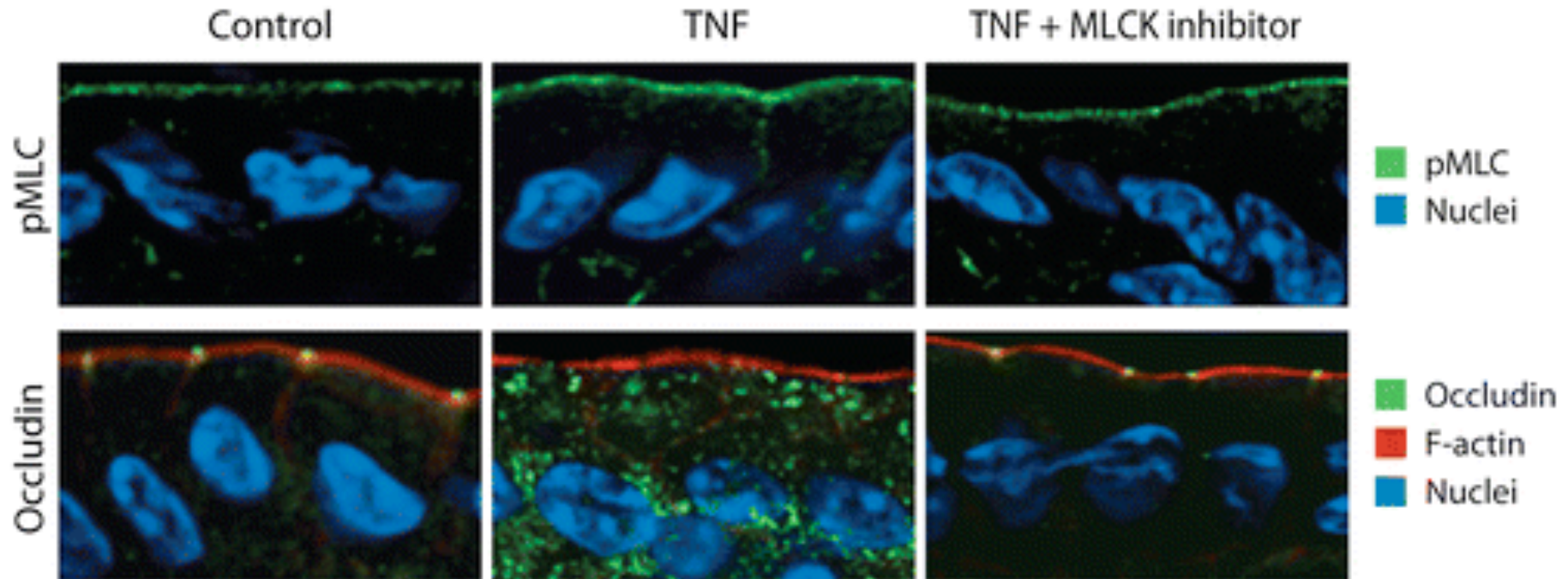
(a) Evans Blue dye staining of WNV-infected whole brains (d 0, 3, and 5). (b) Dark-field photomicrographs (original magnification, 40times) of cerebellum or olfactory bulb sections. (c) Evans Blue dye staining of whole brains of wild-type mice injected with poly(I:C) at the indicated time points (upper panels) or 24 h injection of both wild-type and *Tlr3*^{-/-} mice with poly(I:C) (lower panels). (d) Dark-field photomicrographs (original magnification, 40times) of cerebellum or olfactory bulb sections from wild-type or *Tlr3*^{-/-} mice after poly(I:C) injection.



TLR3-mediated disruption of blood-brain-barrier integrity is affected by TNF-alpha receptor signaling.

Wild-type and *Tnfrsf1a*^{-/-} mice (a) or *Il6*^{-/-} mice (b) were infected with an LD100 dose of WNV and monitored twice daily for mortality. * $P = 0.01$ compared to wild-type mice. Evans Blue dye staining of whole wild-type and *Tnfrsf1a*^{-/-} mouse brains (c) or dark-field photomicrographs (d, original magnification, times40) of cerebellum or olfactory bulb sections 24 h after intraperitoneal injection of poly(I:C). Survival analysis after intracerebroventricular infection of wild-type and *Tlr3*^{-/-} mice with a sublethal (e) or lethal (f) dose of WNV. For sublethal infection, $n = 7$ for wild-type mice and $n = 6$ for *Tlr3*^{-/-} mice, $P = 0.99$; for lethal infection, $n = 14$ for wild-type mice and $n = 12$ for *Tlr3*^{-/-} mice, $P = 0.75$.

Subversion des fonctions de barrière de l'épithélium intestinal par les médiateurs de l'inflammation



Marchiado et coll., 2010, *Annu.Rev.Pathol.Mech.Dis.*, 5:119-144

Effects of tumor necrosis factor (TNF) on myosin II regulatory light chain (MLC) phosphorylation and occludin localization. In vivo TNF treatment increases phosphorylation of MLC at the perijunctional actomyosin ring of jejunal villus enterocytes. (Top row) MLC phosphorylation can be blocked by MLC kinase (MLCK) inhibition. (Bottom row) Similarly, TNF-induced occludin internalization can be blocked by MLCK inhibition. Abbreviation: pMLC, phosphorylated MLC.

Prof. Xavier Nassif
(INSERM et Hôpital Necker, Paris)
***Neisseria meningitidis*, les secrets**
révélés de la subversion de
l'endothélium vasculaire cérébral