

CONFÉRENCE DÉBAT DE LA SECTION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE



Palais de l'Institut © Institut de France

LA VIRULENCE DES BACTÉRIES PATHOGÈNES

Mardi 27 janvier 2004 de 14h30 à 17h30



Photo : Nathalie Salvart

Institut de France
Académie des sciences
23, quai de Conti - 75006 PARIS
Grande salle des séances
2ème étage

Conférence-débat organisée par Pascale COSSART et Daniel
LOUVARD, Membres de l'Académie des sciences

PROGRAMME

"Les toxines bactériennes, des armes, des outils... et des alliées"

Patrice BOQUET, Professeur des universités, Praticien hospitalier
Faculté de Médecine, Nice

"Listeria, la bactérie qui passe des aliments au cerveau et au placenta"

Pascale COSSART, Membre de l'Académie des sciences, Institut Pasteur, Paris

"Shigella : la bactérie qui enflamme tout sur son passage"

Philippe SANSONETTI, Membre de l'Académie des sciences, Institut Pasteur,
Paris

**"Brucella : la bactérie qui se cache dans une vacuole, à l'abri des armes
intracellulaires"**

Jean-Pierre GORVEL, Directeur de recherche au CNRS
Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, Marseille

**"Neisseria meningitidis : une bactérie commensale qui envahit les
méninges"**

Xavier NASSIF, Directeur de l'unité de pathogénie des infections systémiques
Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris

**"Helicobacter pylori : ulcères et cancers gastriques, les conséquences
d'une infection chronique"**

Agnès LABIGNE, chef de l'unité de pathogénie bactérienne des muqueuses
Institut Pasteur, Paris

"Les bactéries pathogènes au secours des biologistes cellulaires pour explorer des phénomènes mal compris"

Daniel LOUVARD, Membre de l'Académie des sciences, Institut Curie, Paris

Résumés des exposés

Les toxines : des armes, des outils, des alliées.

Patrice BOQUET

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier.

Unité INSERM U452, Faculté de Médecine, 28 avenue de Valombrose, Nice.

Les toxines sont les premiers facteurs de la virulence des bactéries pathogènes à avoir été isolées (celui du bacille diphtérique par Roux et Yersin en 1888 : la toxine diphtérique). La vaccination anti-toxines diphtérique et tétanique (Ramon, 1920) a constitué une avancée majeure du XXe siècle en santé publique. Les toxines sont, avant tout, des armes pour les bactéries qui leur permettent de combattre les défenses anti-infectieuses de leurs hôtes aboutissant ainsi à leur multiplication. Certaines bactéries comme le bacille diphtérique, *Clostridium tetani* ou le vibron cholérique ne sont pathogènes que par l'élaboration et la sécrétion d'une toxine. Chez d'autres bactéries, la présence d'une toxine n'est qu'un des éléments par lequel le microbe combat les défenses de son hôte. Les mécanismes moléculaires par lesquels les toxines agissent ont fait l'objet de nombreuses études ces vingt dernières années et nous connaissons à l'heure actuelle la majorité des activités et des structures de ces poisons bactériens. Comme les toxines doivent agir sur les cellules à des concentrations infimes, elles ont élaboré des stratégies moléculaires originales et performantes. Les plus puissantes d'entre elles injectent dans le cytoplasme des activités catalytiques qui modifient des éléments clés de la régulation cellulaire. La connaissance des activités enzymatiques des toxines ainsi que de leurs molécules cibles ont permis la découverte de mécanismes cellulaires jusqu'alors inconnus comme ceux de la neurosécrétion, du trafic vésiculaire intracellulaire ou des rôles régulateurs des protéines fixant le nucléotide guanosine triphosphates (GTP). En ce sens, les toxines bactériennes sont des outils de grandes valeurs pour le biologiste et il n'est pas, à l'heure actuelle, un laboratoire de recherche dans le monde qui n'utilise pour ses travaux une toxine bactérienne. La puissance des toxines est devenue de surcroît, grâce aux techniques du génie génétique, une alliée de l'homme par la création de moyens préventifs ou thérapeutiques originaux. L'inclusion dans le gène de certaines plantes agricoles de celui qui code pour une toxine bactérienne, tuant sélectivement des insectes ravageurs, a permis par exemple l'élimination de certains insecticides dangereux pour l'homme et son environnement. De même la synthèse, par génie génétique, d'une toxine diphtérique dirigée spécifiquement vers des cellules cancéreuses a constitué une aide précieuse dans le traitement de certaines affections malignes jusqu'alors incurables.

***Listeria monocytogenes*, la bactérie qui passe des aliments au cerveau et au placenta**

Pascale COSSART

Membre de l'Académie des sciences

Unité des Interactions Bactéries-Cellules, Institut Pasteur Paris

L. monocytogenes est responsable d'infections alimentaires graves qui se manifestent par des gastro-entérites, des méningo-encéphalites, des avortements et des infections du nouveau-né. (30% de mortalité). *Listeria* traverse donc trois barrières durant l'infection (intestinale, hémato-encéphalique et placentaire). Dans les nombreux tissus qu'elle infecte, elle est en position intracellulaire. Cette localisation est due à sa capacité à résister à la tuerie des macrophages et à celle d'entrer dans des cellules non phagocytaires. Après l'étape d'entrée dans la cellule, *Listeria* s'échappe de la vacuole d'internalisation et se multiplie dans le cytoplasme de la cellule où elle peut se déplacer et réussir à passer directement d'une cellule à l'autre pour se propager dans les tissus à l'abri des défenses de l'hôte.

Nous prenons des approches pluridisciplinaires pour comprendre les interactions bactérie-cellule hôte en identifiant chez chaque partenaire les composants qui jouent un rôle clé dans l'infection ainsi que leur fonction. Enfin, nous validons les résultats obtenus chez l'animal. Notre exposé se focalisera sur 1) la protéine ActA qui permet les mouvements intra- et inter-cellulaires et s'est avérée particulièrement intéressante pour analyser la motilité cellulaire actine dépendante en général, 2) sur l'internaline, une protéine d'invasion qui interagit de façon très spécifique avec la Ecadherine humaine, ce qui nous a amenés à générer des souris transgéniques humanisées pour mimer l'infection humaine et démontrer que l'internaline joue un rôle clé dans la traversée de la barrière intestinale, 3) sur la BSH, une enzyme découverte par une approche post génomique qui permet la résistance à la bile et la persistance dans l'intestin et 4) sur la découverte d'un ARN thermosenseur qui permet à la bactérie d'exprimer ses gènes de virulence à 37°C.

***Shigella*, la bactérie qui enflamme tout sur son passage**

Philippe SANSONETTI

Membre de l'Académie des sciences

Unité de Pathogénie Microbienne Moléculaire et Unité INSERM 389, Institut Pasteur, Paris

Les bactéries du genre *Shigella* sont responsables chez l'homme de la dysenterie bacillaire, une recto-colite inflammatoire aiguë due à l'invasion de l'épithélium intestinal par la bactérie. Cette maladie est responsable d'une très lourde morbidité et mortalité dans la population pédiatrique des régions les plus défavorisées de la planète et la mise au point d'un vaccin y est une priorité de santé publique. Le phénotype invasif de *Shigella* est la synthèse complexe d'une série d'étapes génétiquement définies associant entrée dans les cellules épithéliales par l'injection, grâce à un appareil de sécrétion activable au contact cellulaire, d'effecteurs protéiques induisant une réorganisation massive du cytosquelette d'actine de la cellule entraînant la formation d'une poche de macropinocytose qui internalise la bactérie. Cet épisode d'entrée est suivi d'un échappement de la bactérie dans le cytoplasme de la cellule infectée, puis d'un mouvement dépendant d'une protéine de surface, IcsA, induisant la polymérisation de l'actine et permettant ainsi le passage de la bactérie de cellule à cellule. Ce processus de « colonisation souterraine » est particulièrement redoutable, car il permet aux bactéries de demeurer protégées des molécules et cellules de défense de l'organisme. Pire, chaque cellule épithéliale nouvellement infectée voit son profil transcriptionnel considérablement altéré, donnant lieu à un programme pro-inflammatoire caractérisé par la production massive de chémokines/cytokines comme l'IL-8 qui attire massivement les polynucléaires neutrophiles, causant ainsi la destruction inflammatoire de la muqueuse intestinale, donc la dysenterie. Le processus de perception de la bactérie intracellulaire et d'induction de la réaction inflammatoire a été identifié, il repose sur la reconnaissance du peptidoglycane bactérien par les protéines cytosoliques de la famille Nod.

***Brucella* : la bactérie qui se cache dans une vacuole, à l'abri des armes intracellulaires**

Dr Jean-Pierre GORVEL *

Chef d'équipe au Centre d'Immunologie (CIML), Immunologie et Biologie cellulaire des interactions bactérie-cellule hôte, Directeur de recherche CNRS, Futur Directeur du CIML, Directeur du GDR Biodéfense

Les bactéries du genre *Brucella* sont des parasites intracellulaires à Gram négatif du groupe α -2 des protéobactéries. Elles sont l'agent de la brucellose, une maladie zoonotique qui affecte une grande variété de mammifères, y compris l'homme. Chez les animaux, *Brucella* survit dans le système réticulo-endothélial et cible les glandes mammaires, les organes génitaux et les utérus gravides. L'infection chez l'homme, hôte secondaire, correspond à une dispersion dans d'autres tissus, se manifeste par des fièvres récurrentes difficilement traitables, avec des conséquences débilitantes graves, voire mortelles dans le cas d'endocardites ou de méningo-encéphalites

Le développement de la brucellose chez un organisme infecté réside dans la capacité de *Brucella* à survivre et se répliquer à l'intérieur des phagocytes professionnels qui l'ont ingéré. De telles propriétés constituent donc le mécanisme fondamental de sa virulence. *Brucella* s'échappe de la voie d'endocytose et évite la fusion avec les lysosomes. L'acquisition progressive au cours du temps de marqueurs du réticulum endoplasmique (RE) suggère que les bactéries intracellulaires sont capables de contrôler leur trafic et moduler la composition de leur vacuole pour créer un compartiment associé au RE et propice à leur réplication. Ces propriétés dévoilent la présence d'un système bactérien appelé VirB qui est primordial dans l'exercice de virulence bactérienne.

* Adresse :
Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy
Parc scientifique de Luminy
Case 906
13288 Marseille cedex 9
Tel : 04 91 26 93 15
Fax : 04 91 26 94 30
E-mail : gorvel@ciml.univ-mrs.fr

***Neisseria meningitidis* : une bactérie commensale qui envahit les méninges**

Xavier NASSIF

Directeur de l'Unité de pathogénie des infections systémiques
Faculté de Médecine Necker-Enfants Malades à Paris

Neisseria meningitidis ou méningocoque est responsable de quelques centaines de méningites cérébrospinales par an en France, infection mortelle dans 90% des cas en l'absence de traitement. Paradoxalement, cette bactérie est un commensal de l'homme puisque le nasopharynx humain est l'unique réservoir connu pour le méningocoque. Cette bactérie qui ne survit pas dans le milieu extérieur est en effet présente chez 5 à 15% de la population. L'infection méningococcique doit donc être considérée comme un événement qui survient de façon exceptionnelle au cours d'un portage nasopharyngé, événement qui est un accident puisqu'il est délétère à la fois pour l'hôte et le pathogène. Le but de cette intervention sera d'apporter des éléments de réponse à deux questions essentielles suscitées par l'histoire naturelle de la maladie méningococcique : (i) quels sont les éléments du déterminisme de l'accident qui conduit à la méningite, et (ii) comment une bactérie dont l'essentiel de la survie dépend de la capacité à coloniser le nasopharynx peut-elle envahir une séreuse aussi bien protégée que les méninges par la barrière hémato-encéphalique.

***Helicobacter pylori* : ulcères et cancers gastriques, les conséquences d'une infection chronique**

Agnès LABIGNE

Chef de l'Unité de Pathogénie Bactérienne des Muqueuses, Institut Pasteur, Paris

Helicobacter pylori est l'agent étiologique des gastrites chroniques, des ulcères gastro-duodénaux et joue un rôle majeur dans la genèse des néoplasies gastriques. Cinquante pour cent de la population mondiale est infectée par *H. pylori* : 10 % des personnes infectées développeront un ulcère duodéal et 1 % une néoplasie gastrique (9 000 nouveaux cas par an de cancer gastrique en France). L'infection s'acquiert dans la jeune enfance par transmission intra-familiale et perdure de façon chronique durant toute la vie de l'individu ; l'estomac humain, réservoir naturel dans lequel *H. pylori* survit, persiste et se multiplie de façon extracellulaire, est le siège d'une réponse inflammatoire plus ou moins exacerbée à l'origine des lésions de la muqueuse et des dommages génotoxiques infligés aux cellules épithéliales gastriques. Il est aussi le site d'où émergent l'extraordinaire macro- et micro-diversité génétique qui caractérisent l'espèce *H. pylori*. Vingt ans après la découverte de cette bactérie carcinogène, génomiques comparative et fonctionnelle, biologie cellulaire, études épidémiologiques et génotoxiques nous permettent de mieux appréhender la complexité de ces infections bactériennes, mais surtout de traiter la maladie ulcéreuse comme une maladie infectieuse (antibiothérapie) et d'envisager de prévenir les cancers gastriques.

Les bactéries pathogènes au secours des biologistes cellulaires pour explorer des phénomènes mal compris

Daniel LOUVARD

Membre de l'Académie des sciences

Responsable de l'équipe « Morphogenèse et signalisation cellulaires » (UMR 144
CNRS/Institut Curie) - Directeur de la Section de Recherche de l'Institut Curie - Paris

Au début des années 60, les virus et les phages ont été largement utilisés par les biologistes pour explorer les grandes fonctions cellulaires comme la réplication de l'ADN, la transcription de l'ADN en ARN, la synthèse des protéines... De même au début des années 80, les virus enveloppés d'une membrane ont permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans l'endocytose médiée par récepteurs et le transport intracellulaire des protéines membranaires exprimées à la surface des cellules. Ces microorganismes pathogènes possèdent un génome de taille limitée permettant l'expression d'un nombre limité de protéines, et de ce fait leur utilisation a facilité l'identification et l'étude des déterminants moléculaires essentiels à la survie de toute cellule. Dès la fin des années 80, l'étude des interactions entre cellules et microorganismes capables de déclencher des maladies infectieuses chez les animaux et dans l'espèce humaine a permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans leur pathogénicité et ainsi que les mécanismes intimes de fonctions cellulaires jusqu'à présent restées inexploitées en raison de la complexité des phénomènes étudiés. En effet, ces recherches souffraient d'un déficit de modèles expérimentaux permettant d'identifier les gènes et les protéines responsables de fonctions, telles que la motilité cellulaire, l'adhésion des cellules entre elles, les échanges entre compartiments intracellulaires, la régulation des mécanismes de fusion et de transport des organelles intracellulaires. Les bactéries ou les parasites possèdent un génome de plus grande taille que ceux des virus ou des phages, néanmoins ces modèles biologiques restent accessibles à une analyse génétique fine. Des progrès considérables ont pu être accomplis suggérant l'universalité des mécanismes moléculaires mis en jeu et l'existence probable de mécanismes moléculaires de co-évolution et/ou de transfert d'informations entre espèces.

Le passage des barrières biologiques constituées de cellules épithéliales ou endothéliales restées jusqu'à présent mal comprises, a pu être analysé grâce aux propriétés de microorganismes capables d'envahir et de traverser sélectivement ces barrières imperméables. Des mécanismes spécifiques sont mis en oeuvre au cours du développement de ces barrières pour assurer leur maintien pendant la vie adulte, tandis que des microorganismes pathogènes sont capables d'exploiter à leur profit les récepteurs ou complexes protéiques normalement exprimés par les cellules des épithéliums ou des endothéliums pour franchir ces barrières biologiques.