



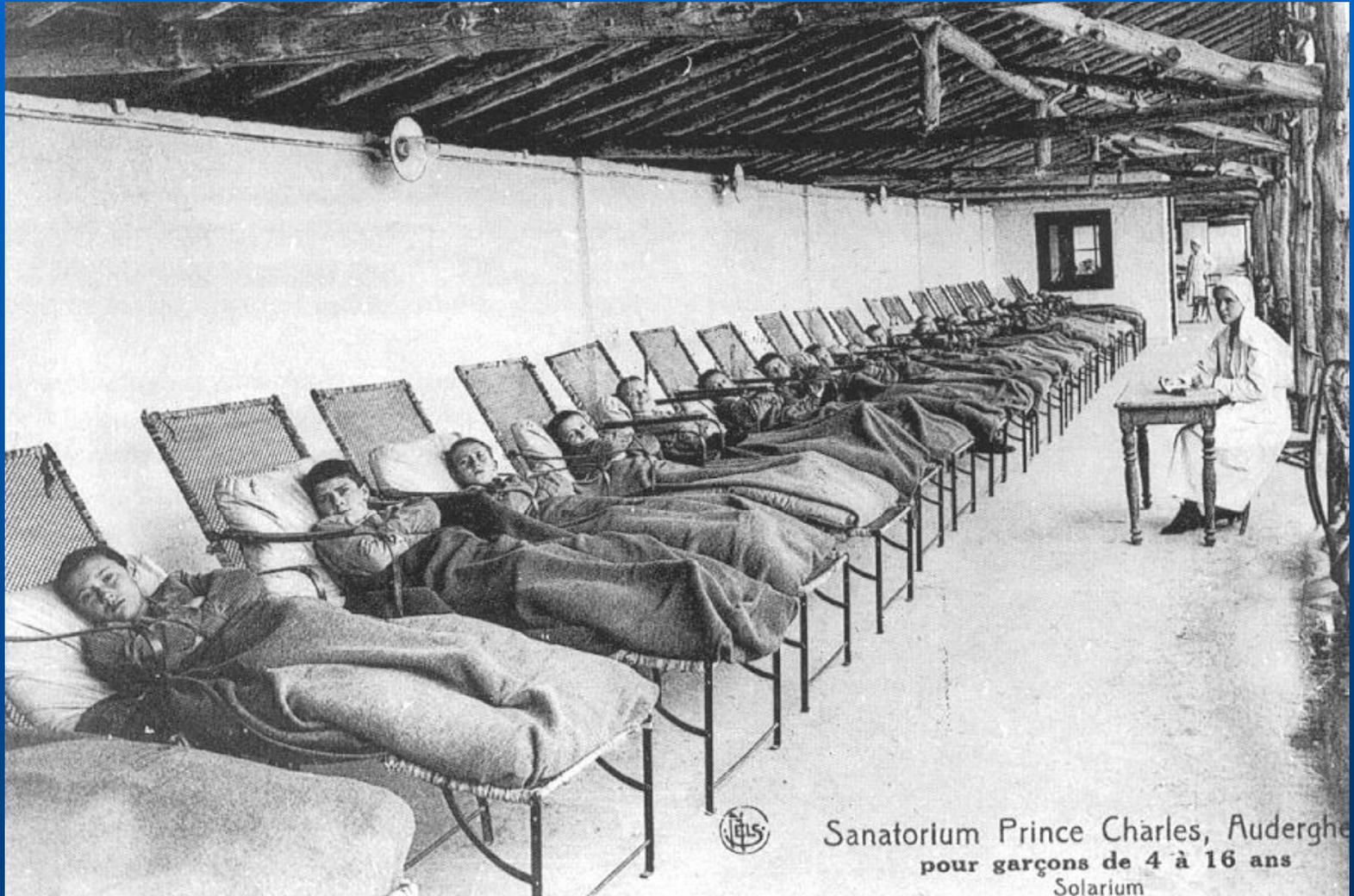
Importance de la vie intracellulaire dans les infections bactériennes



Unité de Pharmacologie
cellulaire et moléculaire

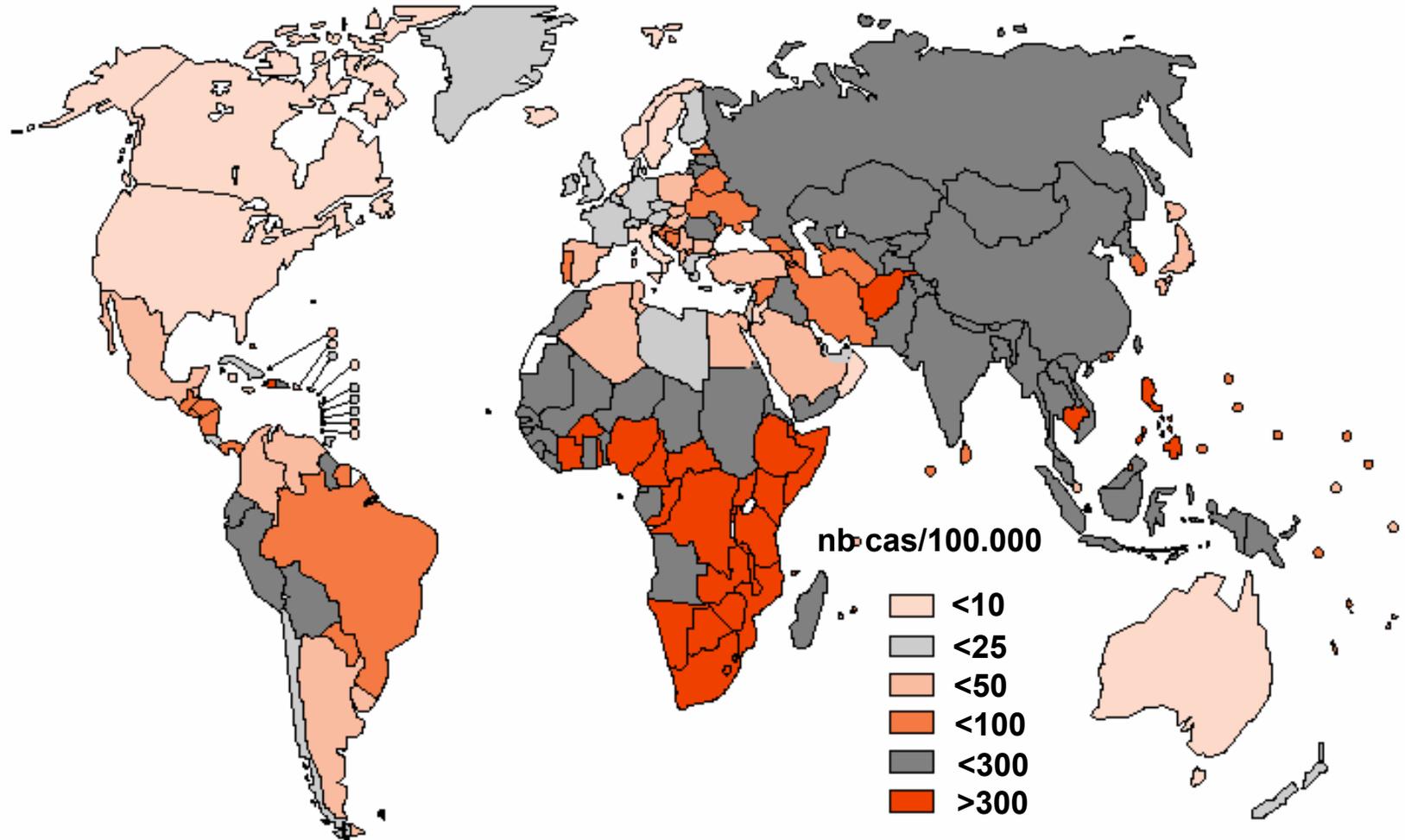
F. Van Bambeke

La tuberculose, une épidémie d'hier ...

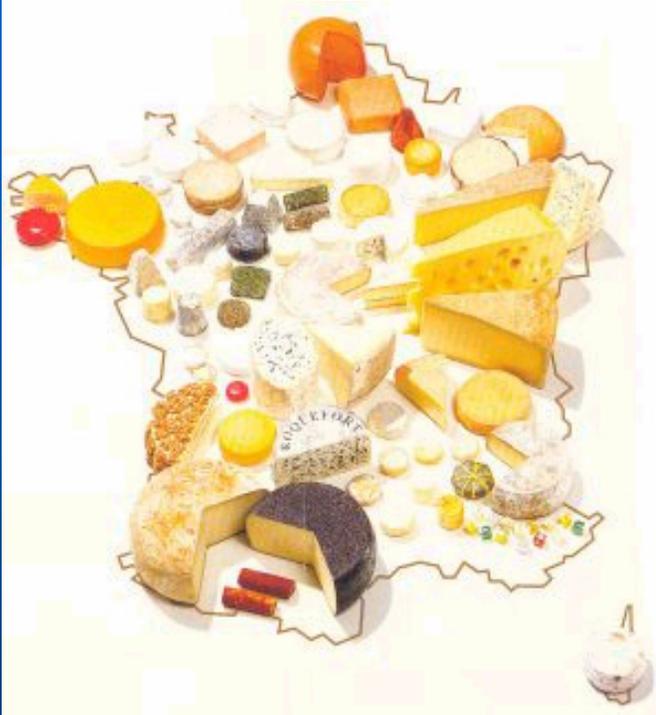


...et d'aujourd'hui

ESTIMATED TB INCIDENCE RATES, 2000



Les infections intracellulaires nous guettent dans notre vie quotidienne ...

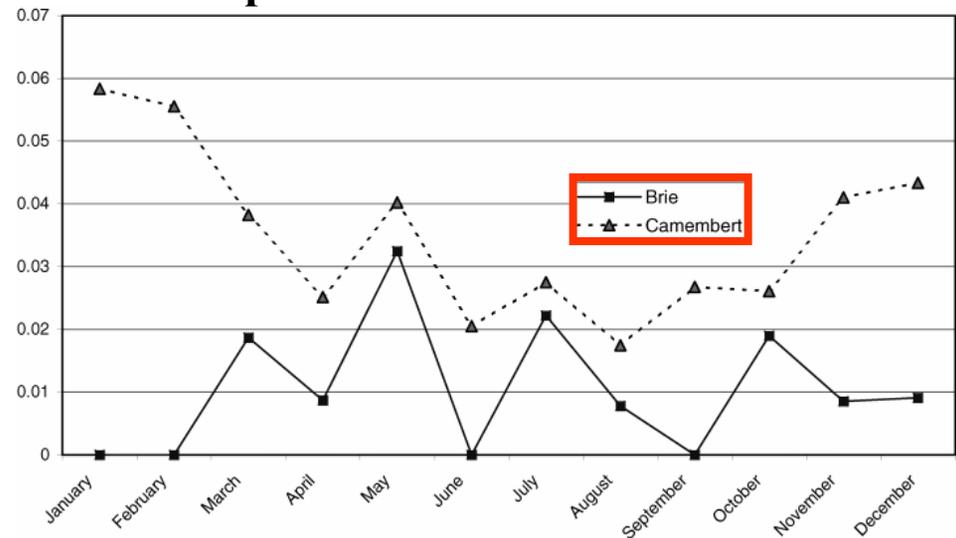


Risk Analysis, Vol. 24, No. 2, 2004

Risk Assessment of Listeriosis Linked to the Consumption of Two Soft Cheeses Made from Raw Milk: Camembert of Normandy and Brie of Meaux

Moez Sanaa,^{1*} Louis Coroller,¹ and Olivier Cerf¹

proportion of tank milks found positive for L.m. in 2000



Les infections intracellulaires nous guettent dans notre vie quotidienne ...



RAPPORT D'INVESTIGATION

Une épidémie de légionellose parmi les visiteurs d'un salon en Belgique, 1999

K. De Schrijver*, E. Van Bouwel*, L. Mortelmans*, P. Van Rossom*, T. De Beukelaer*, C. Vael*, K. Dirven*, H. Goossens*, M. Leven*, O. Ronweaux*

- * Health Inspection, Communicable disease control, Ministry of Flanders, Anvers, Belgique
- * Department of respiratory diseases, Kilina hospital, Brasschaat, Belgique
- * Department of Emergency medicine, Kilina hospital, Brasschaat, Belgique
- * Department of microbiology, Kilina hospital, Brasschaat, Belgique
- * Department of respiratory diseases, Jan Palfijn hospital, Anvers, Belgique
- * Department of microbiology, Jan Palfijn hospital, Anvers, Belgique
- * Department of microbiology, University of Antwerp, Edegem, Belgique
- * Institute of Public Health, Bruxelles, Belgique

En novembre 1999, 93 cas de légionellose ont été identifiés au cours d'une épidémie associée à un salon à Kapellen, en Belgique (43 cas confirmés, 12 présumés et 38 possibles / cliniques). Cinq malades sont décédés. L'investigation épidémiologique a montré une association entre le temps passé au salon, l'exposition à certaines zones du chapiteau et la survenue de la maladie. Les analyses par PCR (polymerase chain reaction) ont montré qu'un bassin et une fontaine étaient contaminés par Legionella.

1. Les armes de l'hôte face aux infections bactériennes



Moyens de défense anti-infectieux

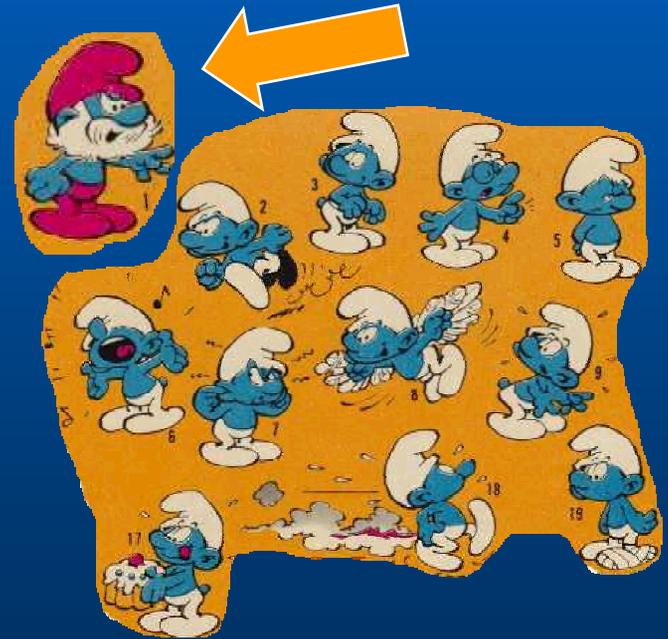


immunité innée

- primo-infection
- peu spécifique

immunité acquise

- ré-infection
- spécifique

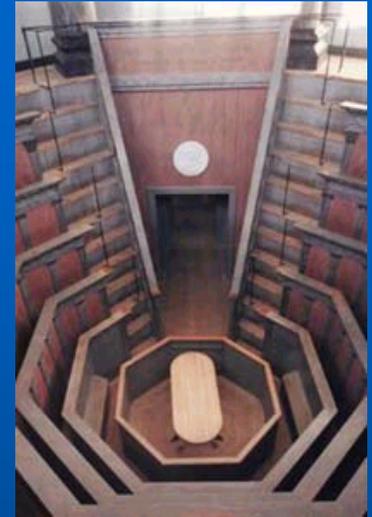


Immunité innée: quelles armes ?

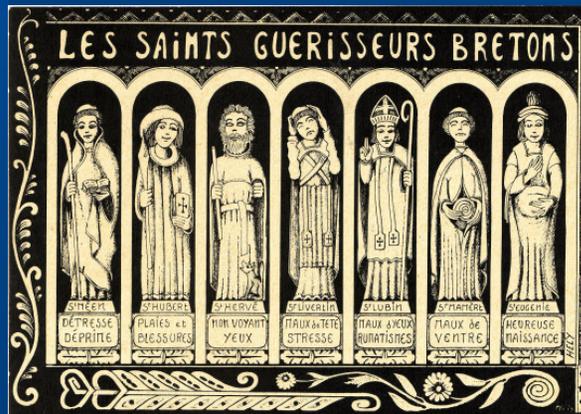
- complément:
arme physique



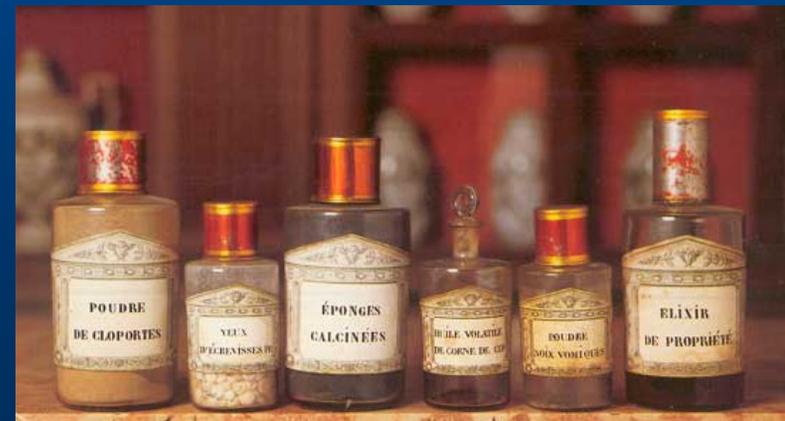
- phagocytose:
piège



- cytokines:
intercession, recrutement



- bactéricidie intracellulaire:
arme chimique



Immunité innée: le complément



voie classique

voie des lectines

voie alternative

complexe Ag-Ac

interaction bactérie-lectine

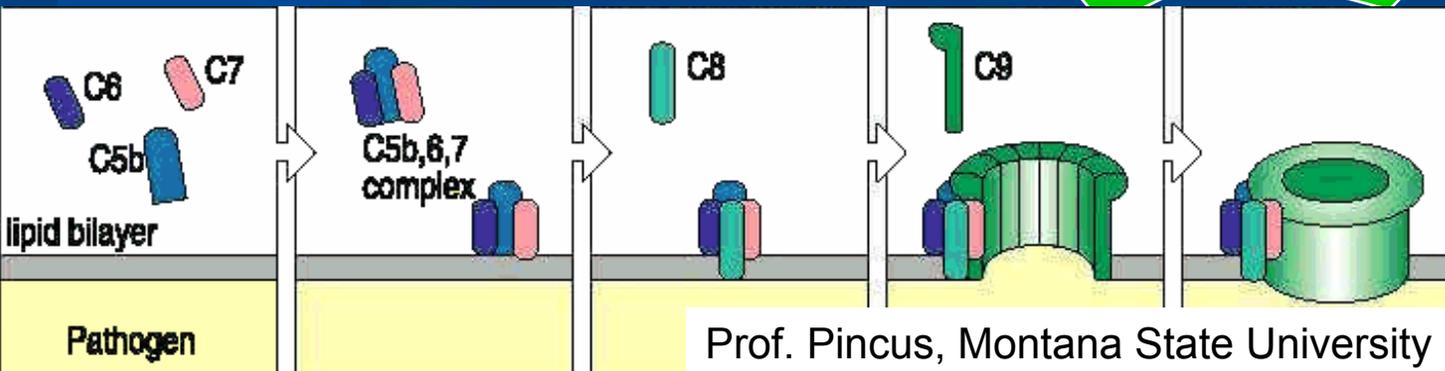
surface bactérienne

C3 → C3b

C5 → C5b

C6, C7, C8, C9

« Membrane Attack Complex »



Immunité innée: les cytokines



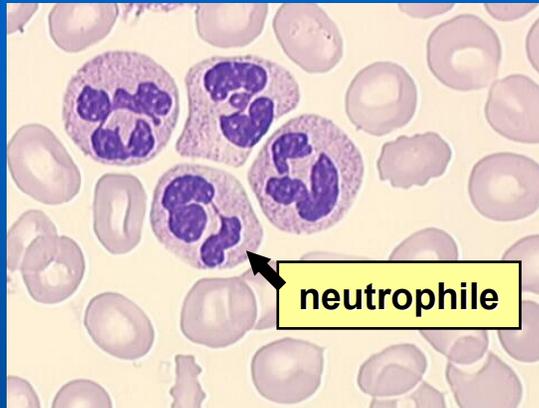
- fièvre
- inflammation
- activation et croissance des globules blancs

interférons
interleukines
 TNF_{α}

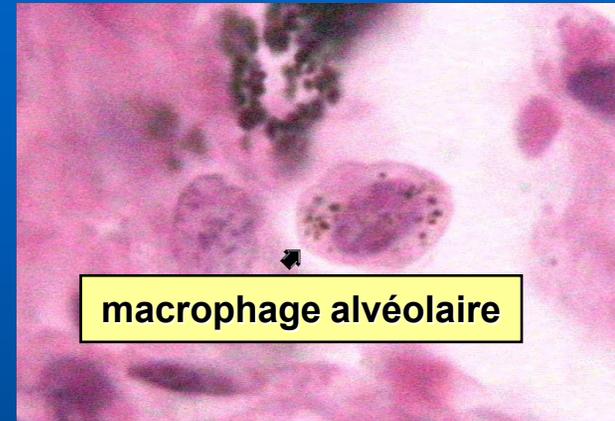
Immunité innée: la phagocytose



phagocytes professionnels



cellules migrant
vers le site d'infection
par chimiotactisme



cellules
circulantes
ou résidentes

Chemotaxis of
Human Neutrophils

© James A. Sullivan
Quill Graphics
Charlottesville, VA USA

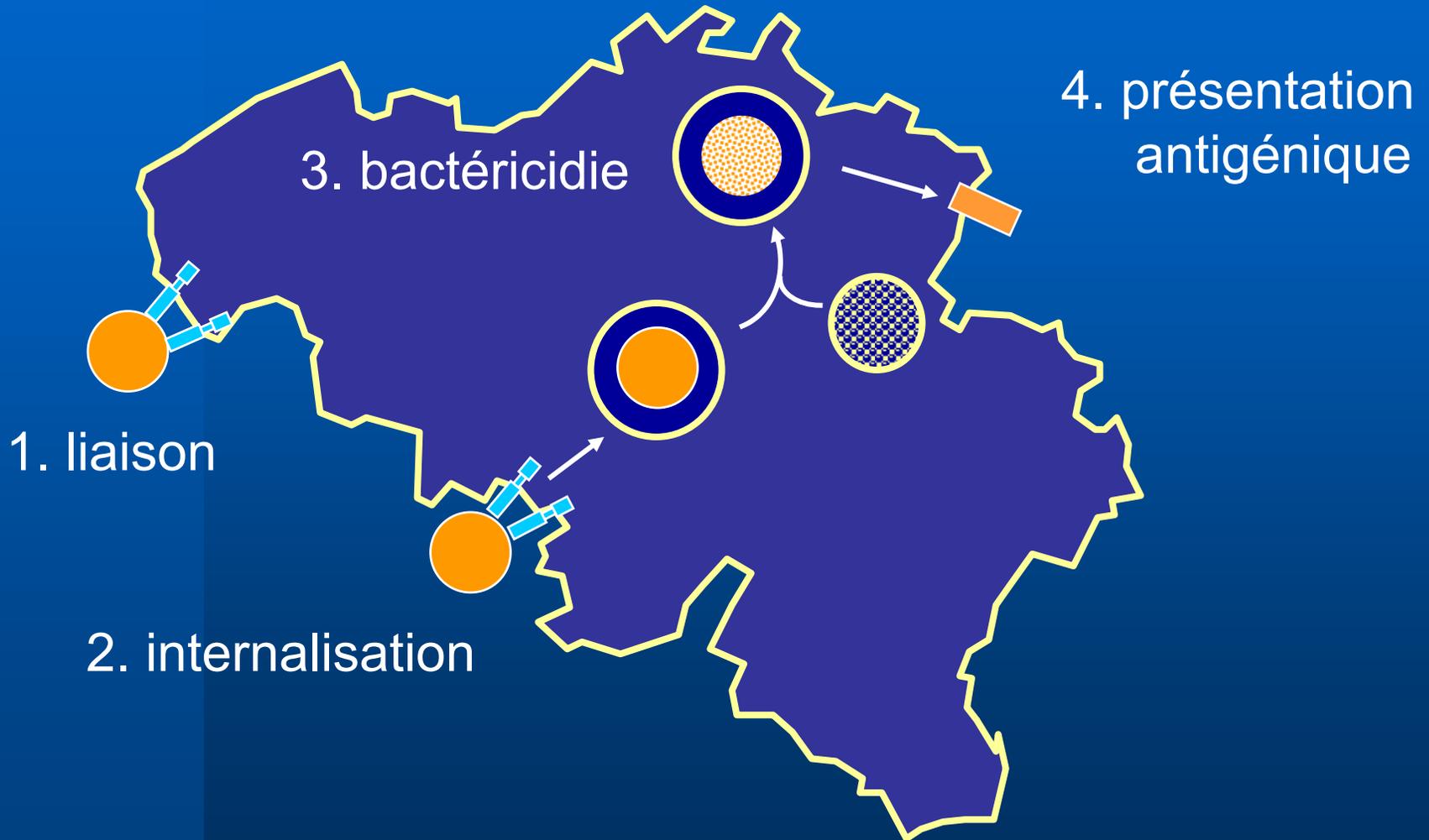


chemokines

Human Macrophage
Ingesting
Candida albicans

© James A. Sullivan
Quill Graphics
Charlottesville, VA USA

Immunité innée: la phagocytose

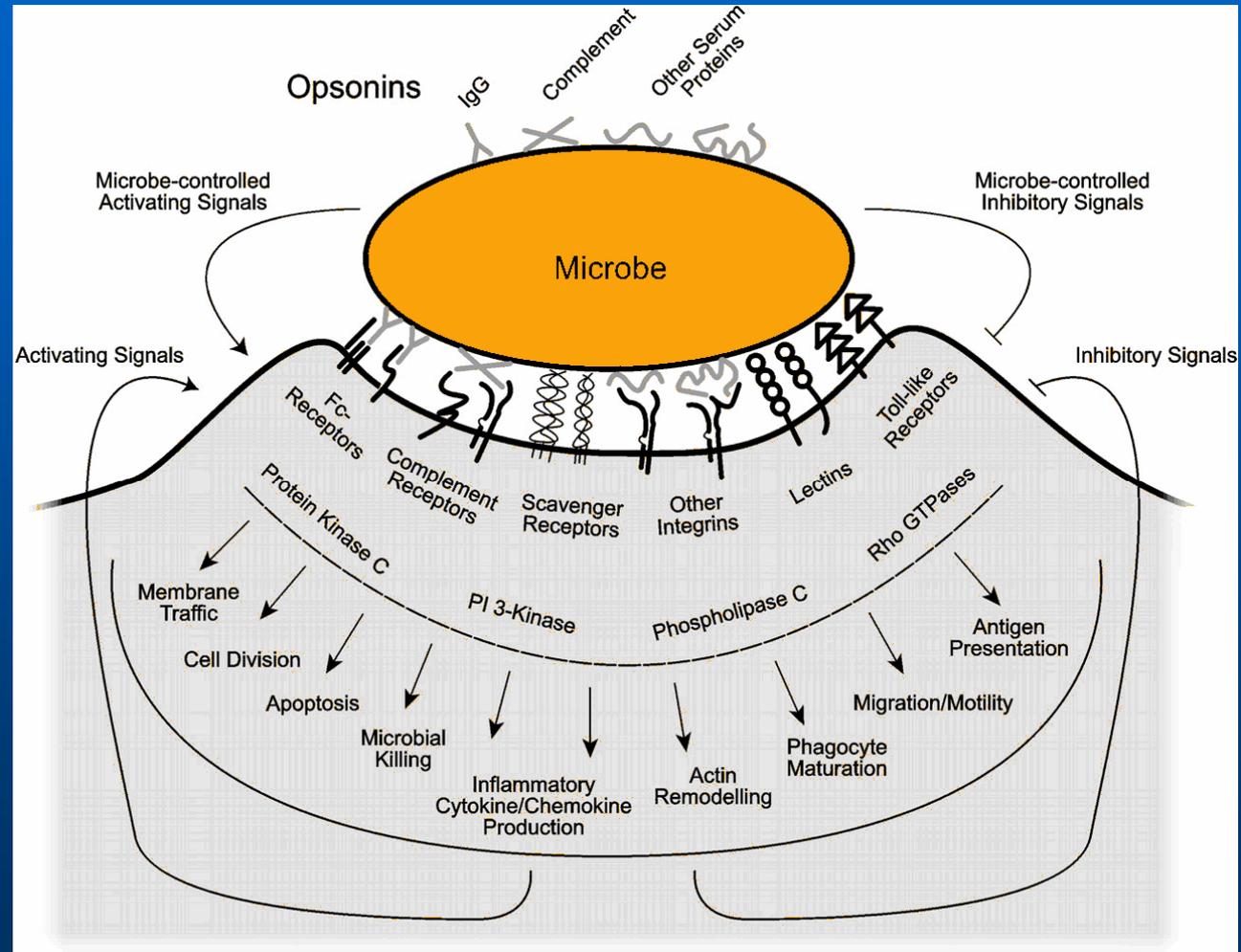


Phagocytose: liaison à la surface cellulaire



Phagocytose: liaison à la surface cellulaire

réponses cellulaires multiples

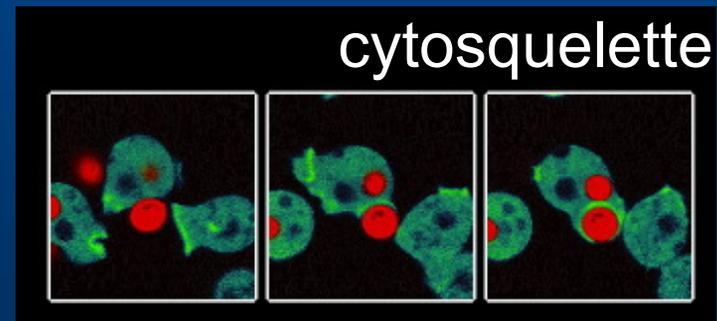
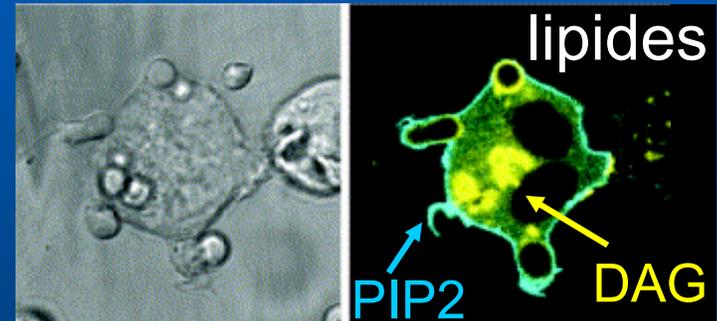
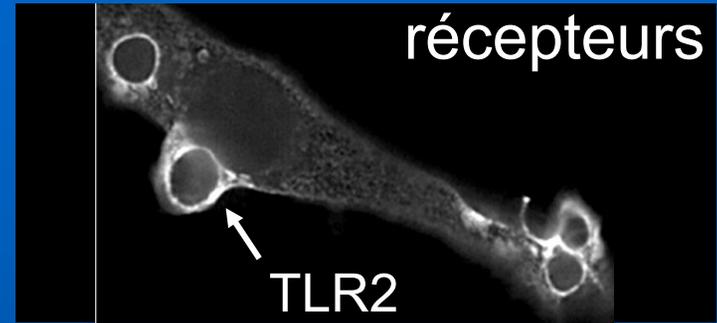
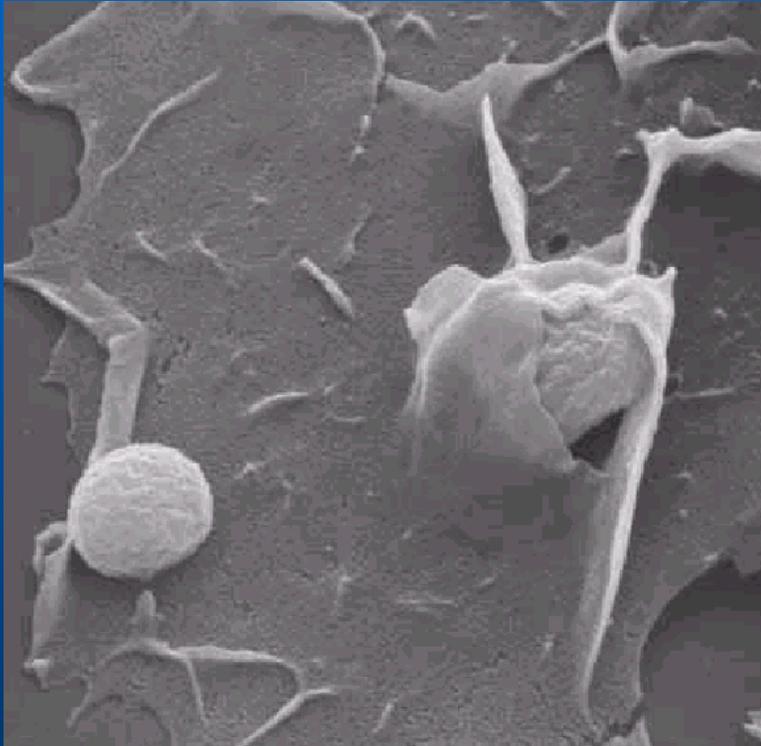


Phagocytose: internalisation



Phagocytose: internalisation

profond remodelage cellulaire



May & Machesky, J Cell Sci. (2001) 114:1061-77;

Underhill *et al.*, Nature (1999) 410:811-15;

Greenberg & Grinstein, Cur Op Immunol. (2002) 14:136-45; Maniak *et al.* Cell (1995) 83:915-24

Phagocytose: bactéricidie



Phagocytose: bactéricidie

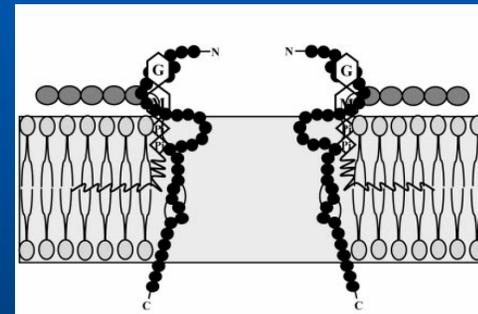


- **stress oxydatif** : $2 O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^{\bullet -} + H^+ + NADP^+$
 $2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
 $H_2O_2 + HCl \rightarrow H_2O + HClO$



- **pH acide**

- **défensines** peptides cationiques interagissant avec la membrane



- **enzymes**

cathepsines:

lysozyme:

lactoferrine:

enzymes hydrolytiques:

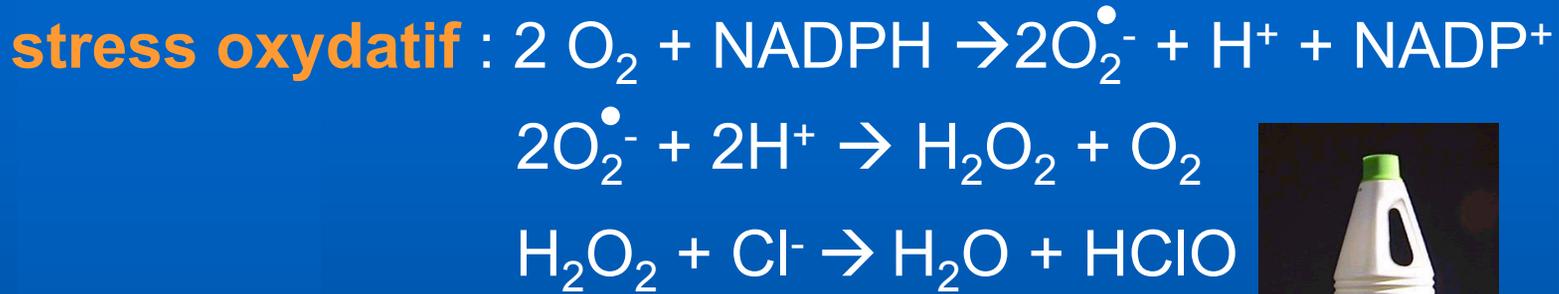
altérations membranaires

digestion des mucopeptides de la paroi

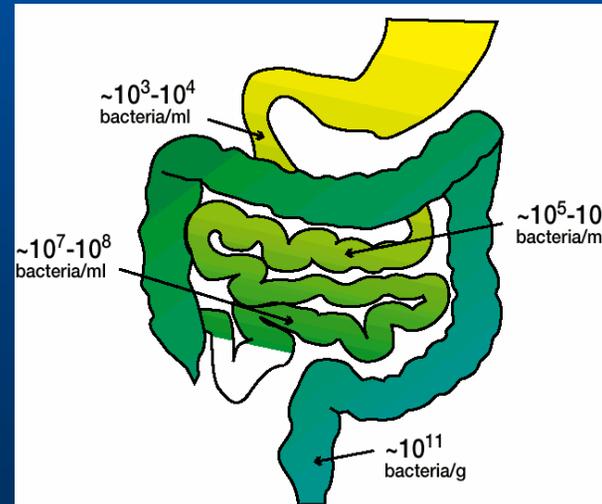
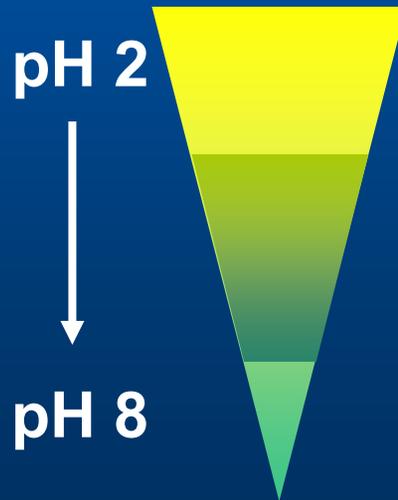
chélateur de fer

digestion des bactéries mortes

Phagocytose: bactéricidie



pH acide

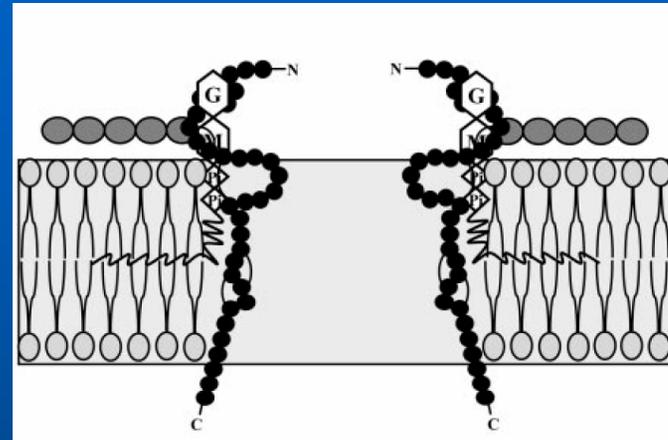


Phagocytose: bactéricidie



défensines

peptides cationiques interagissant avec la membrane



enzymes

cathepsines:

lysozyme:

lactoferrine:

enzymes hydrolytiques:

altérations membranaires

digestion des mucopeptides de la paroi

chélateur de fer

digestion des bactéries mortes

Phagocytose: présentation antigénique



Phagocytose: présentation antigénique

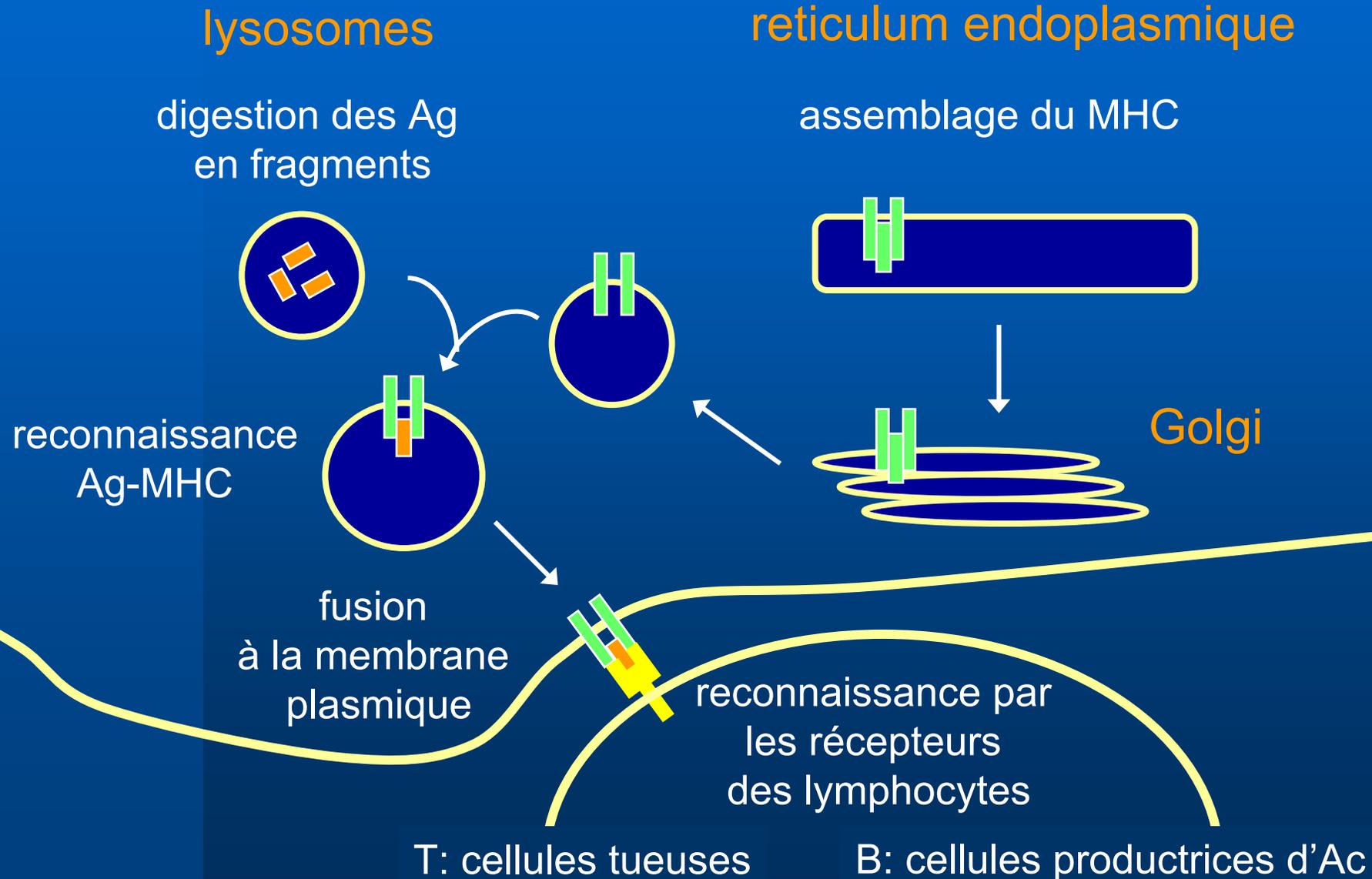
lysosomes

digestion des Ag
en fragments



reticulum endoplasmique

Phagocytose: présentation antigénique



Immunité acquise : les anticorps

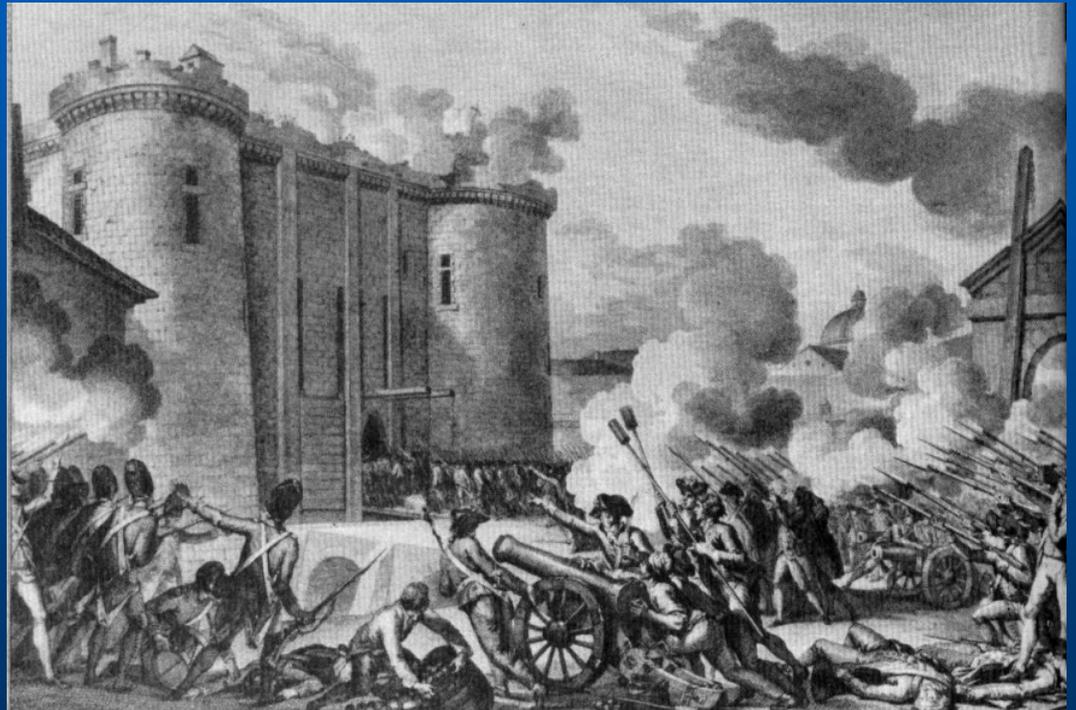


- **spécificité de la réponse**
lors de la re-exposition à un antigène
- **efficacité accrue de la réponse immunitaire**

- inhibition de l'adhérence à la surface des épithélia
- activation du complément
- opsonisation (reconnaissance par les cellules phagocytaires)
- recrutement des cellules T cytotoxiques

Application thérapeutique: vaccination

2. La réponse bactérienne aux défenses de l'hôte

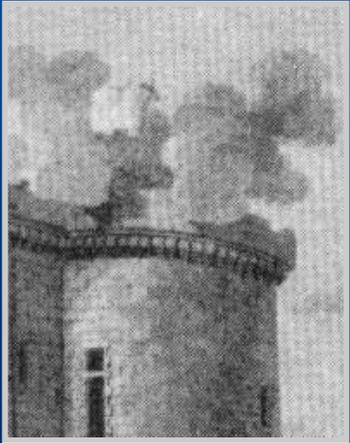


La réponse bactérienne

aux défenses de l'hôte:

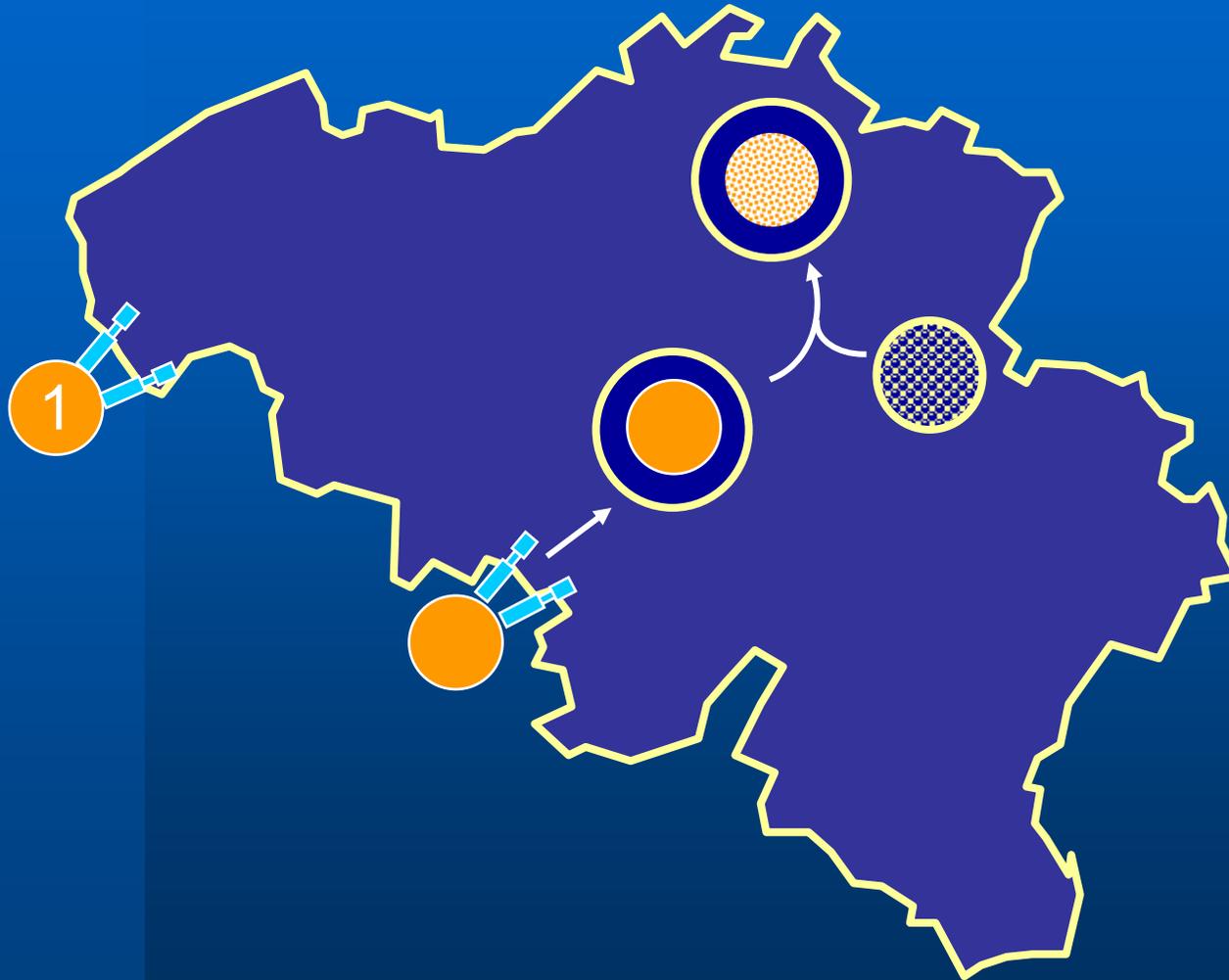


Les stratégies



Les vainqueurs

Stratégie 1: favoriser l'attachement



Stratégie 1: favoriser l'attachement

Listeria monocytogenes



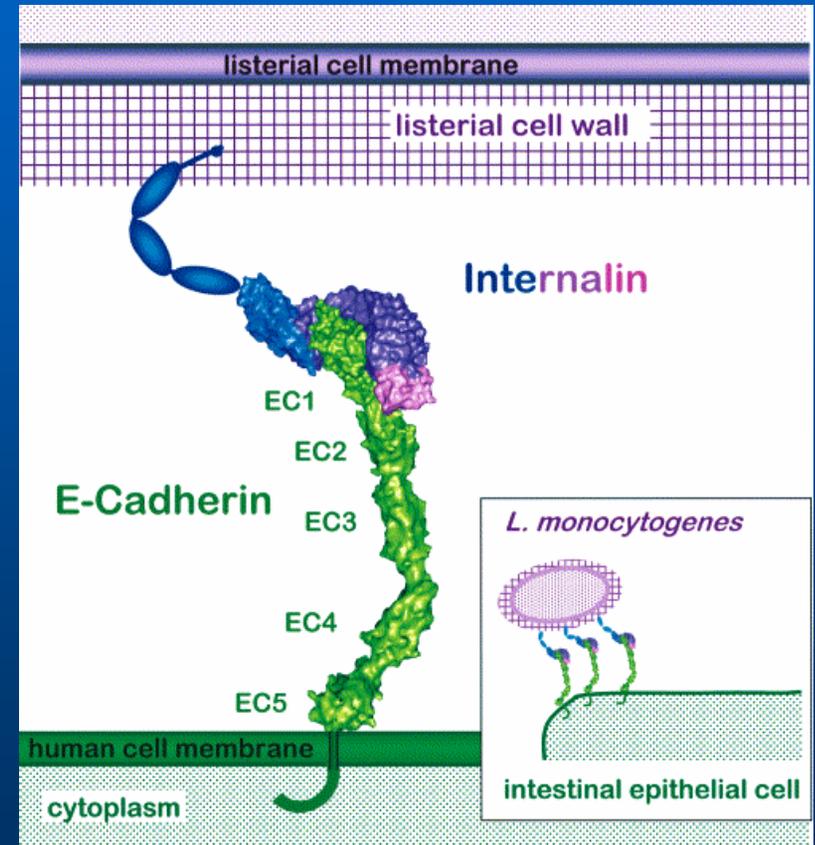
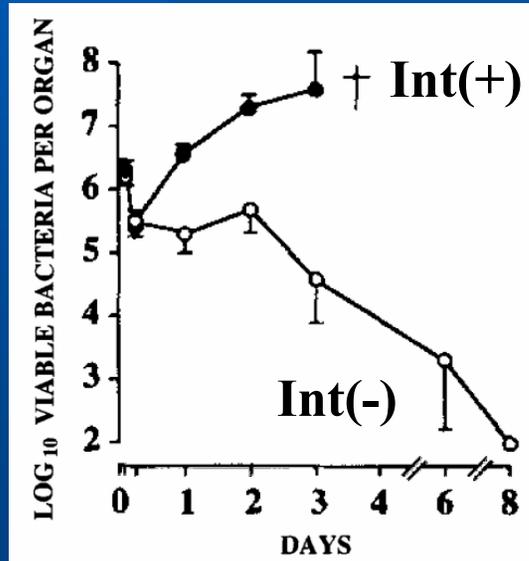
→ méningites



Stratégie 1: favoriser l'attachement

internalines

L'expression d'internalines permet l'infection d'organes (foie, rate, ...)

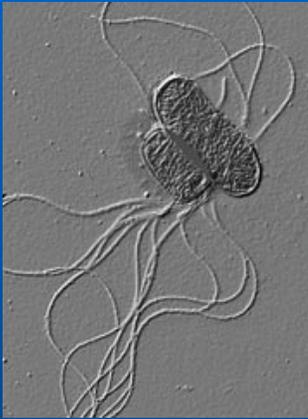


Stratégie 2: favoriser l'internalisation

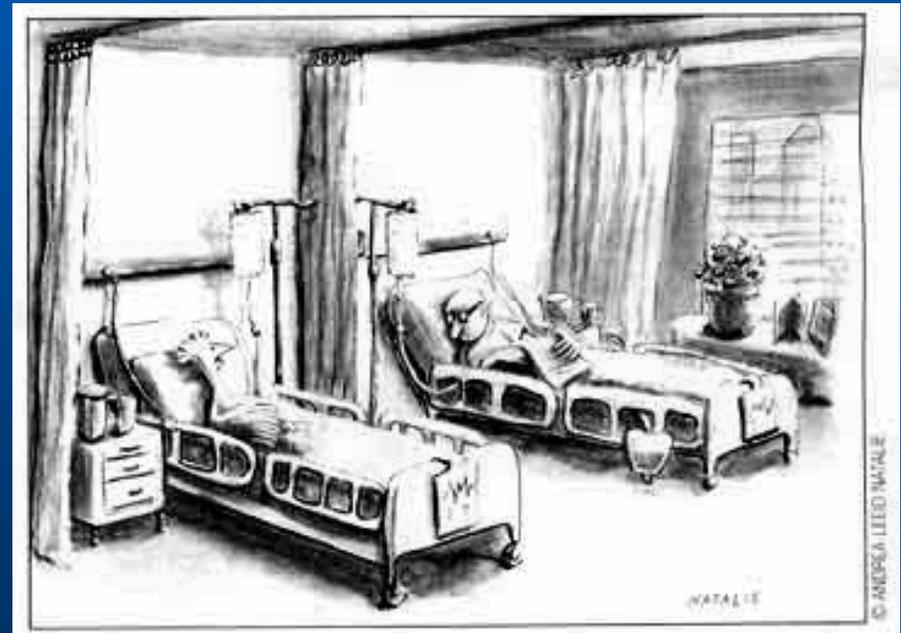


Stratégie 2: favoriser l'internalisation

Salmonella typhi(murium)

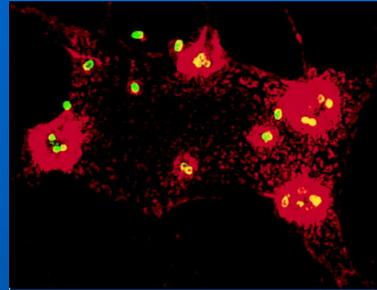
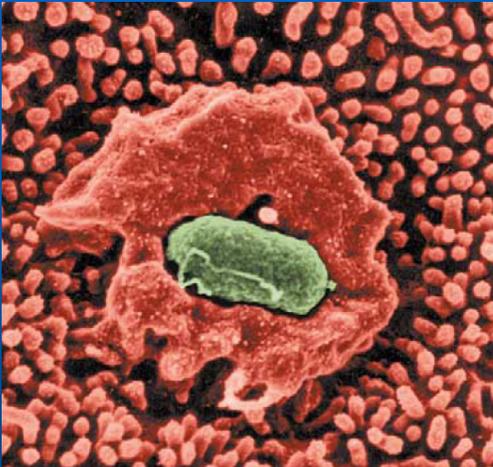


- typhus
- salmonellose



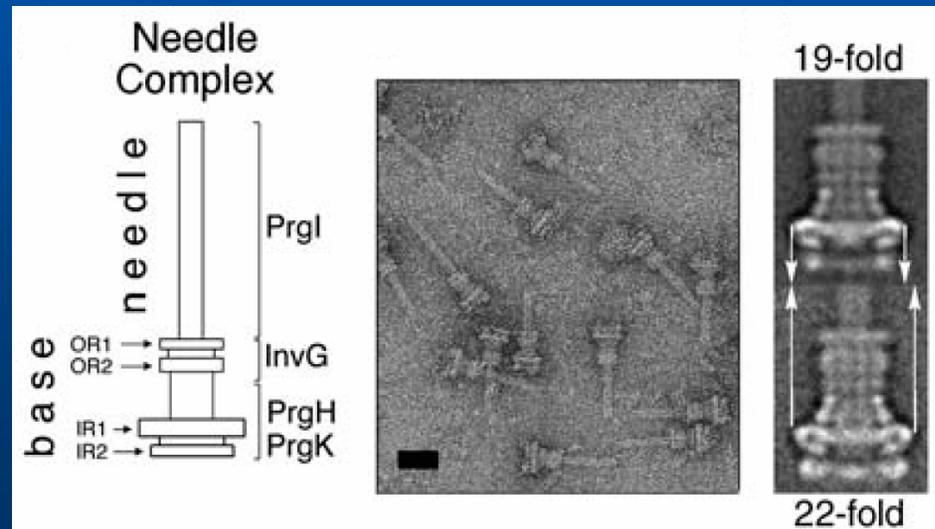
Stratégie 2: favoriser l'internalisation

Salmonella typhi



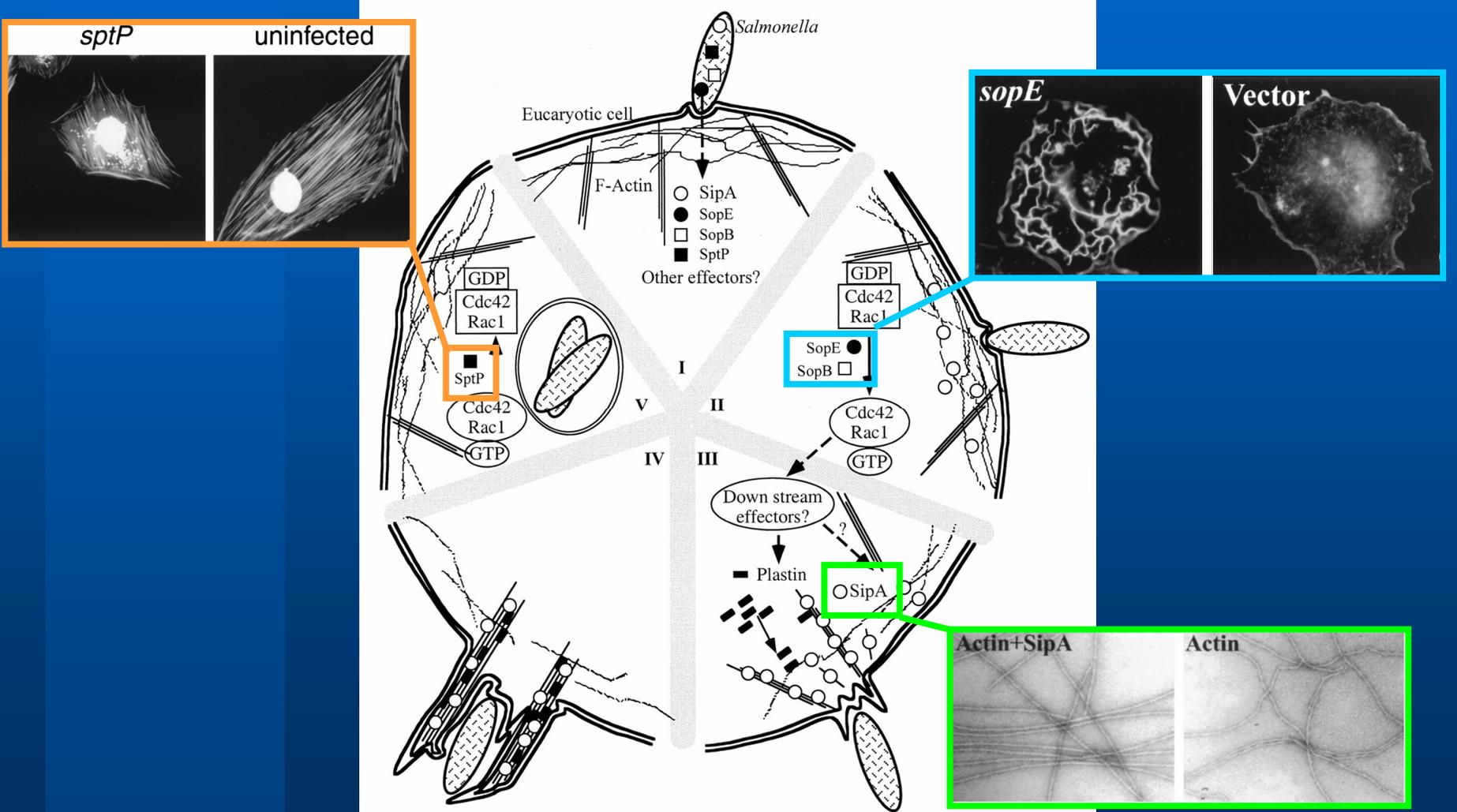
Réarrangement
du cytosquelette

système de sécrétion de type III



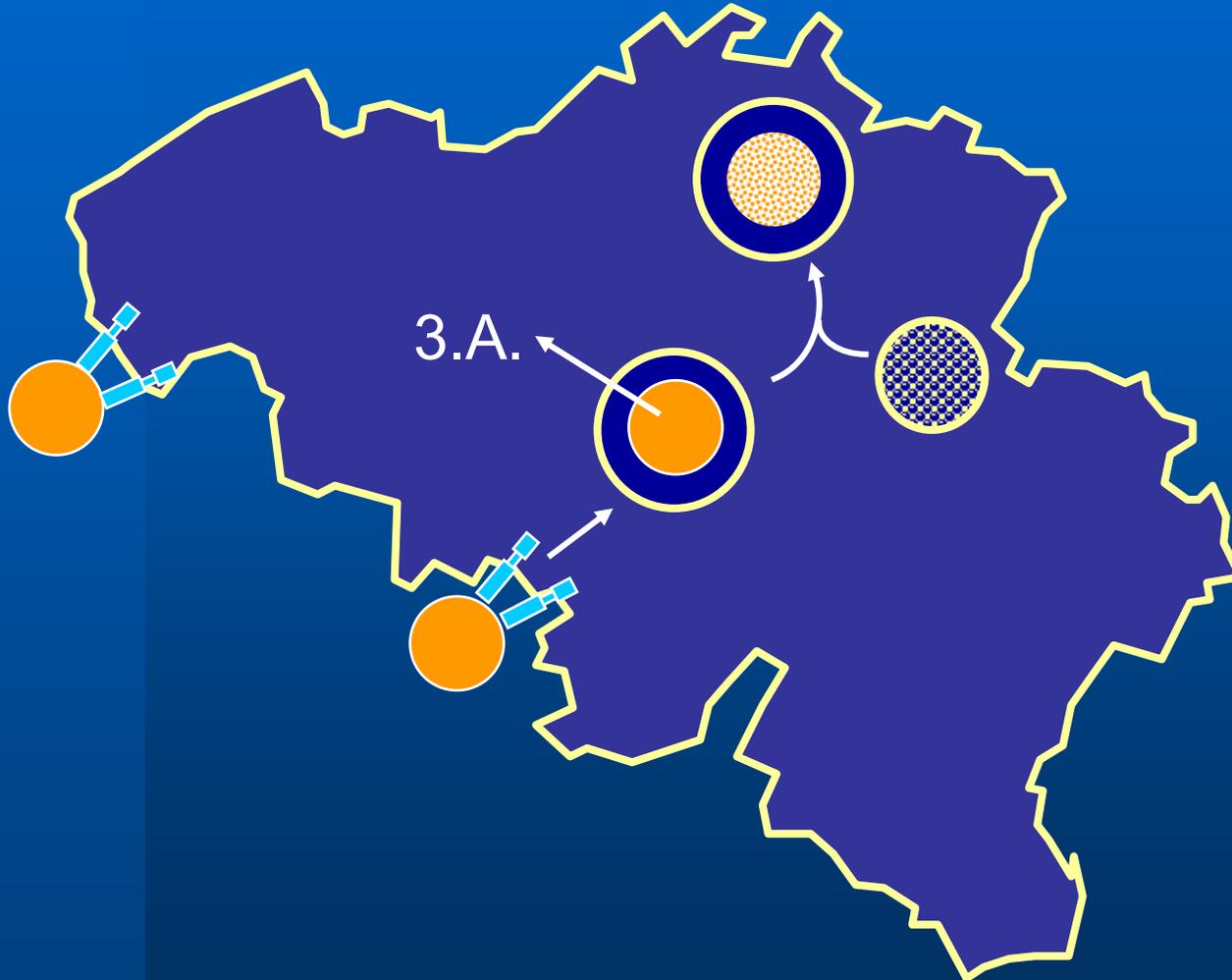
2: *Salmonella*, une bactérie invasive

Fonction des protéines injectées par le système de sécrétion



Stratégie 3: résister à la bactéricidie

3.A. s'échapper des phagosomes



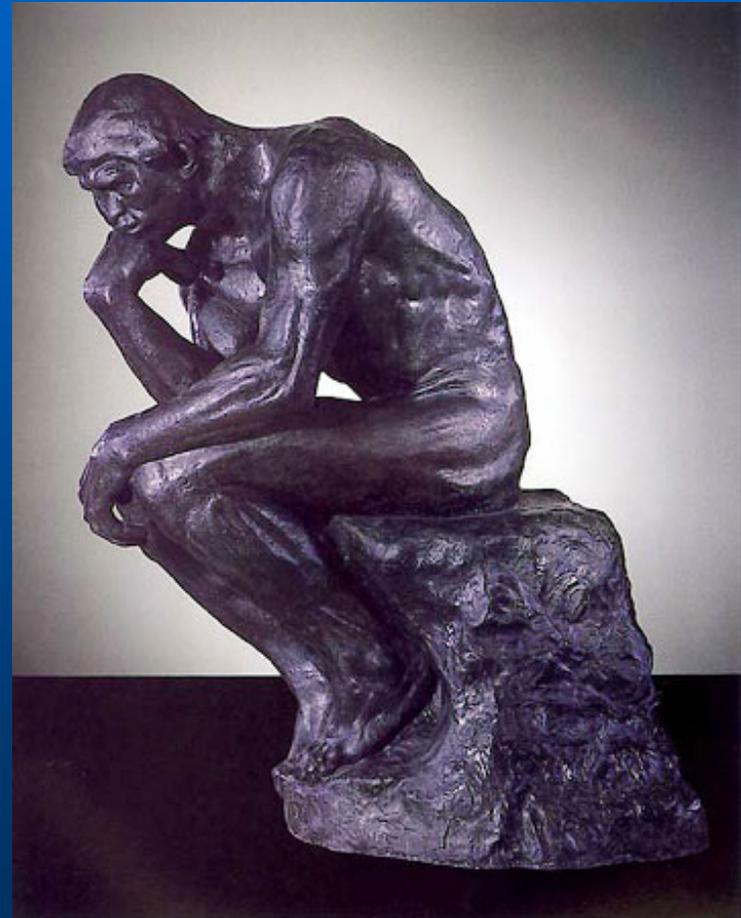
Stratégie 3: résister à la bactéricidie

3.A. s'échapper des phagosomes

Listeria monocytogenes



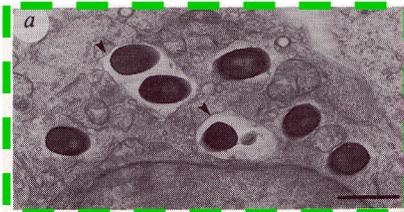
→ méningites



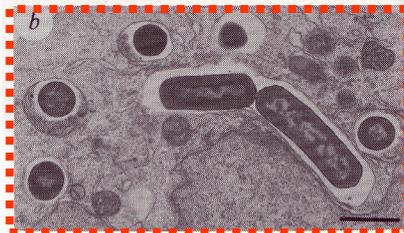
3A: *Listeria*, une bactérie cytosolique

hly, la toxine porogène

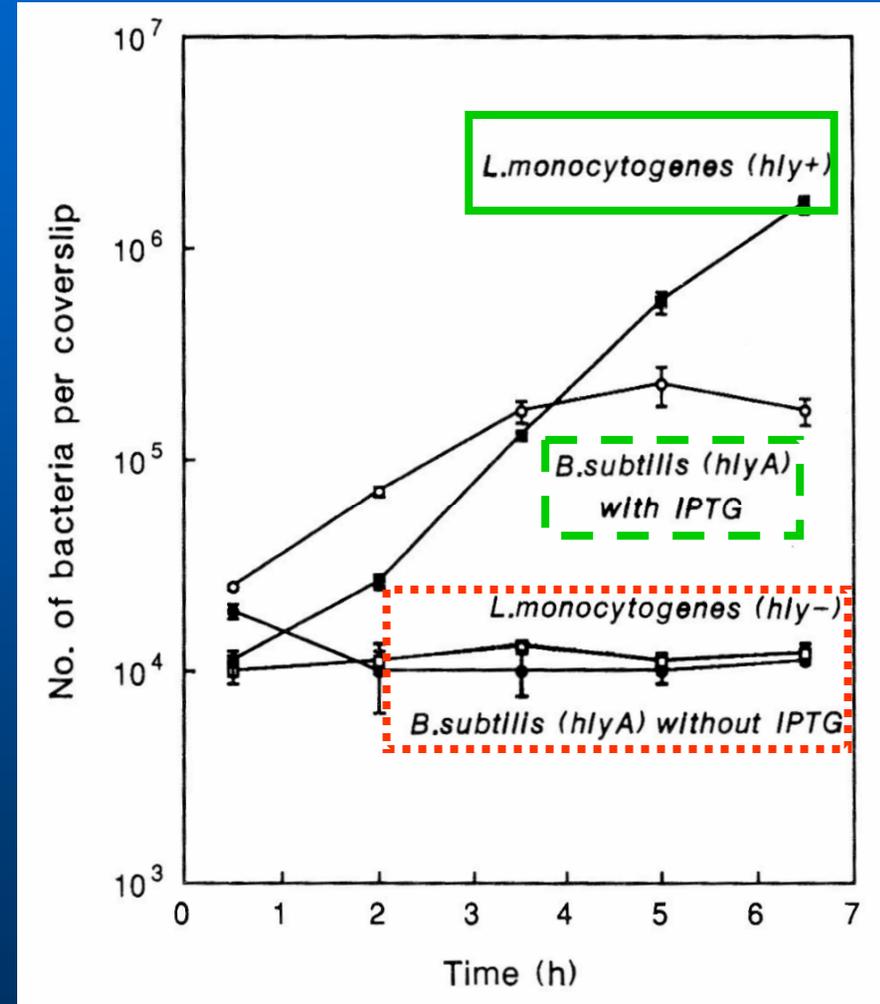
B. subtilis *hly*
+ IPTG



B. subtilis *hly*
- IPTG

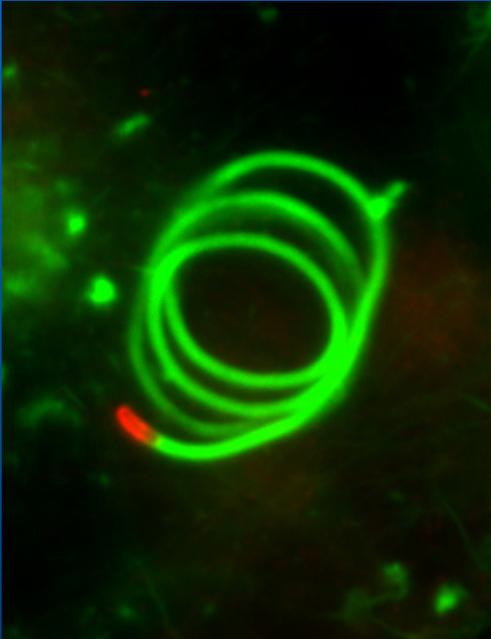


hly suffit à permettre
la fuite des phagosomes
et la multiplication intracellulaire
de *B. subtilis*



3A: *Listeria*, une bactérie cytosolique

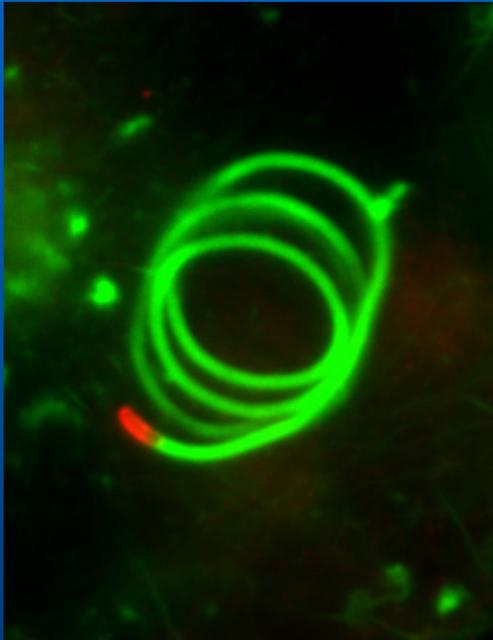
ActA, le moteur intracellulaire



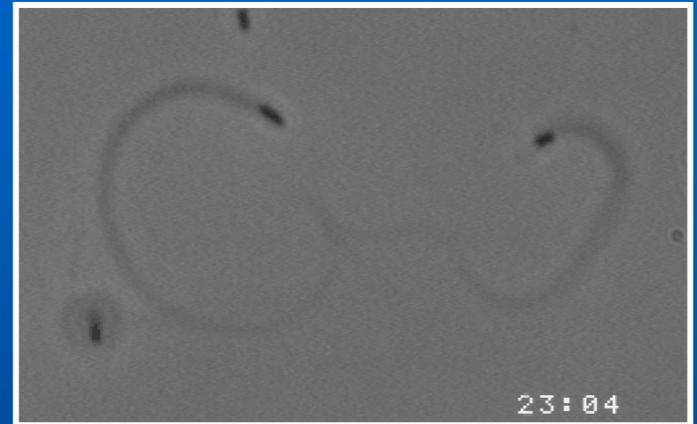
3A: *Listeria*, une bactérie cytosolique

ActA, le moteur intracellulaire

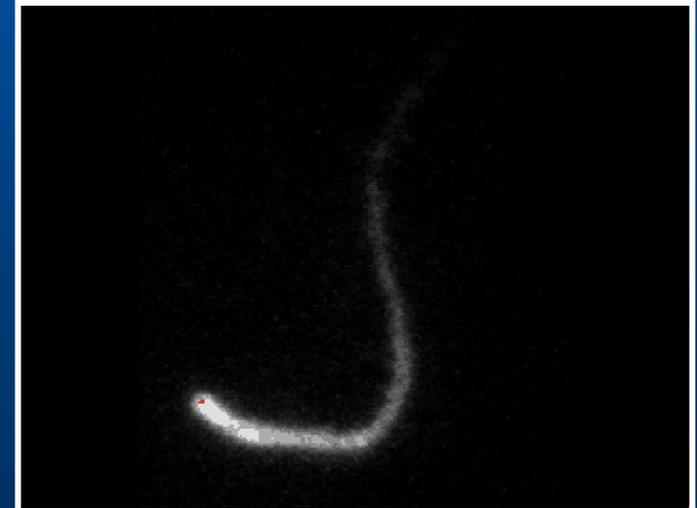
vitesse: ~ 0.1 mm/sec



Listeria



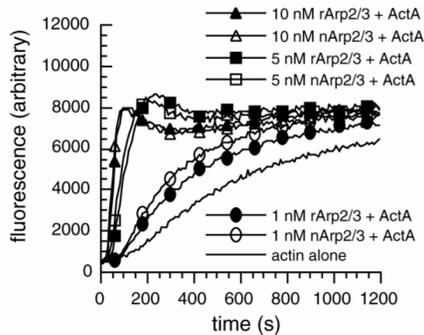
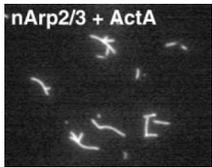
billes de latex
couvertes
par ActA



3A: *Listeria*, une bactérie cytosolique

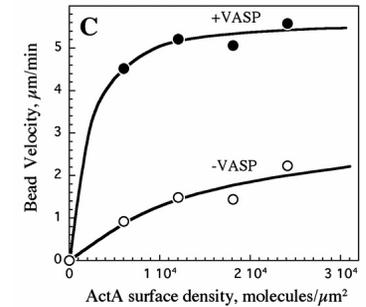
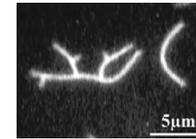
ActA coopère avec des protéines de l'hôte

nucléation et branchements

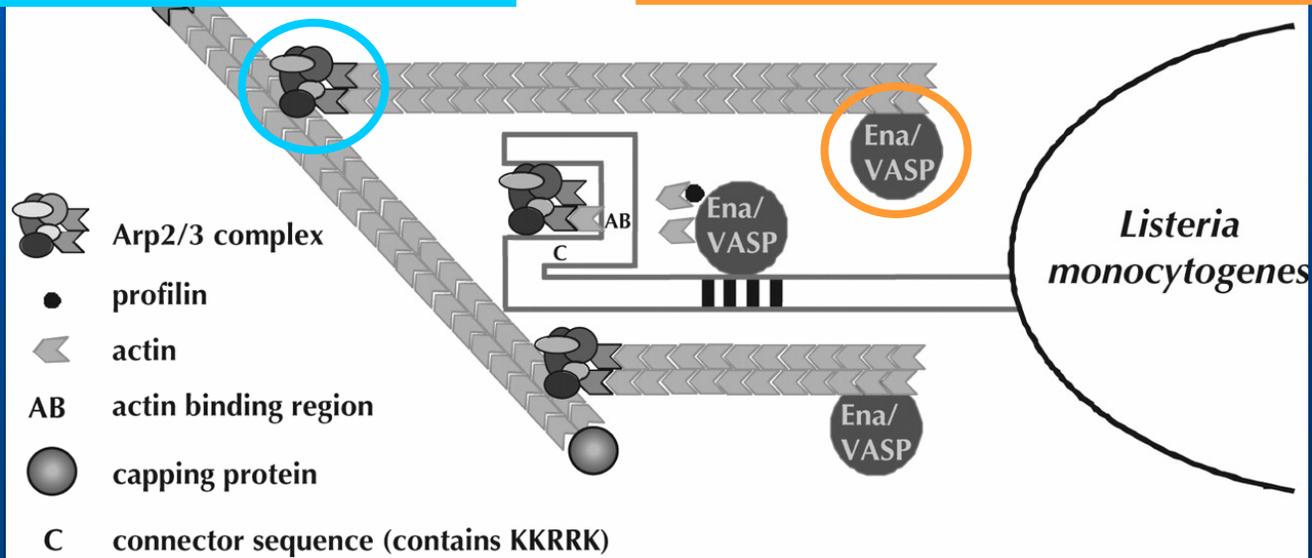


Gournier *et al.*
Mol. Cell. (2001)
8:1041-52

génération de nouveaux filaments → force de propulsion

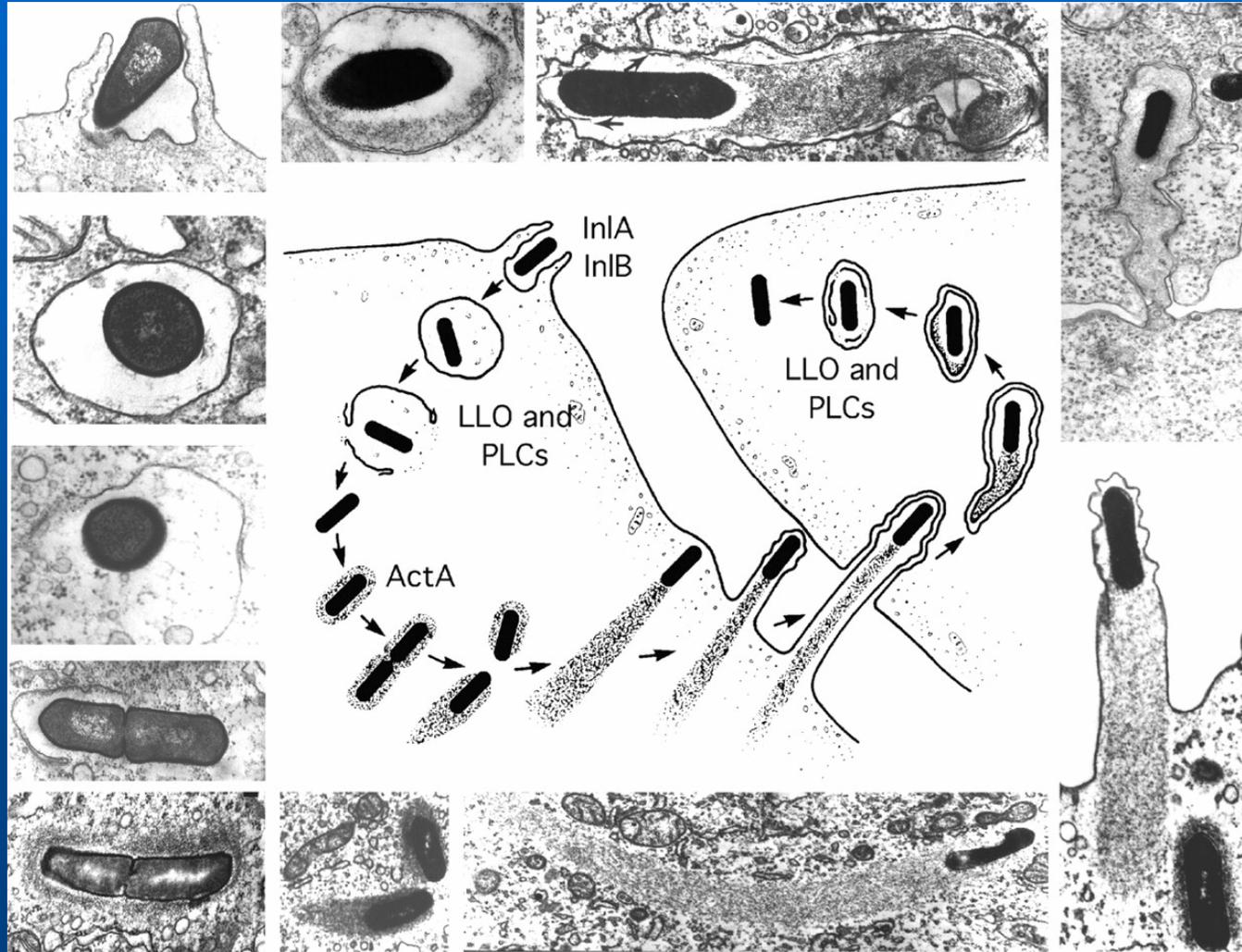


Samarin *et al.*
J. Cell. Biol. (2003)
163:131-42



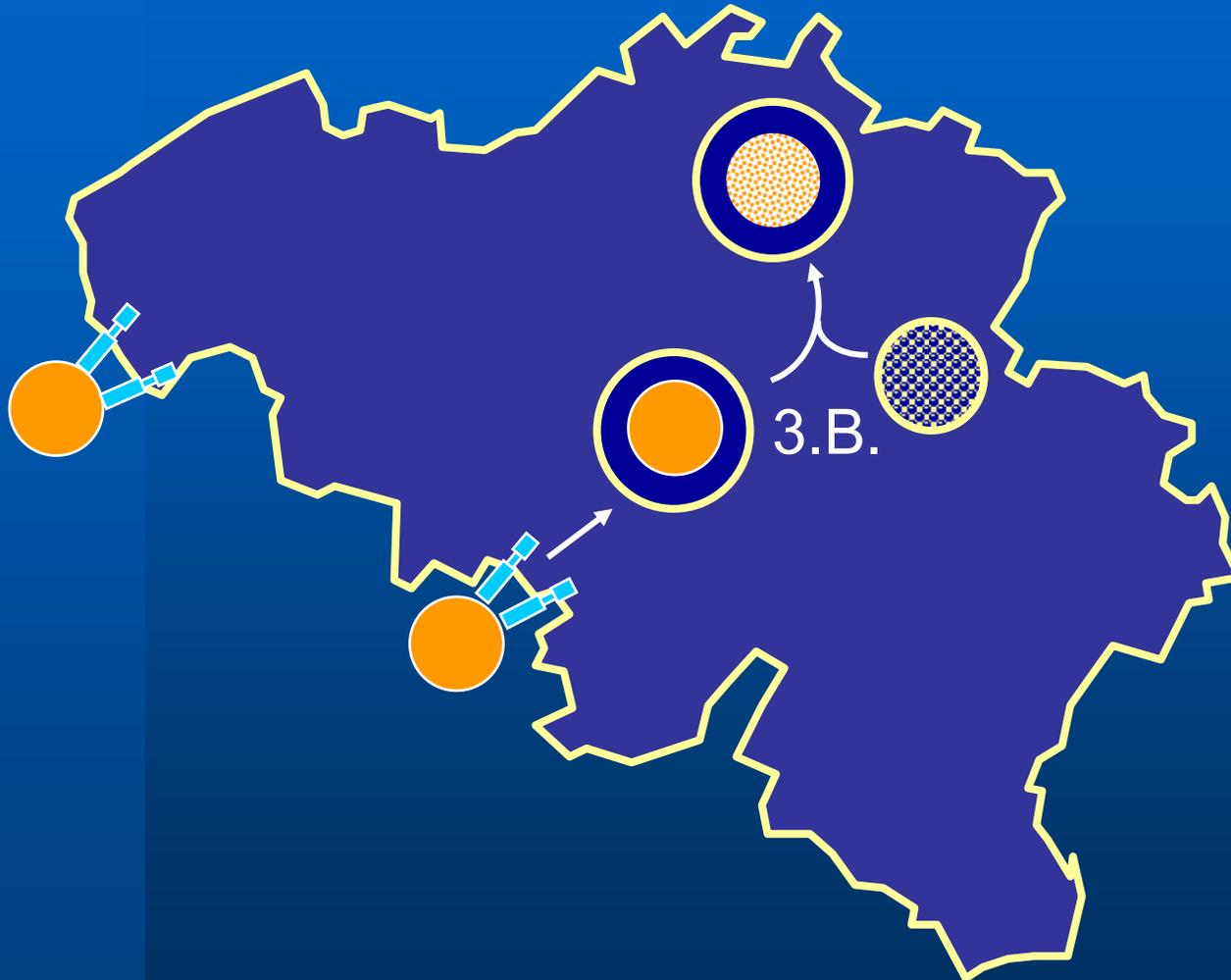
3A: *Listeria*, une bactérie cytosolique

cycle intracellulaire



Stratégie 3: résister à la bactéricidie

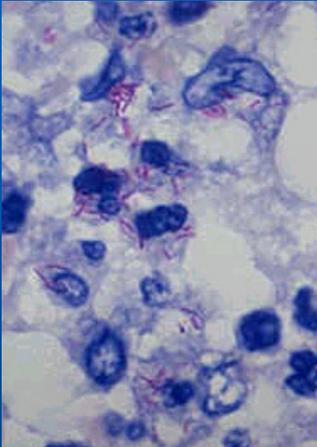
3.B. empêcher la fusion phagosome - lysosome



Stratégie 3: résister à la bactéricidie

3.B. empêcher la fusion phagosome - lysosome

Mycobacterium tuberculosis

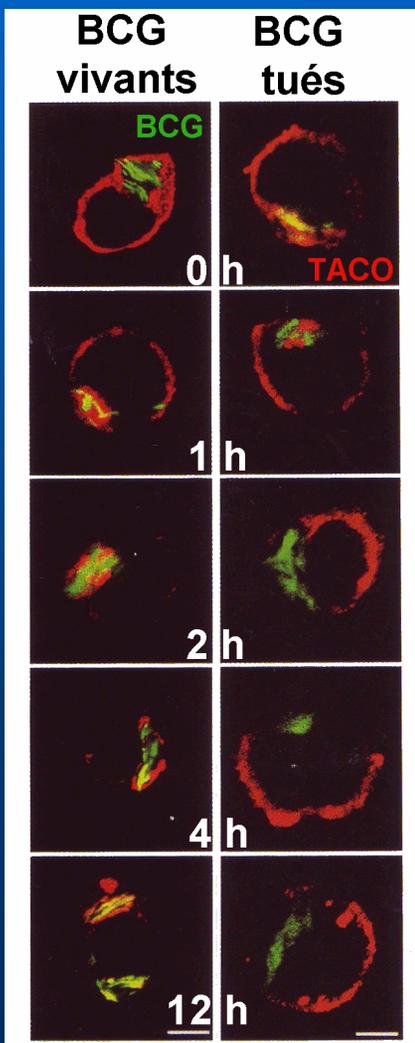


→ tuberculose

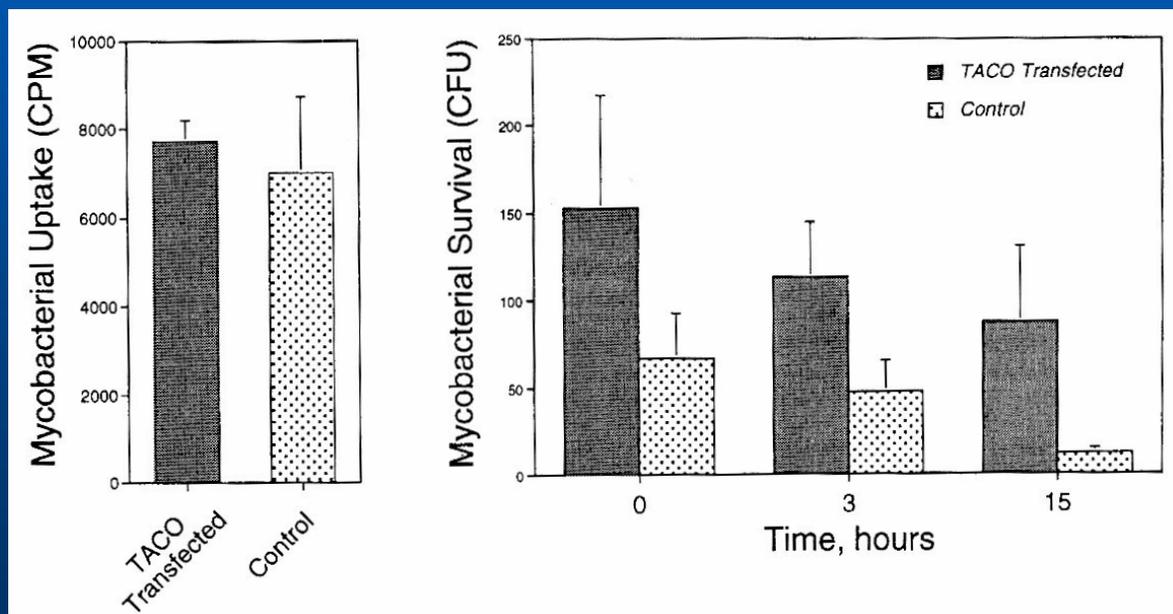


3B: *Mycobacterium*, une bactérie phagosomale

TACO, le manteau phagosomal

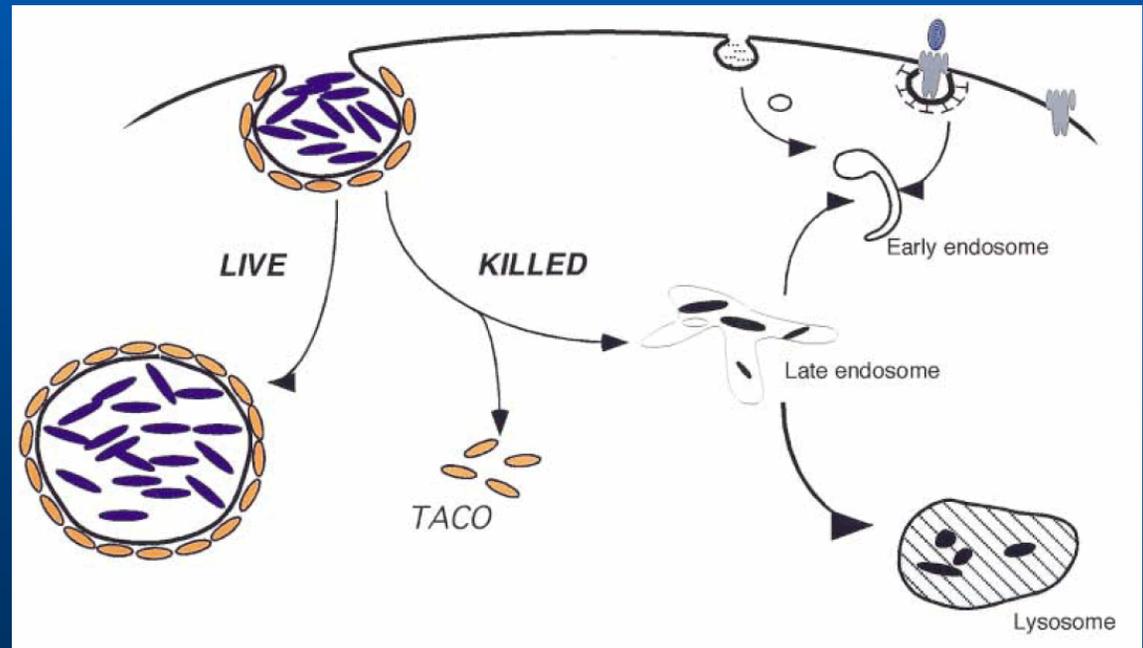
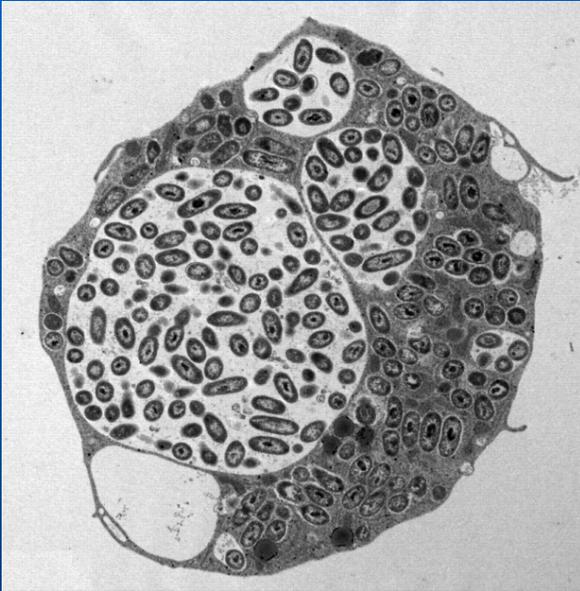


TACO est nécessaire à la survie intracellulaire



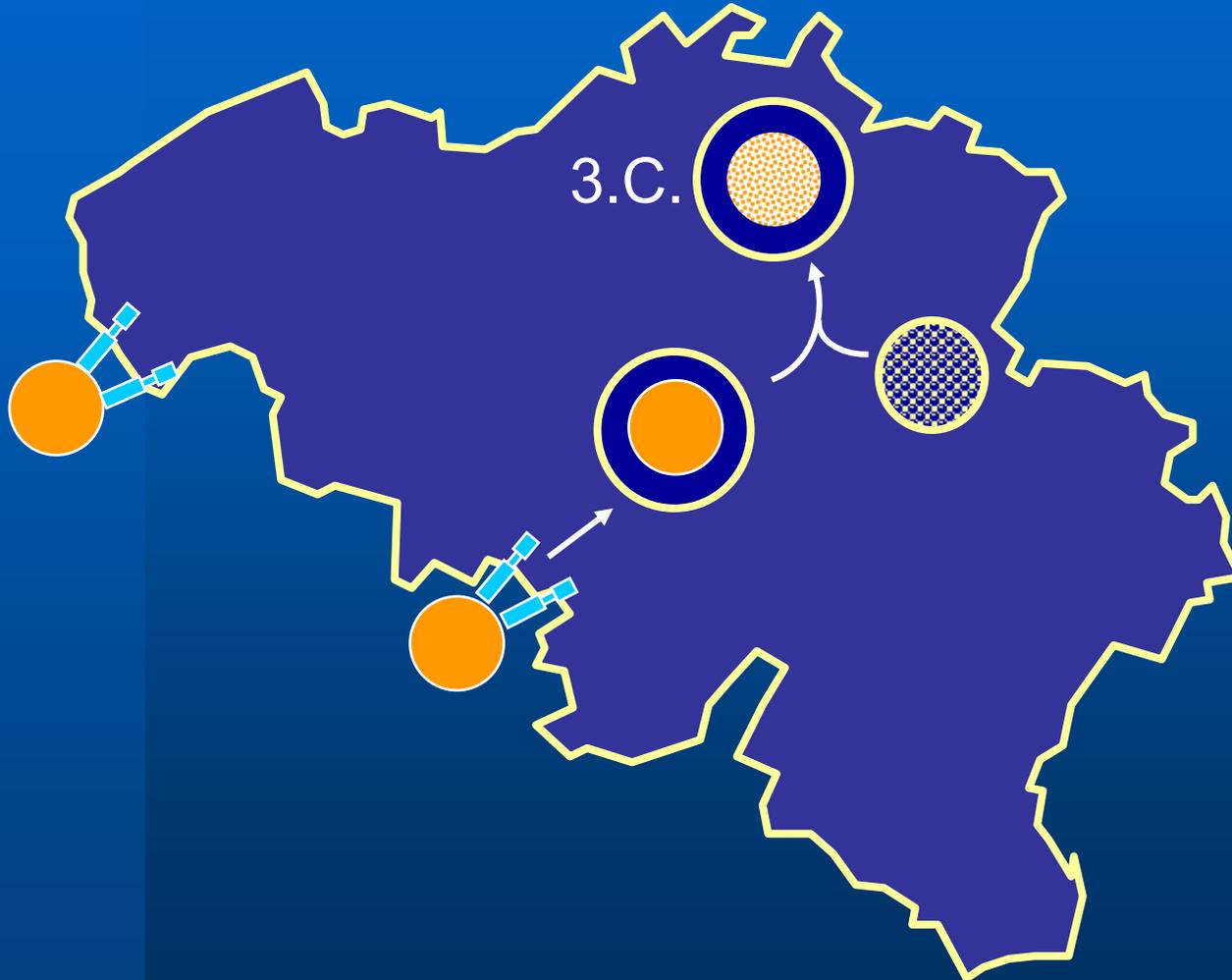
3B: *Mycobacterium*, une bactérie phagosomale

cycle intracellulaire



Stratégie 3: résister à la bactéricidie

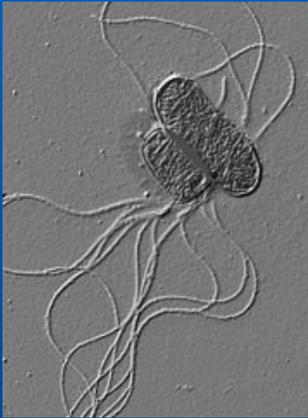
3.C. survivre aux agents bactéricides



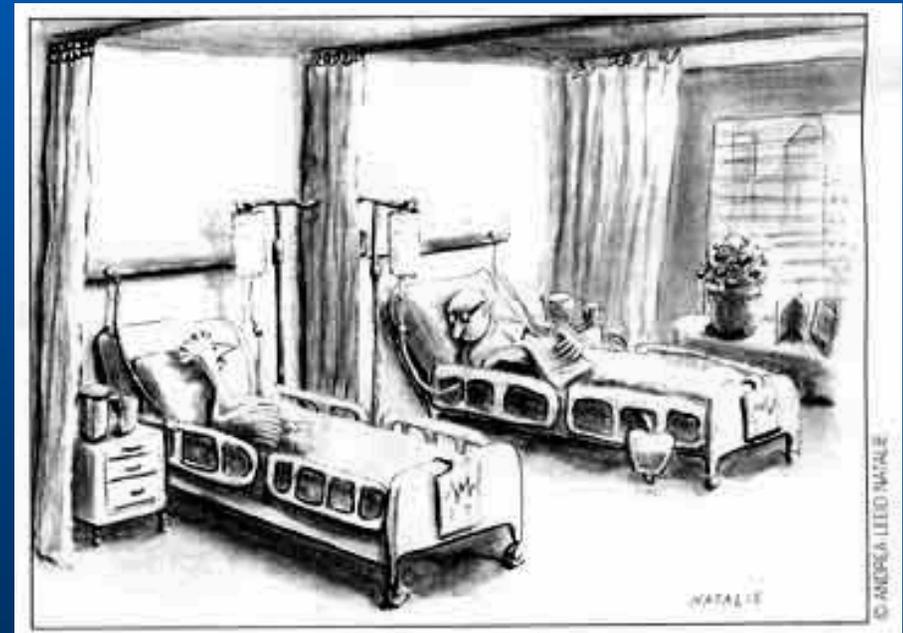
Stratégie 3: résister à la bactéricidie

3.C. survivre aux agents bactéricides

Salmonella typhi(murium)

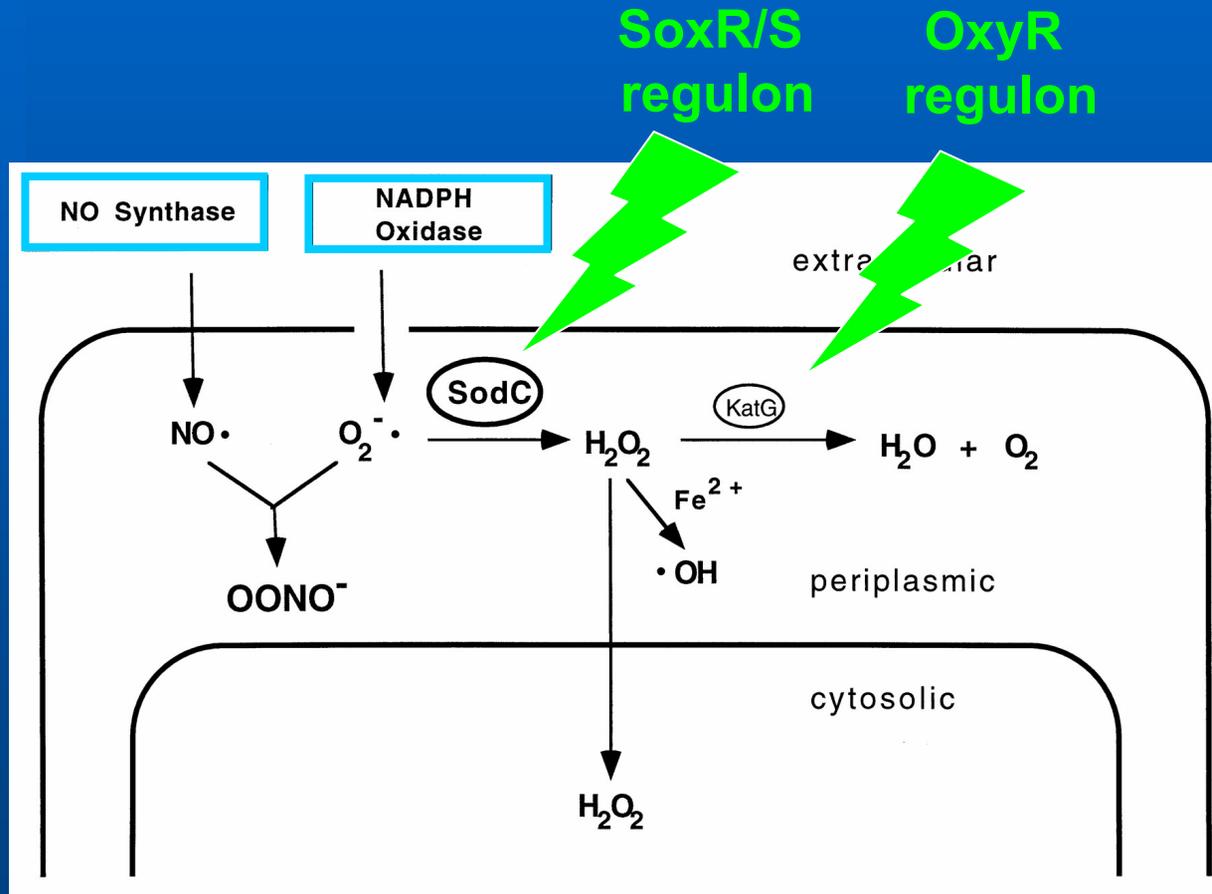


- typhus
- salmonellose



3C: *Salmonella* en guerre contre le stress oxydatif

Enzymes dégradant les espèces oxydantes

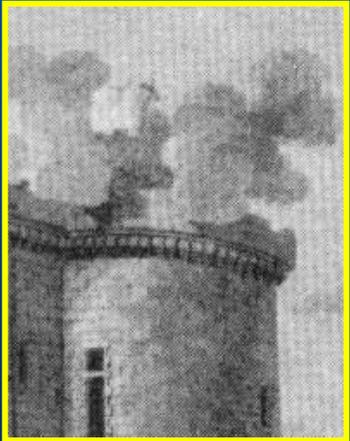


La réponse bactérienne

aux défenses de l'hôte:



Les stratégies



Les vainqueurs

Agents intracellulaires obligatoires

bactérie	localisation	infection
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	inclusions	pneumonie
<i>Chlamydia trachomatis</i>	inclusions	MST, trachôme
<i>Coxiella burnetii</i>	(phago)lysosomes	fièvre Q, pneumonie, encéphalite, endocardite, ...
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	cytosol	pneumonie
<i>Rickettsia</i> spp	cytosol	griffe du chat; fièvres, ...

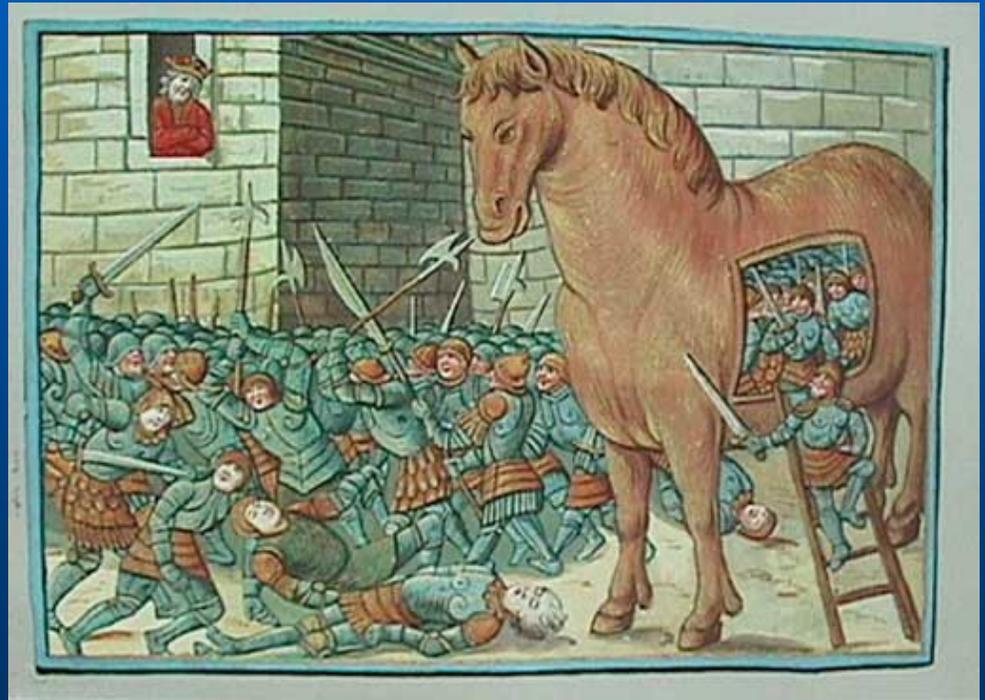
Agents intracellulaires facultatifs

bactérie	localisation	infection
<i>Brucella</i> spp	phagosomes	brucellose
<i>Francisella tularensis</i>	phagosomes	tularémie
<i>Legionella pneumophila</i>	RE, lysosomes	pneumonie
<i>Listeria monocytogenes</i>	cytosol	méningite
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	phagosomes	tuberculose
<i>Salmonella</i> spp	phagosomes	diarrhée
<i>Shigella flexneri</i>	cytosol	diarrhée

Agents intracellulaires opportunistes (?)

bactérie	infection
<i>Bacillus anthracis</i>	anthrax
<i>Borrelia burgdorferi</i>	maladie Lyme
<i>Campylobacter jejuni</i>	diarrhée
<i>Escherichia coli</i>	infections urinaires et digestives
<i>Helicobacter pylori</i>	ulcère
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infections de la peau, de l'os, endocardite, pneumonie, ...
<i>Yersinia</i> spp	peste, diarrhée

3. Les avantages de la vie intracellulaire



Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques



Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques

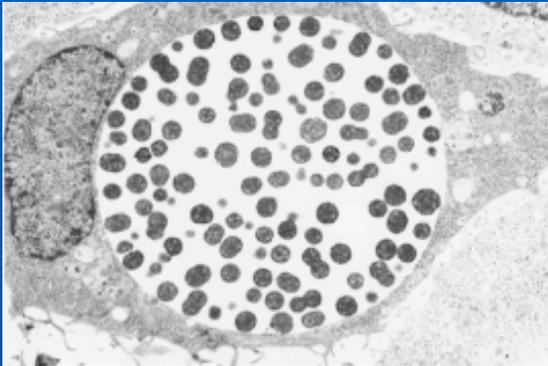


Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Protection de bactéries fragiles

Chlamydia spp, un pathogène intracellulaire obligatoire

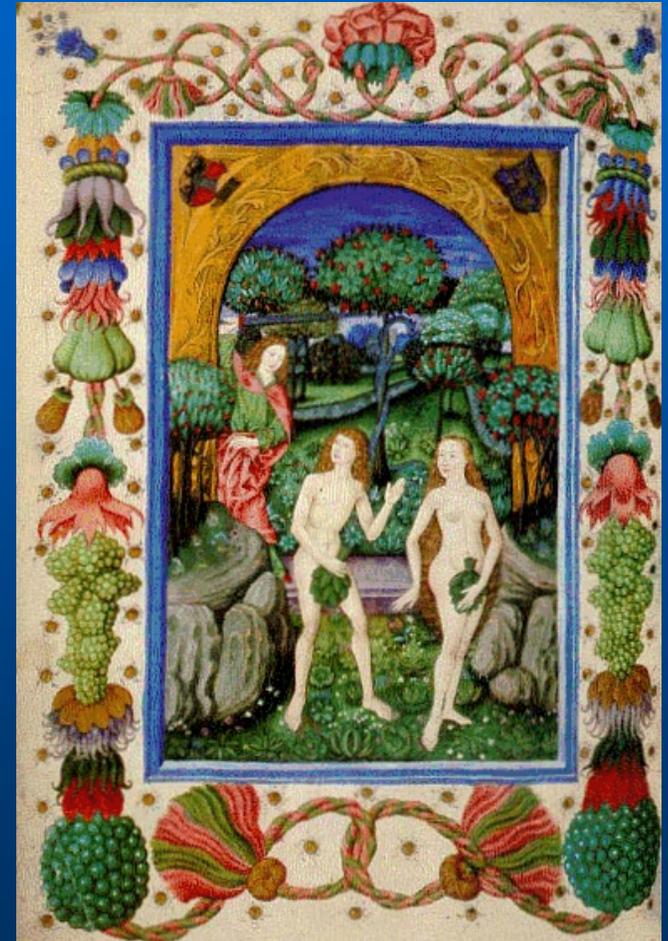


C. trachomatis:

- uréthrite, cervicite
- trachôme

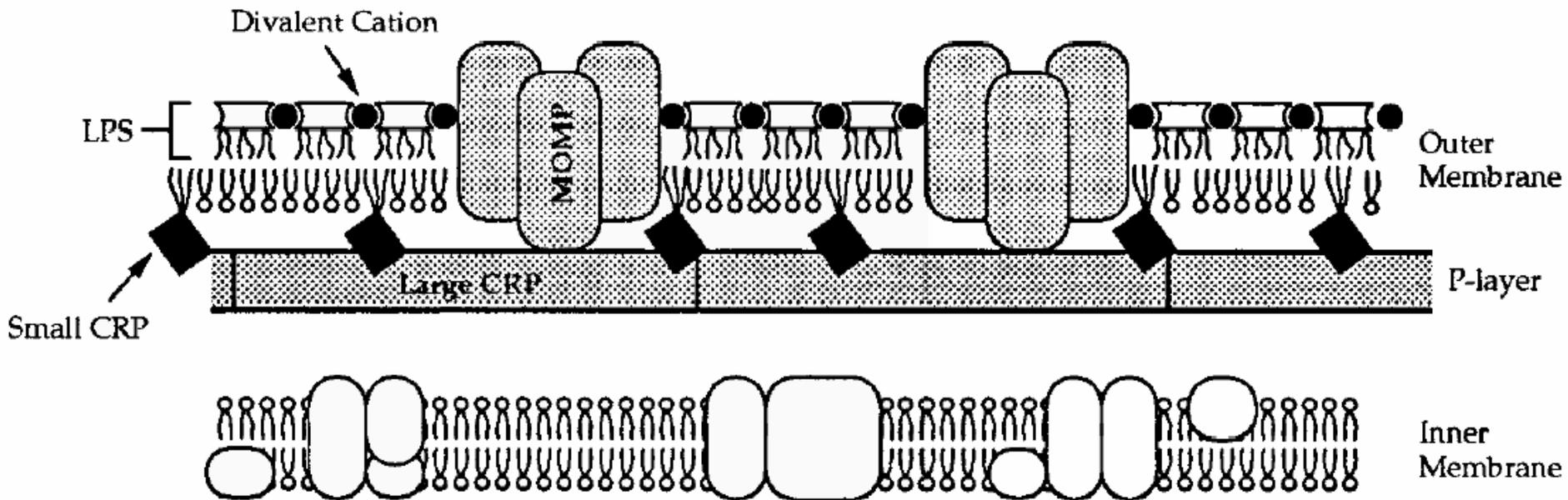
C. pneumoniae

- pneumonie
- athéromatose



Chlamydia: protection de bactéries fragiles

La paroi des *Chlamydia* est dépourvue de peptidoglycan



LPS: lipopolysaccharide
MOMP: major outer membrane protein
CRP: cystein rich protein

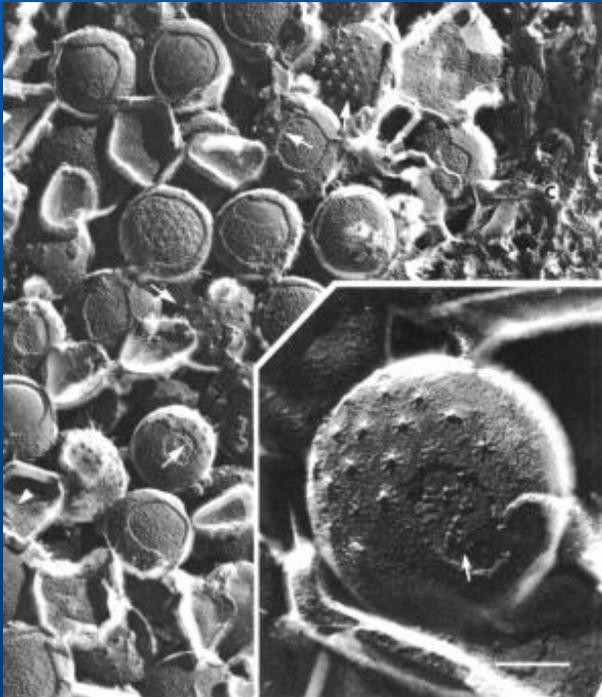
Chlamydia: protection de bactéries fragiles

Chlamydia oscille entre deux formes

EB:

elementary bodies

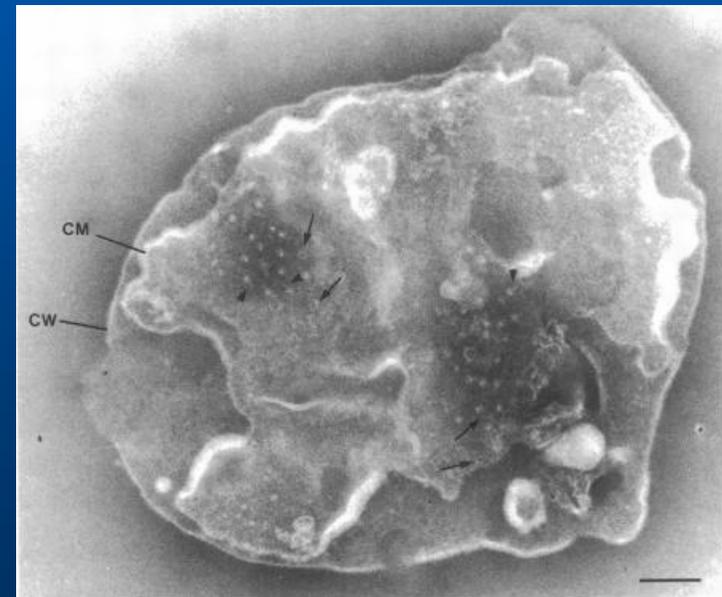
résistants à la pression
osmotique



RB:

reticulate bodies,

non résistants
à la pression osmotique



Chlamydia: protection de bactéries fragiles

Chlamydia oscille entre deux formes et deux habitats

EB:

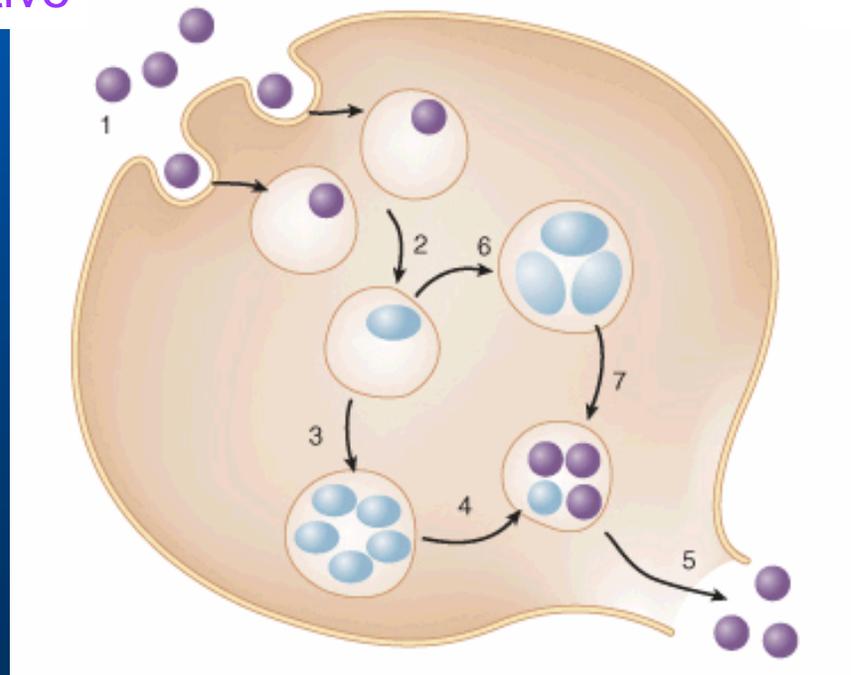
elementary bodies

forme sporulée,
métaboliquement inactive

RB:

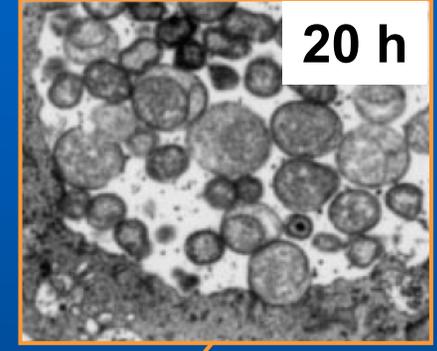
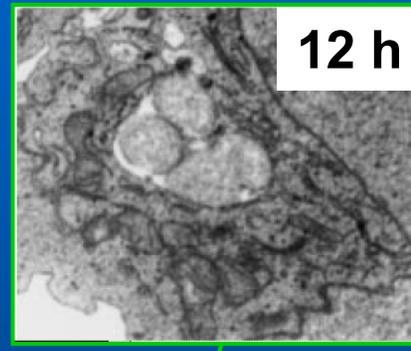
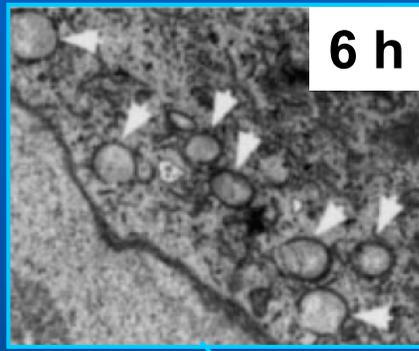
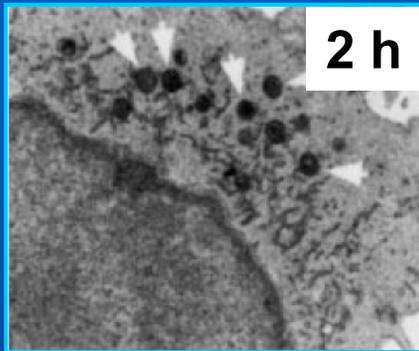
reticulate bodies

forme intracellulaire
replicative



Chlamydia: protection de bactéries fragiles

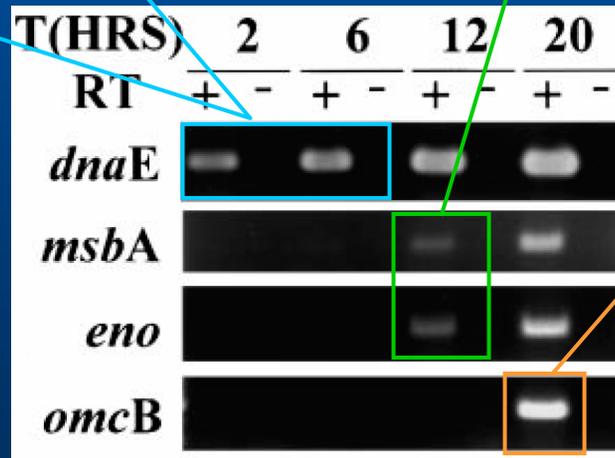
Passage de la forme sporulée à la forme répliquative



synthèse ADN

métabolisme intermédiaire

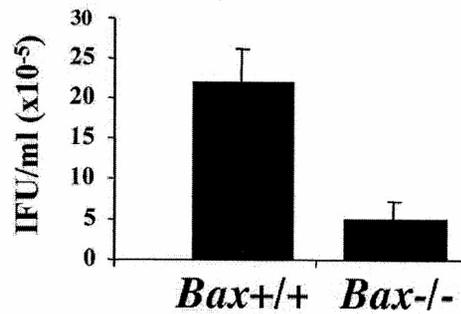
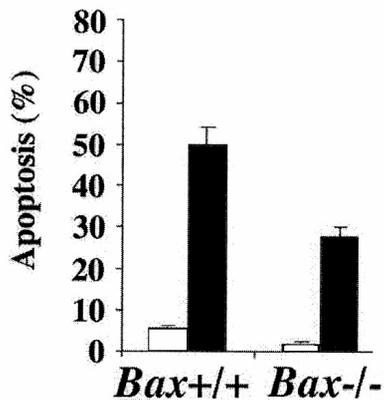
protéines de paroi



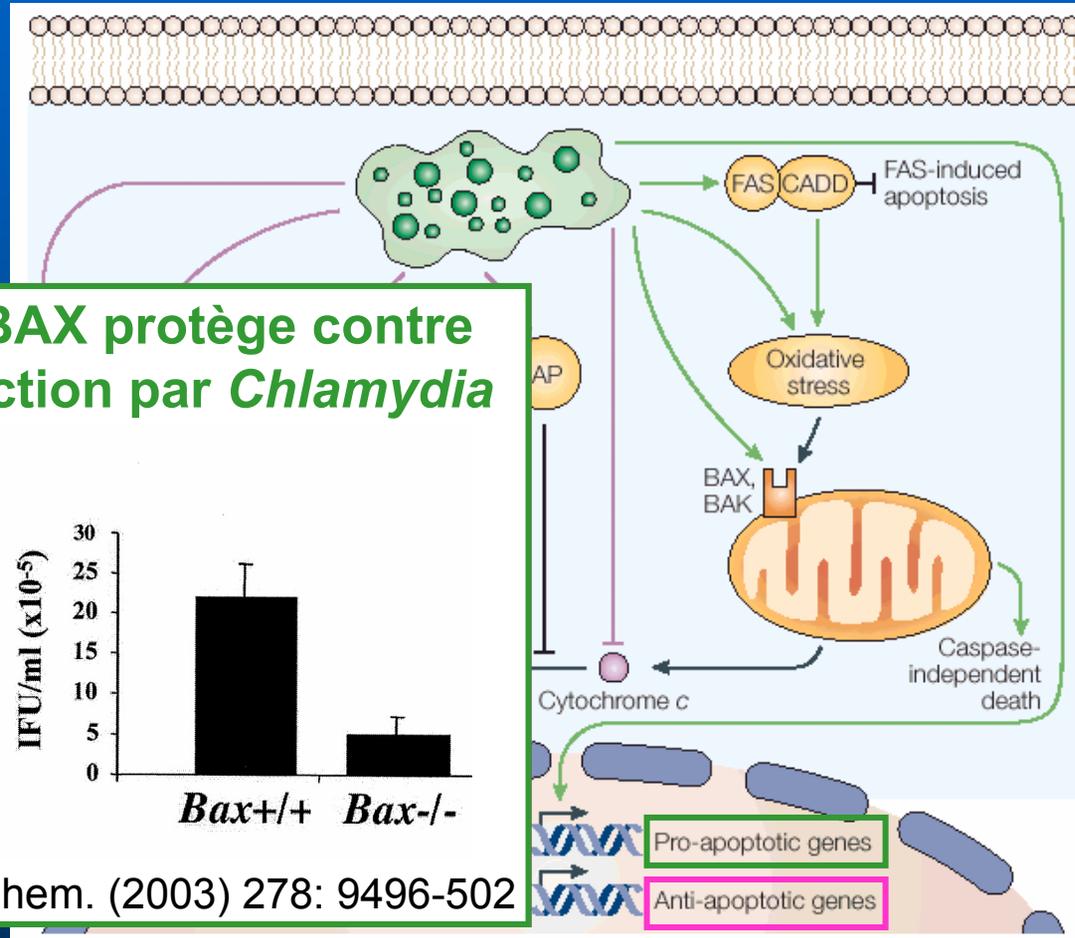
Chlamydia: protection de bactéries fragiles

Chlamydia oriente la vie et la mort de la cellule hôte par des signaux anti- ou pro-apoptotiques

L'inactivation de BAX protège contre l'apoptose et l'infection par *Chlamydia*

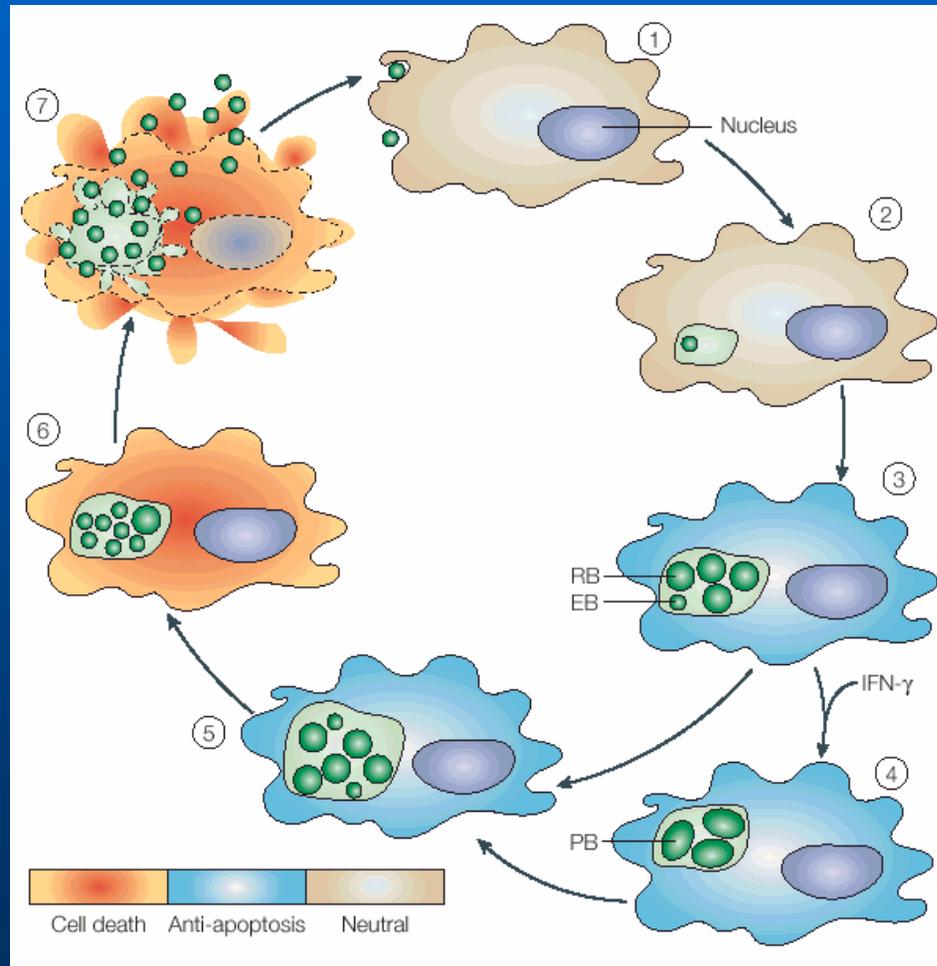


Perfettini *et al.* J. Biol. Chem. (2003) 278: 9496-502



Chlamydia: protection de bactéries fragiles

Chlamydia oriente la vie et la mort de la cellule hôte à son profit ...



Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques



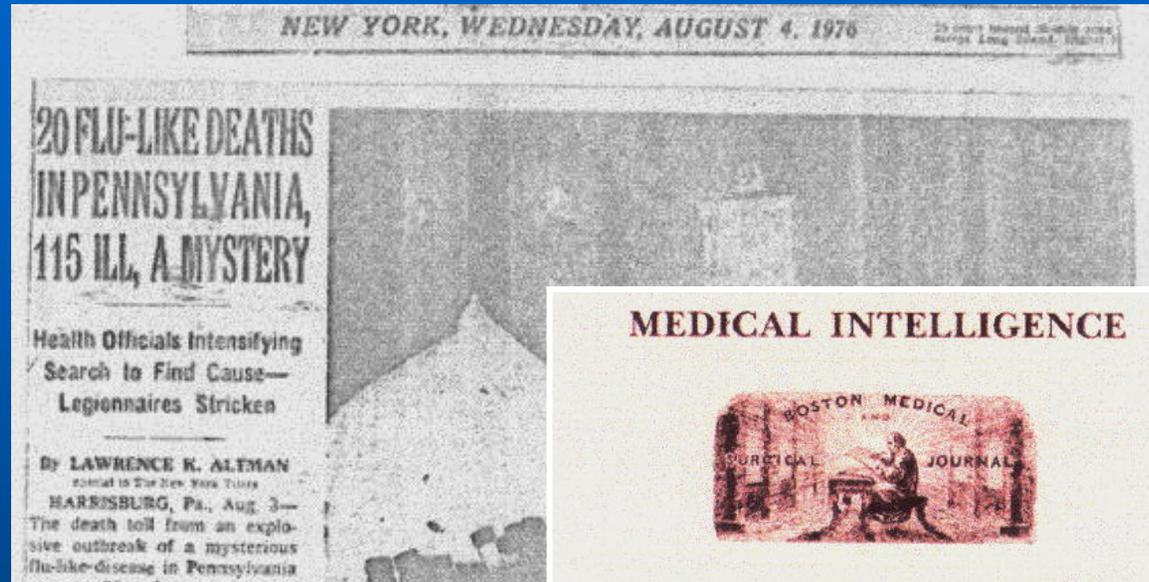
Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

A l'abri des défenses de l'hôte

Legionella pneumophila à l'assaut des légionnaires

→ pneumonies
« atypiques »



**Gov. Shapp
To Stay at
'Legion' Hotel**

PHILADELPHIA (UPI)
— Pennsylvania Gov. Milton J. Shapp planned to eat and sleep Monday at the Bellevue Stratford Hotel — investigated as a possible source of the “Legionnaires’ Disease” — to show it poses no health hazard.



MEDICAL INTELLIGENCE



**DEMONSTRATION OF THE AGENT OF
LEGIONNAIRES’ DISEASE IN TISSUE**

FRANCIS W. CHANDLER, D.V.M., PH.D.,
MARTIN D. HICKLIN M.D., M.P.H.,
AND JOHN A. BLACKMON, M.D.

Reprinted from the *New England Journal of Medicine*
297:1218-1220 (December 1), 1977

hands specimens to Karen Schectman,
Pennsylvania State Health Department
Philadelphia. Specimens are from the dead
and sick who were at the Amer
the city in July. Dr. Turner is
handed over the rack of specien

Legionella à l'abri des défenses de l'hôte

Legionella pneumophila à l'assaut des patients fragiles

Facteurs associés à la pathologie

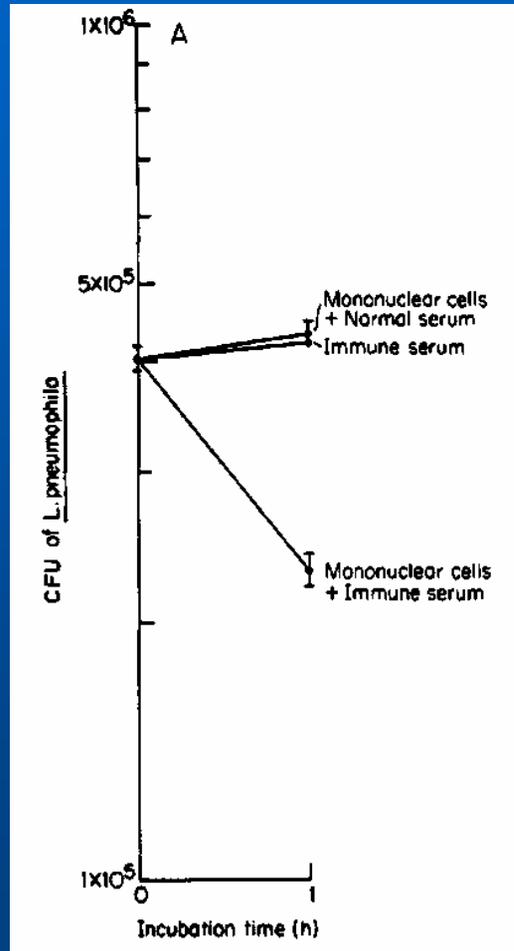
<u>Variable</u>	<u>facteur de risque</u>
tabac	1.83
diabète	1.99
cancer	3.87
hématologique	22.4
SIDA	41.9

Facteurs associés avec la mortalité

<u>Variable</u>	<u>odds ratio</u>
âge	1.32
infection nosocomiale	1.79
immunosuppression	2.00
cancer	2.67

Legionella à l'abri des défenses de l'hôte

Formes intracellulaires protégées des défenses humorales

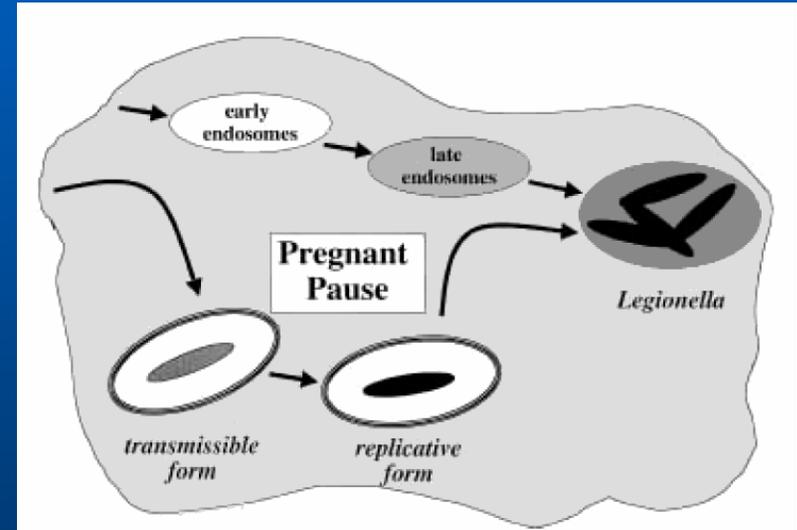
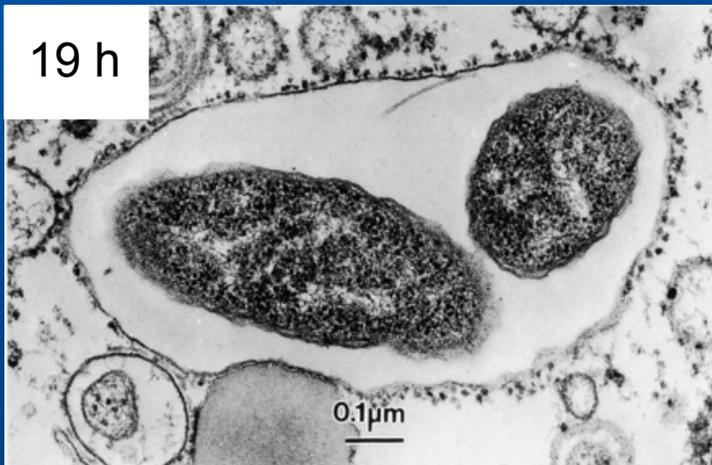
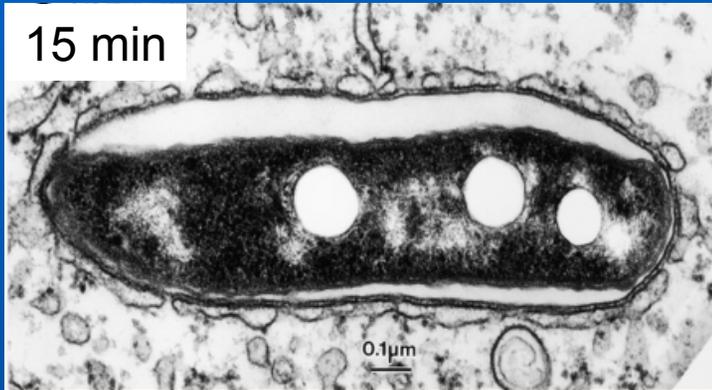


← Inactivité du complément !

← Activité marginale d'anticorps !

Legionella à l'abri des défenses de l'hôte

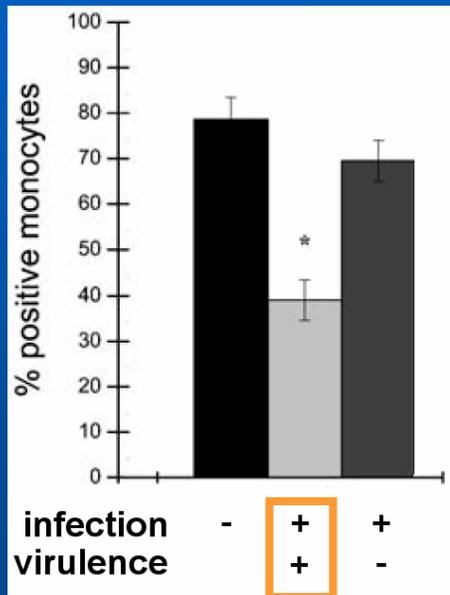
Formes intracellulaires se dérober aux défenses cellulaires



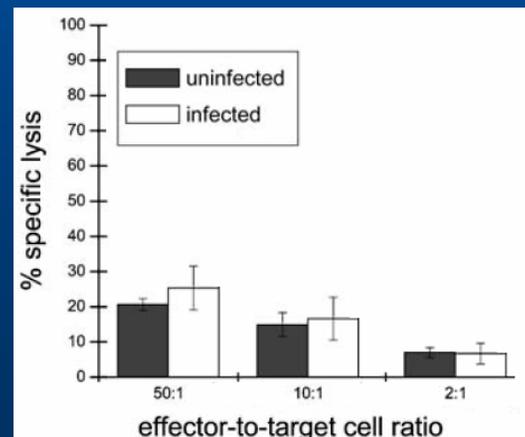
Legionella à l'abri des défenses de l'hôte

Formes intracellulaires modulent l'immunité cellulaire

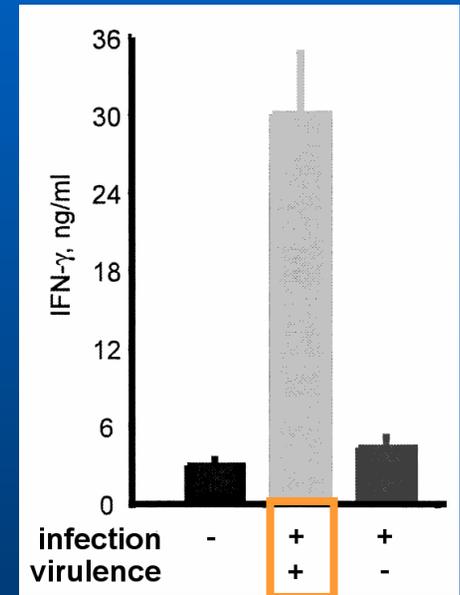
↘ expression MHC I



↓
prévention de la lyse
par cellules tueuses NK



... mais ↗ réponse MHC II



Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques

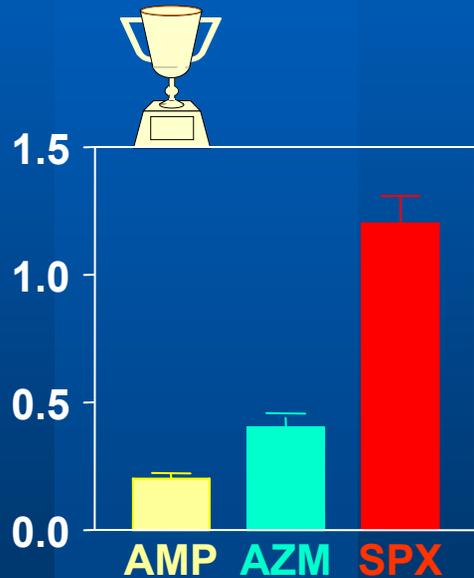


Invasion

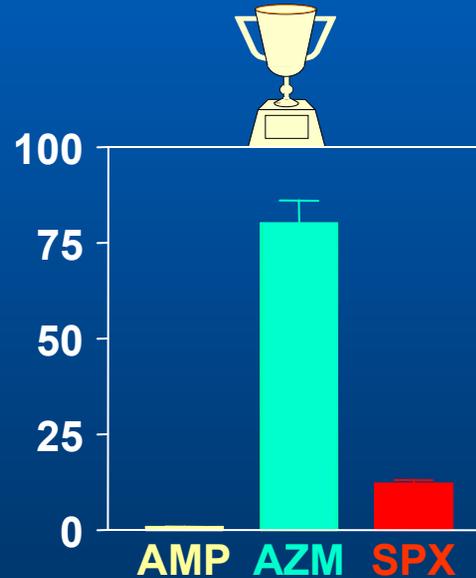
- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Peut-on prédire l'activité intracellulaire ?

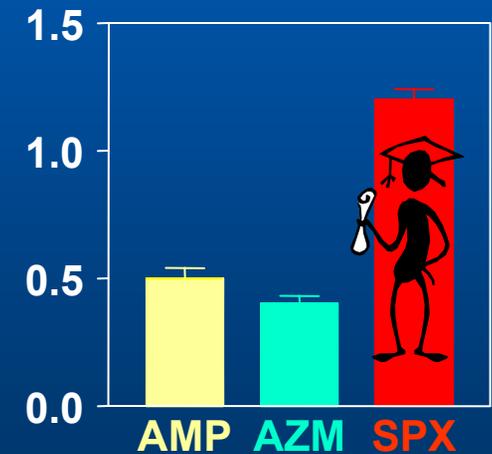
CMI
(*L. monocytogenes*)



accumulation



activité sur
Listeria
intracellulaire



L'antibiotique doit rejoindre sa cible et exprimer son activité

infection
extracellulaire



infection
intracellulaire



antibiotique

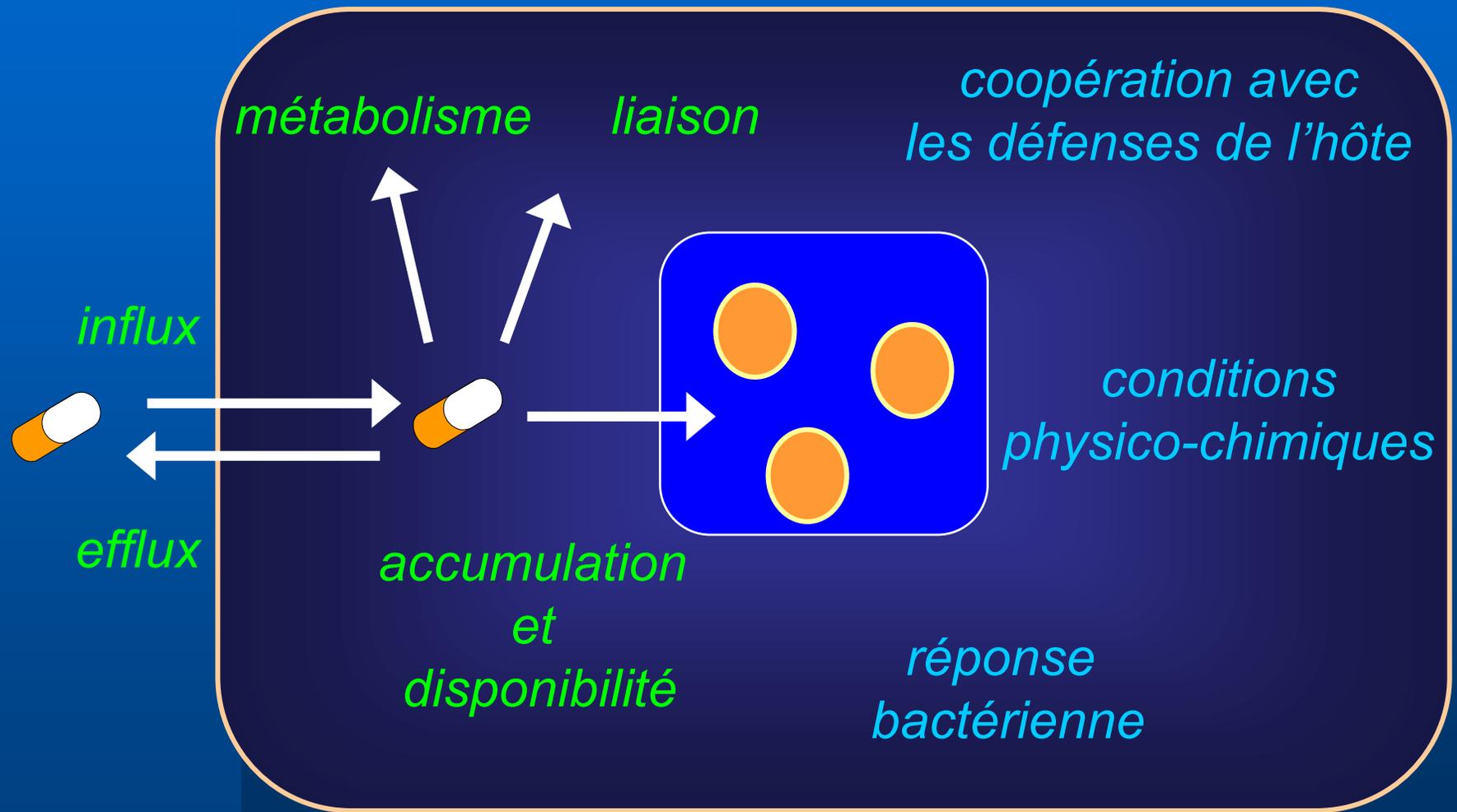
cible

cellule-hôte

- barrière
- interaction avec AB / bactérie

Paramètres cinétiques et dynamiques

~ activité intracellulaire

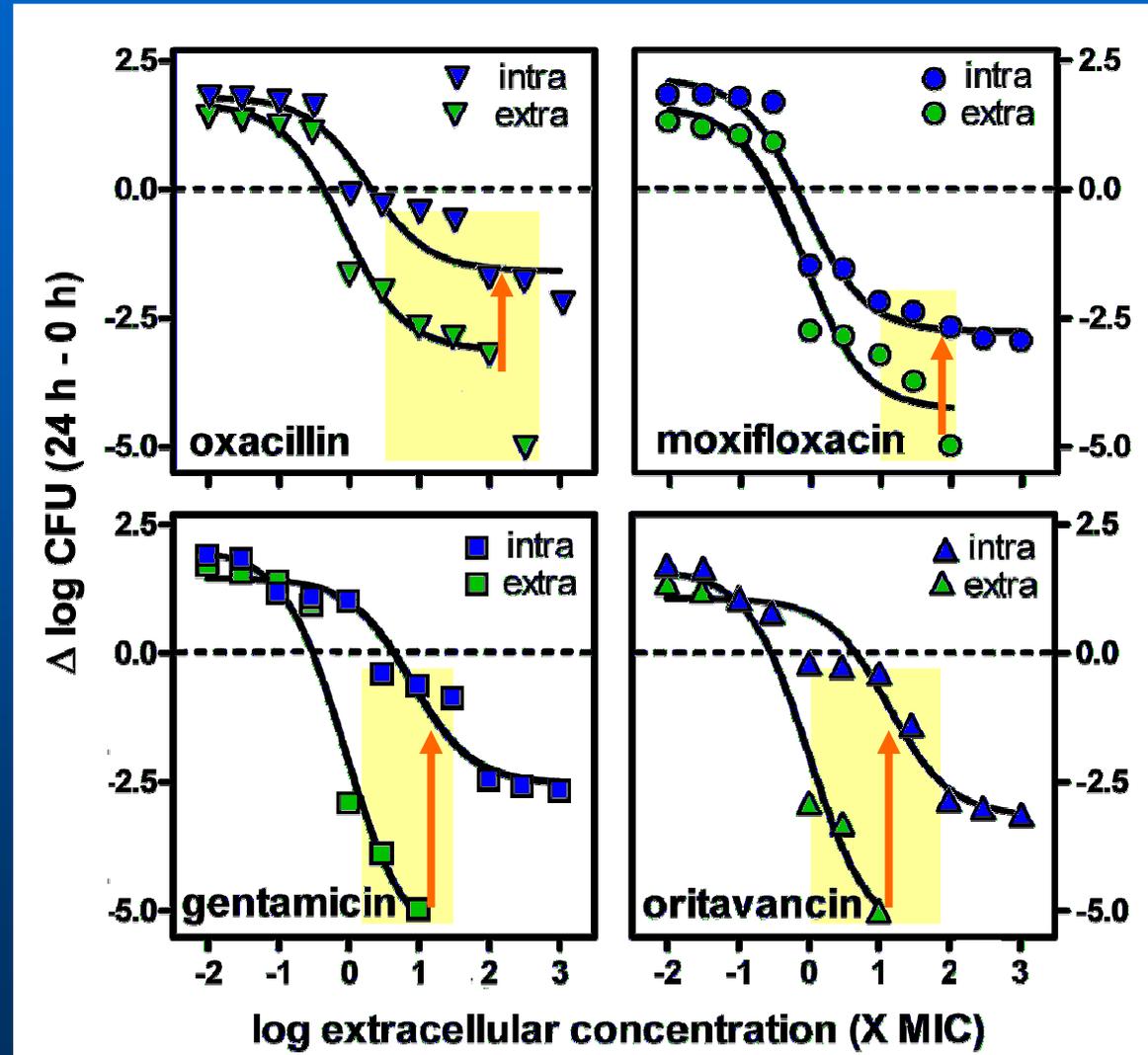


Bactéries dans les cellules

>< bactéries en bouillon

S. aureus

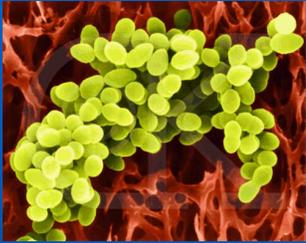
moins actifs
sur les
formes
intracellulaires



Activité dans les cellules

>< activité en bouillon

Staphylococcus aureus



- infections de la peau
- ostéomyélites
- endocardites
- pneumonies



Activité dans les cellules

>< activité en bouillon



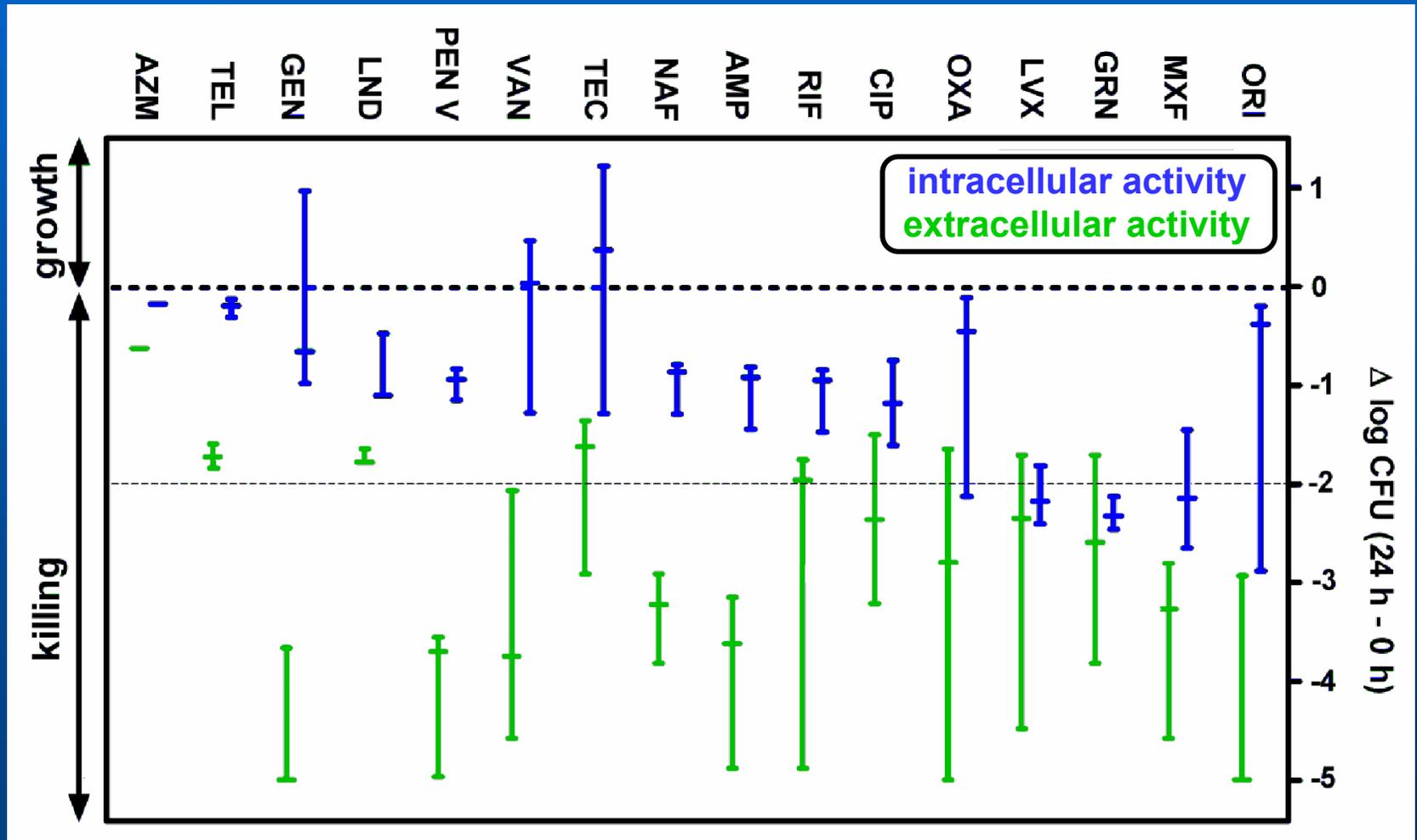
Facteurs liés à l'antibiotique

Facteurs liés à la bactérie

Facteurs liés à l'environnement

L'activité varie entre antibiotiques

Activité d'antibiotiques sur *S. aureus* après 24 h



Activité dans les cellules

>< activité en bouillon

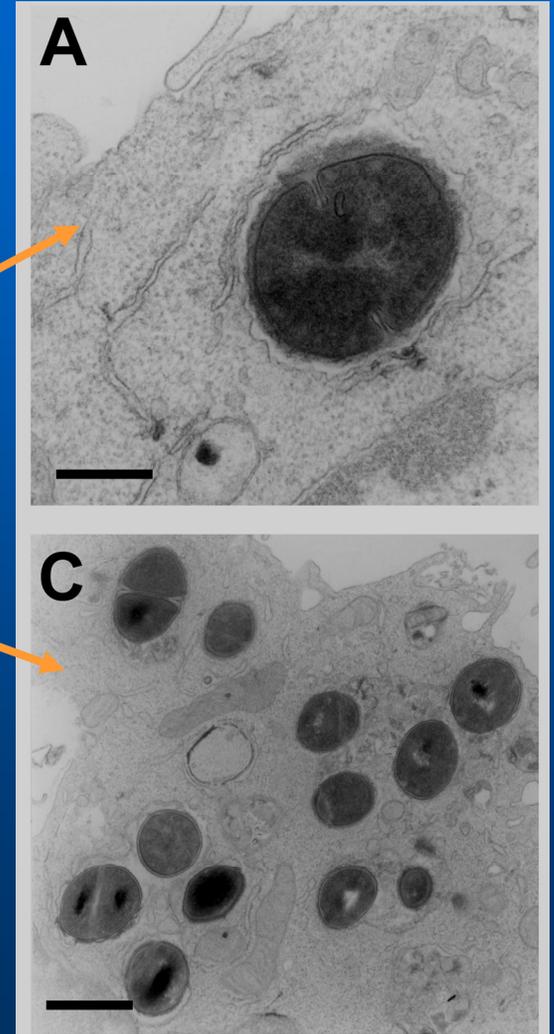
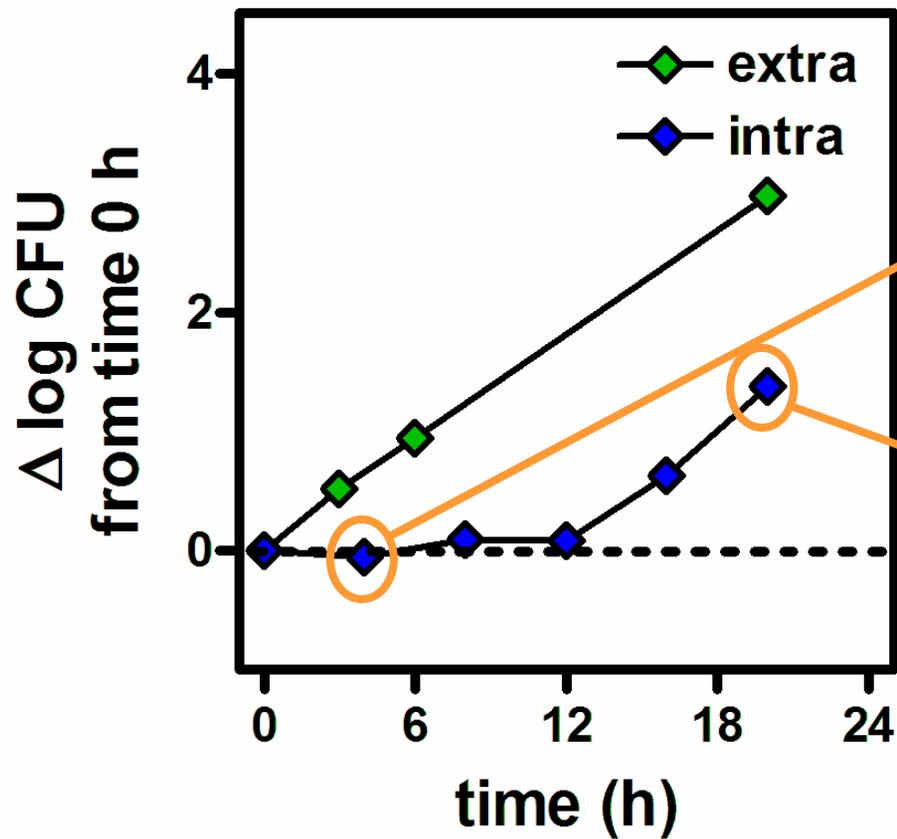


Facteurs liés à l'antibiotique

Facteurs liés à la bactérie

Facteurs liés à l'environnement

La croissance intracellulaire est plus lente



Activité dans les cellules

>< activité en bouillon

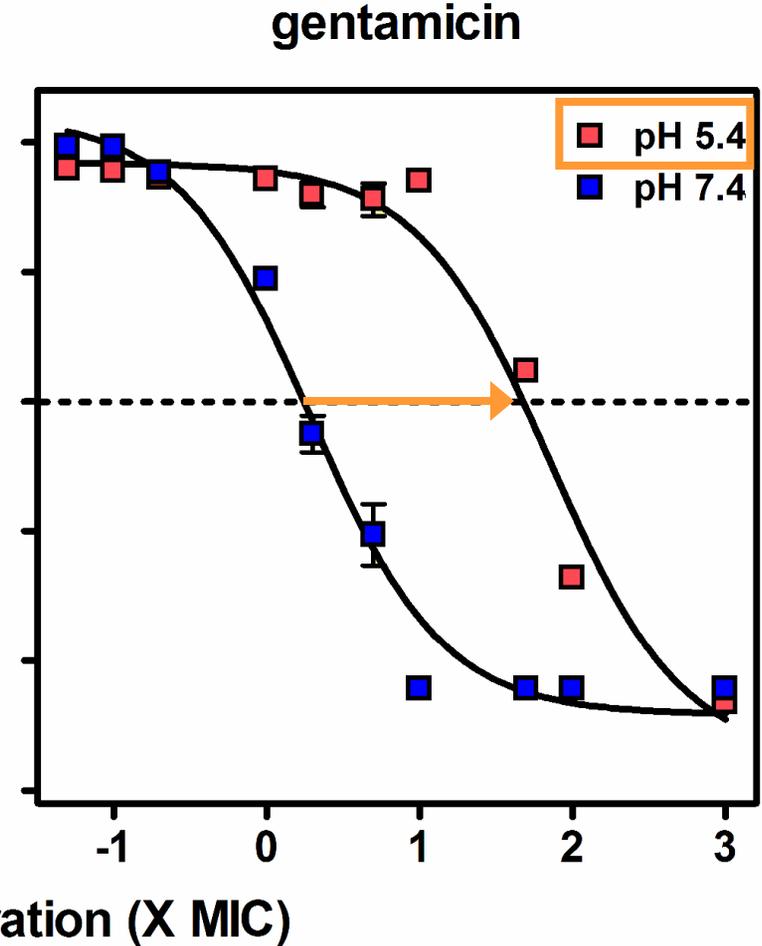
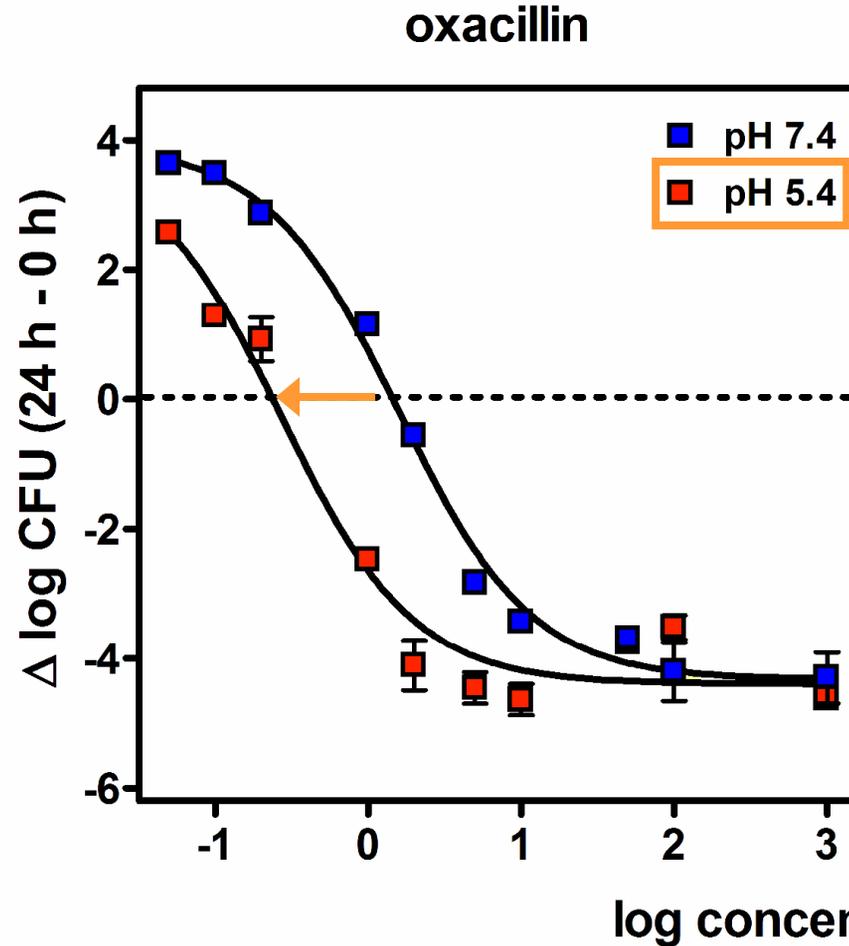


Facteurs liés à l'antibiotique

Facteurs liés à la bactérie

Facteurs liés à l'environnement

Le pH acide affecte différemment les ABS



Activité dans les cellules

<< activité en bouillon



Facteurs liés à l'antibiotique

Facteurs liés à la bactérie

Facteurs liés à l'environnement

Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques



Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques

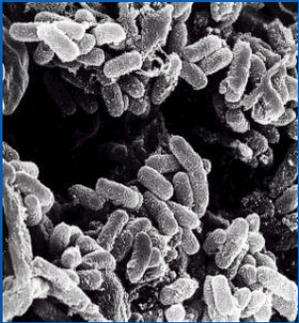


Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Pénétration dans l'organisme - hôte

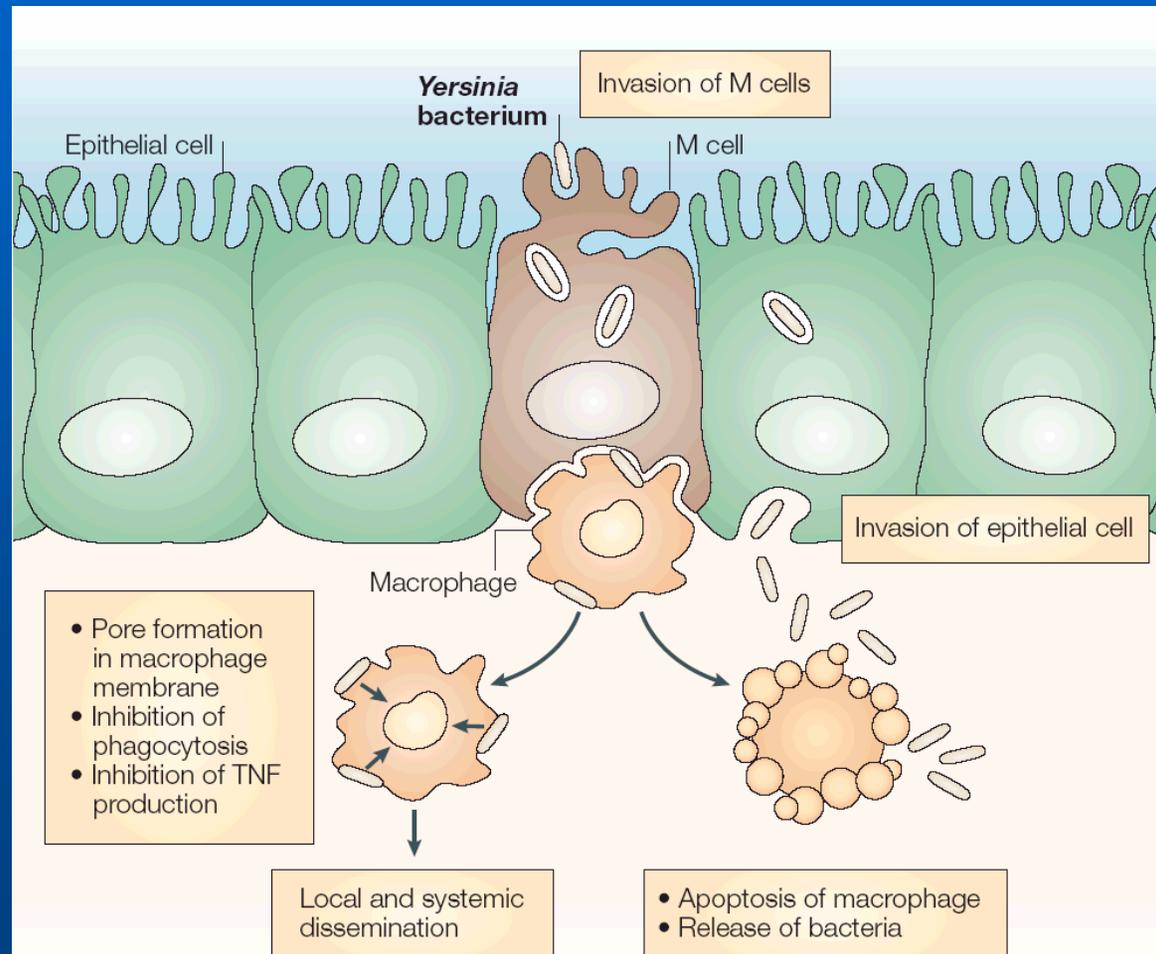
Yersinia spp



- peste
- entérocolite

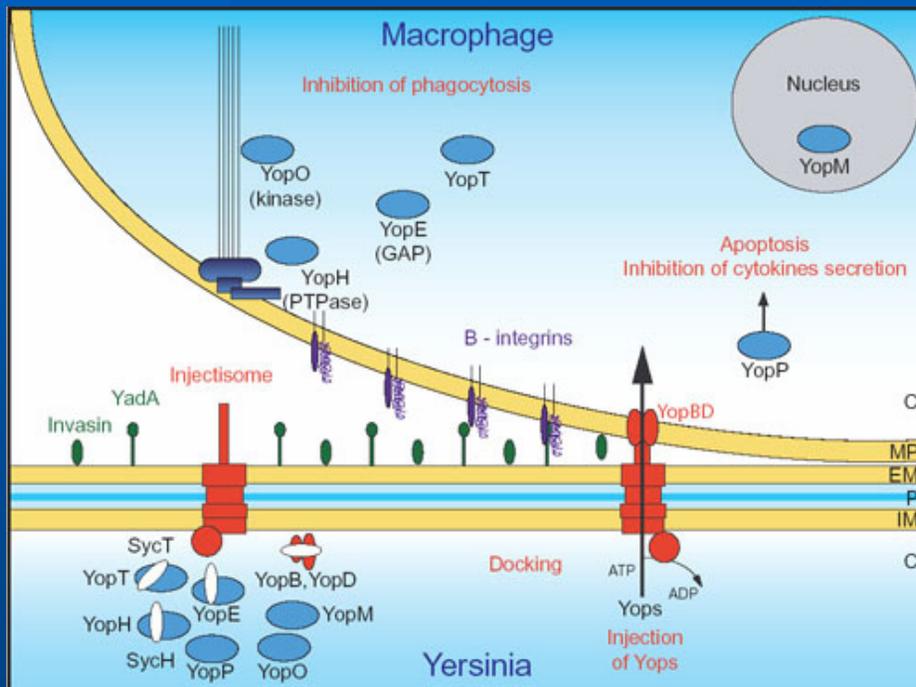


Yersinia traverse la muqueuse intestinale

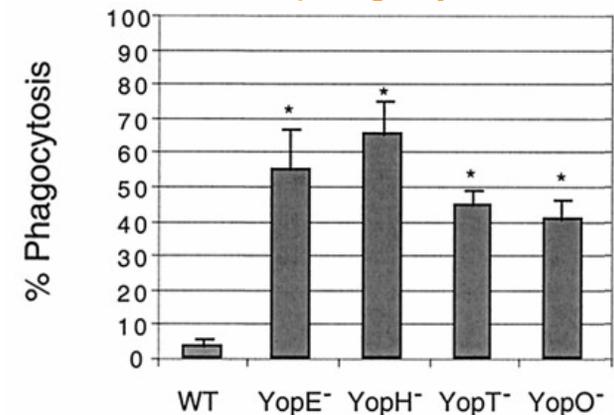


Yersinia traverse la muqueuse intestinale

Prévention de la phagocytose par les macrophages grâce un système de sécrétion de type III

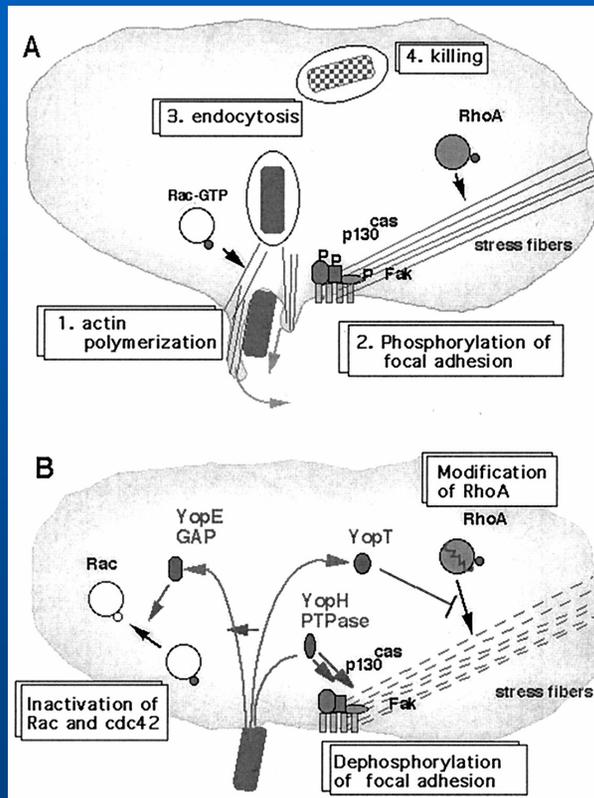


L'inactivation des protéines Yop accroît la phagocytose

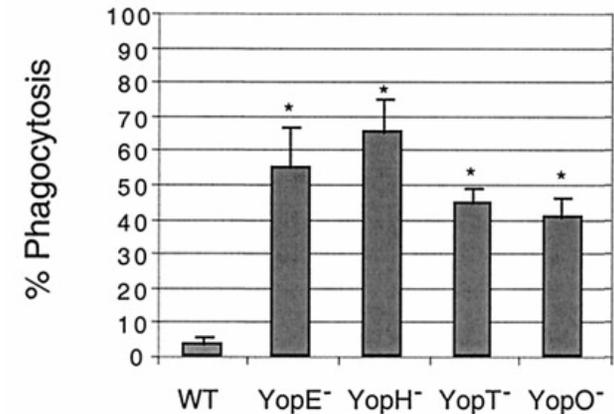


Yersinia traverse la muqueuse intestinale

Prévention de la phagocytose par les macrophages grâce un système de sécrétion de type III



L'inactivation des protéines Yop accroît la phagocytose



Yersinia traverse la muqueuse intestinale

Dissémination possible dans tout l'organisme

Manifestations cliniques

- gastro-intestinales (entérocolite, pseudo-appendicite)
- septicémie (immunodéprimés; transfusion)
- infections métastatiques:
 - abcès (foie, reins, rate, poumons)
 - manifestations cutanées
 - pneumonie
 - méningite
 - endocardite
 - ostéomyélite
- pharyngite

Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques



Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Migration vers le SNC

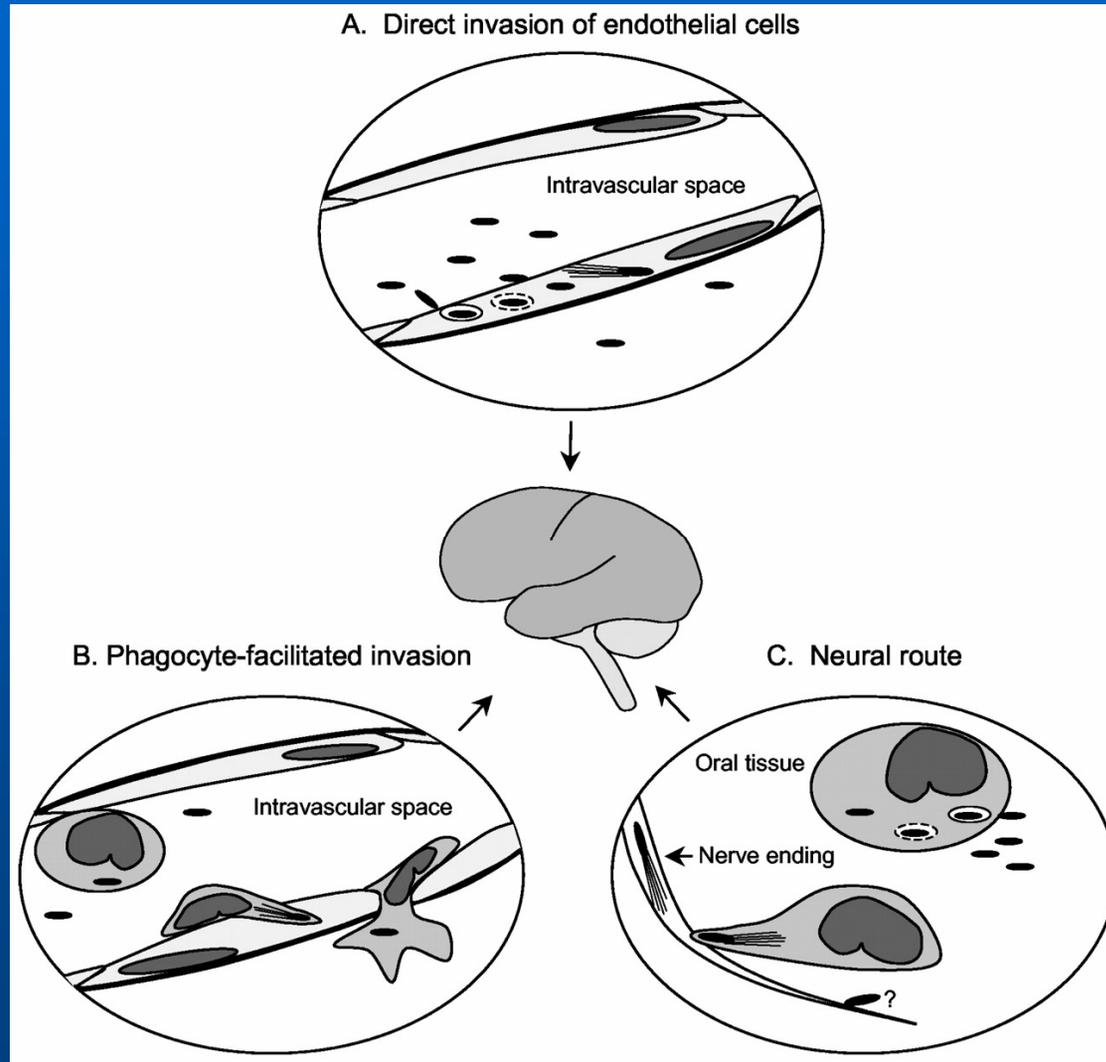
Listeria monocytogenes



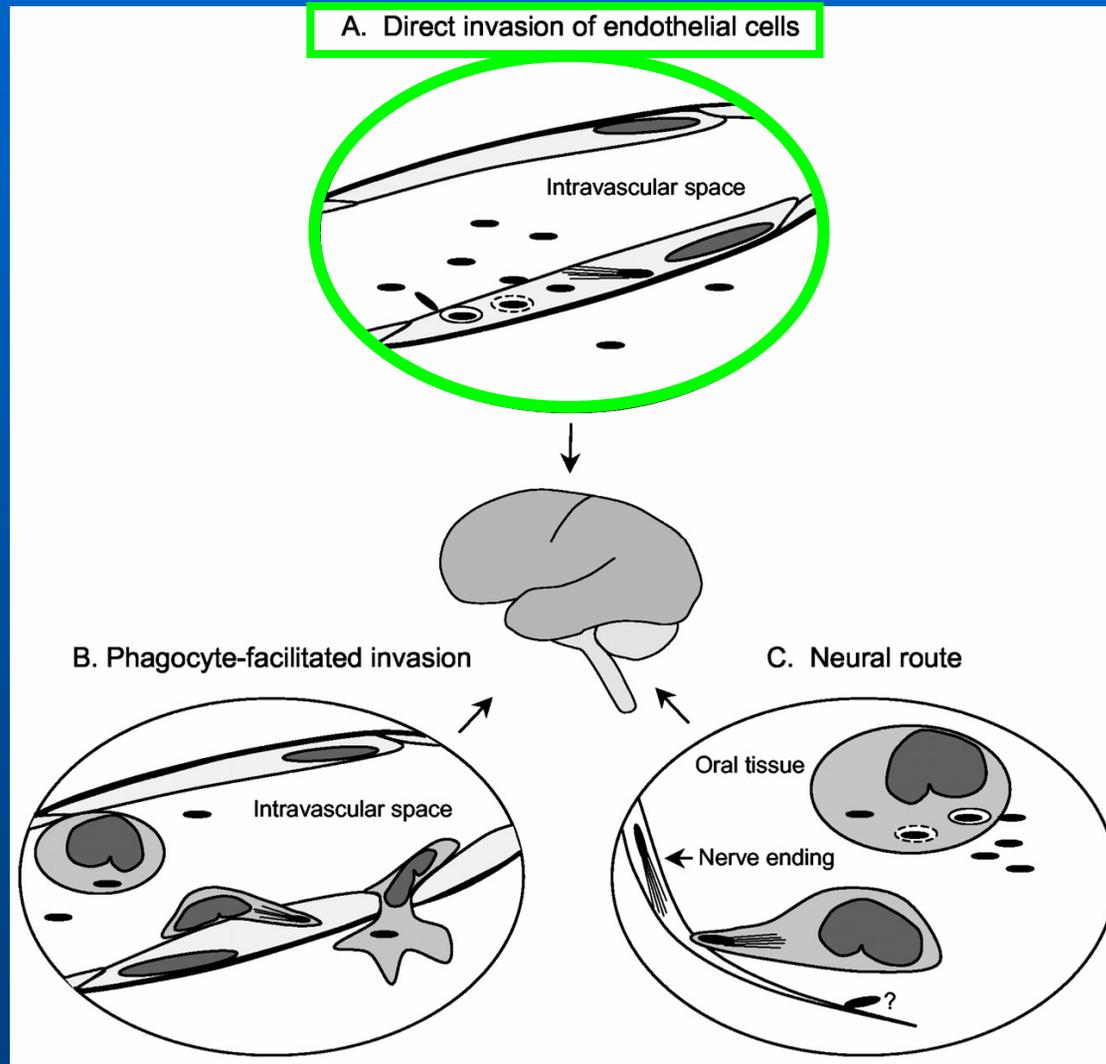
→ méningites



Listeria: migration vers le SNC



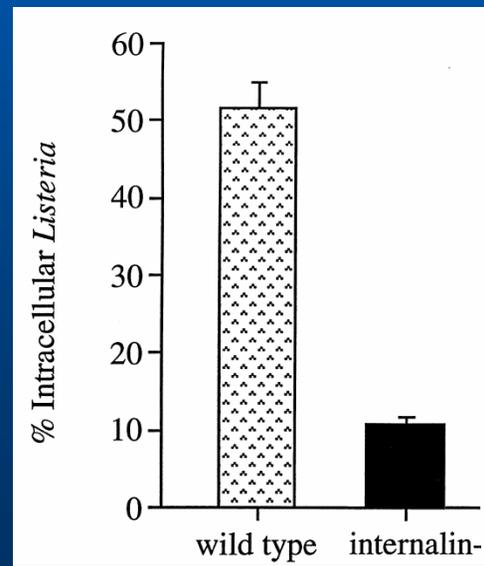
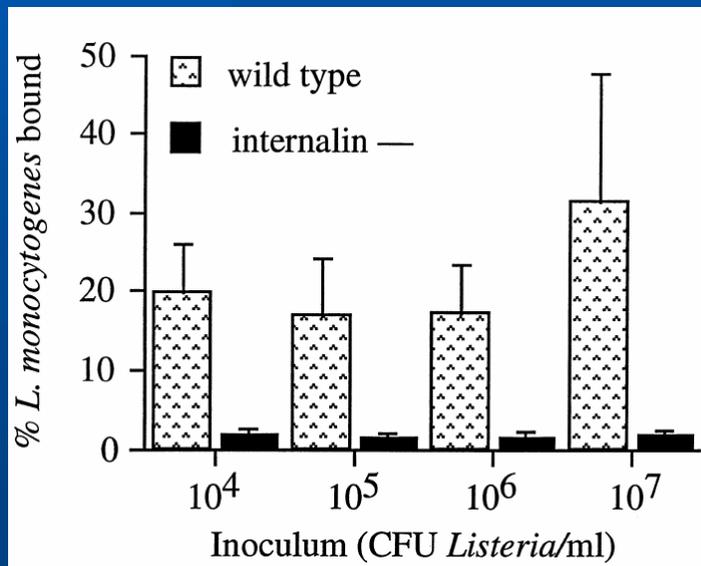
Listeria: migration vers le SNC



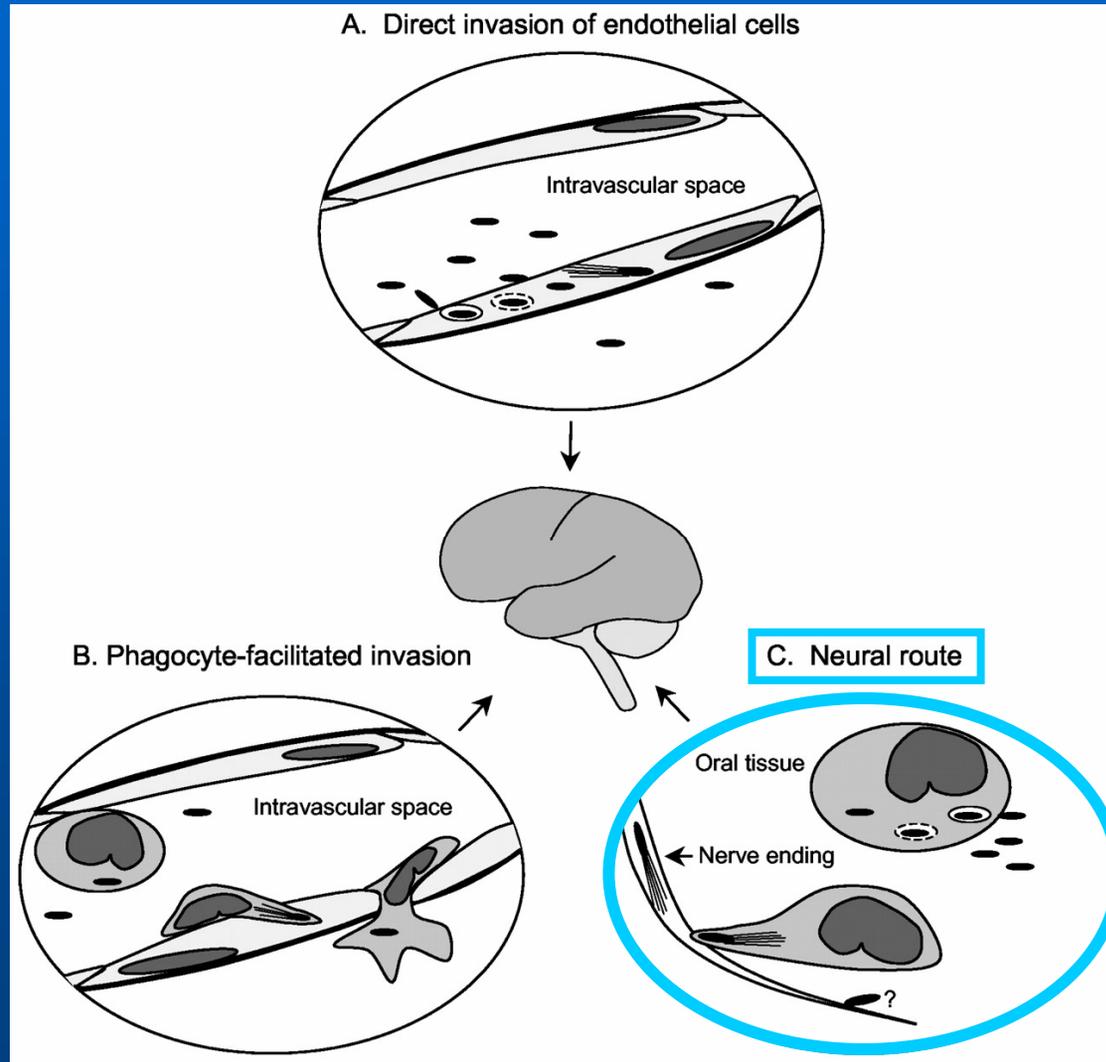
Listeria: migration vers le SNC

Voie endothéliale ?

adhésion et internalisation de *Listeria*
par des cellules HUVEC,
dépendant de l'expression d'internaline



Listeria: migration vers le SNC

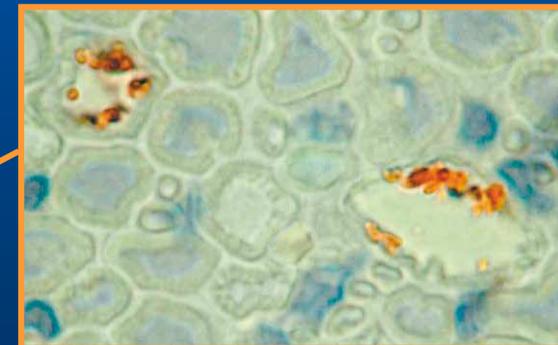
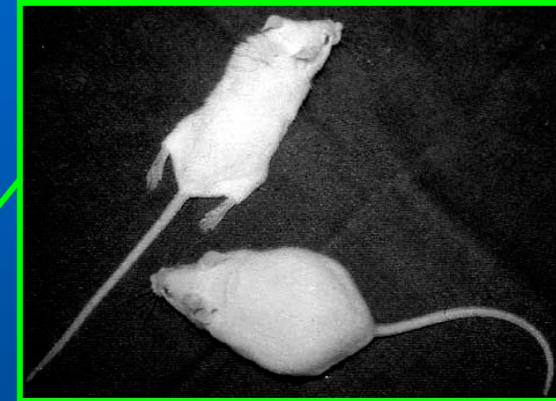


Listeria: migration vers le SNC

Voie intra-axonale ?

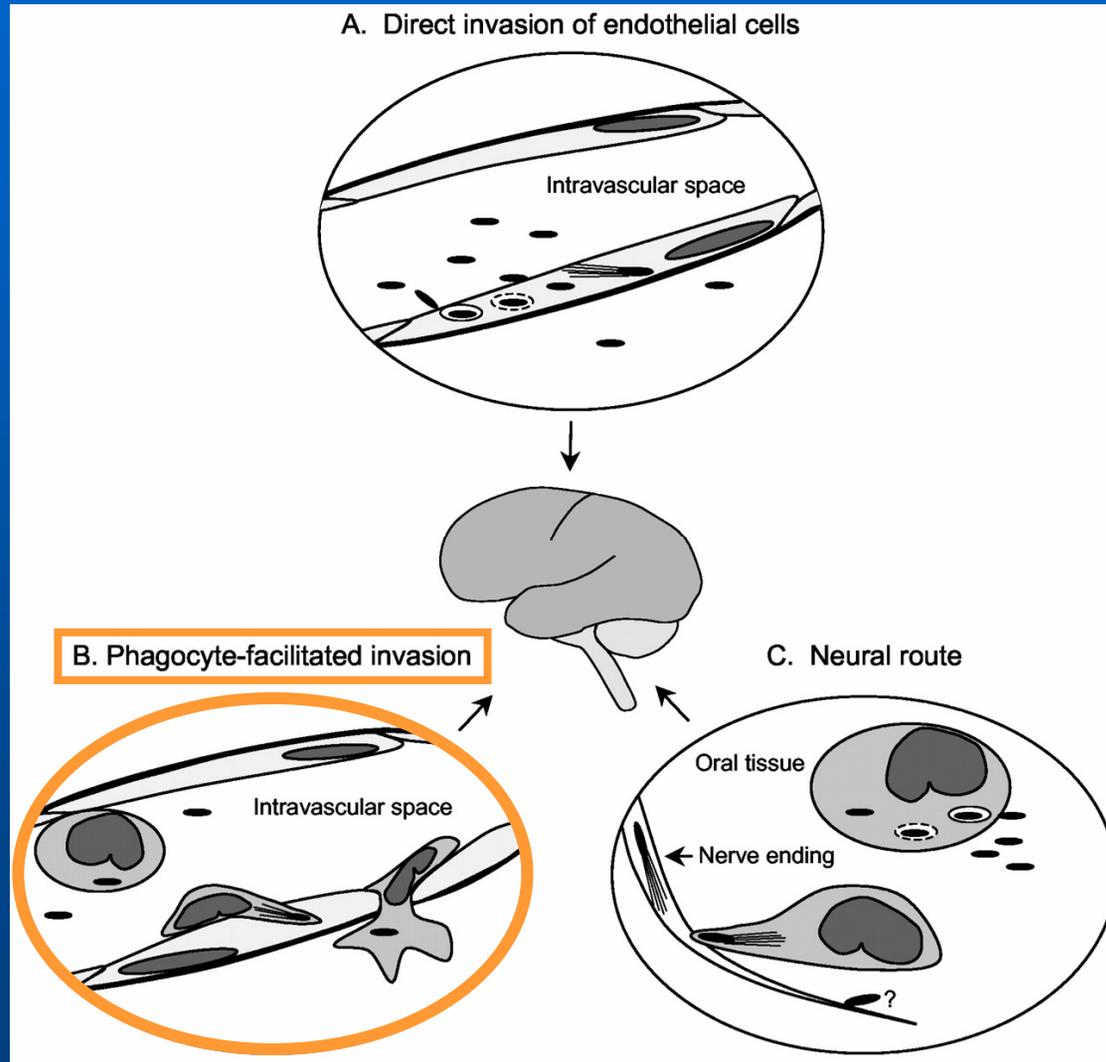
Group	Experimental Procedure	Total Number	*Neuro-Listeriosis
A	Inoculation into facial muscle in the whisker region.	7	4
B	Inoculation into proximal end of cut facial nerve.	19	9
C	Inoculation into triceps surae muscle.	10	6
D	Inoculation into proximal end of cut sciatic nerve.	15	9

* Neurolisteriosis in groups A and B: Rhombencephalitis.
Neurolisteriosis in groups C and D: Transverse myelitis.



marquage intra-axonale
par Ac anti-listeria

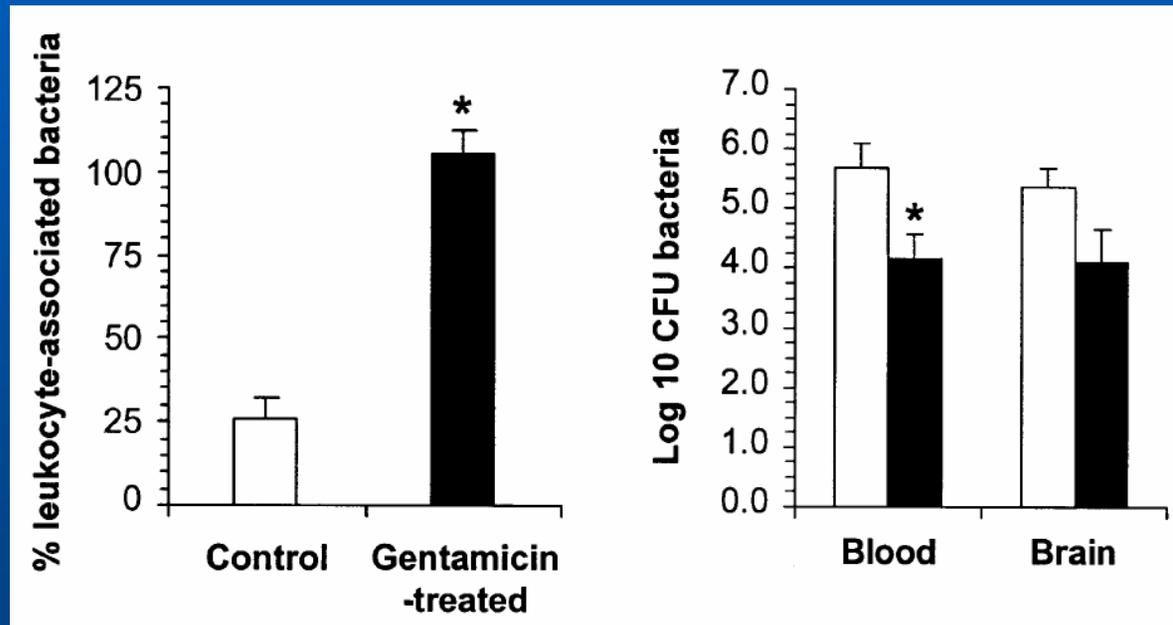
Listeria: migration vers le SNC



Listeria: migration vers le SNC

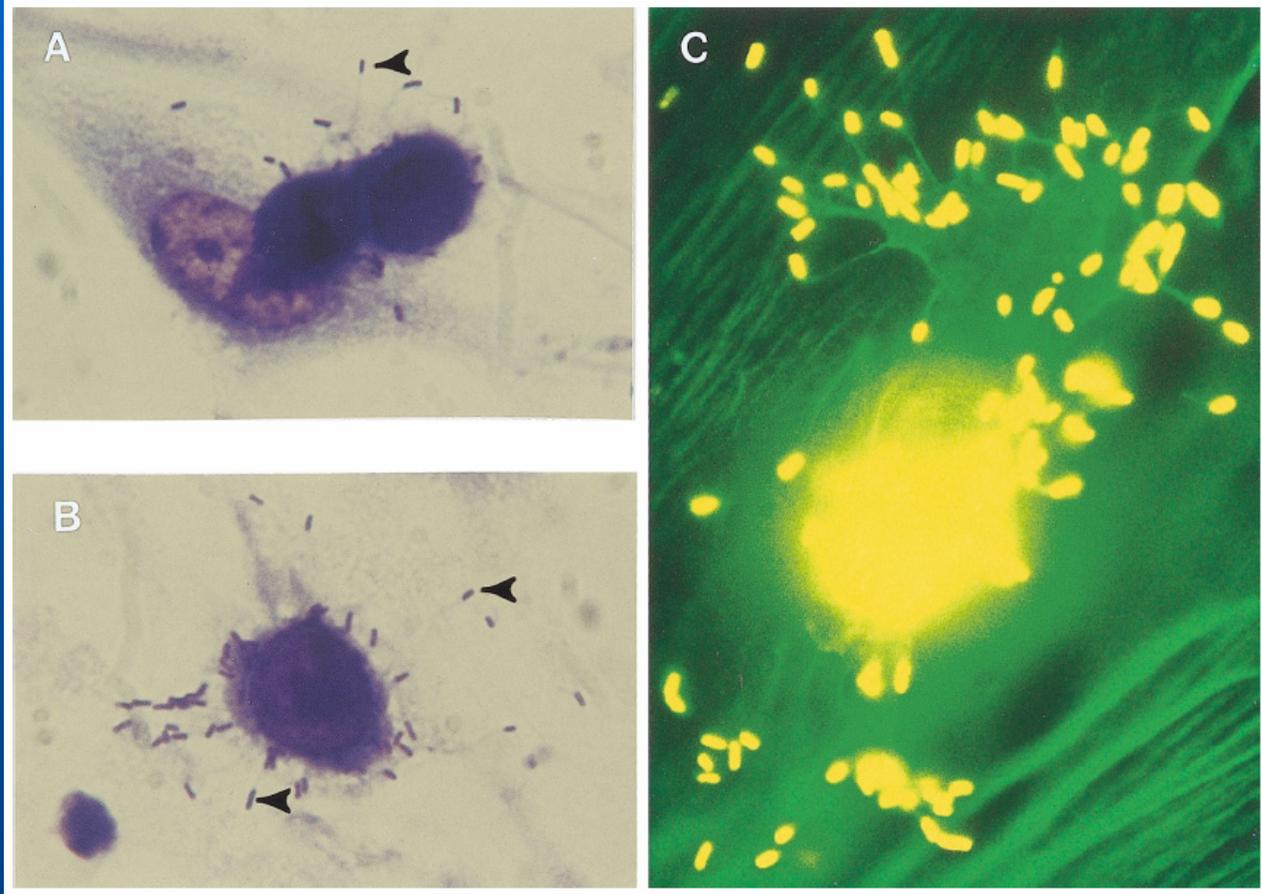
Voie phagocytaire ?

l'élimination des bactéries extracellulaires
ne prévient pas l'infection du SNC



Listeria: migration vers le SNC

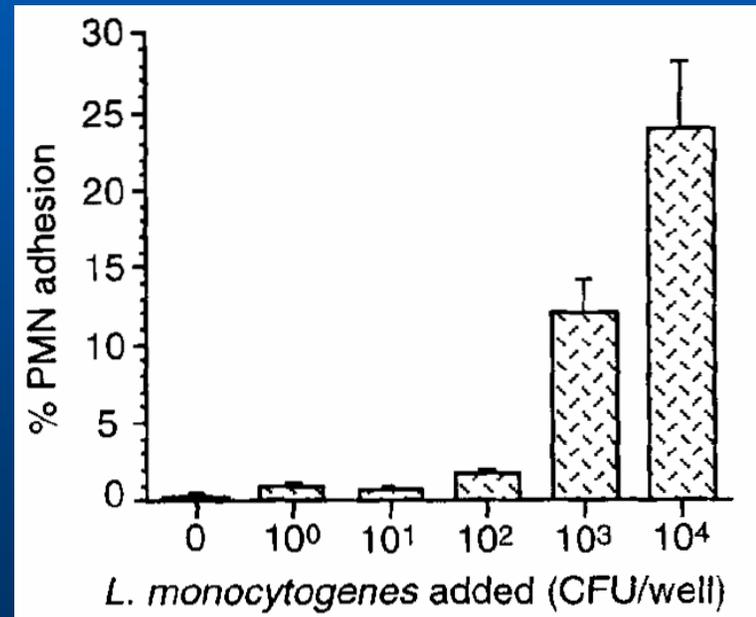
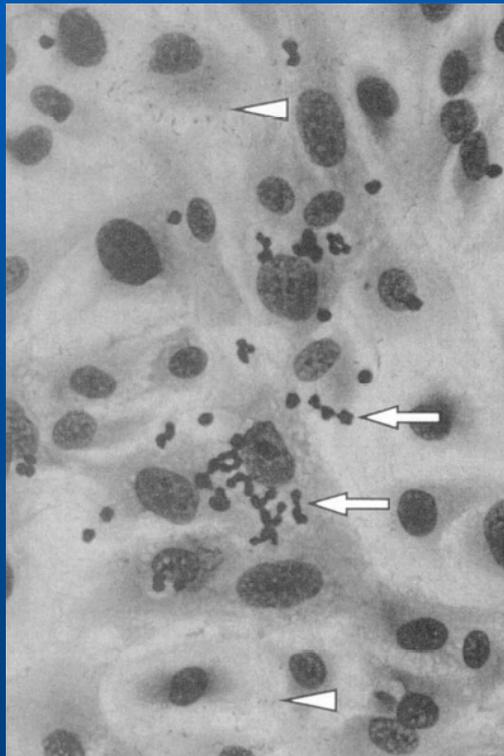
Voie phagocytaire + Voie endothéliale ?



Listeria: migration vers le SNC

Voie phagocytaire + Voie endothéliale ?

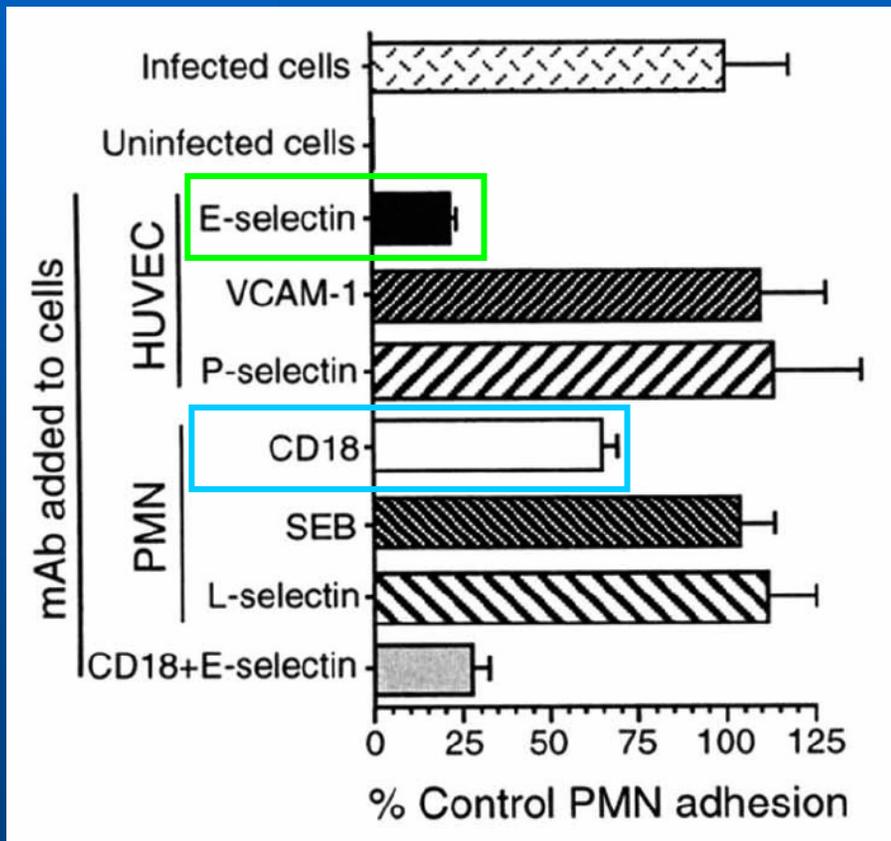
adhérence des neutrophiles favorisée par l'infection de cellules endothéliales



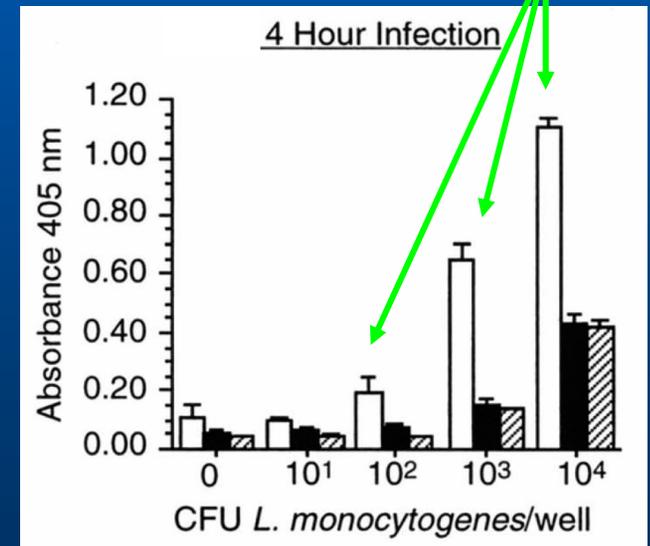
Listeria: migration vers le SNC

Voie phagocytaire + Voie endothéliale ?

adhérence favorisée par des protéines de surface



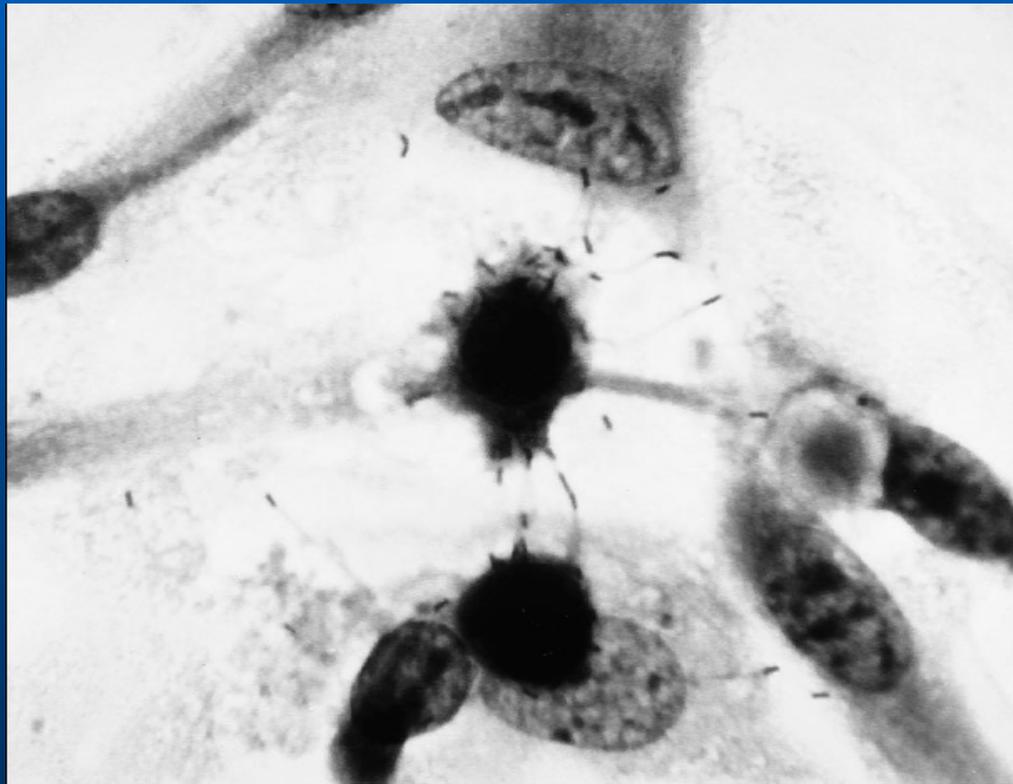
Influence de l'infection sur l'expression de prot. de surface dont la sélectine



Listeria: migration vers le SNC

Voie phagocytaire + Voie endothéliale ?

transfert des *Listeria* depuis les PMN
vers les cellules endothéliales



Les avantages de la vie intracellulaire :



Protection

- niche pour les bactéries fragiles
- abri contre les défenses de l'hôte
- abri contre les antibiotiques

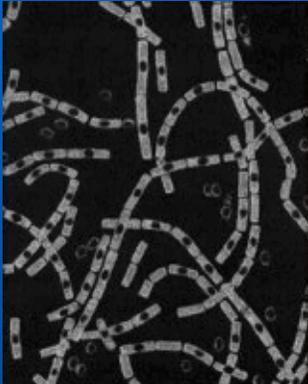


Invasion

- pénétration dans l'organisme hôte
- migration vers le SNC
- usine bioterroriste

Usine bioterroriste

Bacillus anthracis: germination des spores



→ charbon

FRANCE-SOIR
15 Octobre 2001

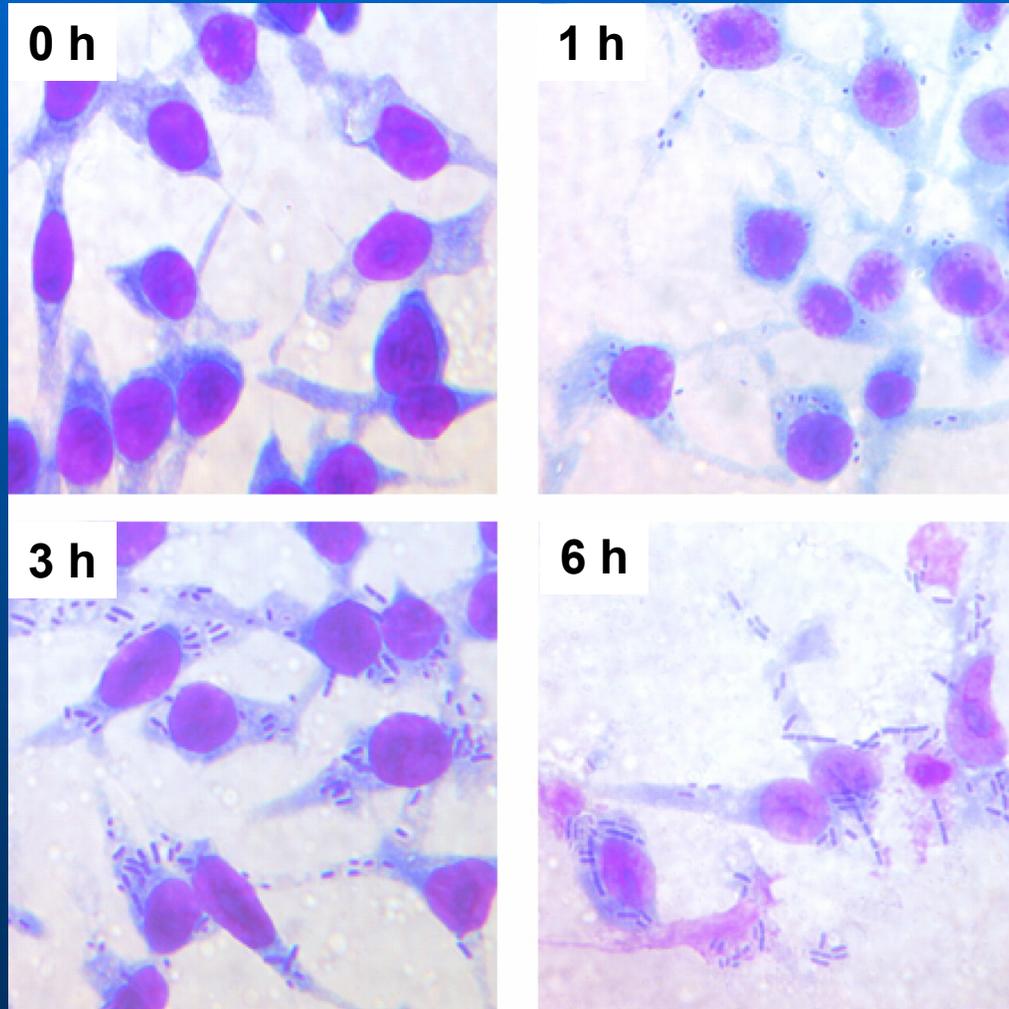
Psychose par correspondance

- Vent de panique aux Etats-Unis : treize personnes sont désormais atteintes de la maladie du charbon
- Les frappes américaines continuent et le



Bacillus anthracis: le macrophage comme usine bioterroriste

germination des spores dans les macrophages

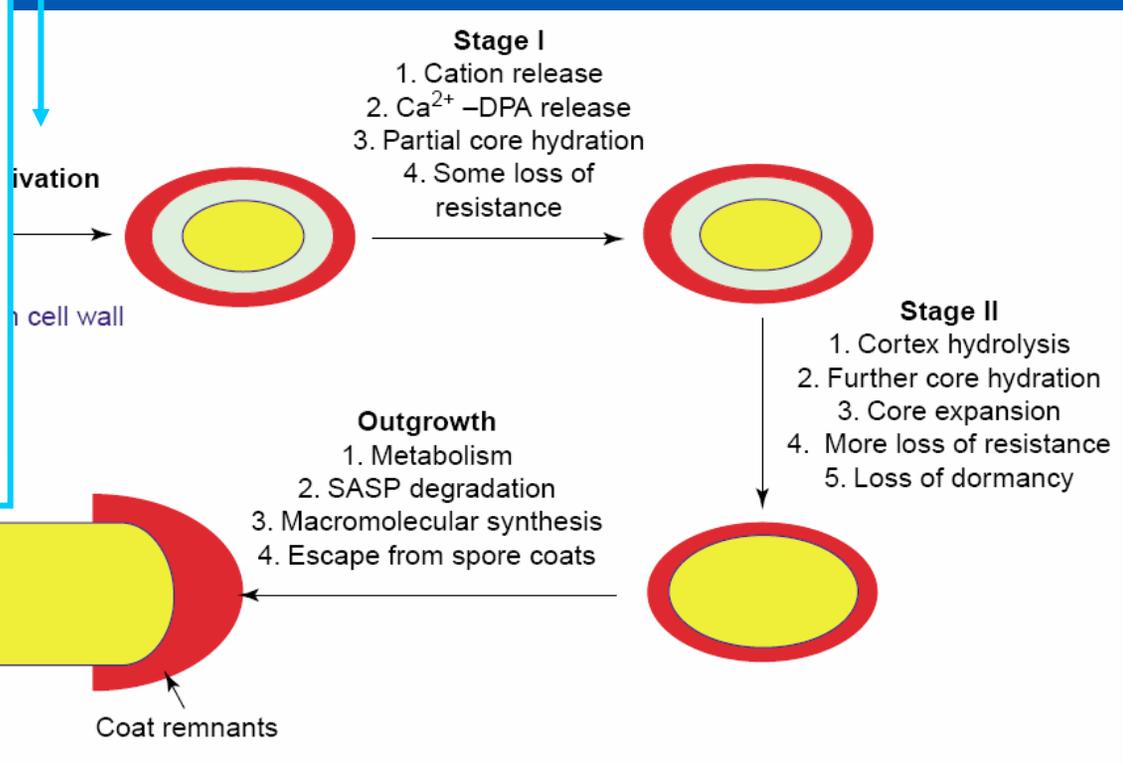
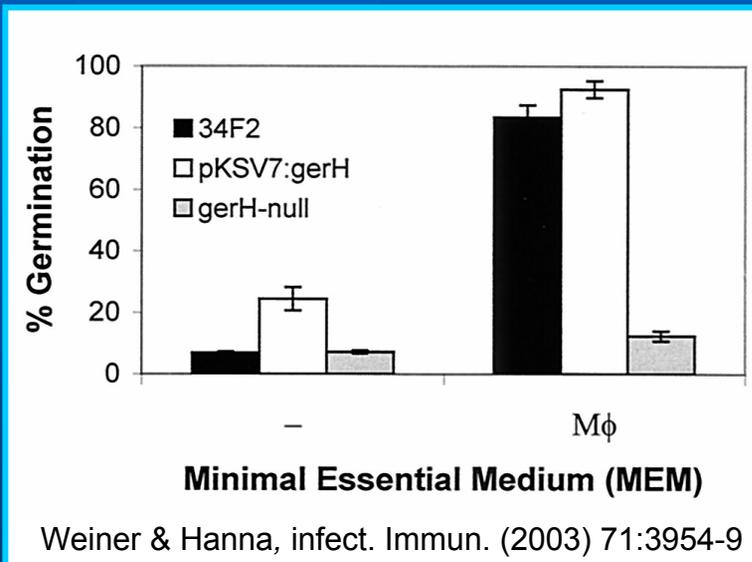


Bacillus anthracis: le macrophage comme usine bioterroriste

Rôle des macrophages dans la germination des spores

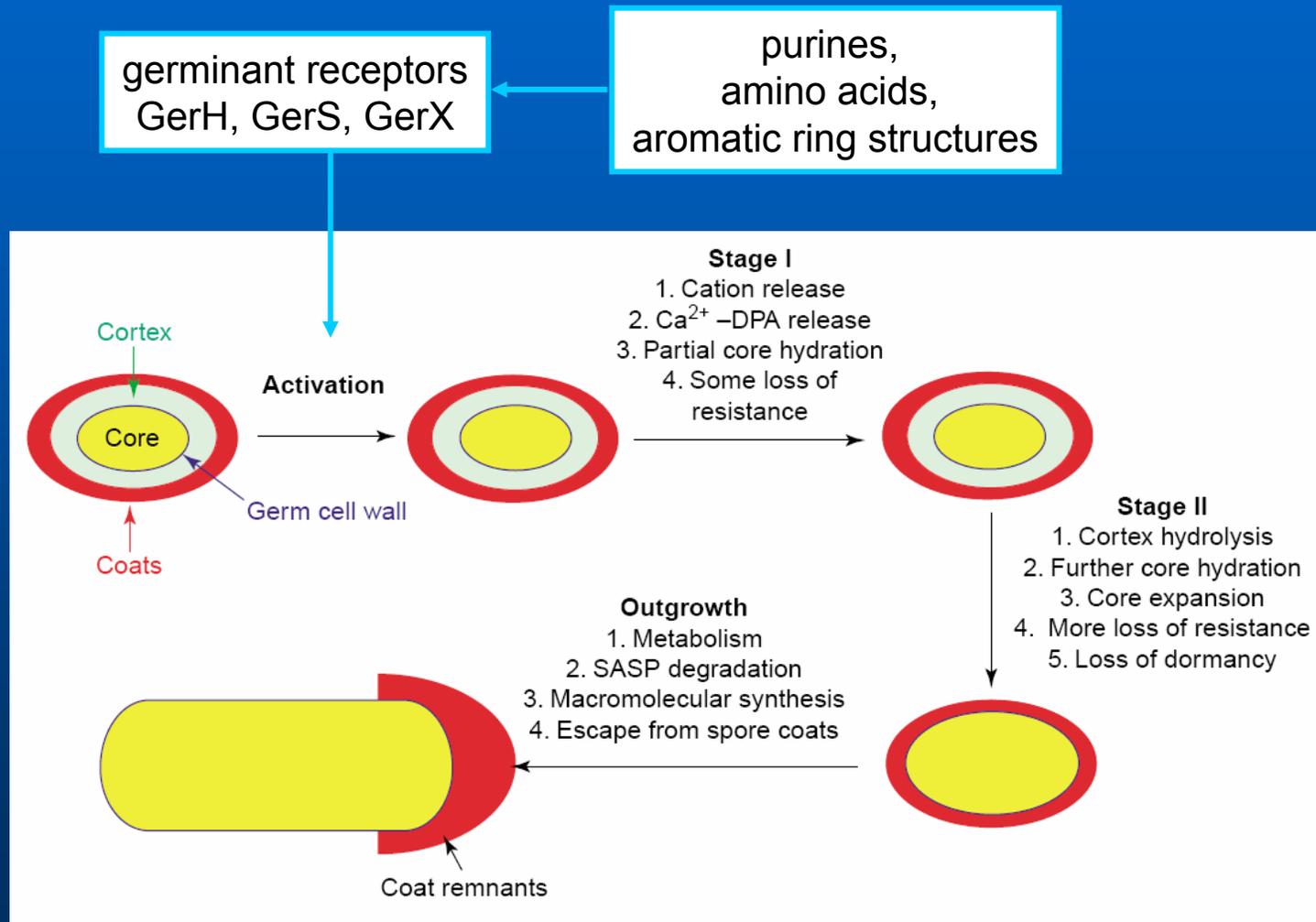
germinant receptors
GerH, GerS, GerX

purines,
amino acids,
aromatic ring structures

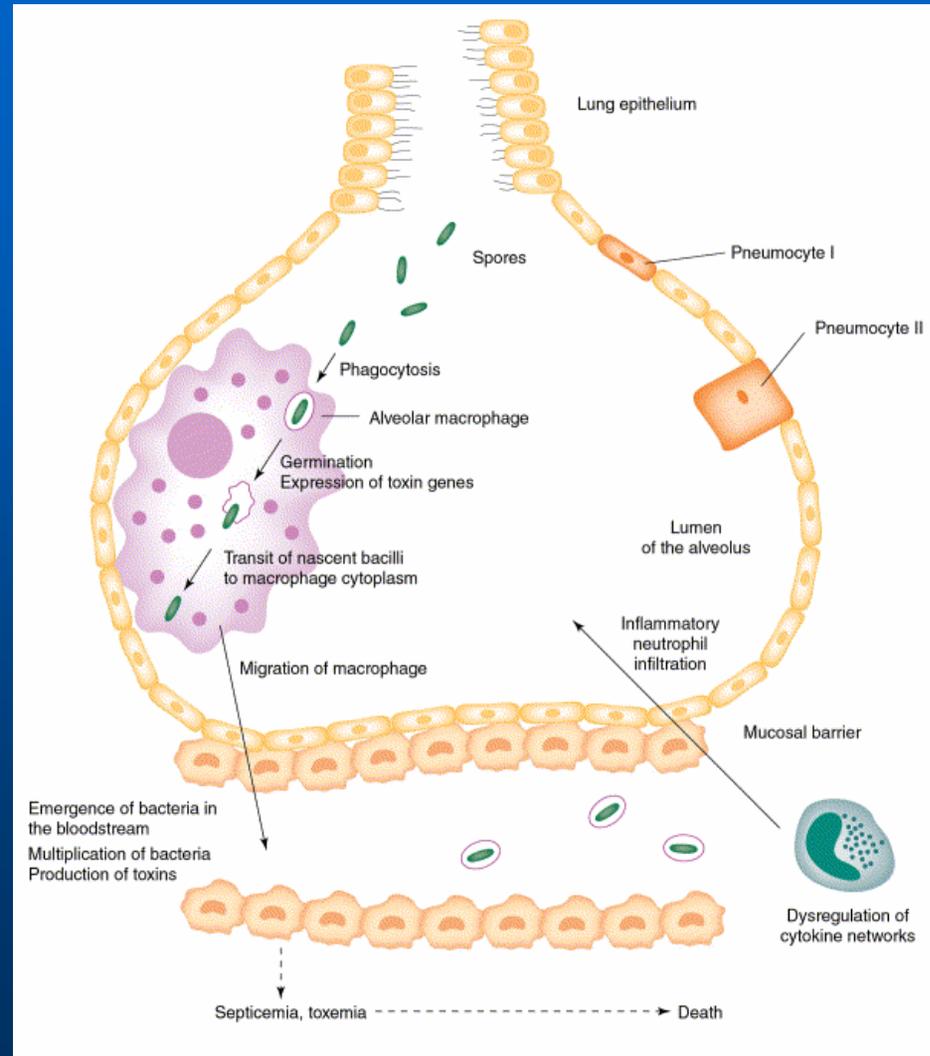


Bacillus anthracis: le macrophage comme usine bioterroriste

Rôle des macrophages dans la germination des spores

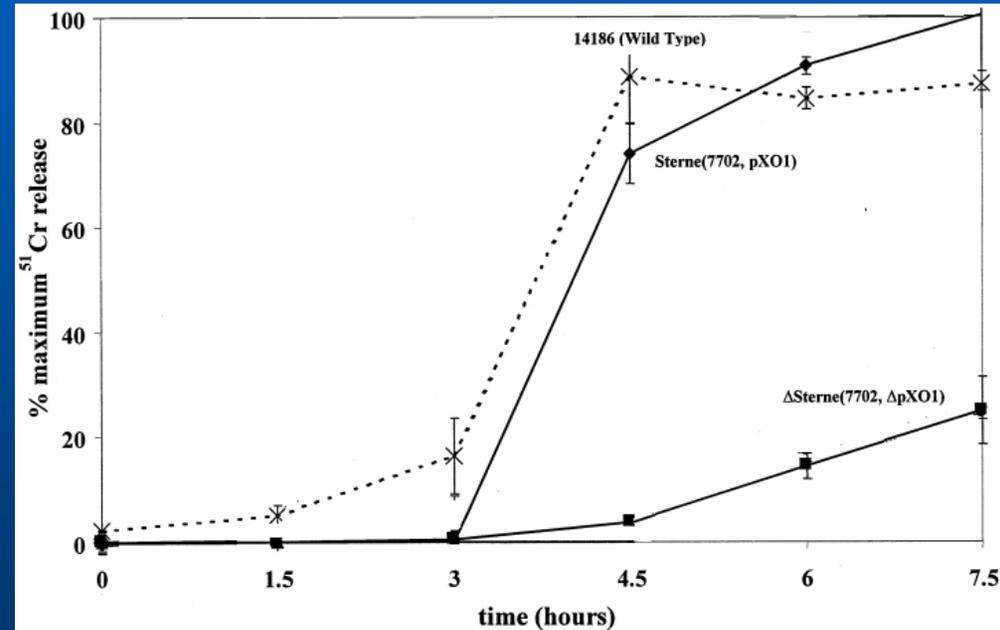
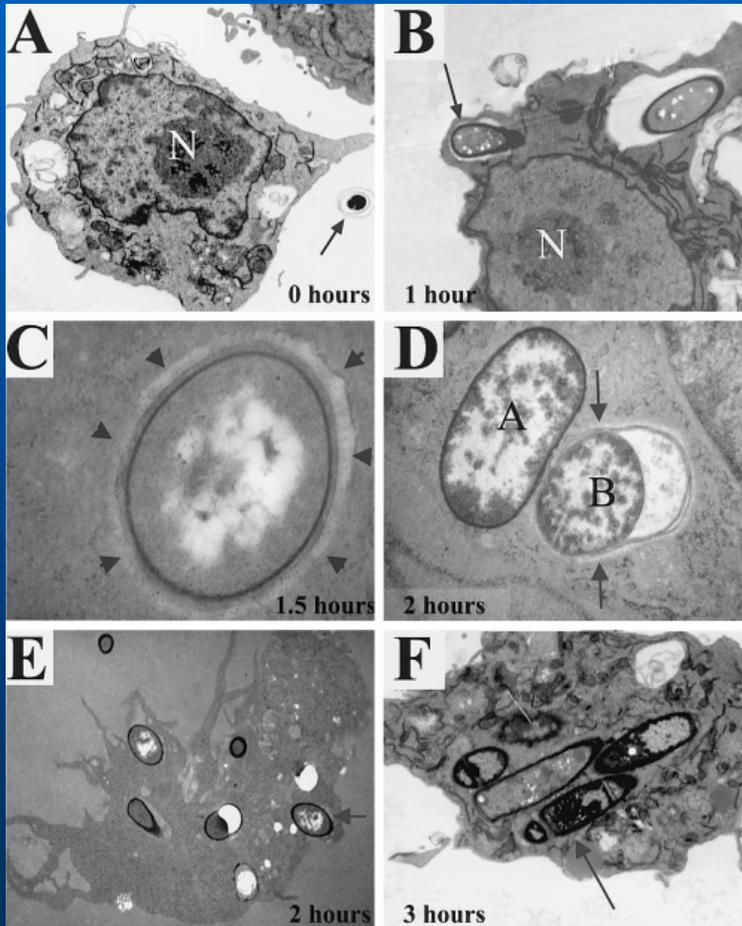


Bacillus anthracis: le macrophage comme usine bioterroriste



Bacillus anthracis: le macrophage comme usine bioterroriste

la germination intracellulaire
implique le plasmide de virulence



4. Les conséquences de l'infection intracellulaire



Conséquences de l'infection intracellulaire:



Persistance

- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Helicobacter pylori*



Récurrence

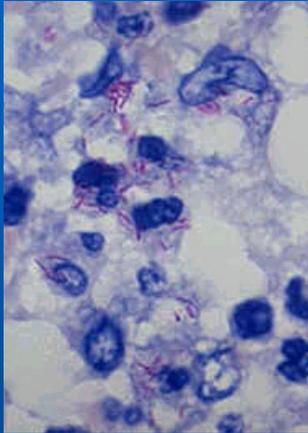
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*



Difficulté d'éradiquer

Infections persistentes

Mycobacterium tuberculosis



→ tuberculose

LA TUBERCULOSE est une MALADIE CONTAGIEUSE
ELLE SE TRANSMET PAR :

LA TOUX **LES EXPECTORATIONS** **LE LAIT CONTAMINÉ**

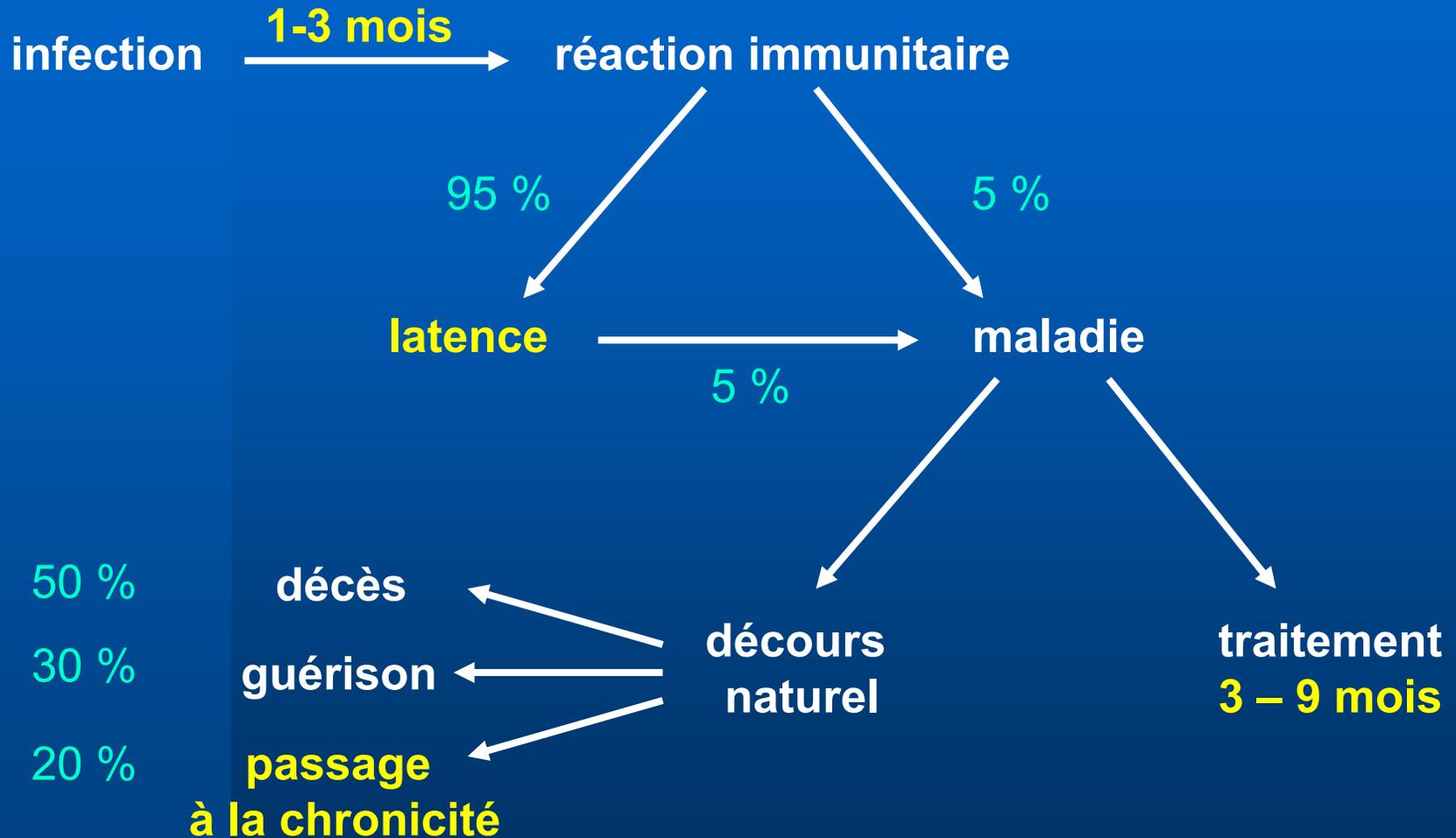


IL FAUT DONC { **NE TOUSSER QUE DERRIÈRE UN MOUCHOIR**
CRACHER DANS UN CRACHOIR
SE DÉFIER DU LAIT CRU

LIGUE NATIONALE BELGE CONTRE LA TUBERCULOSE

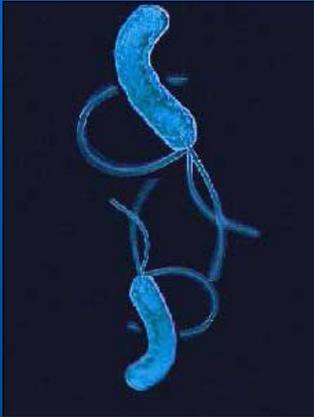
SECTION DE PROPHYLAXIE DE L'ŒUVRE NATIONALE BELGE DE DÉFENSE CONTRE LA TUBERCULOSE

Persistance de *M. tuberculosis*



Infections persistentes

Helicobacter pylori



→ ulcère
gastro-duodénal



Persistence de *H. pylori*

Devenir de *Helicobacter* chez des patients asymptomatiques

Macroscopic, Histologic, and Bacteriologic Findings During the Follow-up

	Initial Diagnosis (<i>n</i> = 18)	After 12 Months (<i>n</i> = 14)	After 24 Months (<i>n</i> = 10)
Macroscopic changes			
Nodular gastritis	11%	64%*	80%
Erythematous gastritis	11%	7%	10%
Histology† (histological score: means ± SD)			
Antrum	3.8 ± 1.2	3.5 ± 1.3	5.0 ± 1.0‡
Corpus	2.2 ± 1.4	3.1 ± 1.2	3.7 ± 2.2
Colonization† (log bact/g of tissue: means ± SD)			
Antrum	6.9 ± 0.7	6.4 ± 0.4	6.8 ± 0.4
Corpus	6.5 ± 1.0	6.2 ± 0.5	6.2 ± 0.8

* $P < .02$: 12 months versus diagnosis.

† Values for the 8 children examined both at 1 and 2 years of follow-up.

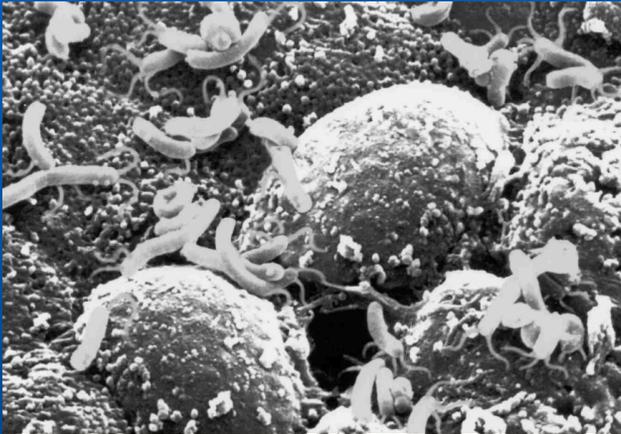
‡ $P < .05$: 24 months versus 12 months.

Persistence
après 2 ans !

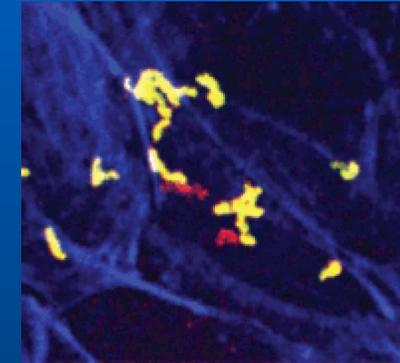
Persistence de *H. pylori*

Où se trouve *Helicobacter* ?

adhérent aux muqueuses



dans les cellules épithéliales !



H. pylori extracellulaire

H. pylori intracellulaire

actine

Persistence de *H. pylori*

Où se trouve *Helicobacter* ?

<i>H. pylori</i> invasion into gastric mucosa cells in human biopsy specimens		
Cell type	Invasion frequency	Intracellular location
Epithelial	3%	Epithelial cell cytoplasm and examples of apparent engulfment of <i>H. pylori</i> by epithelial cells
Epithelial, parietal and chief cells	< 1% of epithelial cells observed	Within vacuoles and cytoplasm
Metaplastic surface cells	10% of patients with active duodenal ulcer	Within vacuoles and cytoplasm
Epithelial	Invaded <i>H. pylori</i> was seen in four of 12 patients, from whom several biopsies were taken from different locations	Within the cytoplasm of the gastric cells, without association with lysosomes or mucous granules
Mucus-secreting cell and a stromal cell in the lamina propria	In two of 100 antral gastric biopsy specimens	Cytoplasm
Epithelial	" <i>H. pylori</i> are capable of entering epithelial cells", no quantification of the event	In mucus within an epithelial cell
Epithelial	Rarely inside cells	Not described
Epithelial	Only one <i>H. pylori</i> observed within an epithelial cell	Within a lysosome
Epithelial	"Some"	Within vacuoles
Epithelial	Occasionally	Within vacuoles and cytoplasm
Epithelial	Occasionally	Not described
Epithelial	5.6–100% of samples	Apparently within vacuoles

^aAll studies were based on electron microscopic evaluation

Conséquences de l'infection intracellulaire:



Persistence

- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Helicobacter pylori*



Récurrence

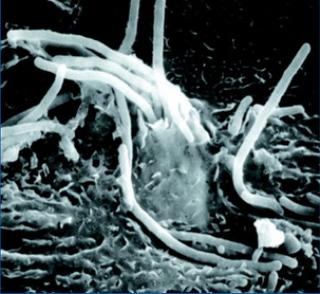
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*



Difficulté d'éradiquer

Infections récurrentes

Escherichia coli



- infections urinaires
- infections digestives



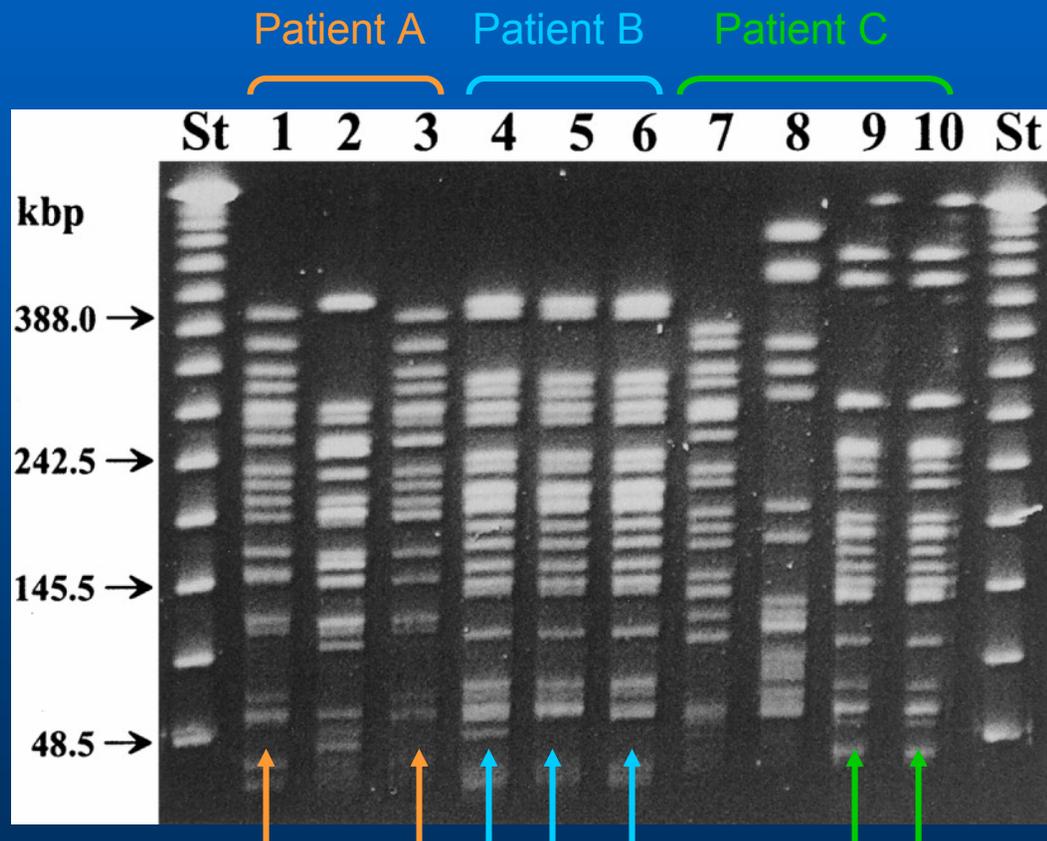
Infections récurrentes à *E. coli*

Les récurrences d'infections urinaires sont fréquentes

Population	taux de récurrence	référence
enfants < 1 an	28 % - 6 mois	Biyikli <i>et al.</i> , <i>Pediatr. Int.</i> (2004) 46: 21-5
	31 % - 1 an	Nuutinen <i>et al.</i> , <i>Pediatr. Nephrol.</i> (2001) 16:97-72
femmes	33 % - 6 mois	McLaughlin & Carson, <i>Med. Clin. North Am.</i> (2004) 88:417-29
	48 % - 1 an	Ikaheimo <i>et al.</i> , <i>Clin. Inf. Dis.</i> (1996) 22: 91-9

Infections récurrentes à *E. coli*

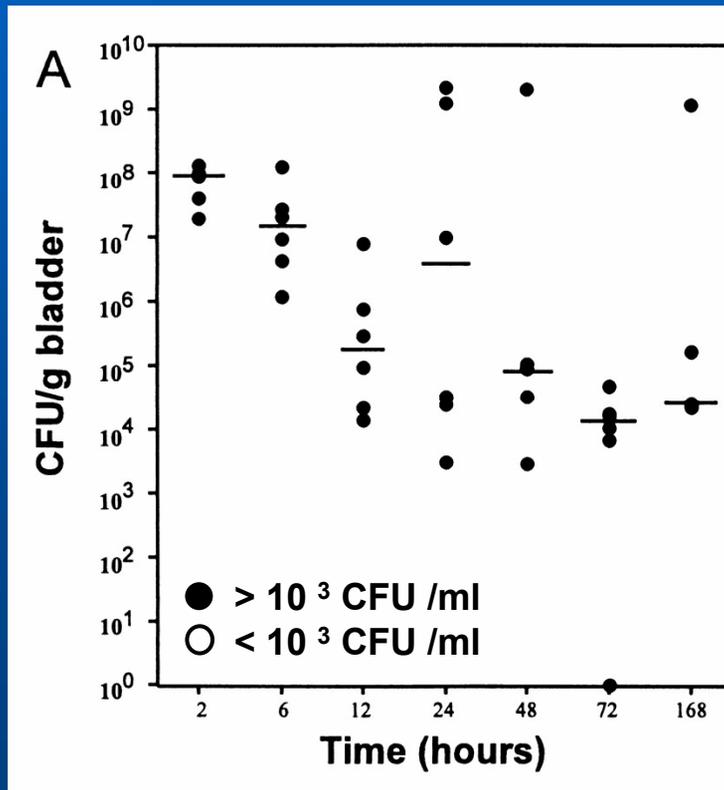
Les infections récurrentes sont souvent (65 %) dues à la même souche



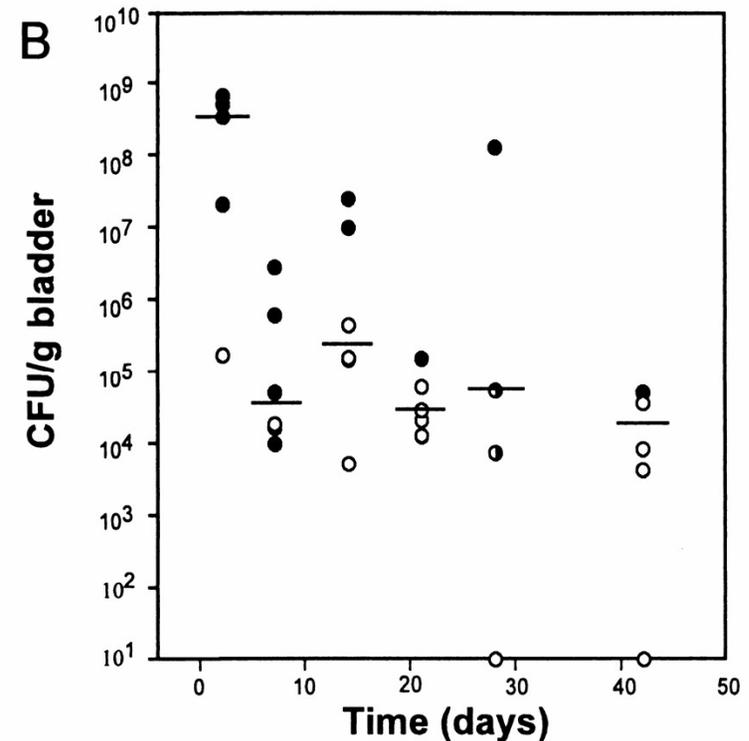
Infections récurrentes à *E. coli*

E. coli persiste dans la vessie sans coloniser l'urine

A court terme:
colonisation abondante

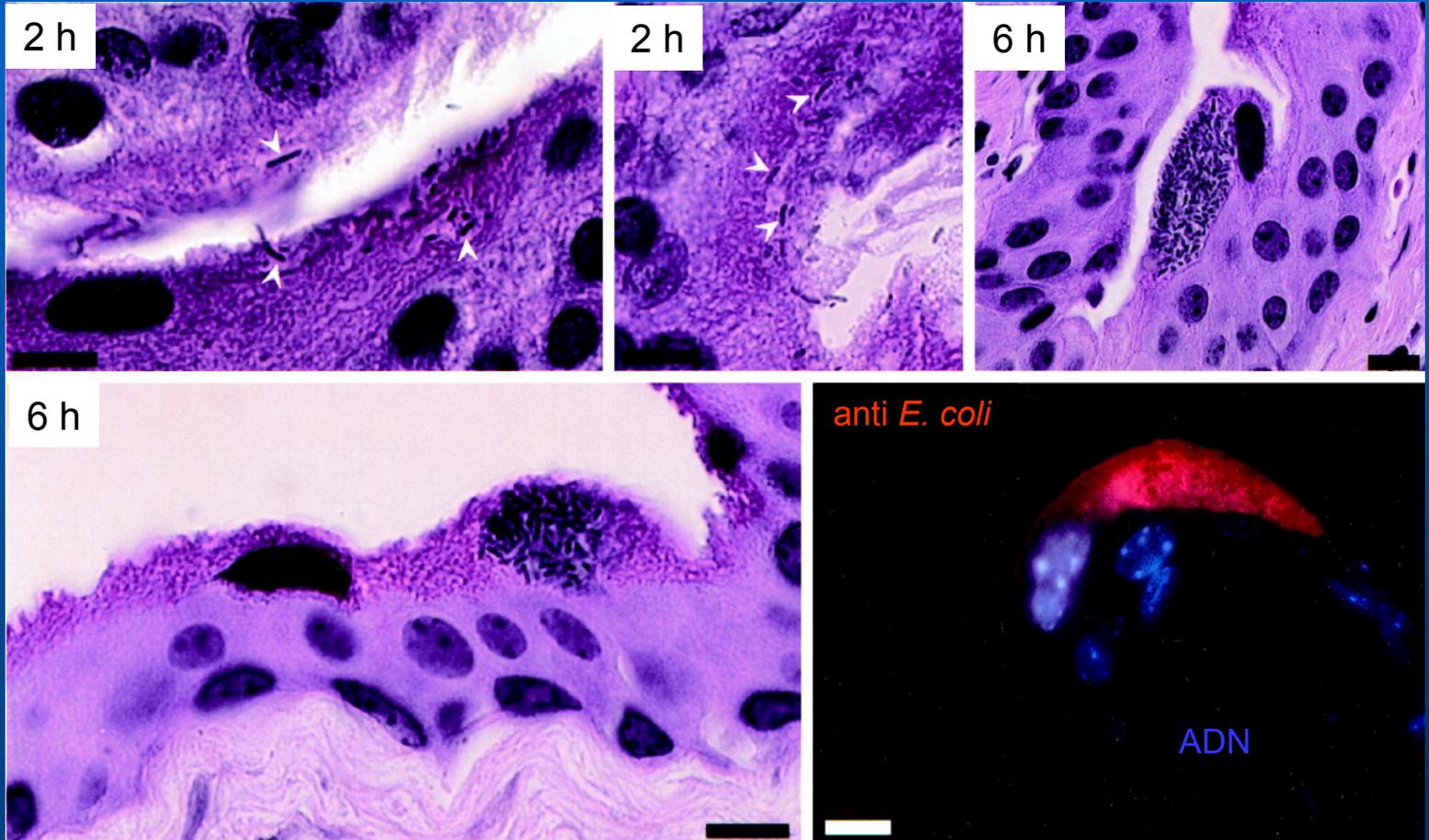


A long terme:
colonisation discrète

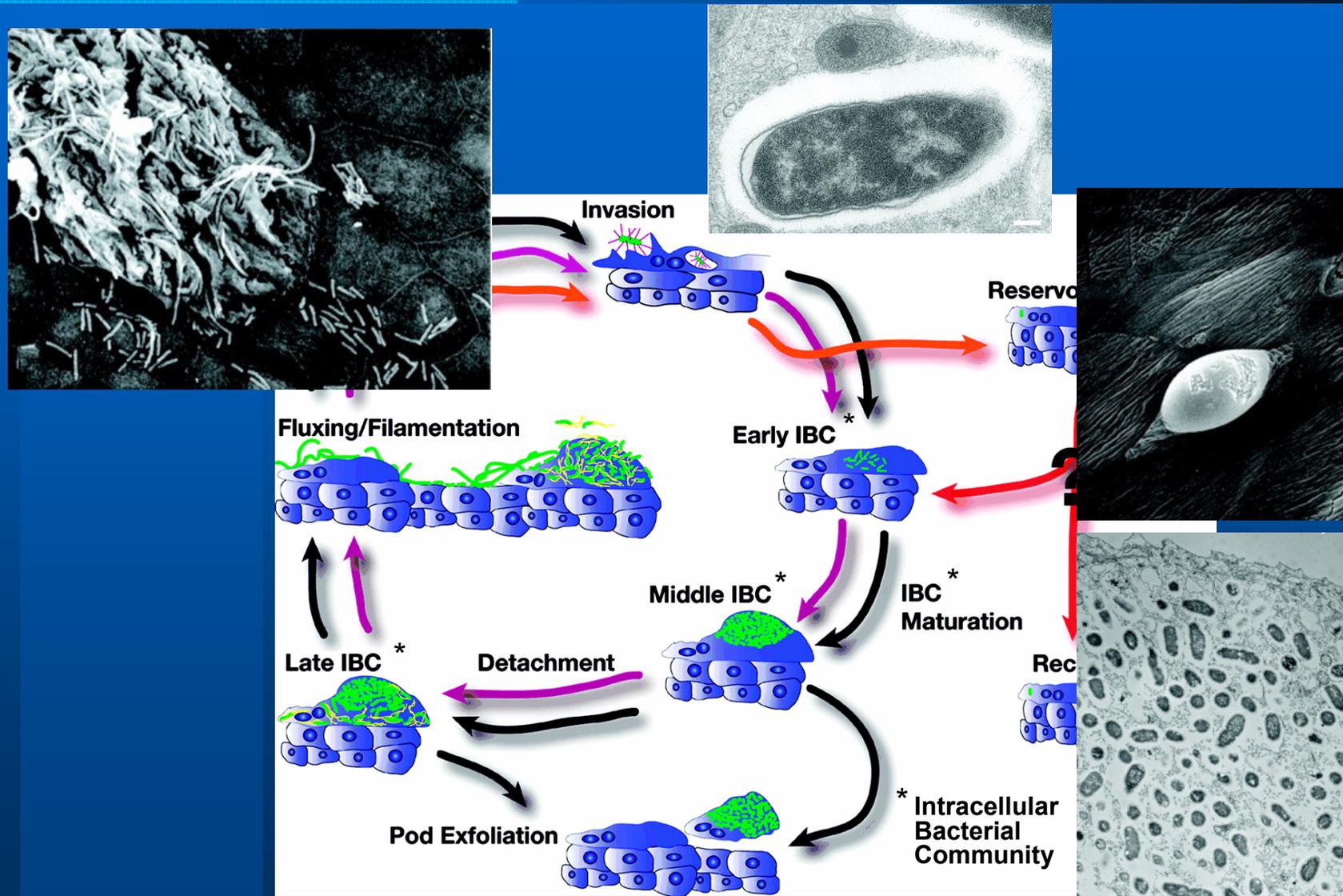


Infections récurrentes à *E. coli*

E. coli envahit l'épithélium de la vessie



Infections récurrentes à *E. coli*

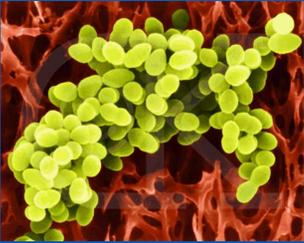


Mulvey *et al.*, *infect. Immun.* (2001) 69:4572-9;

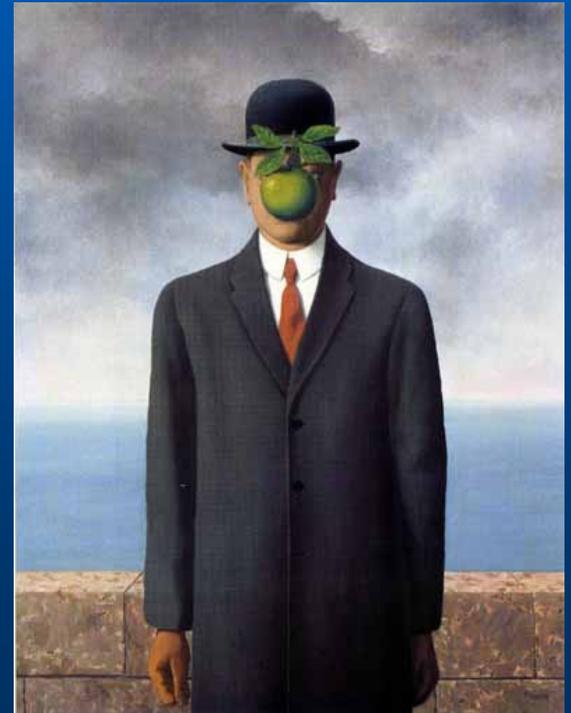
Anderson *et al.*, *Science* (2003) 301:105-7; Justice *et al.*, *PNAS* (2004) 101:1333-8

Infections récurrentes

Staphylococcus aureus

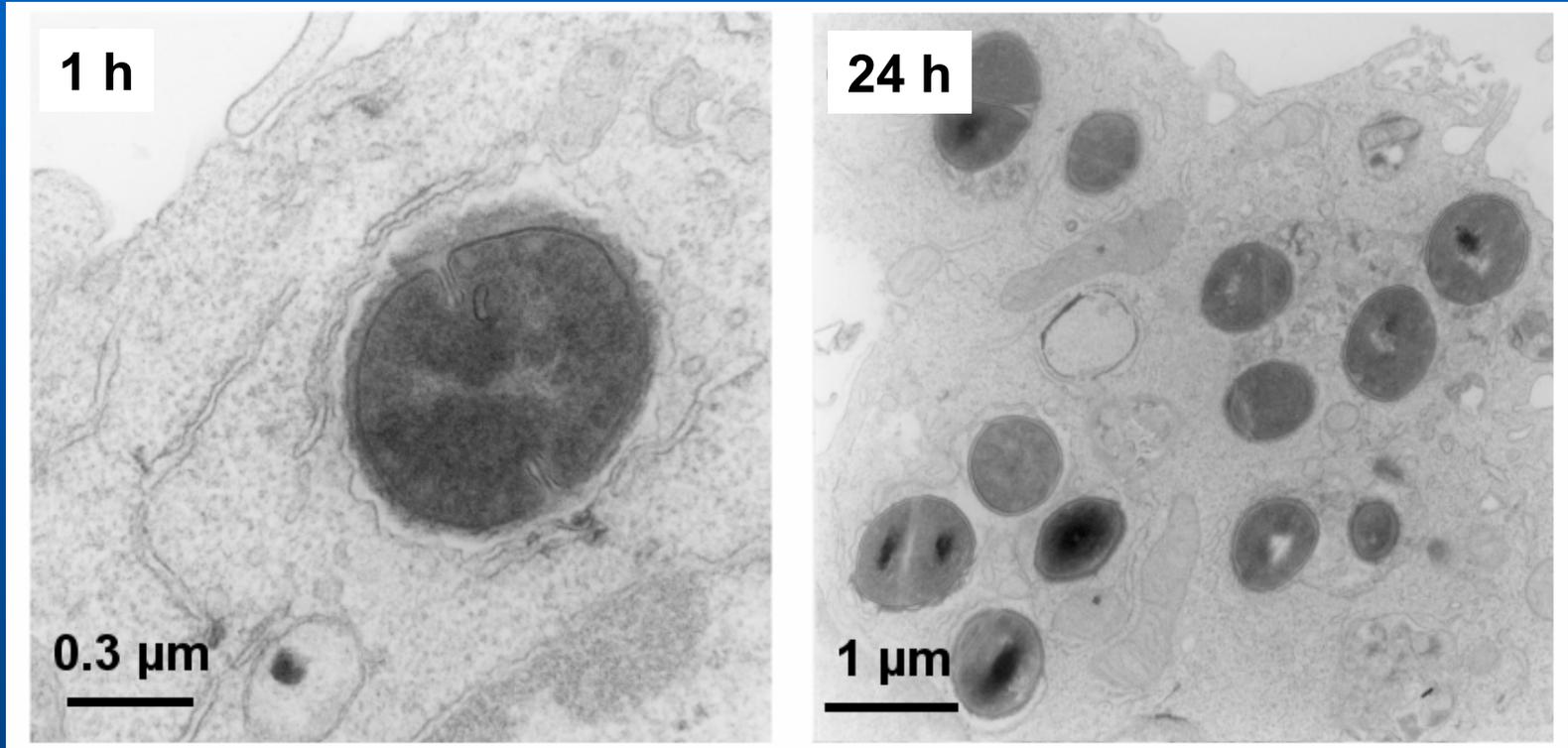


- infections de la peau
- ostéomyélites
- endocardites
- pneumonies



Infections récurrentes à *S. aureus*

Survie intracellulaire de *S. aureus* – cell. phagocytaires



Infections récurrentes à *S. aureus*

Survie intracellulaire de *S. aureus* – cell. non phagocytaires

Infect Immun. 2001 May;69(5):2872-7.

Staphylococcus aureus fibronectin binding proteins are essential for internalization by osteoblasts but do not account for differences in intracellular levels of bacteria.

Ahmed S, Meghji S, Williams RJ, Henderson B, Brock JH, Nair SP.

Cellular Microbiology Research Group, Eastman Dental Institute, University College London, United Kingdom.

Br J Dermatol. 2002 Jun;146(6):943-51.

Invasion of human keratinocytes by Staphylococcus aureus and intracellular bacterial persistence represent haemolysin-independent virulence mechanisms that are followed by features of necrotic and apoptotic keratinocyte cell death.

Mempel M, Schnopp C, Hojka M, Fesq H, Weidinger S, Schaller M, Korting HC, Ring J, Abeck D.

Department of Dermatology and Allergy Biederstein, Technical University Munich, Biedersteiner Str. 29, D-80802 Munich, Germany.
m.mempel@lrz.tum.de

Infect Immun. 1987 Sep;55(9):2155-63.

Ingestion of Staphylococcus aureus by bovine endothelial cells results in time- and inoculum-dependent damage to endothelial cell monolayers.

Vann JM, Proctor RA.

J Dairy Sci. 1996 Jun;79(6):1021-6.

Staphylococcus aureus invasion of bovine mammary epithelial cells.

Almeida RA, Matthews KR, Cifrian E, Guidry AJ, Oliver SP.

Department of Animal Science, University of Tennessee, Knoxville 37901-1071, USA.

Infections récurrentes à *S. aureus*

Survie intracellulaire de *S. aureus* ... et infections récurrentes

J Bone Joint Surg Br. 2003 Aug;85(6):918-21.

Intracellular Staphylococcus aureus. A mechanism for the indolence of osteomyelitis.

Ellington JK, Harris M, Webb L, Smith B, Smith T, Tan K, Hudson M.

Department of Orthopedic Surgery, Wake Forest University School of Medicine, Winston-Salem, North Carolina, USA. *Clin Infect Dis.* 2001 Jun 1;32(11):1643-7. Epub 2001 Apr 30.

Intracellular persistence of Staphylococcus aureus small-colony variants within keratinocytes: a cause for antibiotic treatment failure in a patient with darier's disease.

von Eiff C, Becker K, Metze D, Lubritz G, Hockmann J, Schwarz T, Peters G.

Institute of Medical Microbiology, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Münster, Germany.



Infect Immun. 1986 Dec;54(3):833-6.

Phagocytosis of Staphylococcus aureus by cultured bovine aortic endothelial cells: model for postadherence events in endovascular infections.

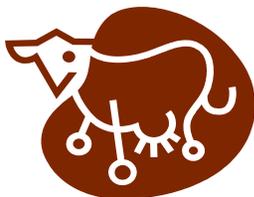


FEMS Microbiol Lett. 2000 Dec 1;193(1):57-62.

Demonstration of intracellular Staphylococcus aureus in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk.

Hebert A, Sayasith K, Senechal S, Dubreuil P, Lagace J.

Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Montreal, Centre-Ville, Montreal, Que., Canada.



Conséquences de l'infection intracellulaire:



Persistance

- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Helicobacter pylori*



Récurrence

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*



Difficulté d'éradiquer

Difficultés de traitement

BRIEF REPORTS • CID 2001:32 (1 June) • 1643

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2004) 53, 167-173

Antibiotic-induced persistence of cytotoxic *Staphylococcus aureus* in non-phagocytic cells

Oleg Krut, Herdis Sommer and Martin Krönke*

Institute for Medical Microbiology, Immunology and
Goldenfelsstr. 19-21, 50173 Cologne, Germany

Postgrad Med J 2000;76:479-483

Pathophysiology of chronic bacterial osteomyelitis: Why do antibiotics fail so often?

J Ciampolini, K G Harding

Intracellular Persistence of *Staphylococcus aureus* Small-Colony Variants within Keratinocytes: A Cause for Antibiotic Treatment Failure in a Patient with Darier's Disease

Christof von Eiff,¹ Karsten Becker,¹ Dieter Metzke,² Gabriele Lubritz,¹ Johannes Hockmann,² Thomas Schwarz,² and Georg Peters¹

¹Institute of Medical Microbiology and ²Department of Dermatology, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Münster, Germany

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2005) 55, 383-386

Intracellular persistence of *Escherichia coli* in urinary bladders from mecillinam-treated mice

M. B. Kern^{1,2*}, C. Struve¹, J. Blom³, N. Frimodt-Møller² and

¹Department of Bacteriology, Mycology and Parasitology, ²National Center of Antimicrobial Control and ³Department of Virology, Statens Serum Institut, Copenhagen

Int J Tuberc Lung Dis. 2004 Jan;8(1):31-8.

Development of acquired drug resistance in recurrent tuberculosis patients with various previous treatment outcomes.

Yoshiyama T, Yanai H, Rhiengtong D, Palittapongarnpim P, Nampaisan O, Supawitkul S, Uthairorawit W, Mori T.

Epidemiology Division, Research Institute of Tuberculosis, Kiyose, Tokyo, Japan.

Infection. 1992 Mar-Apr;20(2):99-100.

Fatal *Legionella pneumophila* pneumonia: treatment failure despite early sequential oral-parenteral amoxicillin-clavulanic acid therapy.

Hohl P, Buser U, Frei R.

Department of Internal Medicine, University Hospital, Basel, Switzerland.

J Eur Acad Dermatol Venereol. 2001 Sep;15(5):403-9.

Electron microscopic evidence of persistent chlamydial infection following treatment.

Bragina EY, Gomberg MA, Dmitriev GA.

Clinical Infectious Diseases 1999;29:1340-1

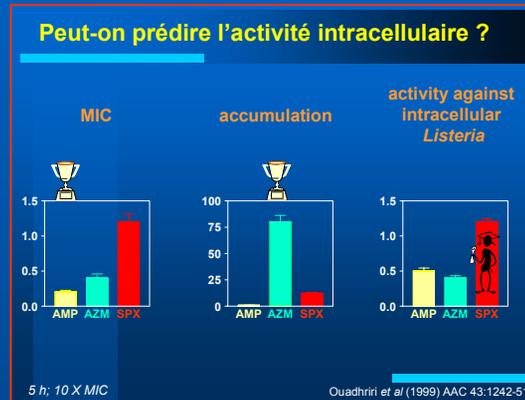
Development of Listerial Meningitis during Ciprofloxacin Treatment

Nicholas M. Grumbach, Eleftherios Mylonakis, and Edward J. Wing

Difficultés de traitement: pourquoi ?

Eradication insuffisante:

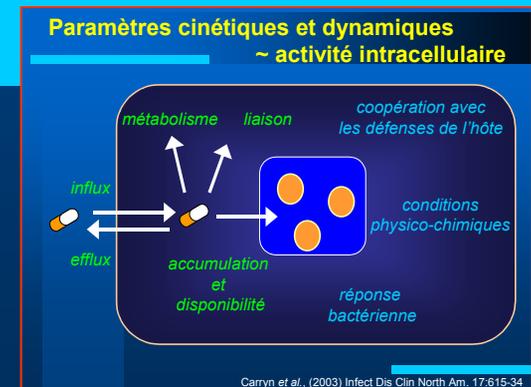
antibiotiques choisis sur base de leur { activité extracellulaire
accumulation



non prédictifs
de l'activité intracellulaire !



mauvaise prise en compte des paramètres
cinétiques et dynamiques



Difficultés de traitement: pourquoi ?

Eradication suffisante: comment l'obtenir ?

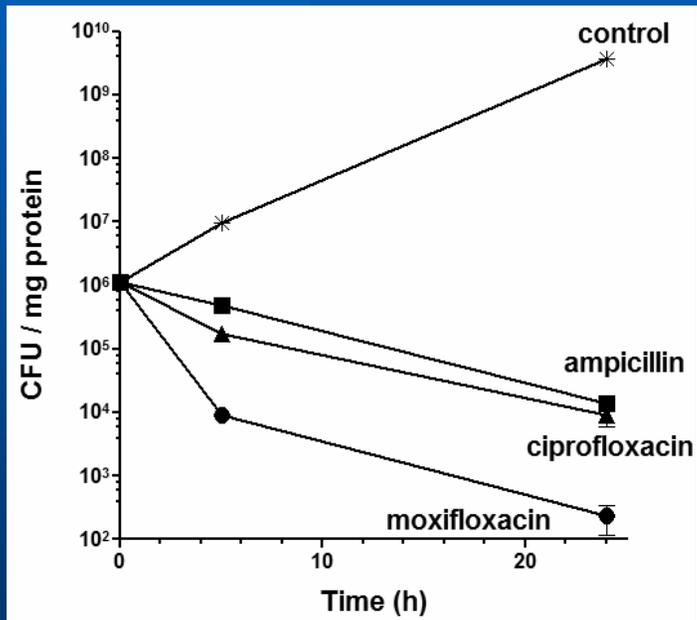
- choisir des antibiotiques
 - bactéricides
 - aux conc. atteintes dans le compartiment infecté
 - dans les conditions de leur usage clinique

- évaluer leur efficacité dans des modèles
 - de cellules infectées
 - d'animaux

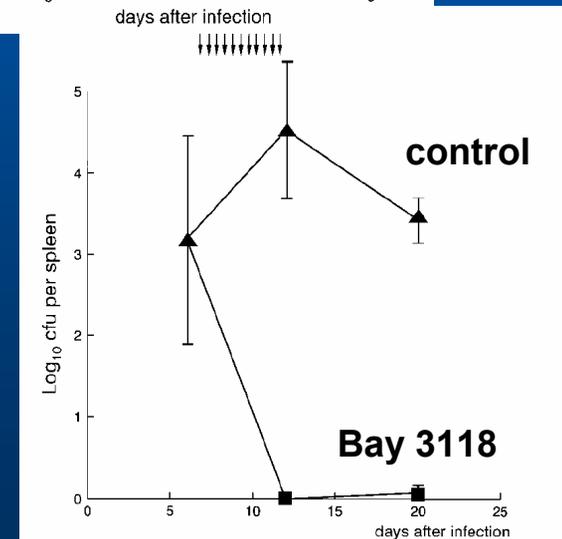
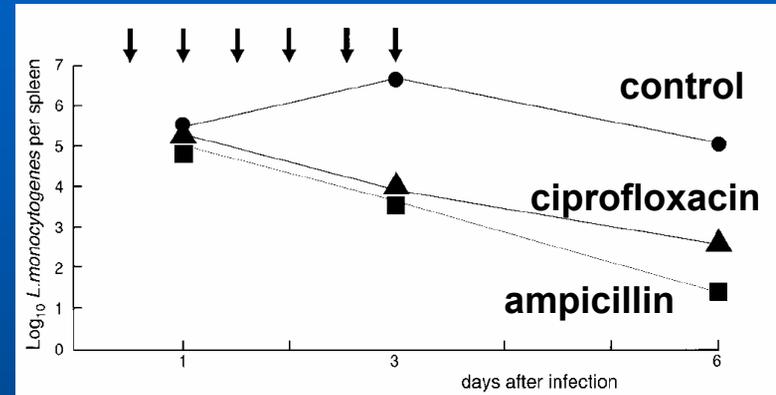
Difficultés de traitement: pourquoi ?

Eradication insuffisante: comment l'obtenir ?

Infection à *Listeria* - macrophages



Infection à *Listeria* chez la souris



Difficultés de traitement: pourquoi ?

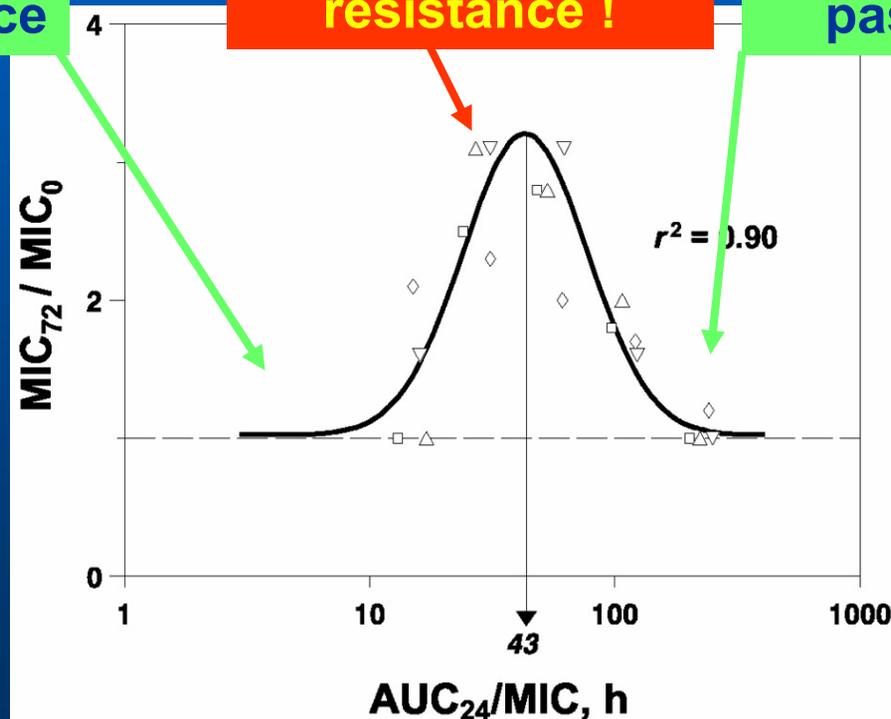
Sélection de résistance:

exposition intracellulaire suboptimale

pas d'exposition:
pas de résistance

exposition
INAPPROPRIÉE:
résistance !

exposition appropriée:
pas de résistance



Sélection de résistance aux fluoroquinolones chez *S. aureus* extracellulaire

Difficultés de traitement: pourquoi ?

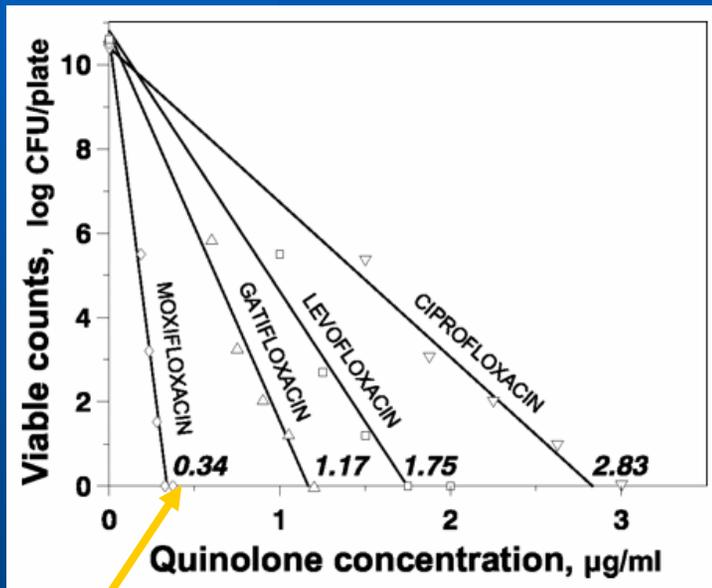
Sélection de résistance: comment l'éviter ?

- optimiser la dose
sur base de la pharmacocinétique cellulaire
- sélectionner dans chaque classe les molécules à faible potentiel de sélection de résistance
- utiliser des combinaisons d'antibiotiques à mécanisme d'action (et de résistance) différent

Difficultés de traitement: pourquoi ?

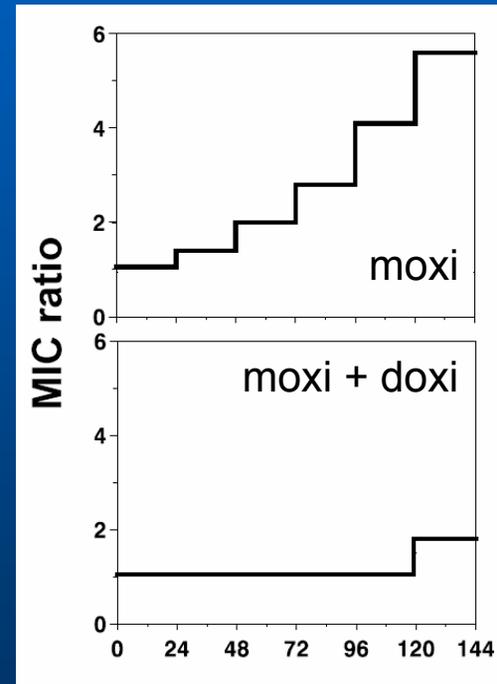
Sélection de résistance: comment l'éviter ?

Choix d'un antibiotique
à faible pouvoir sélectionnant

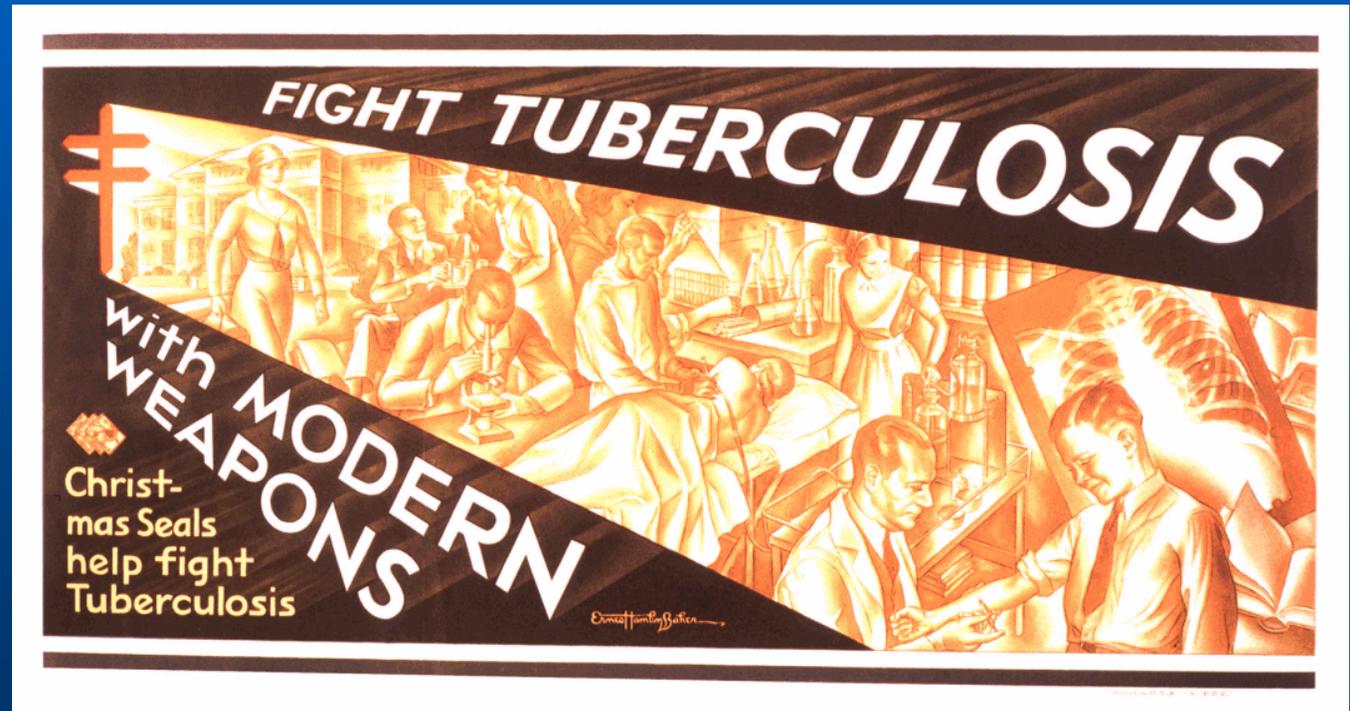


MPC faible

Utilisation de combinaisons

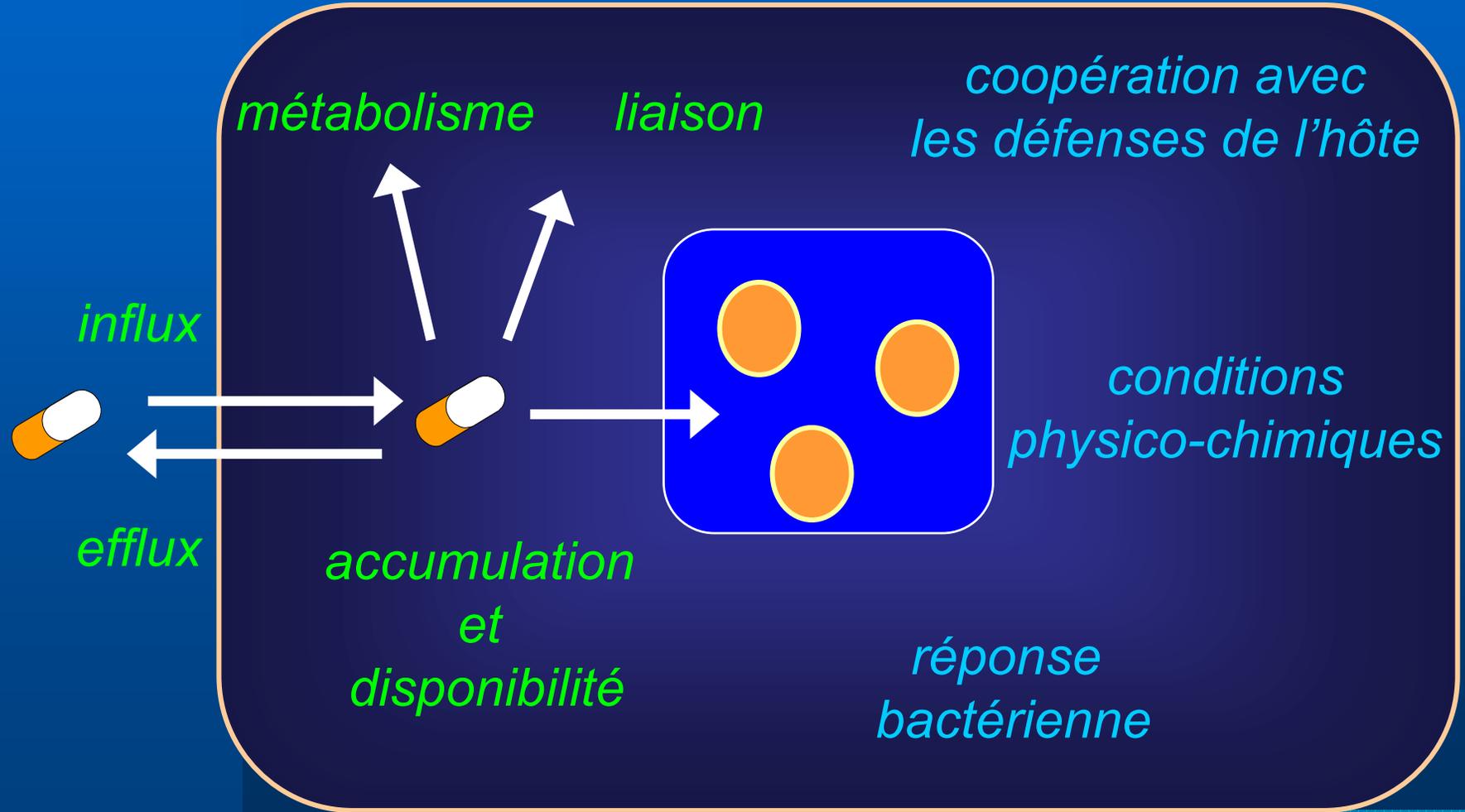


5. Quelles stratégies pour l'avenir ?



Optimiser les traitements antibiotiques

Par une meilleure connaissance de la pharmacocinétique
et pharmacodynamie intracellulaires

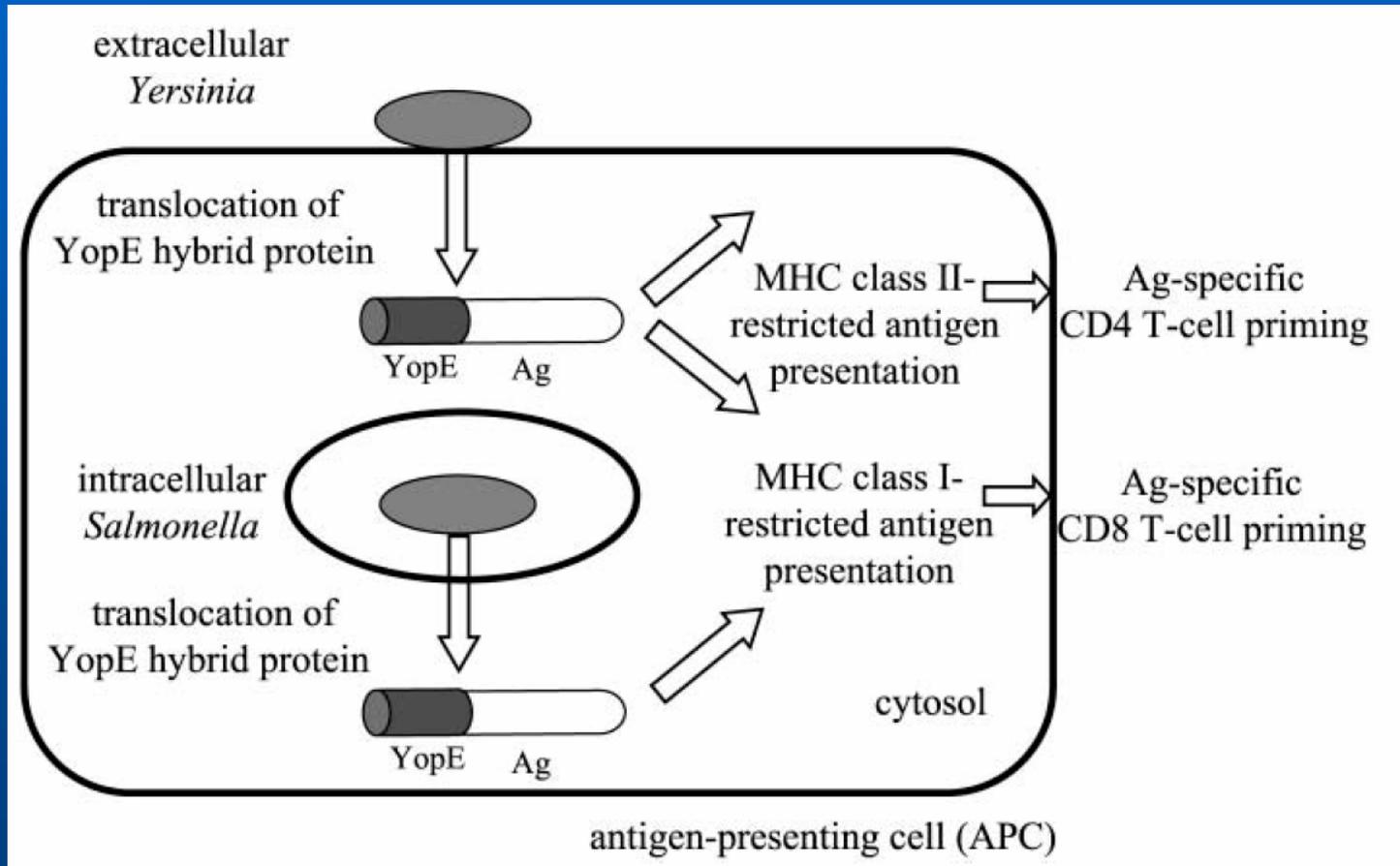


Viser de nouvelles cibles

- **Prévention de l'attachement / internalisation**
 - *Chlamydia* (Coombes *et al.*, Curr. Drug Targets infect. Disord. (2002) 2: 201-16)
- **Interférence avec les systèmes de sécrétion**
 - structure et fonction communes (Tampakaki *et al.*, Cell Microbiol. (2004) 6:805-16)
- **Stimuler les défenses de l'hôte**
 - interférons (Jin *et al.*, Scand J Immunol. (2004) 60:437-48)
 - G(M)-CSF (Miyamoto *et al.*, J Immunol. (2003) 170:5228-34)
- **Moduler la réponse apoptotique à l'infection intracellulaire**
 - NF κ B (Joshi *et al.*, Infect Immun. (2003) 71:4127-36)
- **Développer des vaccins**
 - tuberculose (Ziv *et al.*, Emerg Infect Dis. (2004) 10:1529-35)

Utiliser le génie bactérien comme moyen thérapeutique

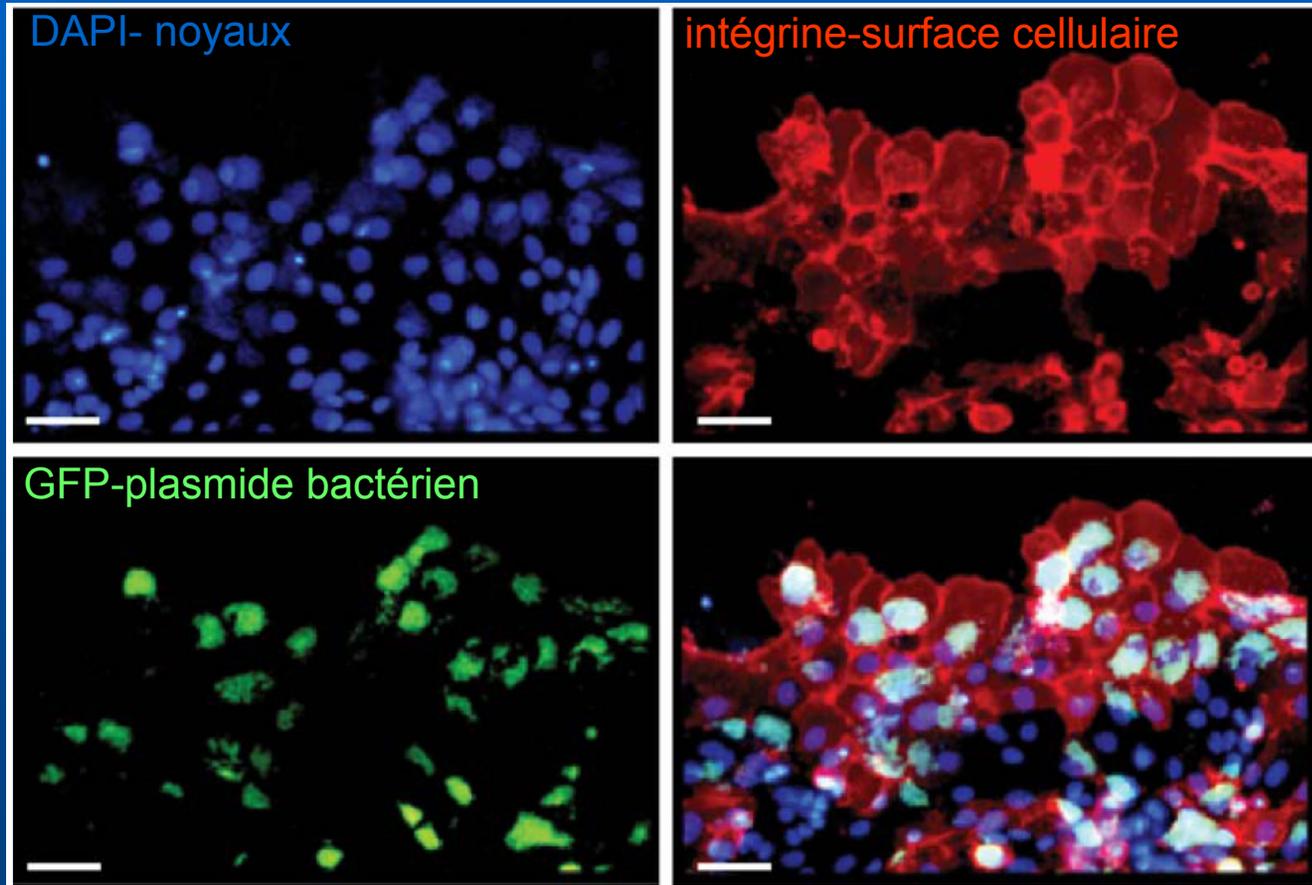
Systemes de sécrétion comme outils de vaccination



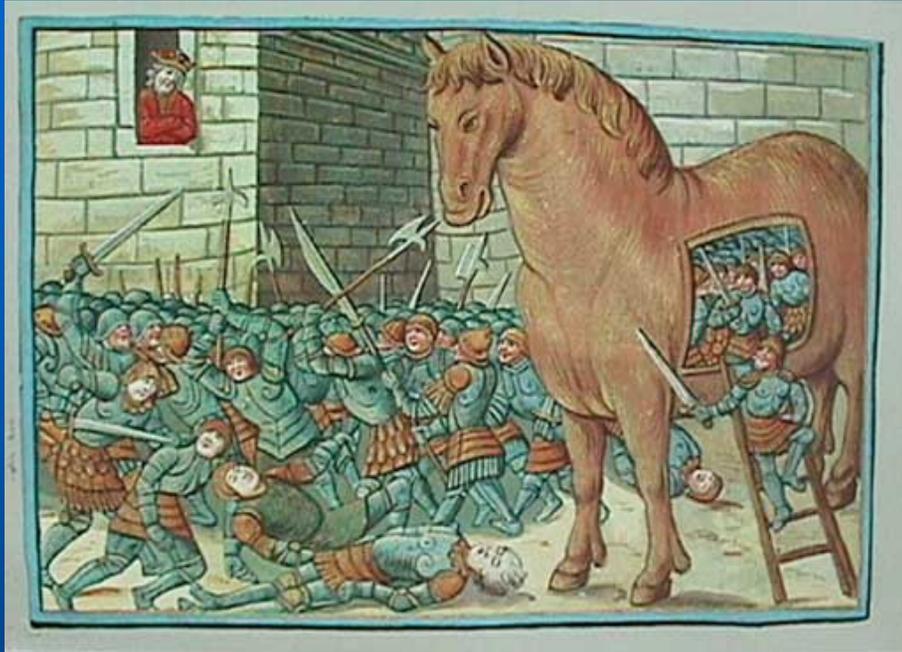
Utiliser le génie bactérien comme moyen thérapeutique

Bactéries non pathogènes comme vecteurs (thérapie génique)

E. coli hly(+) comme vecteur du gène *CFTR* dans les cellules des voies respiratoires



La lutte est encore longue



... mais l'avenir, prometteur ...

