

Séminaire de recherche  
22 janvier 2009

# **INFECTIONS RESPIRATOIRES**

R. Le Berre, J. Gaillat, K. Faure,  
P. Chavanet, C. Chidiac

# Les équipes de recherche

- EA2689, Biologie et physiologie des états septiques, **Lille**, B Guery, K Faure
- CNR Legionelle et INSERM U851, « Immunité, Infection et vaccination », **Lyon**, J Etienne, C Chidiac, F Ader
- EA3882, Laboratoire de biodiversité et écologie microbienne, **Brest**, G Barbier, C Payan, R Le Berre
- EA652, **Dijon**, P Chavanet
- **Rennes**, P Tattevin, C Michelet

# MODELE MURIN DE PNEUMONIE

Souches cliniques

Souches de laboratoire



Instillation  
intratrachéale de  
bactérie +  $^{125}\text{I}$ -Alb

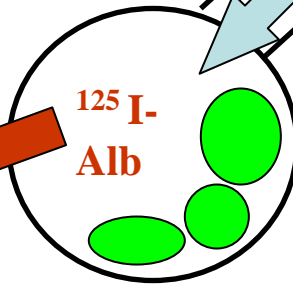


**Œdème pulmonaire**

= mouillé/sec

**Trouble de perméabilité**

=  $^{125}\text{I}$ -Alb  
plasmatique



**Hémocultures**

**Charge bactérienne  
pulmonaire, splénique...**

**Facteurs de virulence**

**Cytokines (LBA, sang...)**

# MODELE MURIN DE PNEUMONIE

Souches cliniques

Souches de laboratoire



Instillation  
intratrachéale de  
bactérie +  $^{125}\text{I}$ -Alb

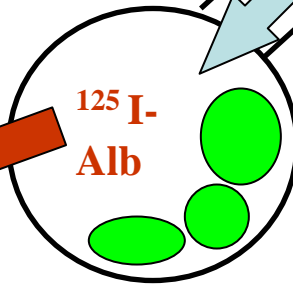


**Œdème pulmonaire**

= mouillé/sec

**Trouble de perméabilité**

=  $^{125}\text{I}$ -Alb  
plasmatique



**Hémocultures**

**Charge bactérienne  
pulmonaire, splénique...**

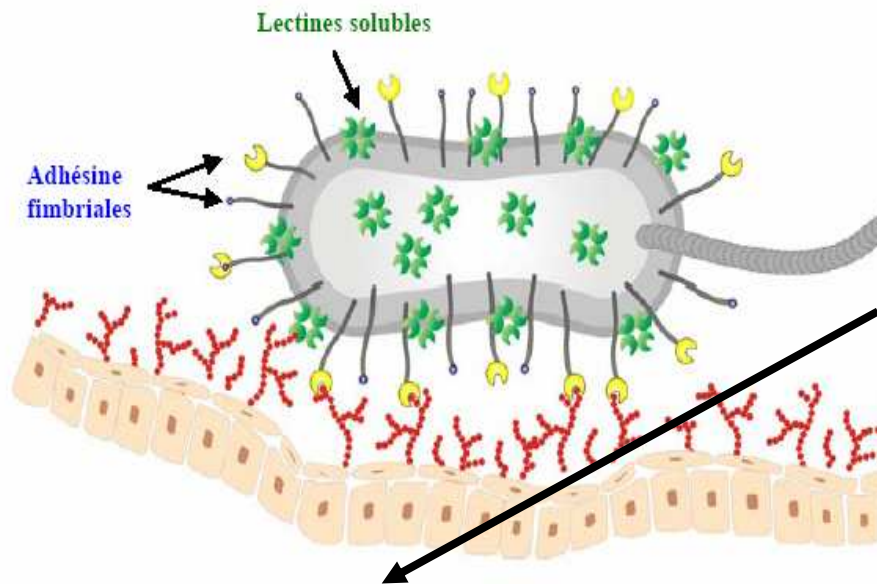
**Facteurs de virulence**

**Cytokines (LBA, sang...)**

# Role of LecA and LecB lectins in *Pseudomonas aeruginosa* induced lung injury and effect of carbohydrates ligands

Chanez Chemani<sup>1</sup>, Anne Imberty<sup>2</sup>, Sophie de Bentzman<sup>3</sup>, Maud Pierre<sup>1,4</sup>, Michaela Wimmerová<sup>5</sup>, Benoît P Guery<sup>1\*</sup>, and Karine Faure<sup>1\*</sup>

*Infection and Immunity* (révisé)



Co-instillation de sucre inhibiteur

Amélioration de la survie

↓ de la lésion pulmonaire

↑ clairance bactérienne pulmonaire

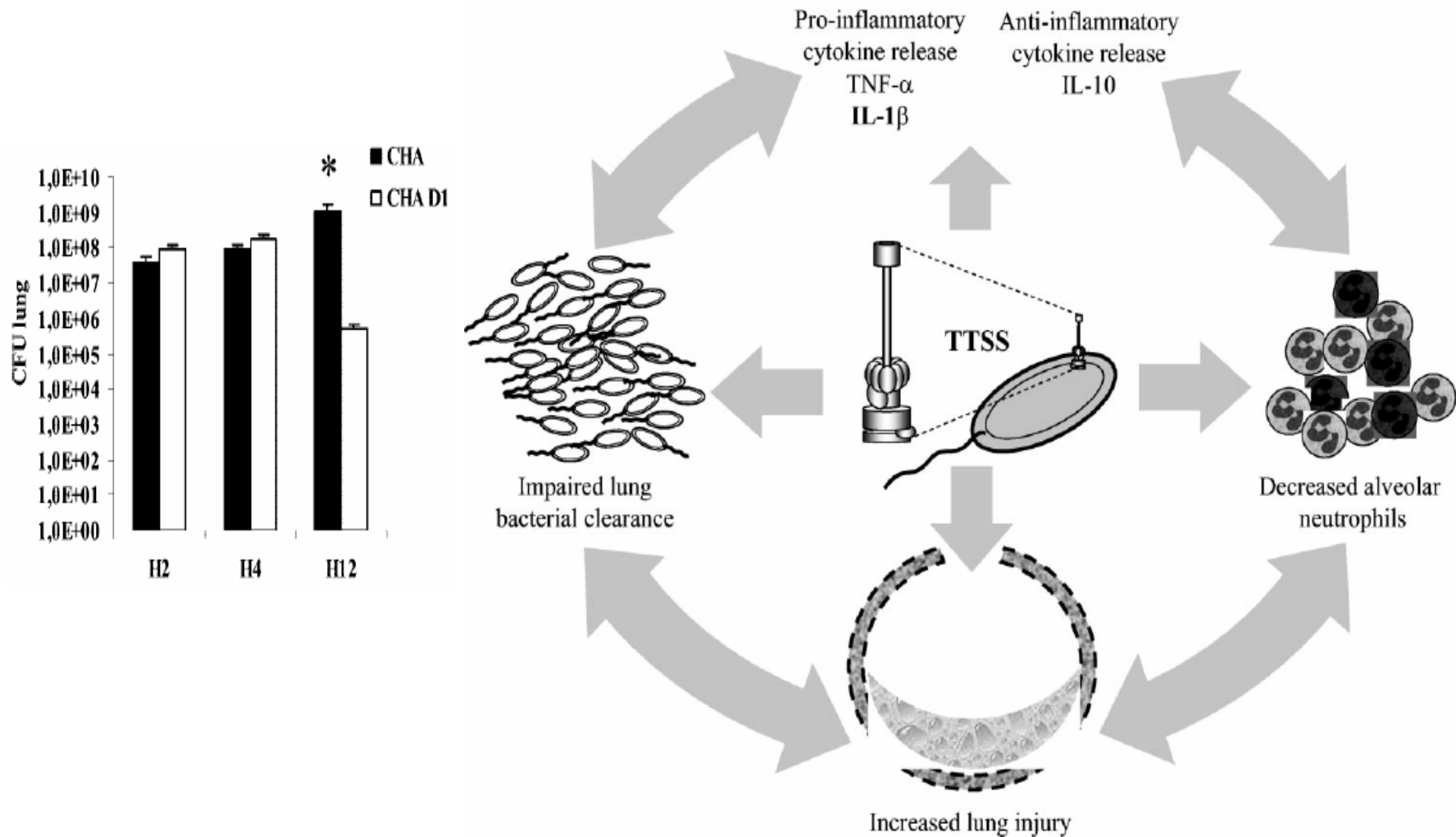
↓ translocation bactérienne pulmonaire

Complément ou alternative aux traitements antibiotiques?

# Alveolar Response to *Pseudomonas aeruginosa*: Role of the Type III Secretion System

F. Ader,<sup>1,2†</sup> R. Le Berre,<sup>1,3†</sup> K. Faure,<sup>1</sup> P. Gosset,<sup>4</sup> O. Epaulard,<sup>5</sup> B. Toussaint,<sup>5</sup> B. Polack,<sup>5</sup>  
 E. Nowak,<sup>6</sup> N. B. Viget,<sup>1</sup> E. Kipnis,<sup>7</sup> and B. P. Guery<sup>1\*</sup>

*Infection and Immunity* (2005)



# Therapeutic Administration of Anti-PcrV F(ab')<sub>2</sub> in Sepsis Associated with *Pseudomonas aeruginosa*<sup>1</sup>

J Immunol, 2001

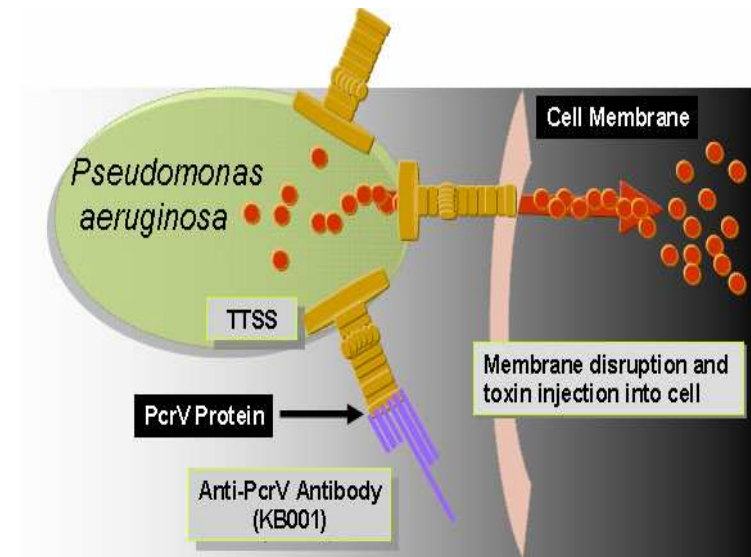
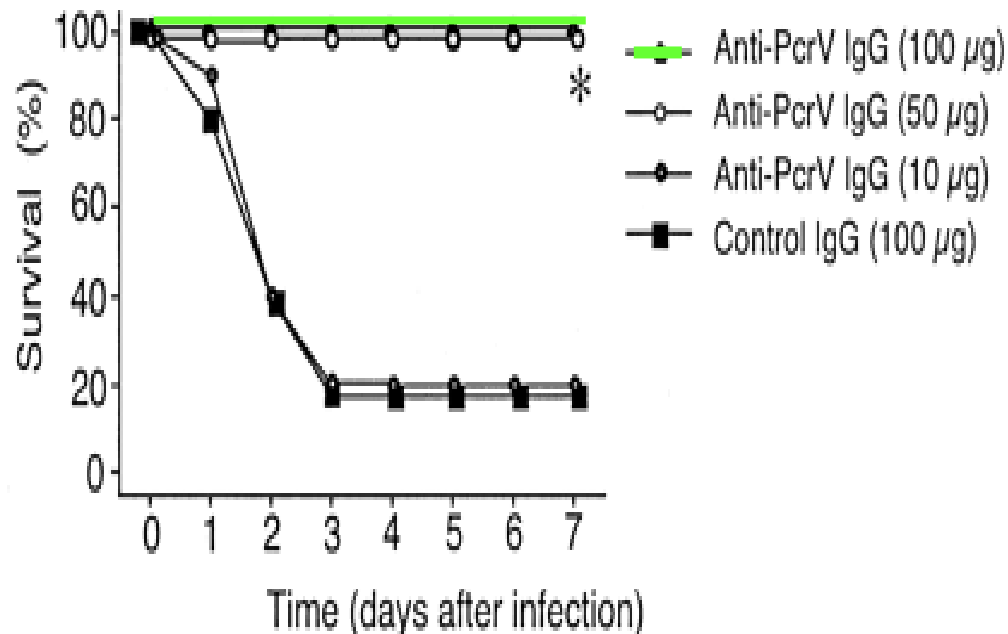
Nobuaki Shime,\*<sup>S</sup> Teiji Sawa,\* Junichi Fujimoto,\* Karine Faure,\* Leonard R. Allmond,\* Timur Karaca,\* Britta L. Swanson,\* Edward G. Spack,<sup>¶</sup> and Jeanine P. Wiener-Kronish<sup>2\*†‡</sup>

## Effects of monoclonal anti-PcrV antibody on *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury in a rat model

*Journal of Immune Based Therapies and Vaccines (2003)*

Karine Faure<sup>1,4</sup>, Junichi Fujimoto<sup>1,5</sup>, David W Shimabukuro<sup>1</sup>, Temitayo Ajayi<sup>1,3</sup>, Nobuaki Shime<sup>1,6</sup>, Kiyoshi Moriyama<sup>1</sup>, Edward G Spack<sup>7</sup>, Jeanine P Wiener-Kronish<sup>1,2,3</sup> and Teiji Sawa\*<sup>1</sup>

### b. Intravenous treatment 4 h after infection

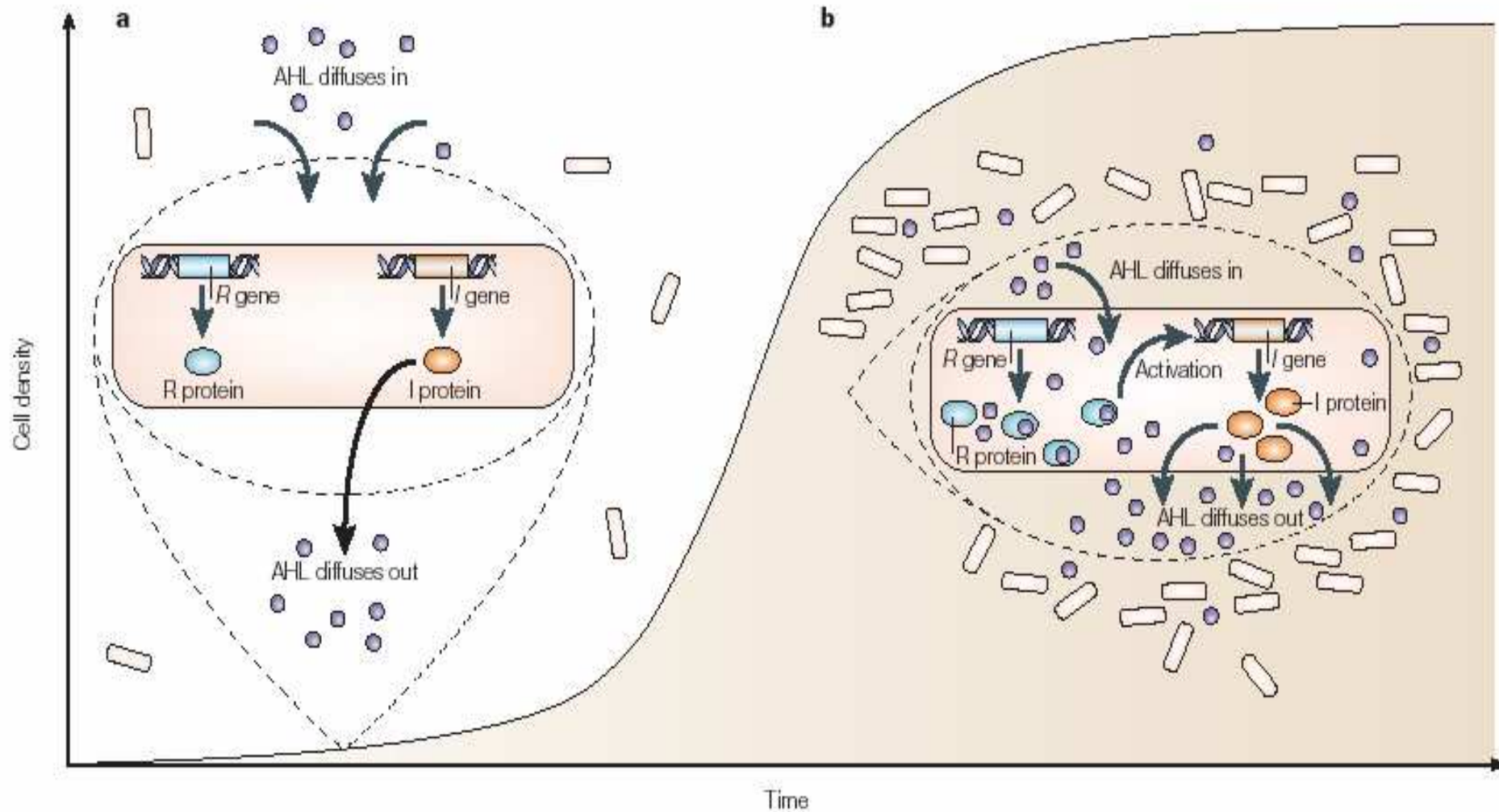


Essai clinique de phase II anti-PcrV recombinant humain pégylés chez les patients ventilés colonisés à PA

# Quorum-sensing activity and related virulence factor expression in clinically pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*

R. Le Berre<sup>1,2</sup>, S. Nguyen<sup>1</sup>, E. Nowak<sup>3</sup>, E. Kipnis<sup>1,4</sup>, M. Pierre<sup>1</sup>, F. Ader<sup>1</sup>, R. Courcol<sup>5</sup>, B. P. Guery<sup>1,6</sup>, K. Faure<sup>1,6</sup> and the Pyopneumagen Group

*Clinical Microbiology and Infection* (2008)

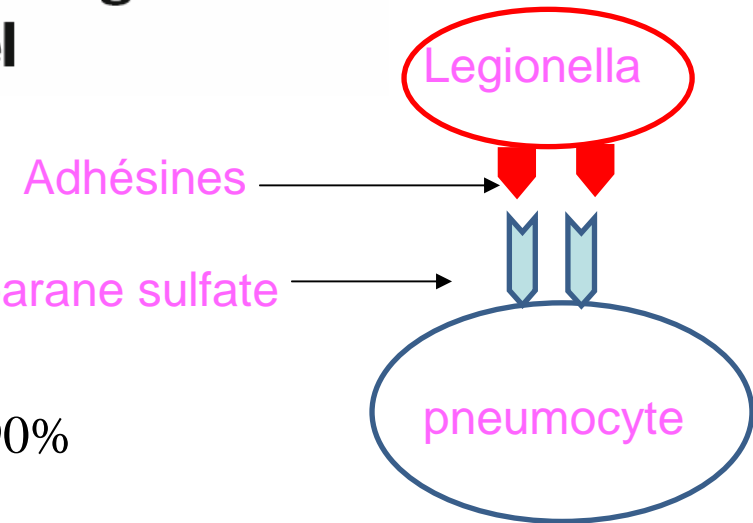




Florence Ader  
Rozenn Le Berre  
Rémi Fackeur  
Dominique Raze  
Franco Dante Menozzi  
Nathalie Viget  
Karine Faure  
Eric Kipnis  
Benoît Guery  
Sophie Jarraud  
Jerome Etienne  
Christian Chidiac

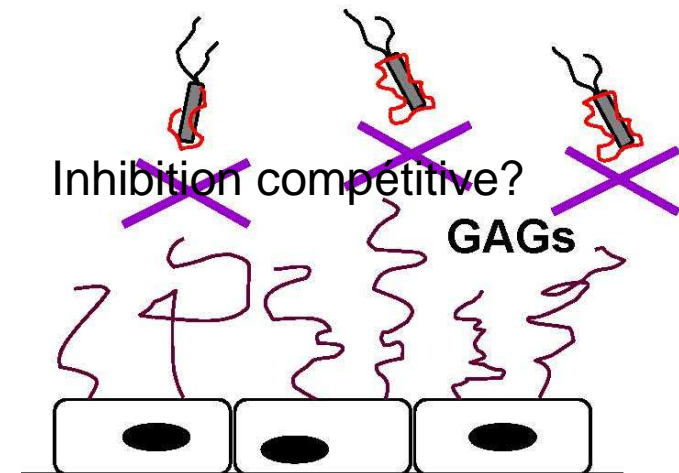
## In vivo effect of adhesion inhibitor heparin on *Legionella pneumophila* pathogenesis in a murine pneumonia model

Intensive Care Med, 2008



In vitro, héparine  $\rightarrow$   $\downarrow$  cytoadhérence 50 à 90%

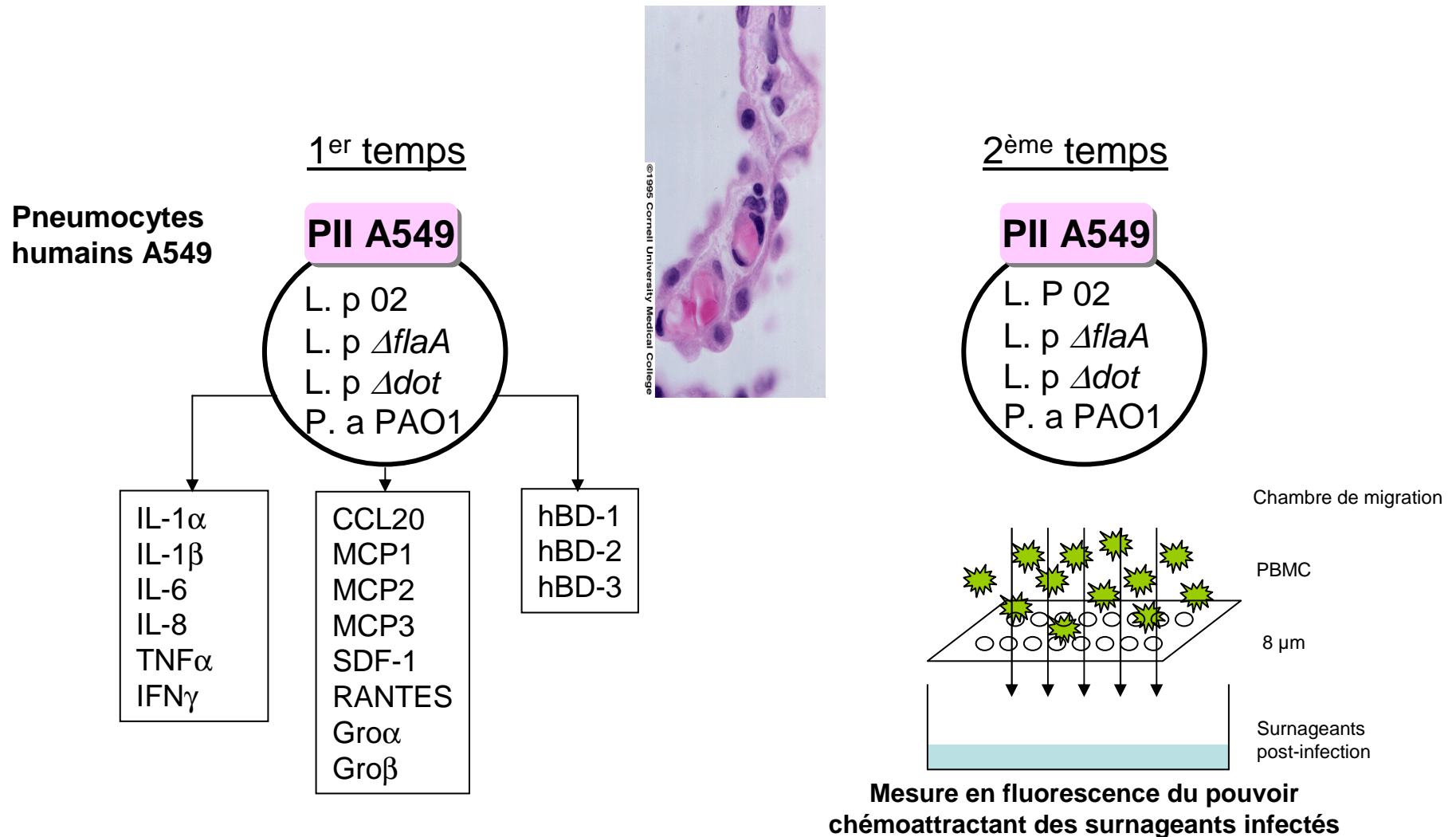
$\downarrow$  très significative de la lésion pulmonaire  
 $\downarrow$  dissémination bactérienne



caractérisation moléculaire du complexe Adhésine(s)  
bactériennes(s) – Récepteur polysaccharide sulfaté  
cellulaire

# Étude de la réponse épithéliale innée et inflammatoire alvéolaire à l'infection à *L. pneumophila* dans un modèle de barrière épithéliale respiratoire

Collaboration avec GIMAP EA3064 – UJM de Saint Etienne



# Evaluation de la pathogénicité de *Légionella* in vivo dans des conditions se rapprochant des conditions environnementales de mise en contact avec l'hôte

## Équipes 1, 2

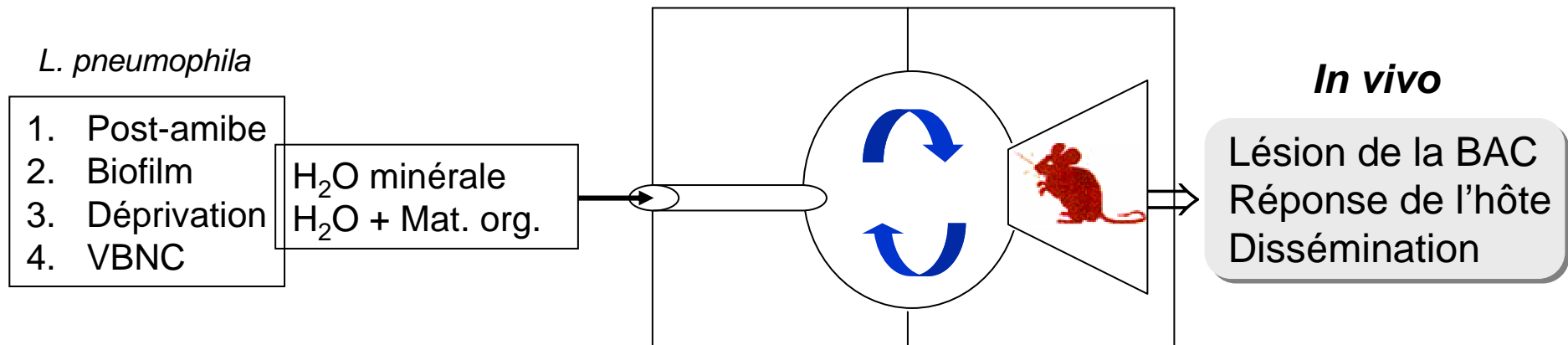
UMR CNRS 6008, Laboratoire de Chimie de l'Eau et de l'environnement, Poitiers  
Laboratoire D'Hydroclimatologie Médicale, EPHE, Nancy

## Équipe 3

Centre Scientifique et Technique du Bâtiment  
Marne La Vallée

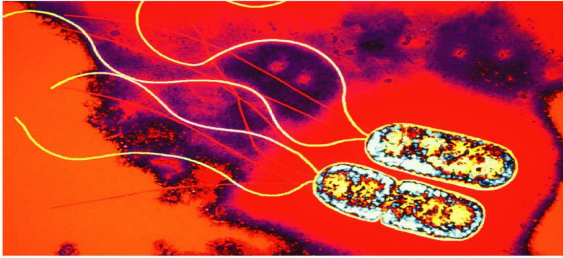
## Équipe 4

INSERM U851 – CNRL, Lyon



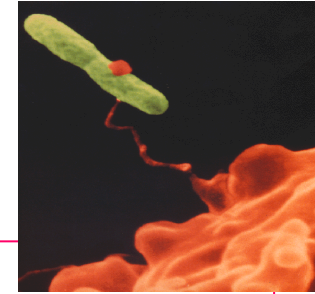
Financé par  
**ANR**

Unité de production et de maintien d'une  
**aérosol en suspension (72 h).**  
Paramètres contrôlés : hygrométrie, UV, T°



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

# Synthèse



- **Pseudomonas**

Facteurs de virulence  
adhésion  
système sécrétion III  
quorum sensing

Coinfection

Pseudomonas-Candida  
Pseudomonas-Burkholderia

Thérapeutique

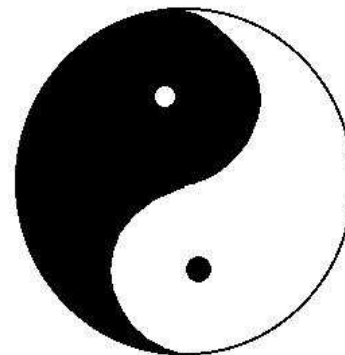
modulation du quorum sensing  
Ac anti-PcrV  
inhibiteur des lectines

- **Légionella**

Facteurs de virulence  
adhésion  
système sécrétion IV

Réponse innée épithéliale

Modulation de l'inoculation



# RECHERCHE CLINIQUE

Dépistage précoce de la primo-colonisation à *Pseudomonas aeruginosa* chez les patients atteints de mucoviscidose : apport de la PCR en temps réel

- Objectif principal : Etablir le gain de temps apporté par la PCR en temps réel associé à la culture par rapport à la culture seule pour le diagnostic de primo-colonisation à PA.
- Critère de jugement principal : gain de temps apporté par la PCR

PHRC interrégional

CHU Brest, CRCM Roscoff, CRCM Nantes

Investigateurs coordonateurs : R. Le Berre, G Héry-Arnaud

# Recherche clinique BPCO

- Léophonte P, Zuck P, Perronne C, Baconnet B Routine use of extended-release clarithromycin tablets for short-course treatment of acute exacerbations of non-severe COPD *Med Mal Infect.* 2008 Sep;38(9):471-6.
- Léophonte P, Zuck P, Perronne C Profile and management of patients consulting for a non severe exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (Pragma survey)] *Med Mal Infect.* 2008 Apr;38(4):200-7.
- Perronne C, Drugeon H, Zuck P, Filipecki J, Vincent-Lacaze N, Goldfarb G, Léophonte P. Efficacy and safety of extended-release clarithromycin (5-day short-course) vs telithromycin, in acute bacterial exacerbation of chronic bronchitis] *Med Mal Infect.* 2005 Oct;35(10):507-15.
- Petitpretz P, Choné C, Trémolières F; Investigator Study Group. Levofloxacin 500 mg once daily versus cefuroxime 250 mg twice daily in patients with acute exacerbations of chronic obstructive bronchitis: clinical efficacy and exacerbation-free interval. *Int J Antimicrob Agents.* 2007 Jul;30(1):52-9.
- Benhamou D, Zuck P, Piperno D, Tremolieres F; Groupe Investigateur. Efficacy and safety of telithromycin in the treatment of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease] *Med Mal Infect.* 2005 Sep;35(9):455-62
- Trémolières F, Mayaud C, Mouton Y, Weber P, Dellatolas F, Caulin E[Efficacy and safety of pristinamycin vs amoxicillin in community acquired pneumonia in adults] *Pathol Biol (Paris).* 2005 Oct-Nov;53(8-9):503-10
- Zuck P, Veyssier P, Brumpt I. Efficacy of levofloxacin in the treatment of acute exacerbation of chronic bronchitis in patients with risk factors.] *Rev Pneumol Clin.* 2004 Nov;60(5 Pt 1):269-77

# Soumission en cours

## AN EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* CARRIAGE IN OUTPATIENT ACUTE EXACERBATIONS OF CHRONIC BRONCHITIS (AECB)

Weber P,<sup>1</sup> Anzueto A,<sup>2</sup> Garau J,<sup>3</sup> Guillemot D,<sup>4</sup> Gaillat J,<sup>5</sup> Sethi S<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Bio VSM, Vaires-sur-Marne, France; <sup>2</sup>University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA; <sup>3</sup>Hospital Mutua de Terrassa, Terrassa, Spain; <sup>4</sup>Institut Pasteur and INSERM, Paris, France; <sup>5</sup>Hospital d'Annecy, Annecy, France; <sup>6</sup>University at Buffalo, State University of New York, Buffalo, NY, USA

ECCMID 2007

E-poster : E1386



### Impact of telithromycin (T), azithromycin (A) and cefuroxime axetil (C) on the carriage of resistant *Streptococcus pneumoniae* in patients with acute exacerbation of chronic bronchitis (AECB)

Authors : Gaillat J (Hospital d'Annecy, Annecy, France), Garau J (Hospital Mutua de Terrassa, Terrassa, Spain), Sethi S (University at Buffalo, Buffalo, NY, USA), Anzueto A (University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX, USA), Guillemot D (Pasteur Institute, Paris, France), Weber P (BioVSM, Vaires-sur-Marne, France)

# Les axes à développer

## *Suite au consensus de 2006*

- *Haemophilus* et BPCO : relation avec l'évolution fonctionnelle et inflammation
- *Pseudomonas aeruginosa* : BPCO et DDB, traitement primo-infection, séquentiels, rôle des macrolides et des aérosols



# Prévention des infections à pneumocoque : épidémiologie

- CNR et réseaux régionaux collecte de souches aucun élément clinique, épidémiologie des résistances et sérotypes
- infections invasives (Epibac INVS)
- Gaillat J Epidemiology of systemic Streptococcus pneumoniae infections. Presse Med. 1998 May;27 Suppl 1:9-16.
- Pourquoi ne pas faire un réseau type CAPNETZ en Allemagne

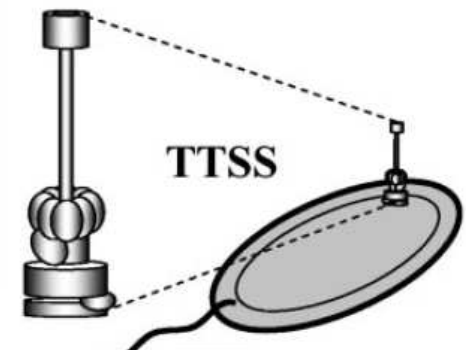
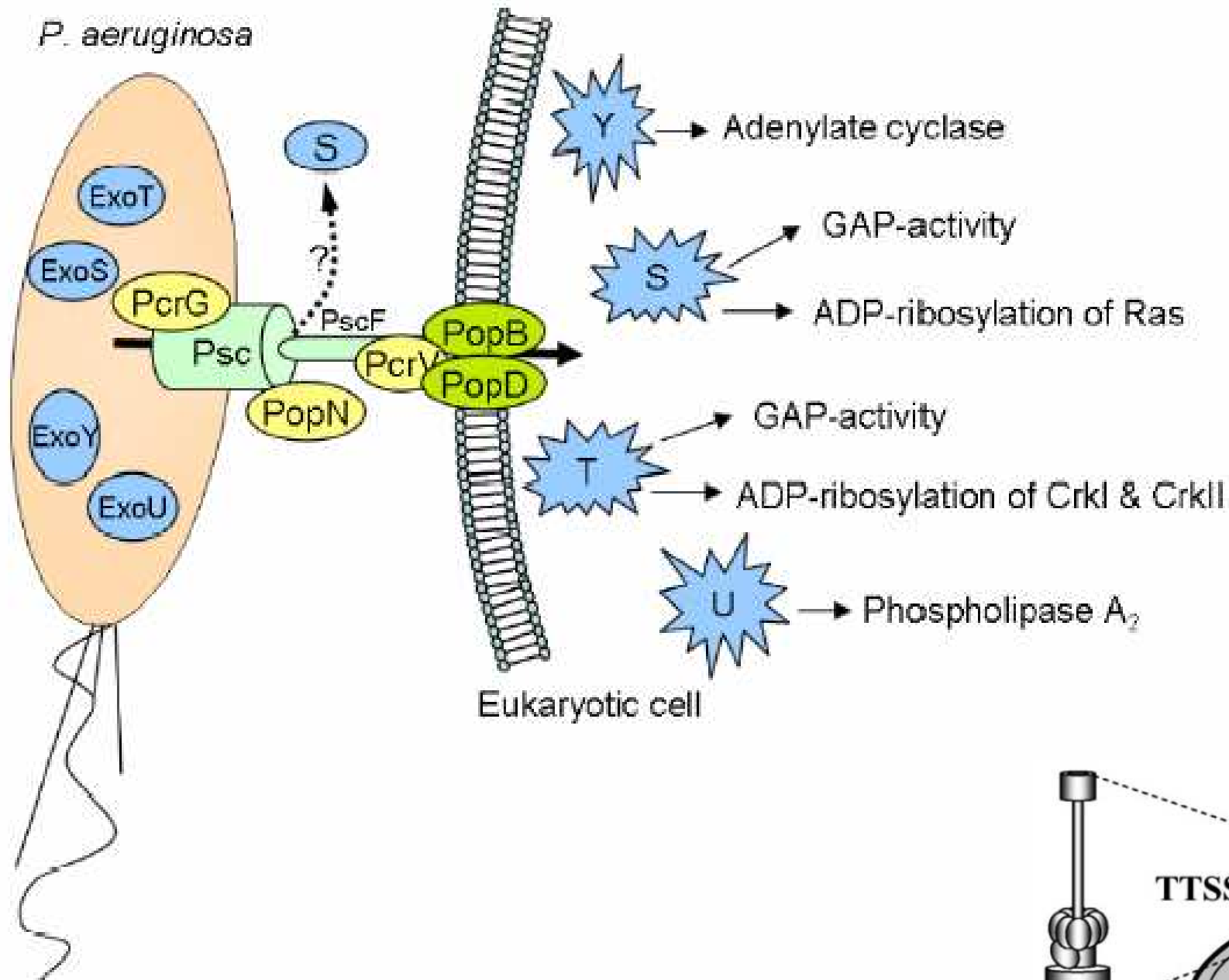
# Prévention vaccinale pneumocoque

- Cornu C, Yzèbe D, Léophonte P, Gaillat J, Boissel JP, Cucherat M Efficacy of pneumococcal polysaccharide vaccine in immunocompetent adults: a meta-analysis of randomized trials. *Vaccine*. 2001 Sep 14;19(32):4780-90.
- *Ament A, Baltussen R, Duru G, Rigaud-Bully C, de Graeve D, Ortqvist A, Jönsson B, Verhaegen J, Gaillat J, Christie P, Cifre AS, Vivas D, Loiseau C, Fedson DS. Cost-effectiveness of pneumococcal vaccination of older people: a study in 5 western European countries. Clin Infect Dis. 2000 Aug;31(2):444-50. Epub 2000 Sep 5*
- *Gaillat J, Zmirou D, Mallaret MR, Rouhan D, Bru JP, Stahl JP, Delormas P, Micoud M. Clinical trial of an antipneumococcal vaccine in elderly subjects living in institutions] Rev Epidemiol Sante Publique. 1985;33(6):437-44*

# Projets

- Controverses multiples sur le vaccin polysaccharidique
- Le vaccin conjugué : étude prospective, 85 000 personnes > 65 ans (Julius Center for Health Sciences and Primary Care at the University Medical Center Utrecht in the Netherlands; Wyeth)
- Groupe SPILF-SFG en constitution avec projets en relation avec groupe prévention SPILF: propositions études en EHPAD

*P. aeruginosa*



## **Partie 2**

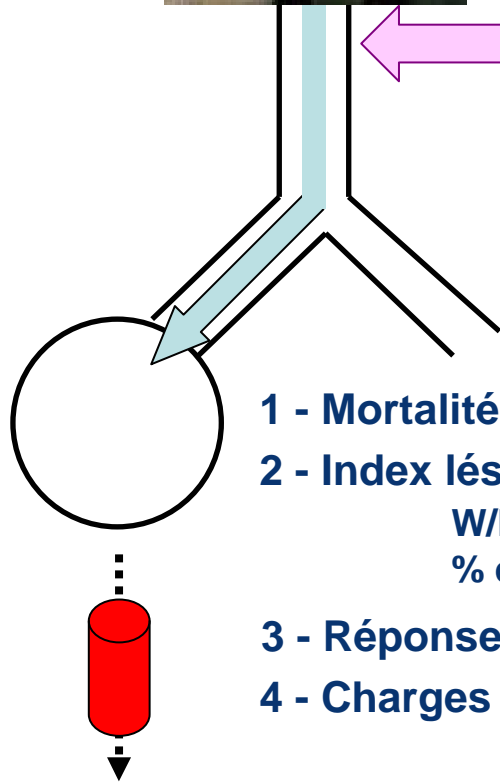
**Étude de la cytoadhérence *in vivo* de *L. pneumophila* à l'épithélium respiratoire**

# Schéma expérimental



*L. pneumophila* Lens  
± 1 dose unitaire héparine 100 µg/mL

Groupe contrôle : PBS ± héparine



1 - Mortalité J7 dose infectieuse ( $10^6$ ) vs létale ( $10^8$ )

2 - Index lésionnels de la BAC :

W/D ratio

% de perméabilité à Alb-I<sup>125</sup>

3 - Réponse de l'hôte: cytokines pro-inflammatoires LBA

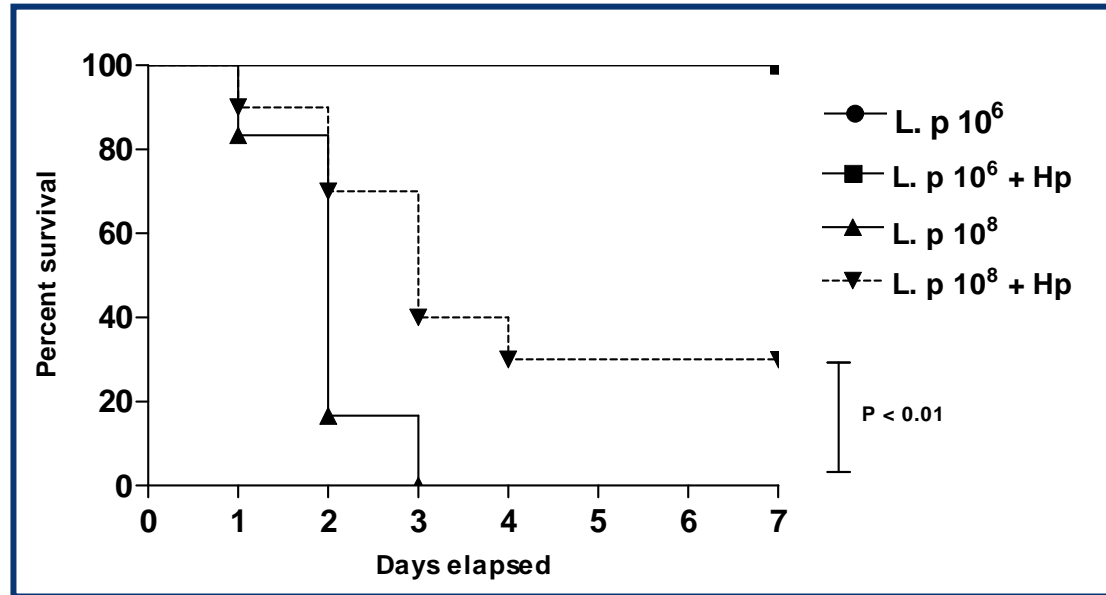
4 - Charges bactériennes pulmonaires

5 - Dissémination: charges bactériennes HC, rate, foie, rein, cerveau

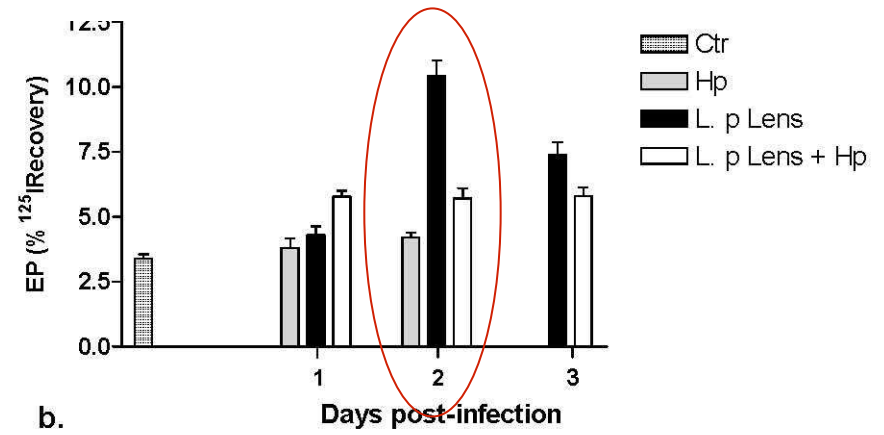
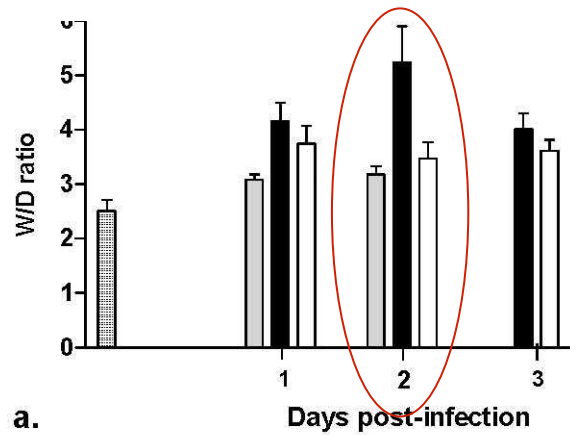
T0  
H24  
H48

# Résultats

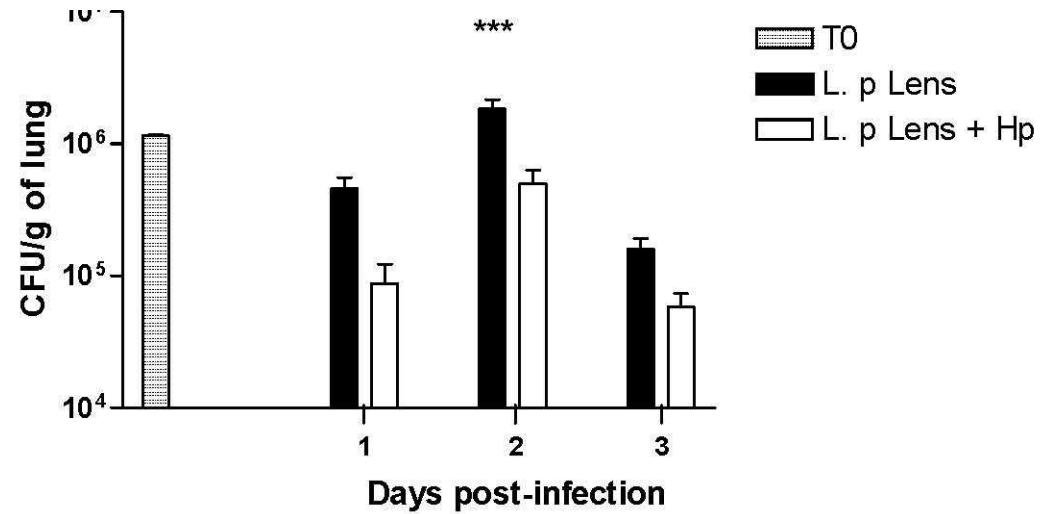
## Mortalité



## Lésion de la BAC



## Charges bactériennes pulmonaires



## Dissémination organes cibles

	Blood			Liver			Kidneys			Spleen			Brain		
	Positive culture(s) /n	%	<i>P</i>	Positive culture(s) /n	%	<i>P</i>	Positive culture(s) /n	%	<i>P</i>	Positive culture(s) /n	%	<i>P</i>	Positive culture(s) /n	%	<i>P</i>
Day 1 L. p Lens	6/20	30		10/20	50		5/18	28		6/18	33		5/18	28	
L. p Lens + Hp	3/20	15	.25	3/10	30	.29	3/10	30	.9	4/10	40	.72	0/10	0	.04
Day 2 L. p Lens	10/20	50		13/15	87		12/15	80		12/17	71		7/15	47	
L. p Lens + Hp	1/25	4	.0003	2/10	20	.0008	1/10	10	.0006	3/10	30	.04	0/10	0	.01



# Au total

Effet « **protecteur** » polysaccharide sulfaté *in vivo* sur la BAC

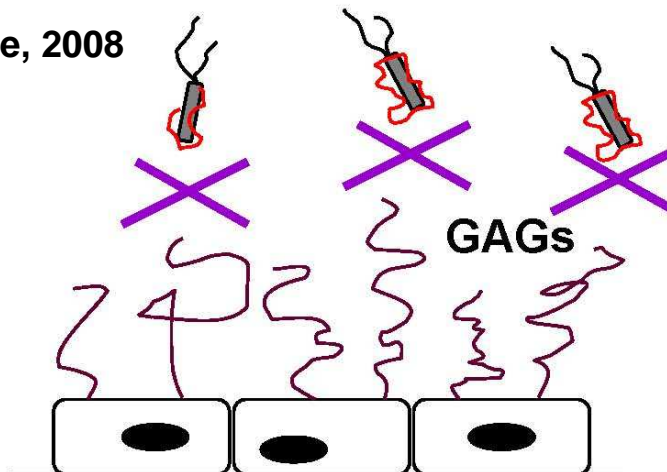
Diminution mortalité et > 50 % lésion pulmonaire  
Augmentation de la clairance bactérienne pulmonaire  
Diminution drastique de la translocation bactérienne  
Réponse inflammatoire alvéolaire de type Th1 accrue

Mécanisme probable : **inhibition compétitive**

Argument indirect fort pour conforter l'hypothèse d'une liaison d'une **adhésine** de *L. pneumophila*  
**GAGs** des pneumocytes

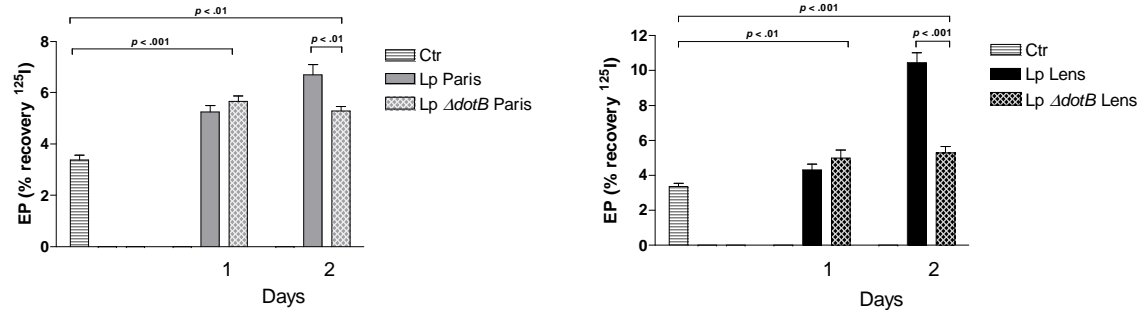
Étape suivante : caractérisation moléculaire adhésine(s)

Ader et al. Intensive Care Medecine, 2008



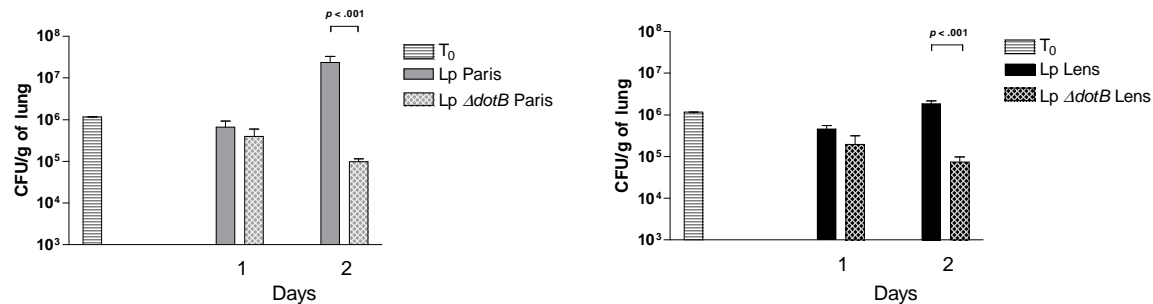


## le système Dot/Icm est un facteur de virulence activement impliqué dans la pathogénèse de *L. pneumophila*



associé à l'intensité de la lésion de la BAC

Mutant ΔdotB induit une lésion pulmonaire significative / témoin



associé à la multiplication dans le parenchyme pulmonaire

associé à la dissémination systémique de l'infection