

*Deutsche Version (siehe unten)**Version française (ci-dessous)***Lay Summary**

Project title	Towards the development of cryo-electron tomography as diagnostic tool for recurrent urinary tract infections
Main applicant	Dr. Gregor Weiss, ETH Zürich
Consortium	PD Dr. med. Johannes Trüch, University Children's Hospital Zürich Prof. Martin Pilhofer, ETH Zürich
Short Summary	Urinary tract infections (UTIs) are among the most common bacterial infections and about 25% of patients experience a recurrent UTI. The vast majority of UTIs are caused by uropathogenic <i>E. coli</i> , which can proliferate in the bladder lumen but are also capable to form intracellular bacterial communities (IBCs) within the cytoplasm of infected urothelial cells. These IBCs exhibit biofilm-like properties, protecting the pathogen from host defenses and antibiotics. IBCs are a potential cause of recurrent UTIs, but a fundamental understanding of IBC architecture is missing. This iDoc projects aims to develop cryo-electron tomography as diagnostic tool for direct analysis of IBCs in exfoliated urothelial cells from patients with acute UTIs. The results will identify new virulence factors which will guide us to new treatment strategies against recurrent UTIs.
Background	Urinary tract infections (UTIs) are among the most common bacterial infections in humans. Besides being generally considered to be extracellular infections, they are often incompletely resolved. About 25% of patients experience a recurrent UTI and the resulting repetitive administration of antibiotics contributed to higher antibiotic resistance rates in uropathogens. Up to 90% of UTIs are caused by uropathogenic <i>E. coli</i> (UPEC), which can proliferate in the bladder lumen but are also capable of invading uroepithelial cells where they form intracellular bacterial communities (IBCs). These IBCs exhibit biofilm-like properties, protecting the pathogen from host defenses and antibiotics, and IBCs are a potential cause for the development of recurrent UTIs. A fundamental understanding of the underlying cellular processes during IBC formation is still missing, hence preventing the development of targeted and personalized treatment strategies.
Goal	This iDoc project aims to develop cryo-electron tomography (cryoET) as diagnostic tool for direct analysis of IBCs in exfoliated uroepithelial cells from patients with acute UTIs. CryoET enables macromolecular insights into infected patient cells, allowing the dissection of IBC ultrastructure at unprecedented resolution. We will establish workflows for processing exfoliated uroepithelial cells from patient urine for subsequent cryoET imaging. This will help to discover new virulence factors involved in IBC



	<p>formation by an integrative analysis of cryoET data with complementary techniques. The established workflow will be subsequently used to compare IBCs in individual patients.</p>
Significance	<p>The alarming increase of multidrug resistant uropathogens reinforces the urgent need for a fundamental and detailed understanding of the molecular and cellular processes causing recurrent UTIs in patients. The lack of knowledge prevents the development of more targeted and personalized treatments. Our approach will provide pivotal insights in IBC architecture and it will further allow to discover novel virulence factors guiding us to new and personalized treatment strategies against UTIs.</p>

**Deutsch**

Projekttitle	Kryo-Elektronentomographie als diagnostische Methode für wiederkehrende Harnwegsinfektionen
Hauptgesuchsteller	Dr. Gregor Weiss, ETH Zürich
Konsortium	PD Dr. med. Johannes Trüch, Kinderspital Zürich Prof. Martin Pilhofer, ETH Zürich
Kurzzusammenfassung	Harnwegsinfektionen gehören zu den häufigsten bakteriellen Infektionen und etwa 25% der Patienten leiden unter wiederkehrenden Harnwegsinfektionen. Bis zu 90% der Infektionen werden durch uropathogene <i>E. coli</i> verursacht. Diese vermehren sich im Blasenlumen, können aber auch Urothelzellen infizieren, um dort intrazelluläre bakterielle Gemeinschaften (IBCs) zu bilden. Diese IBCs weisen Eigenschaften von Biofilmen auf und schützen so den Erreger vor einer Immunabwehr oder Antibiotika. IBCs sind eine potenzielle Ursache für wiederkehrende Harnwegsinfektionen, aber es fehlt ein grundlegendes Verständnis der IBC-Architektur. In diesem Projekt entwickeln wir Methoden, um mittels Kryo-Elektronentomographie IBCs in exfolierten Urothelzellen zu analysieren und somit neue Virulenzfaktoren zu identifizieren. Die Resultate werden helfen neue Behandlungsstrategien gegen wiederkehrende Harnwegsinfektionen zu finden.
Hintergrund	Harnwegsinfektionen gehören zu den häufigsten bakteriellen Infektionen des Menschen. Abgesehen davon, dass sie im Allgemeinen als extrazelluläre Infektionen angesehen werden, treten bei 25 % der Patienten wiederkehrenden Harnwegsinfektion auf. Die daraus resultierende wiederholte Verabreichung von Antibiotika trug zu höheren Antibiotikaresistenzraten bei Uropathogenen bei. Bis zu 90% der Harnwegsinfektionen werden durch uropathogene <i>E. coli</i> (UPEC) verursacht, die sich im Blasenlumen vermehren können, aber auch Urothelzellen infizieren können, wo sie intrazelluläre bakterielle Gemeinschaften (IBCs) bilden. Diese IBCs weisen biofilmähnliche Eigenschaften auf, die den Erreger vor Wirtsabwehr und Antibiotika schützen, wodurch IBCs sind eine potenzielle Ursache für die Entwicklung wiederkehrender Harnwegsinfektionen sind. Ein grundlegendes Verständnis der zugrundeliegenden zellulären Prozesse während der IBC-Bildung fehlt, was die Entwicklung gezielter und personalisierter Behandlungsstrategien verhindert.
Ziel	Dieses iDoc-Projekt zielt darauf ab, die Kryo-Elektronentomographie (cryoET) als diagnostisches Werkzeug für die direkte Analyse von IBCs in exfolierten Uroepithelzellen zu entwickeln. cryoET ermöglicht makromolekulare Einblicke in infizierte Patientenzellen und erlaubt die Visualisierung der IBC-Ultrastruktur mit beispielloser Auflösung. Wir werden Abläufe für die Aufbereitung von exfolierten Uroepithelzellen aus Patienten-Urin etablieren, um anschliessende cryoET-Analysen zu ermöglichen. Dies wird dazu beitragen, neue Virulenzfaktoren zu entdecken, die an der IBC-Bildung beteiligt sind.



Bedeutung	Die alarmierende Zunahme multiresistenter uropathogener Bakterien verstärkt den dringenden Bedarf an einem grundlegenden und detaillierten Verständnis der molekularen und zellulären Prozesse, die bei Patienten zu wiederkehrenden Harnwegsinfektionen führen. Diese Wissenslücke verhindert die Entwicklung gezielterer und personalisierter Therapien. Unser Ansatz wird entscheidende Einblicke in die IBC-Architektur liefern und es ausserdem ermöglichen, neue Virulenzfaktoren zu entdecken, die zu neuen und personalisierten Behandlungsstrategien gegen Harnwegsinfektionen führen.
------------------	---

**Français**

Titre du projet	Vers la cryo-électrotomographie en tant que méthode de diagnostic dans les infections récurrentes des voies urinaires
Requérant principal	Dr. Gregor Weiss, ETH Zürich
Consortium	PD Dr. med. Johannes Trüch, Kinderspital Zürich Prof. Martin Pilhofer, ETH Zürich
Résumé	<p>Les infections des voies urinaires font parties des infections bactérielles les plus fréquentes et environ 25% des patients souffrent d'infections urinaires récurrentes. Jusqu'à 90% de ces infections sont causées par les <i>E. coli</i> uropathogènes. Ces germes se reproduisent dans la vessie mais ils peuvent aussi infecter des cellules urothéliales et y former des communautés bactériennes intracellulaires (IBCs). Ces IBCs présentent des propriétés de biofilms et protègent ainsi les agents pathogènes contre les antibiotiques ou les défenses immunitaires. Les IBCs sont une cause potentielle des infections urinaires récurrentes, mais il nous manque une compréhension de base de l'architecture des IBC. Dans ce projet, nous mettons au point des méthodes permettant d'analyser des IBCs dans des cellules urothéliales exfoliées au moyen de la cryo-électrotomographie, et donc d'identifier de nouveaux facteurs de virulence. Les résultats aideront à découvrir de nouvelles stratégies de traitement contre les infections urinaires récurrentes.</p>
Contexte	<p>Les infections des voies urinaires font parties des infections bactérielles les plus fréquentes chez les humains. En dehors du fait qu'on les considère en général comme des infections extracellulaires, 25% des patients présentent des infections urinaires récurrentes. Les traitements antibiotiques qui en découlent ont provoqué un taux élevé de résistance aux antibiotiques chez les bactéries uropathogènes. Jusqu'à 90% de ces infections sont causées par les <i>E. coli</i> uropathogènes (UPEC). Ces germes se reproduisent dans la vessie mais ils peuvent aussi infecter des cellules urothéliales et y former des communautés bactériennes intracellulaires (IBCs). Ces IBCs présentent des propriétés de biofilms et protègent ainsi les agents pathogènes contre les antibiotiques ou les défenses immunitaires. Les IBCs sont une cause potentielle des infections urinaires récurrentes. Il nous manque une compréhension de base des processus cellulaires lors de la formation des IBCs, ce qui entrave la mise au point de stratégies de traitement plus personnalisées et plus ciblées.</p>
But	<p>Le but de ce projet iDoc est de développer la cryo-électrotomographie (cryoET) en tant qu'outil de diagnostic pour analyser directement les IBCs dans des cellules uroépithéliales extrafoliées. CryoET permet une étude macromoléculaire dans des cellules de patients infectés et rend possible la visualisation de l'ultra-structure IBC avec une résolution sans égale. Nous établirons les déroulements pour la préparation des cellules uroépithéliales extrafoliées tirées de l'urine des patients pour permettre les analyses cryoET. Cela aidera à découvrir de nouveaux facteurs de virulence jouant un rôle dans la formation des IBC.</p>



Importance	<p>L'augmentation alarmante des bactéries uropathogènes multirésistantes renforce le besoin urgent d'une compréhension de base et détaillée des processus moléculaires et cellulaires qui conduisent à des infections urinaires récurrentes chez les patients. Ces lacunes de connaissances empêchent la mise au point de thérapies ciblées et personnalisées. Notre principe fournira des aperçus décisifs dans l'architecture IBC ce qui aidera à découvrir de nouveaux facteurs de virulence, rendant possible la mise au point de stratégies de traitement nouvelles et personnalisées contre les infections des voies urinaires.</p>
-------------------	---