كلية الطب بصفاقس

FACULTE DE MEDECINE DE SFAX

PCEM2

UEF 207

« De l'agression à la défense » :

Histologie
Immunologie fondamentale
Bactériologie
Virologie
Parasitologie
Sémiologie infectieuse

Année universitaire : 2025 – 2026

SOMMAIRE

HISTOLOGIE
-Système lymphoïde 2
-Système tégumentaire 24

IMMUNOLOGIE FONDAMENTALE
Introduction : historique, généralités 50
Les antigens 56
Cellules de l'immunité non spécifique 67
Le complément 87
Les immunoglobulins 106
Récepteur pour l'antigène du lymphocyte T 139
Les lymphocytes B et T : cellules de l'immunité spécifique 148
Le système HLA : complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme 178
Les cytokines 193
Molécules d'adhésion et migration leucocytaire 207
La réponse immunitaire à médiation cellulaire 217
Immunité à médiation humorale 226
Les réactions d'hypersensibilité 239
Tolérance immunitaire 261
Régulation des réponses immunitaires 271
Immunité anti-infectieuse 285
La réaction antigène-anticorps 298

BACTERIOLOGIE GENERALE
Le monde microbien 306
Cellule bactérienne : étude anatomique et structurale 312
Nomenclature et classification des bactéries 324
Nutrition et croissance bactérienne 327
Bacteriophages 337
Génétique bactérienne 341
Interactions bactérie-hôte 352

VIROLOGIE GENERALE
Structure, nomenclature et classification des virus 366
Interactions virus-hôte 376
Variabilité génétique des virus 394

COURS INTEGRE BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
Epidémiologie des maladies infectieuses bactériennes et virales 403
Moyens de prévention des maladies infectieuses 413

PARASITOLOGIE GENERALE
Le monde parasitaire et fongique 425
Hyperéosinophilie d'origine parasitaire 449

SEMIOLOGIE INFECTIEUSE 457

1-HISTOLOGIE

HISTOLOGIE DU SYSTEME LYMPHOIDE

Dr Maha CHABCHOUB

Objectifs éducationnels

1. Citer les différents modes de répartition de tissu lymphoïde dans l'organisme.
2. Reconnaitre la classification des organes lymphoïdes.
3. Reconnaitre les caractéristiques architecturales et structurales du parenchyme thymique.
4. Décrire les relations morphologiques et fonctionnelles entre la charpente épithéliale et la population cellulaire lymphoïde thymique.
5. Décrire les caractéristiques structurales du ganglion lymphatique.
6. Décrire les caractéristiques structurales du follicule lymphoïde primaire et secondaire.
7. Reconnaitre sur le plan histophysiologique les modalités d'intervention du ganglion lymphatique dans la réaction immunitaire.
8. Décrire l'organisation de la vascularisation de la rate.
9. Reconnaitre les caractéristiques architecturales et structurales de la pulpe blanche et la pulpe rouge spléniques.
10. Reconnaitre les différentes fonctions de la rate.
11. Décrire les caractéristiques structurales des formations lymphoïdes associées aux muqueuses.

I/INTRODUCTION :

Le système lymphoïde est l'ensemble des cellules capables d'identifier une molécule ou un organisme vivant comme étranger ou un antigène et de mettre en œuvre différents mécanismes capables de le détruire ou d'inhiber son action.

Le système lymphoïde assure l'immunité innée ou naturelle et l'immunité spécifique qui peut être à médiation humorale ou cellulaire.

Les lymphocytes sont les cellules fondamentales du système lymphoïde. Ils peuvent se regrouper en amas structurés : les follicules ou les nodules lymphoïdes. Ils représentent l'unité élémentaire de l'organisation lymphoïde. Ils se retrouvent, isolés, au sein du tissu conjonctif lâche de nombreux organes notamment dans le chorion du tractus digestif, du tractus respiratoire et des conduits urinaires. Ces follicules peuvent se regrouper constituant des agglomérations telles que par exemple les plaques de Peyer de l'iléon.

Les organes lymphoïdes comportent un système lymphatique et sanguin qui permet une circulation cellulaire interne et assure une distribution ubiquitaire des cellules impliquées dans les réponses immunitaires. Le système lymphoïde comprend donc un contingent de cellules fixes formant la trame des différents organes et voies de circulation et un contingent de cellules mobiles qui assurent le transport de l'information et l'intervention à distance (Figure 1).

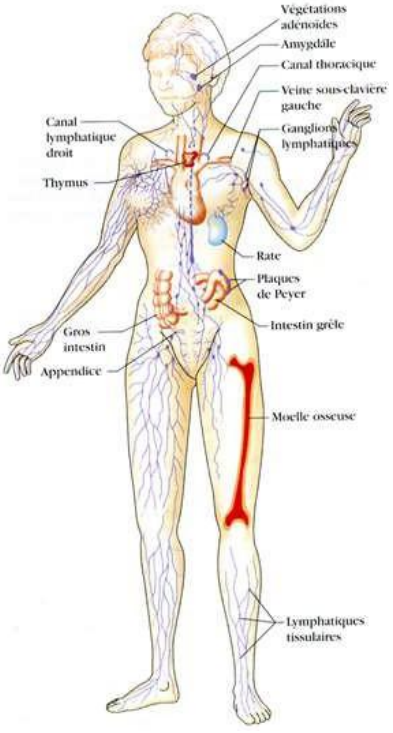


Figure 1 : système lymphoïde de l'organisme

Tous les organes ou tissus lymphoïdes, à l'exception du thymus, sont formés d'un tissu réticulé qui héberge de nombreuses cellules. Le tissu réticulé constitue une charpente faite de fibres de réticuline formant un réseau à mailles inégales.Les cellules réticulaires qui ont synthétisé ces fibres sont étoilées et ont des prolongements grêles. Elles sont étroitement appliquées à ces fibres. Dans les mailles de ce tissu réticulé se disposent les éléments cellulaires libres : cellules lymphoïdes, plasmocytes, macrophages, parfois granulocytes et même hématies et plaquettes.

Dans tous les organes lymphoïdes, les cellules stromales jouent un rôle important dans la différenciation et la maturation des précurseurs et/ou dans le développement et le maintien des fonctions des cellules matures.

C'est dans les organes lymphoïdes primaires que les lymphocytes acquièrent leur répertoire de reconnaissance de l'antigène et apprennent à distinguer le soi du non soi. Tandis que c'est dans les organes lymphoïdes secondaires que les lymphocytes B et T interagissent entre eux et avec l'antigène (Ag).

- Les organes lymphoïdes centraux ou primaires qui assurent la multiplication et la différenciation des cellules souches et ce, indépendamment de tout contact antigénique ; Les organes lymphoïdes primaires sont le thymus, lieu de la différenciation des lymphocytes T ; et la moelle osseuse, lieu de différenciation des lymphocytes B chez les mammifères (équivalent de la bourse de Fabricius chez les oiseaux).
- Les organes lymphoïdes périphériques ou secondaires qui reçoivent des précédents des cellules lymphoïdes différenciées. Ils sont le siège de la réponse immune antigène dépendante. Les organes lymphoïdes secondaires sont la rate, les ganglions lymphatiques et le tissu lymphatique associé aux muqueuses ou MALT.

II/ <u>THYMUS :</u>

Le thymus est l'organe lymphoïde central de l'immunité cellulaire. C'est un organe aplati bilobé situé en arrière du manubrium sternal à la partie supérieure du médiastin, au-dessus du cœur et de la crosse de l'aorte (Figure 2).

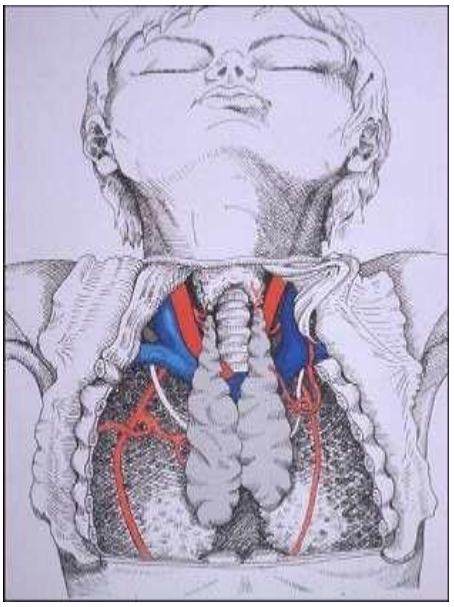


Figure 2 : Anatomie du thymus

Le thymus est le lieu de la différenciation des lymphocytes T à partir des cellules souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse. Son développement est indépendant des stimulations antigéniques.

C'est un organe lympho-épithélial issu d'une ébauche provenant des 3ème et 4ème poches endodermiques pharyngiennes. L'ébauche thymique épithéliale (d'origine endodermique) est pénétrée par des cellules souches lymphoïdes qui proviennent successivement du sac vitellin, du foie fœtal (6 - 7ème semaine au 7ème mois de la grossesse) et de la moelle osseuse (à partir du 4ème mois). Après la naissance, la moelle osseuse est l'unique source de cellules souches lymphoïdes. L'ébauche du thymus est commune avec celle des glandes parathyroïdes, ce qui explique la symptomatologie du syndrome de DiGeorge (ou dysplasie thymique congénitale) marquée par une hypocalcémie rebelle dès les 24 - 48 premières heures de la vie.

1/ <u>Organisation générale :</u>

Le thymus est constitué de deux lobes, en forme de pyramides réunies par leur face interne. Chaque lobe est entouré par une fine capsule conjonctive qui envoie des septas incomplets divisant le thymus en lobules incomplets.Le lobule est l'unité morpho-fonctionnelle du thymus.

En microscopie optique, on distingue deux zones :

Une zone corticale, le cortex thymique en périphérie des lobules, qui apparait dense et très coloré. Elle est très riche en cellules (Figure 3).

Une zone médullaire centrale non cloisonnée commune à tous les lobules. Elle apparait beaucoup plus claire car elle est pauvre en cellules. Elle est parsemée de petites formations arrondies ou ovalaires, éosinophiles, formées de cellules imbriquées en bulbe d'oignon qui sont le siège d'un processus de kératinisation : les corpuscules de HASSAL (Figure 3).

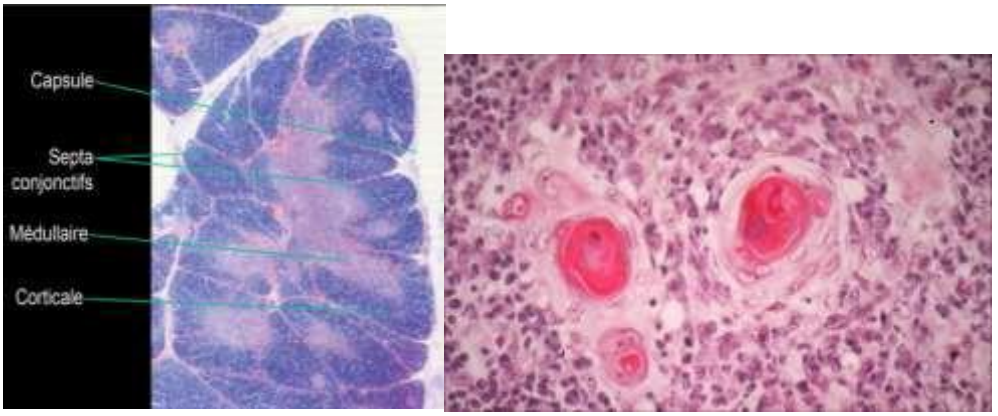


Figure 3 :A droite : coupe histologique du thymus en microscopie optique, à gauche : corpuscule de Hassall

2/ Structure :

Le stroma thymique est essentiellement constitué par des cellules épithéliales corticales et médullaires (d'origine endodermique) auxquelles sont associées des cellules réticulaires d'origine mésenchymateuse qui ont migré dans l'ébauche thymique à partir de la moelle osseuse : macrophages et cellules interdigitées (IDC pour interdigited cells) ou interdigitantes (Figure 4).

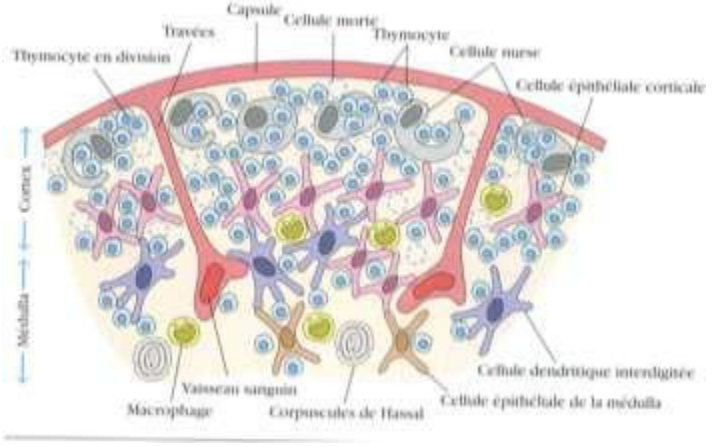


Figure 4 : coupe schématique du parenchyme thymique

a. Trame épithélio-réticulaire :

Le thymus constitue une exception parmi les organes lymphoïdes puisque son stroma n'est pas conjonctif mais épithélial. Il ne contient pas de fibres mais plutôt un réseau cytoplasmique formé par les prolongements des cellules réticulo épithéliales qui entourent les thymocytes au cours de leur maturation.

Cette charpente épithéliale est formée par des cellules épithéliales étoilées ayant des prolongements cytoplasmiques qui entourent, dans des replis profonds de leurs membranes, les lymphocytes issus de la moelle, qui sont immatures et appelés thymocytes. Les mailles de ce réseau épithélial sont larges dans le cortex et plus étroites dans la médullaire (Figure 5).

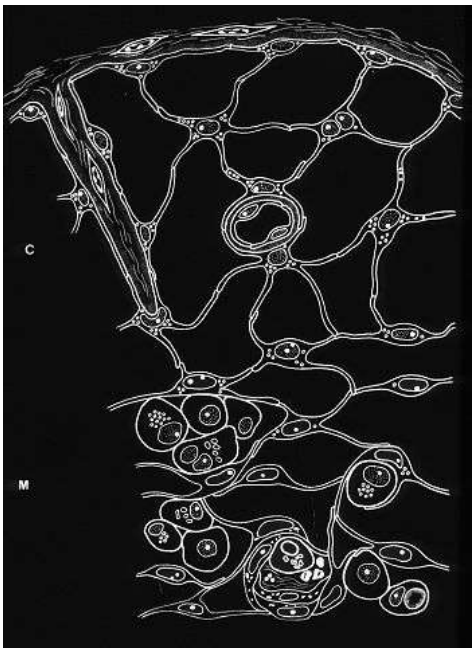


Figure 5 : coupe schématique du stroma épithélial thymique

Les cellules épithéliales sont faciles à identifier dans la médullaire (noyaux peu colorés, ovales et cytoplasme éosinophile). Dans le cortex en revanche, leurs prolongements cytoplasmiques minces les rendent difficiles à observer dans la masse des lymphocytes.

Ces cellules épithéliales sont en contact les unes avec les autres au niveau des prolongements grâce à des systèmes de jonction de type desmosomes et jonctions serrées.

Profondément dans la médullaire, les épithéliocytes forment des cordons épais et des spirales, dont certaines contiennent des structures lamellaires (corpuscule de HASSALL : lieu de dégénérescence de ces cellules).

Les cellules épithéliales jouent un rôle de soutien car elles forment la charpente permanente de l'organe. Elles sont en relation intime avec les vaisseaux. D'autre part, ces cellules assurent le microenvironnement nécessaire à la multiplication, à la différenciation et à l'acquisition de la compétence immunitaire des lymphocytes T. Elles constituent une source d'hormones et d'autres substances qui assurent la régulation de la maturation des lymphocytes T. Les cellules épithéliales secrètent les hormones thymiques (thymuline, thymopoïetine et thymosine-α1) et produisent certaines cytokines telles que l'IL1 (interleukine1), l'IL3, l'IL6, l'IL7 et le GM-CSF (″Granulocyte Macrophage-ColonyStimulating Factor″). Les macrophages secrètent eux aussi l'IL1, l'IL6 et le GM-CSF. Les thymocytes produisent d'autres cytokines notamment l'IL2, l'IL3, l'IL4 et l'INFγ (Interféron gamma). Tous ces facteurs (hormones thymiques et cytokines) constituent un réseau complexe contrôlant la différenciation, la prolifération et la maturation des cellules de la lignée T au niveau du thymus.

b. <u>Lymphocytes thymiques :</u>

Le thymus est l'organe des lymphocytes T par excellence. Ce sont des lymphocytes T à des stades différents de différenciation.

Des clones de lymphocytes T sont produits par division cellulaire dans la partie externe du cortex thymique et subissent une maturation, au fur et à mesure qu'ils gagnent la partie profonde du cortex, vers la médulla. Ce sont les lymphoblastes situés dans la région sous capsulaire du cortex qui se divisent fréquemment et qui correspondent à de grandes cellules à noyau rond. Dans le cortex profond, les thymocytes ne possèdent pas les antigènes d'histocompatibilité. Ils subissent la maturation et la différenciation suite à leur interaction avec les cellules stromales. Ces interactions font impliquer le récepteur spécifique pour l'antigène ou TCR (″T cell receptor″) du côté des thymocytes et les molécules HLA classe I et classe II exprimées par les cellules stromales (cellules épithéliales, macrophages et cellules interdigitées) et les peptides du soi qu'elles présentent. Elles sont cruciales pour la différenciation des lymphocytes T et la sélection d'un répertoire T (l'ensemble des différents TCR exprimés par tous les lymphocytes T matures) restreint au CMH

(complexe majeur d'histocompatibilité = système HLA chez l'homme) et non agressif pour les antigènes du soi.

Dans la médulla, les lymphocytes T en cours de maturation, pénètrent dans les vaisseaux sanguins et lymphatiques à travers la paroi des veinules corticales profondes pour rejoindre le pool des lymphocytes T circulants. Ils colonisent ensuite les tissus lymphoïdes périphériques où ils achèvent leur maturation (zones thymo-dépendantes).

c. <u>Macrophages thymiques :</u>

Appelés macrophages sentinelles, ils sont situés dans le cortex sous capsulaire et sont responsables de l'épuration des lymphocytes apoptotiques.

A la limite de la zone corticale et dans la médulla, des macrophages analogues aux cellules interdigitées agissent comme cellules présentatrices d'antigènes vis-à-vis des lymphocytes T plus matures. Ils assurent l'élimination des cellules mortes, leurs cytoplasmes peuvent contenir des thymocytes, des cellules épithéliales ou les produits de leur dégradation.

<u>3/ Vascularisation et barrière sang-thymus :</u>

Chaque lobe thymique est vascularisé par une artère qui se divise à l'intérieur du lobe en plusieurs branches. Arrivées au niveau de la corticale profonde, chaque branche se résout en un réseau capillaire. Ce réseau peut remonter dans la corticale ou descendre vers la médulla puis se jette dans une veinule post-capillaire de la corticale profonde. Celle-ci se jette dans une veine lobaire pour rejoindre la grande circulation.

Dans la zone corticale, les capillaires sont de type continu. L'espace péricapillaire est très riche en macrophages. La lame basale est doublée par les prolongements des épithéliocytes jointives ce qui isole totalement les thymocytes de la circulation sanguine.

Dans la zone para-corticale, les veinules post capillaires comportent des cellules endothéliales cubiques non jointives et leur lame basale est remplacée par un fin feutrage de fibres de réticuline secrétées par les quelques fibroblastes entourant la veinule. Ces cellules endothéliales modifiées possèdent des récepteurs spécifiques qui attirent les thymocytes. C'est seulement à ce niveau que les thymocytes pénètrent et ressortent. Les vaisseaux afférents et efférents du thymus sont donc entourés d'une gaine d'épithéliocytes. Il se crée ainsi une barrière hémato-thymique constituée par un

endothélium capillaire continu et une lame basale (Figure 6). Les thymocytes corticaux sont ainsi totalement isolés de la circulation sanguine et des antigènes circulants.

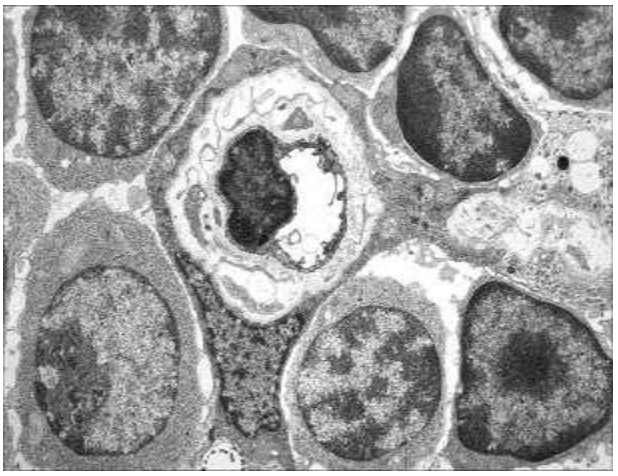


Figure 6 : microscopie électronique de la barrière hémothymique

4/ Involution :

Le thymus est le premier organe lymphoïde à se développer et il fonctionne dès le 6ème mois de la vie fœtale. Son activité est maximale pendant l'enfance, puis il involue lentement par infiltration adipeuse et déplétion lymphocytaire. Chez l'adulte il est constitué d'un tissu fibro-adipeux avec quelques reliquats thymiques. Toutefois, son activité ne cesse jamais totalement.

III/ LES GANGLIONS LYMPHATIQUES :

Les ganglions lymphatiques sont des organes lymphoïdes réniformes disposés sur la circulation lymphatique. Leur nombre varie de 500 à 1000. Leur taille est extrêmement variable (de quelques mm à plusieurs cm) suivant les éventuelles stimulations. On retrouve les ganglions dans les régions carrefours : racine des membres, plis de flexion, cou, mésentère, médiastin.

1/ Anatomie microscopique :

Le ganglion lymphatique est un organe encapsulé en forme de haricot avec :

- Un bord convexe, par où pénètrent quelques vaisseaux lymphatiques afférents valvulés.
- Un bord concave ou hile marqué par le départ d'un ou deux lymphatiques efférents et la présence des vaisseaux sanguins (Figure 7).

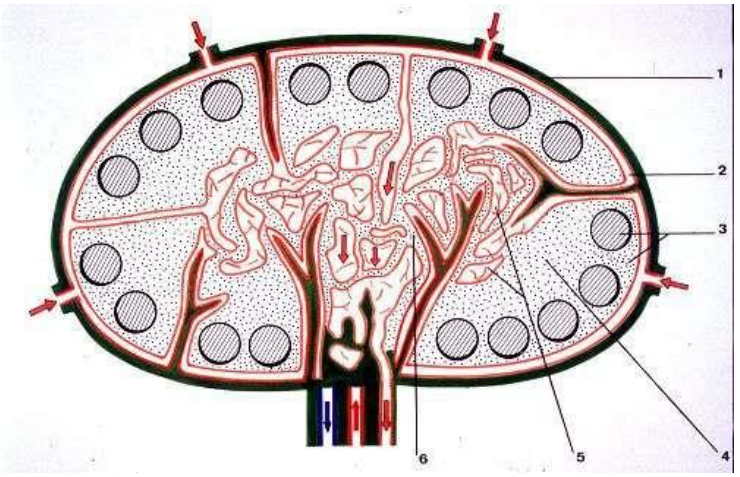


Figure 7 : coupe schématique d'un ganglion

Il existe dans les ganglions lymphatiques trois compartiments fonctionnels (Figure 8):

- Un réseau de sinus lymphatiques bordés par un endothélium, en continuité avec les lumières des vaisseaux afférents et efférents.
- Un réseau de petits vaisseaux sanguins comprenant notamment des veinules postcapillaires spécialisées à endothélium haut, par où les lymphocytes circulants pénètrent dans les ganglions et ce au niveau de la zone para-corticale.
- Un compartiment parenchymateux composé d'un cortex superficiel, d'une zone para-corticale et d'une médulla.

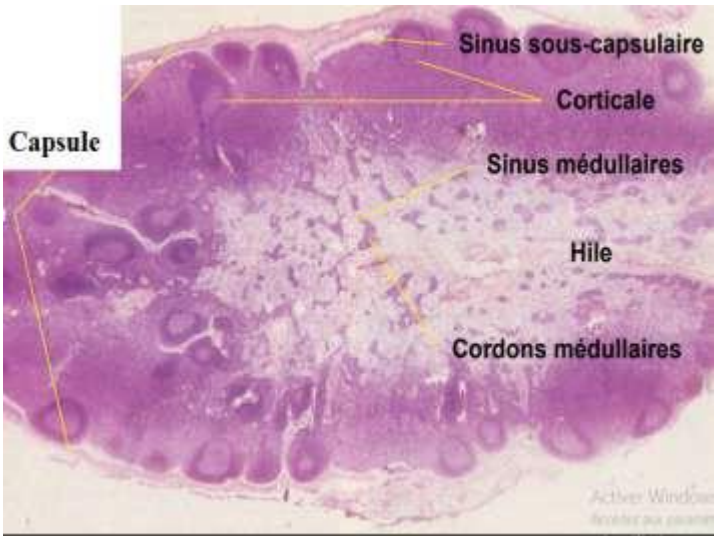


Figure 8 : coupe histologique d'un ganglion lymphatique

Le parenchyme ganglionnaire comprend 3 zones :

- Une corticale externe (architecture essentiellement folliculaire)
- Une corticale profonde ou paracorticale (architecture en nappe)
- Une médullaire (architecture en cordons)

2/Structure :

a. La capsule :

La capsule est une mince lame de tissu conjonctivo-élastique, elle est percée d'orifices livrant passage aux lymphatiques afférents. Elle envoie des travées, vers le hile sans l'atteindre et qui découpent la zone corticale en logettes largement ouvertes sur la zone médullaire.

b. Le tissu réticulé :

Le tissu réticulé est à mailles plus ou moins larges et prend appui sur la capsule et les cloisons inter folliculaires (Figure 9).

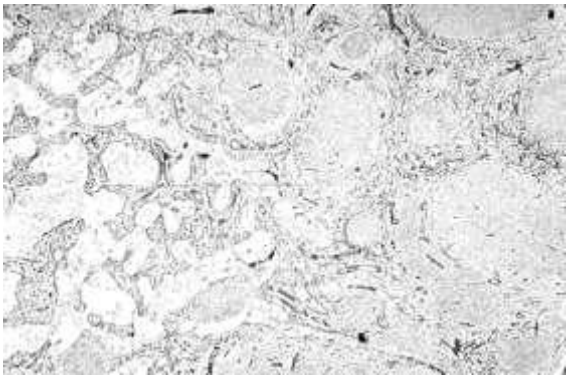


Figure 9 : tissu réticulé du ganglion lymphatique

c. Les voies de la lymphe ou sinus lymphatiques :

Les lymphatiques afférents qui arrivent au niveau du bord convexe de la capsule sont munis de valvules et ne permettent l'écoulement de la lymphe qu'en direction du ganglion sans reflux.

La lymphe est déversée dans le sinus périphérique ou marginal situé sous la capsule.

Du sinus périphérique, la lymphe est distribuée dans les sinus radiaires qui cheminent le long des cloisons interfolliculaires.

La lymphe arrive progressivement dans le réseau des sinus médullaires qui sont situés entre les cordons de la médullaire.

Dans la région hilaire, le réseau des sinus médullaire se rassemble en 1 ou 2 vaisseaux lymphatiques efférents valvulés qui quittent le hile pour se diriger vers un autre ganglion (Figure 10).

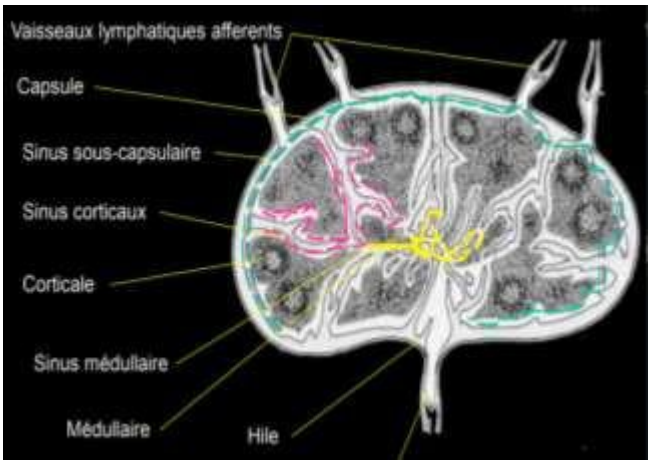


Figure 10 : coupe schématique des sinus lymphatiques

Les sinus lymphatiques (périphériques, radiaires et médullaires) sont bordés par des cellules « endothéliales » lymphatiques non jointives, douées de capacités phagocytaires. On retrouve dans la lumière des sinus, des cellules lymphoïdes et des cellules macrophagiques. Il existe des fibres dont le réseau enchevêtré grillage les voies lymphatiques.

Le ganglion lymphatique est l'organe de l'épuration de la lymphe. C'est un filtre interposé sur la circulation lymphatique. La lymphe périphérique traversant obligatoirement au moins un ganglion lymphatique dans son trajet de retour au sang, y subit une double filtration, mécanique et biologique, à l'occasion de laquelle s'exerce la fonction de surveillance du tissu lymphoïde. Lors du cheminement dans les différentes voies lymphatiques du ganglion, le courant lymphatique est considérablement ralenti. La filtration mécanique est assurée par les nombreuses fibres dont le réseau enchevêtré grillageant les voies lymphatiques. Les macrophages ancrés sur ce réseau assurent la filtration biologique. Ces antigènes étrangers sont capturés par les macrophages et transportés selon leur nature vers les zones T ou B dépendants.

Si la réponse est de type humoral, il y a prolifération des LB dans les centres germinatifs des follicules, les plasmocytes sont surtout formés dans les cordons médullaires et les anticorps déversés dans la lymphe.

La réponse immunitaire de type cellulaire provoque une hyperplasie des régions para corticales. En même temps, il y a séquestration des lymphocytes en transit : ils continuent à pénétrer dans les ganglions mais ils n'en sortent plus, bien que la lymphe continue à s'écouler normalement.

La prolifération des lymphocytes compétents provoque une augmentation du volume ganglionnaire : Adénopathie

La lymphe peut transporter des cellules cancéreuses détachées des tumeurs et qui restent bloqués dans les ganglions. Les cellules cancéreuses prolifèrent et envahissent le tissu lymphoïde (métastase ganglionnaire)

d. Les formations lymphoïdes :

Elles sont organisées sur un fond de tissu réticulé.

On distingue :

Les follicules primaires, amas denses, compacts et homogènes de lymphocytes tassés les uns contre les autres au sein d'une trame réticulée : ce sont les lymphocytes B au repos capables de secréter des immunoglobulines mais sans signe de prolifération cellulaire.

Les follicules secondaires, dérivent des follicules primaires en réponse à une stimulation antigénique. Ils comportent une zone centrale d'aspect clair, centre clair ou centre germinatif riche en cellules dendritiques. Ce centre contient également des lymphocytes B activés : ce sont les centrocytes, les centroblastes, et les lymphoblastes B dont l'activité mitotique est intense. La périphérie du follicule est recouverte sur un pôle d'une couche dense de petits lymphocytes B à mémoire formant le manteau. Au pôle opposé du follicule, une nappe de tissu lymphoïde diffus, la zone parafolliculaire, plus lâche, riche en lymphocytes T, entoure partiellement le follicule (Figure 11).

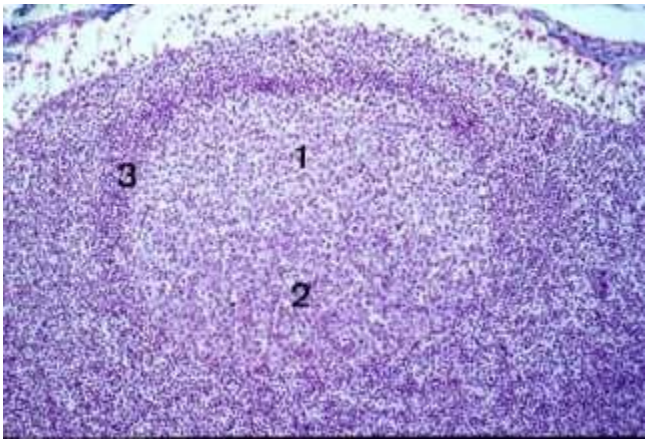


Figure 11 : coupe histologique d'un follicule lymphoïde secondaire

e. Le parenchyme ganglionnaire :

d. La zone corticale externe

Elle est constituée de lymphocytes étroitement serrés organisés en follicules (lieu de prolifération des cellules B naïves et lieu des lymphocytes B à mémoire) entourés par un tissu inter folliculaire en nappe.

Les structures inter-folliculaires sont soit primaires soit le plus souvent secondaires, à centre clair plus ou moins volumineux selon le niveau de stimulation (Figure 12).

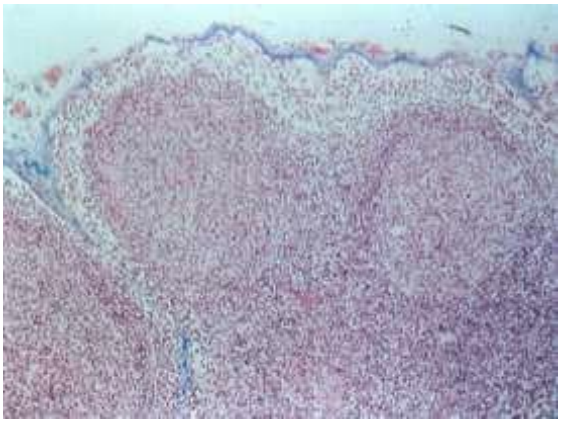


Figure 12 : coupe histologique du cortex ganglionnaire

Les territoires inter folliculaires sont constitués essentiellement de lymphocytes T, d'histiocytes, de macrophages et de quelques mastocytes.

e. La zone corticale profonde

Elle présente une architecture en nappe faite en majorité de cellules lymphocytaires, associées à des cellules interdigitées et quelques mastocytes.

Les cellules interdigitées présentent une morphologie particulière : elles sont volumineuses, à cytoplasme abondant pourvus de longs prolongements qui s'interdigitent avec les cellules voisines semblables.

La corticale profonde est riche en veinules post-capillaires (à endothélium haut) et en lymphocytes T.

f. La zone médullaire

Elle est constituée par des cordons cellulaires anastomosés, séparés par le réseau des sinus lymphatiques médullaires (Figure 13).

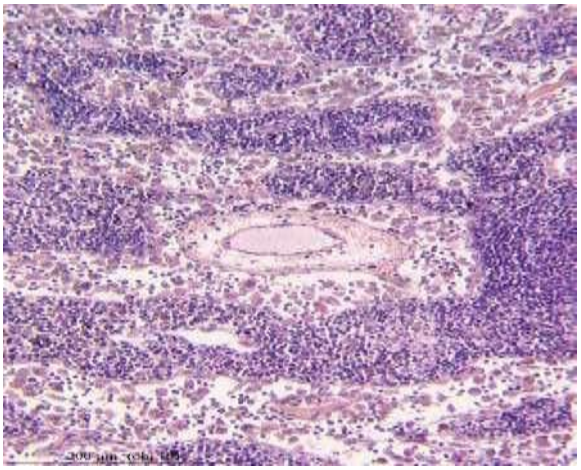


Figure 13 : coupe histologique de la médullaire d'un ganglion

Ces cordons sont constitués essentiellement de lymphocytes (essentiellement B), de plasmocytes, de macrophages.

IV/LA RATE :

La rate est le plus volumineux organe lymphoïde de l'organisme. Organe lymphoïde secondaire dérivant d'un épaississement mésenchymateux, la rate répond aux antigènes apportés par la circulation sanguine. Contrairement aux ganglions lymphatiques, la rate n'est pas alimentée par des vaisseaux lymphatiques. C'est un filtre placé sur le trajet de la circulation sanguine. La rate est, au cours de la vie fœtale du 5ème au 7ème mois, un organe hématopoïétique.

1/ Anatomie microscopique :

La rate est située dans la loge splénique de l'hypochondre gauche.

La rate possède une face convexe et une face concave qui possède un hile où arrive l'artère splénique et d'où partent les veines et les lymphatiques efférents.

Elle est entourée par une capsule conjonctive au sein de laquelle peuvent exister quelques cellules musculaires lisses. De cette capsule se détachent des cloisons trop courtes qui ne délimitent pas de véritables compartiments (Figure 14).

Cette charpente conjonctive est complétée par un important réseau de réticulocytes et de fibres de réticuline qui soutient le parenchyme splénique.

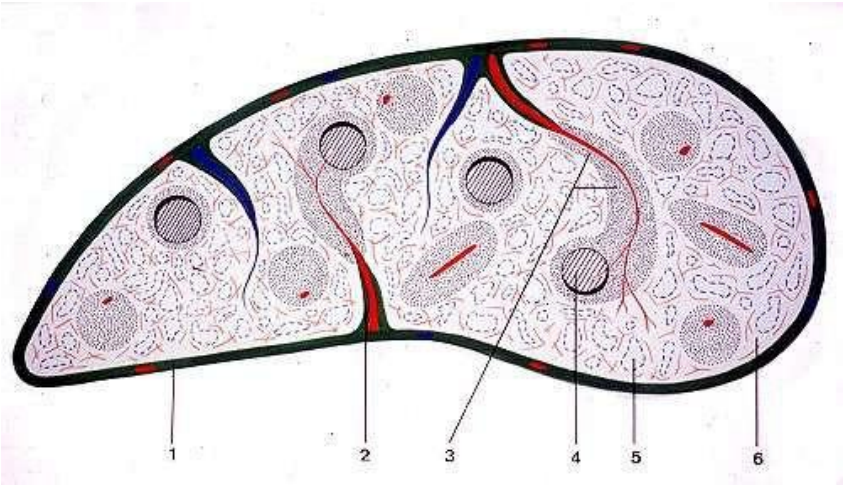


Figure 14 : Anatomie microscopique de la rate

La charpente conjonctive est très ténue ce qui explique la fragilité de la rate et sa friabilité. La rupture traumatique de la rate est fréquente et grave entrainant une hémorragie interne ne pouvant pas s'interrompre spontanément ; dans ce cas, il n'est pas possible de suturer la rate et la splénectomie est indispensable. L'ablation de la rate (splénectomie) est compatible avec une vie normale, cependant elle entraîne une moindre résistance aux infections, augmentant le risque de septicémies.

2/ Structure :

Le parenchyme splénique est construit autour des vaisseaux sanguins. C'est d'eux que dépendent en grande partie les fonctions spléniques. Les branches de l'artère splénique donnent des artères trabéculaires qui circulent dans les travées conjonctives. Il en naît des petites artères, les artères centrales, qui pénètrent dans le parenchyme splénique.

a. La pulpe blanche :

Les artères centrales sont entourées par une gaine continue de tissu lymphoïde dense, **le manchon lymphoïde périartériel** (petits lymphocytes T avec quelques macrophages)

De place en place se développent, le long du manchon, des follicules lymphoïdes excentrés, primaires ou secondaires, **les corpuscules de Malpighi** (couronnes internes, lymphocytes B, couronnes externes, lymphocytes T) (Figure 15).

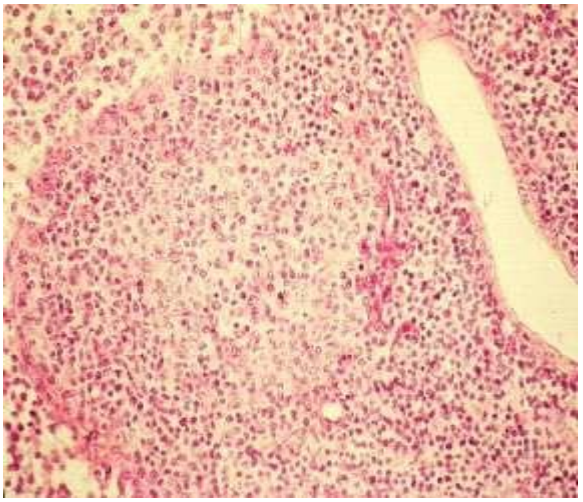


Figure 15 : coupe histologique de la pulpe blanche

b. <u>La pulpe rouge :</u>

De larges sinus veineux à paroi discontinue sont séparés par des cloisons de stroma hématopoïétique formant les cordons de Billroth (Figure 16).

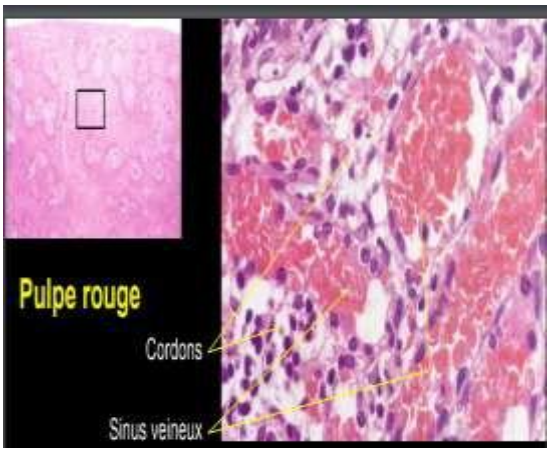


Figure 16 : coupe histologique de la pulpe rouge

g. Les cordons pulpaires de Billroth :

Il s'agit de cordons anastomosés entre eux, faits d'un tissu lymphoïde organisé sur un fond de tissu réticulé. Les mailles ménagées par le réseau réticulé sont occupées par des cellules lymphoïdes (surtout B, plasmocytes en îlots), des macrophages et des cellules sanguines (GR, PN, plaquettes).

h. Les capillaires sinusoïdes :

Ils sont situés entre les cordons de Billroth et réalisent donc une architecture anastomotique. Il s'agit de capillaires discontinus dont le diamètre est assez large. Leur paroi est faite de cellules douées de potentialités phagocytaires

(cellules bordantes macrophagiques) ; ces cellules ne sont pas jointives et laissent des espaces autorisant le passage de cellules entières. La lumière des capillaires contient en plus des éléments sanguins habituels, des macrophages et des plasmocytes.

Dans la pulpe rouge et essentiellement dans les capillaires sinusoïdes où la circulation est considérablement ralentie, les hématies vieillies dont le cytosquelette devient rigide sont retenues et phagocytées (destruction des GR vieillies). Le fer sera stocké sous forme d'hémosidérine dans les macrophages pour être en grande partie réutilisé.

c. La zone marginale :

La zone marginale occupe la limite entre pulpe blanche et pulpe rouge, où se termine la quasi-totalité des branches collatérales de l'artère centrale. C'est une zone riche en macrophages comportant un stroma de type hématopoïétique et une vascularisation complexe (Figure 17).

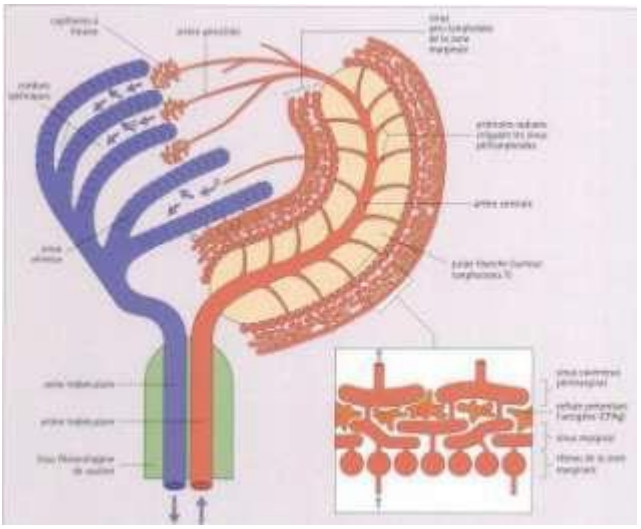


Figure 17 : schéma représentatif de la vascularisation splénique

Les artères de la pulpe blanche fournissent sur leur trajet des artérioles collatérales qui forment un réseau circonférentiel dans la zone marginale, qui en reçoit son réseau capillaire. Ce réseau de capillaires dilatés, forme avec des nombreux macrophages, des lymphocytes surtout B, des plasmocytes et des cellules sanguines un tissu lymphoïde lâche.

Recevant une grande partie du sang pénétrant la rate, elle représente une région majeure pour les différenciations cellulaires et la concentration des antigènes.

Selon leur nature, ces antigènes sont ensuite traités dans les zones B dépendantes avec développement des centres clairs et une augmentation des plasmocytes dans les cordons de Billroth ou dans les zones périfolliculaires ou péri artérielles T dépendantes.

La rate est engagée surtout dans l'immunité humorale ; elle ne participerait à l'immunité cellulaire qu'au cours des agressions majeures.

d. <u>Le reste de l'organisation vasculaire :</u>

A partir de l'artère centrale, partent des ramifications artérielles qui se dirigent vers la gaine lymphoïde et les corpuscules de Malpighi, vers la zone marginale et vers la pulpe rouge.

En pénétrant dans la pulpe rouge, les artères centrales perdent leur gaine lymphoïde, deviennent des artères terminales qui se divisent en un bouquet de branches de plus petit calibre, les artères pénicillées dont la média musculaire laisse place à un épaississement formé de macrophages : la housse terminale de Schweigger-Seidel. Les artères pénicillées se résolvent en capillaires pouvant être directement ouverts dans les sinusoïdes de la pulpe rouge (circulation fermée) ou bien se déversant dans les espaces réticulaires des cordons de la pulpe rouge (circulation ouverte).

Les capillaires sinusoïdes se jettent dans les veines pulpaires qui confluent et forment les veines trabéculaires qui sont collectées au niveau de la veine splénique drainée par le système porte.

Les centres clairs et les couronnes internes des corpuscules de Malpighi, les cordons de Billroth et les zones marginales sont des territoires à prédominance B lymphoïde (Figure 18).

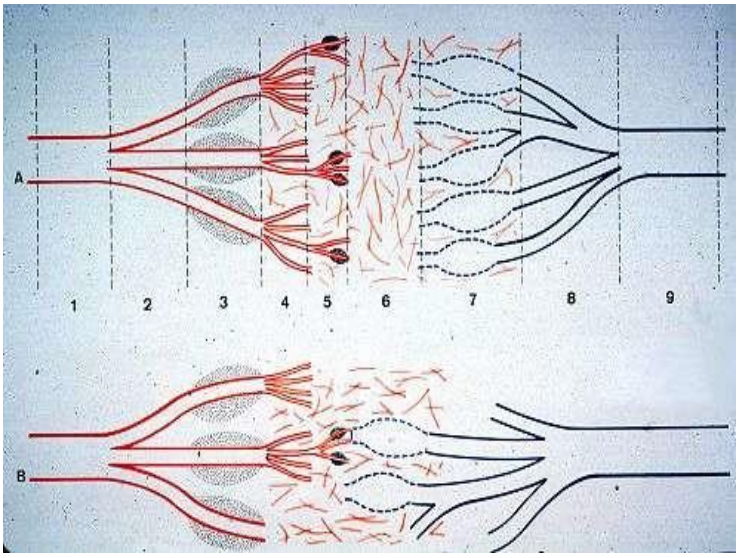


Figure 18 : schéma représentatif de la circulation splénique

V/ FORMATIONS LYMPHOIDES ASSOCIEES AUX MUQUEUSES :

D'une surface totale de près de 400 m², les muqueuses qui bordent les systèmes digestif, respiratoire et urogénital représentent les principaux sites d'entrée pour la plupart des pathogènes. Elles sont défendues par un groupe de tissus lymphoïdes connus collectivement sous le nom de tissu lymphoïde associé aux muqueuses (MALT). L'importance fonctionnelle du MALT dans les défenses de l'organisme est attestée par le nombre de plasmocytes producteurs d'anticorps et la quantité d'IgA sécrétoires qu'ils produisent quotidiennement. D'un point de vue structural, le MALT comprend les amygdales, l'appendice, les plaques de Peyer et les amas de tissu lymphoïde présents dans la lamina propria et dans la sous-muqueuse des tractus gastro-intestinal, respiratoire et urogénital. Les lymphocytes de ces amas peuvent former des agrégats diffus ou s'assembler en follicules lymphoïdes contenant souvent des centres germinatifs.

1/ Amygdales :

Les amygdales sont annexées à la muqueuse de l'oropharynx. Elles sont localisées au niveau de l'abouchement de la trompe d'Eustache dans le pharynx : amygdales tubaires, de la face postérieure du pharynx : amygdales pharyngées, de la face dorsale de la langue : amygdale linguale, entre les piliers du voile du palais : amygdales palatines. Leur ensemble forme le cercle amygdalien de WALDEYER (Figure 19).

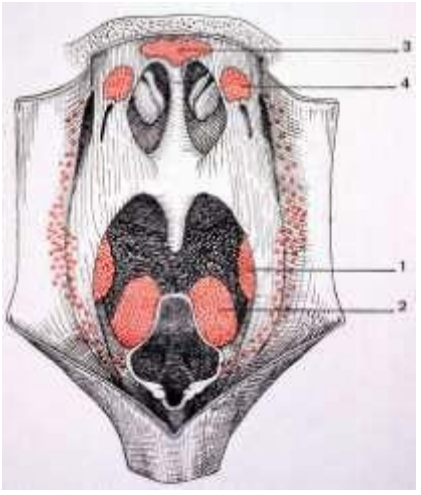


Figure 19 : cercle amygdalien de Waldeyer

A leur niveau, l'épithélium malpighien, de type buccal est creusé d'invaginations étroites et profondes, les cryptes amygdaliennes (Figure 20).

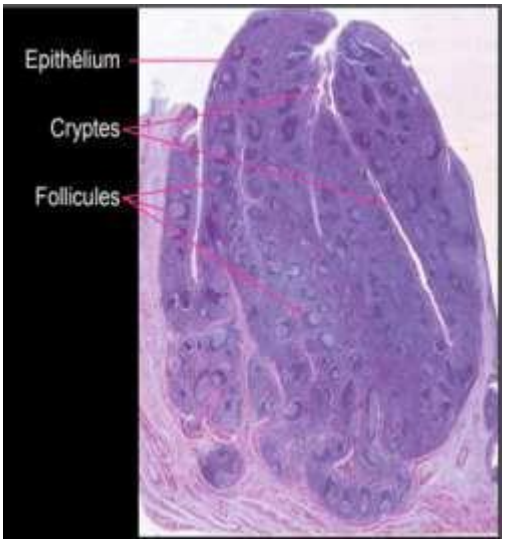


Figure 20 : coupe histologique de l'épithélium amygdalien

L'épithélium contient des cellules présentatrices d'antigènes identiques aux cellules interdigitées. Elles sont mobiles et peuvent migrer dans le tissu conjonctif pour y transporter les antigènes qu'elles ont captés.

L'épithélium est traversé par de petits groupes de lymphocytes T qui forment les thèques intra-épithéliales. Ils passent dans la lumière du tube digestif et sont entrainés par la salive et le bol alimentaire.

Le chorion est riche en follicules lymphoïdes surtout secondaires. Les lymphocytes B constituent la plus grande partie du follicule. De nombreux macrophages et des mastocytes sont dispersés dans les zones épithéliales et inter folliculaires.

2/ Les plaques de PEYER :

La muqueuse et la sous muqueuse de la paroi intestinale (dans l'iléon) sont envahies par des follicules lymphoïdes formant des amas jointifs visibles à l'œil nu, qui font saillie au niveau de la lumière (Figure 21).

L'épithélium intestinal, qui a perdu ses villosités est devenu en dôme, contient des cellules M qui ont la propriété de capter et d'acheminer les antigènes vers les cellules sous-jacentes (dendritiques et macrophages).

Figure 21 : coupe histologique passant par les plaques de Peyer de l'iléon

Les lymphocytes B constituent la plus grande partie des follicules, les lymphocytes T étant disposés autour de leur pôle apical situé à proximité de la lumière.

En plus de ces tissus lymphoïdes organisés, le MALT comprend les nombreux lymphocytes de la lamina propria et de la couche épithéliale des muqueuses. La lamina propria contient en plus de nombreux plasmocytes (surtout sécréteurs d'IgA) et mastocytes, des polynucléaires (surtout éosinophiles) et des macrophages.

3/ L'appendice iléo-coecal :

Figure 22 : coupe histologique passant par l'appendice

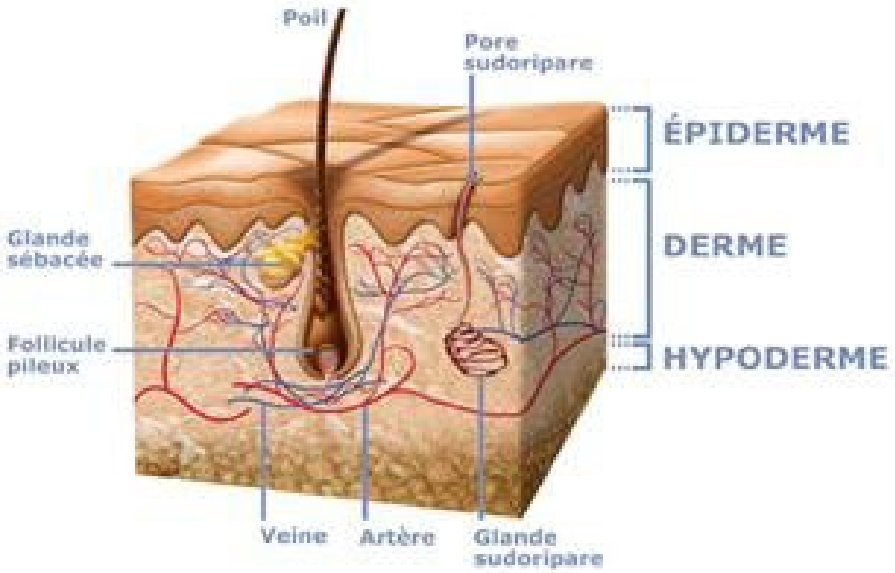
Il est revêtu par une muqueuse de type colique. Son chorion et sa sous muqueuse sont envahis par un tissu lymphoïde important contenant des follicules primaires et secondaires (Figure 22).

DEUXIEME ANNEE MEDECINE

DISCIPLINE : HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE

UEF 207

HISTOLOGIE L'APPAREIL TEGUMENTAIRE



Préparé par : Pr Frikha Rim

Objectifs

- Connaître les caractéristiques morpho-fonctionnelles des kératinocytes
- Identifier les caractéristiques morpho-fonctionnelles des cellules épidermiques non kéranisantes.
- Décrire la structure fonctionnelle de la jonction dermo-épidermique
- Distinguer les caractéristiques morpho-fonctionnelles des deux types de glandes sudoripares.
- Reconnaître les spécificités histo-physiologiques de la vascularisation et l'innervation de la peau
- Identifier la structure et la fonction du derme
- Reconnaitre la structure et la fonction de l'hypoderme

PLAN

Table des matières

I. INTRODUCTION 29

II. STRUCTURE DE LA PEAU 29

1. L'épiderme : 29

Figure 1: Les cellules épidermiques 30

1.2. Les kératinocytes : stratification épidermique et kératinisation 30

Figure 4 : Observation microscopique de la couche basale en ME et MO 32

1.2.2. La couche à épines 32

Figure 5: Observation microscopique de la couche basale en ME et MO 33

1.2.3. La couche granuleuse 33

Figure 6:Les kératinosomes 34

1.2.5. La couche cornée 34

1.3. Les mélanocytes et pigmentation de la peau 35

Figure 7: Unité de mélanisation 36

1.4. Les cellules de Langerhans 36

Figure 8: Schéma et structure microscopique de la cellule de Langerhans 37

1.5. Les cellules de Merkel 37

Figure 9: Schéma et structure microscopique de la cellule de Merkel 37

2. La Jonction dermo-épidermique 38

Figure 10: Schéma de la jonction dermo-épidermique 38

3. Le derme 39
Figure 11: Structure du derme 39
4. L'hypoderme 40
Figure 12: Structure de l'hypoderme (avec derme et Epiderme) 40
Remarque 41
Figure 13: Structure de la peau 42
5. Vascularisation 43
Figure 14: La vascularisation cutanée 43
6. Innervation 44
Figure 15: Les différents récepteurs cutanés 44
III. Les annexes cutanées 45
1. Les glandes sudoripares 45
1.1. Les glandes sudoripares apocrines 45
1.2. Les glandes sudoripares eccrines 45
2. Les follicules pilo-sébacés 46
2.1. Le poil 46
Figure 17: Structure du poil 47
2.2. Les glandes sébacées 48
2.3. Le muscle arrecteur du poil 48
3. Les ongles 48
Figure 18: Structure de l'ongle 48

Liste des illustrations

Figure 1: Les cellules épidermiques 30

Figure 2: schéma de la stratification épidermique des kératinocytes 31

Figure 3: Kératinocytes et kératinisation 31

Figure 4 : Observation microscopique de la couche basale en ME et MO.....32

Figure 5: Observation microscopique de la couche basale en ME et MO.....33

Figure 6:Les kératinosomes 34

Figure 7: Unité de mélanisation.....36

Figure 8: Schéma et structure microscopique de la cellule de Langerhans 37

Figure 9: Schéma et structure microscopique de la cellule de Merkel 37

Figure 10: Schéma de la jonction dermo-épidermique.....38

Figure 11: Structure du derme 39

Figure 12: Structure de l'hypoderme (avec derme et Epiderme) 40

Figure 13: Structure de la peau.....42

Figure 14: La vascularisation cutanée 43

Figure 15: Les différents récepteurs cutanés 44

Figure 16: Glande sudoripare éccrine.....46

Figure 17: Structure du poil.....47

Figure 18: Structure de l'ongle 48

I. INTRODUCTION

La peau est l'enveloppe du corps. Elle le protège de l'environnement avec lequel certains échanges sont assurés. C'est le plus gros organe de l'être humain, représentant 1/3 du poids de l'organisme et une surface de l'ordre de 2 m^2 chez un adulte. Les annexes cutanées comprennent d'une part les phanères (poils et ongles) et d'autre part les glandes sébacées, sudoripares apocrines et eccrines.

II. STRUCTURE DE LA PEAU

La structure de la peau est complexe. Elle se subdivise en 4 régions superposées qui sont de la superficie vers la profondeur : l'épiderme, la jonction dermo-épidermique, le derme et l'hypoderme.

1. L'épiderme :

L'épiderme est un **épithélium de revêtement, stratifié, pavimenteux** et **kératinisé.** Il est normalement constitué de **4** types cellulaires :

Les **kératinocytes,** d'origine ectoblastique, sont majoritaires (80%) au niveau de l'épiderme. Ce sont eux qui en migrant de la profondeur vers la surface donnent à l'épiderme ses caractéristiques morphologiques : stratification en plusieurs couches et cellules superficielles pavimenteuses et anucléées.
Les 20% d'autres cellules de l'épiderme sont dispersées entre les kératinocytes. Ce sont les **mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel**. Les mélanocytes et les cellules de Merkel proviennent des crêtes neurales alors que les cellules de Langerhans ont pour origine la moelle hématopoïétique.

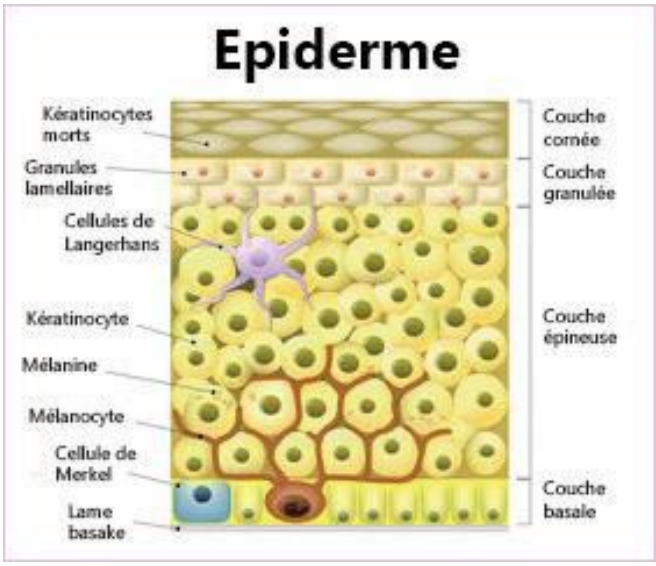


Figure 1: Les cellules épidermiques

L'épaisseur de l'épiderme présente des variations régionales importantes. Dans la peau épaisse de la face plantaire des pieds et de la face palmaire des mains, il peut atteindre 1.5 mm d'épaisseur. Dans la peau fine qui revêt le reste du corps, il mesure 0.5 mm.

La surface épidermique des régions palmoplantaires est parcourue par des sillons et de crêtes correspondants au dermatoglyphes (importants pour l'enquête génétique).

1.2. Les kératinocytes : stratification épidermique et kératinisation

Les kératinocytes sont caractérisées par des jonctions à type de **desmosomes**. Au niveau de leur cytoplasme, la kératine se dispose en un **trousseau de filaments** intermédiaires attachés aux jonctions cellulaires. Cette disposition indique un rôle de **cohésion intercellulaire** pour ces structures. Par conséquence, des mutations affectant les gènes codant pour des kératines seraient responsable de maladies de la peau caractérisées par une épidermolyse (perte de la cohésion cellulaire).

La kératine subit des modifications qualitative (maturation) et quantitative (densification) : c'est le **processus de kératinisation** qui se déroule tout au long de l'épiderme. Ainsi, les

kératinocytes subissent en permanence une évolution morphologique témoignant de leur kératinisation sous-tendant le rôle de barrière protectrice (mécanique et chimique) de l'épiderme. Cette évolution se fait de la profondeur vers la superficie et permet de distinguer sur une coupe d'épiderme quatre couches superposées de la profondeur vers la superficie : la couche germinative (ou basale), la couche à épines (ou épineuse), la couche granuleuse et la couche cornée (compacte, puis desquamante) **[Figure 2 et 3].**

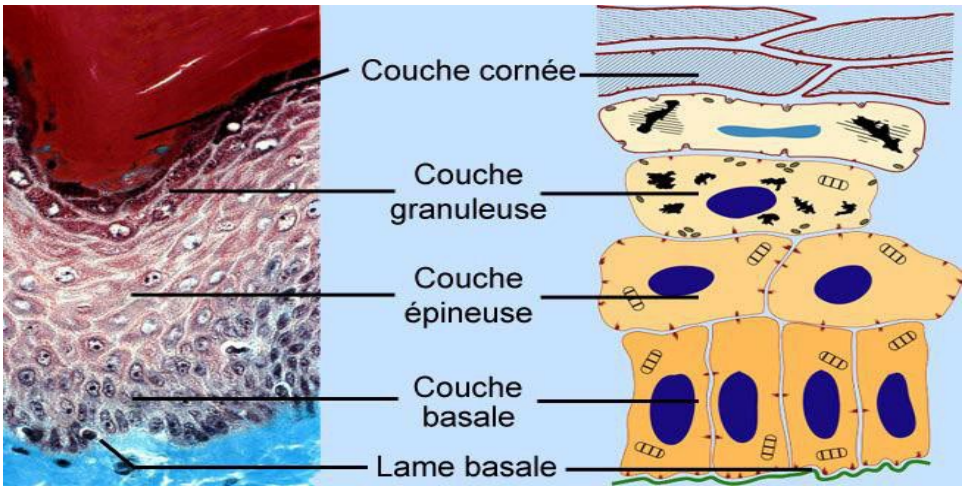


Figure 2: schéma de la stratification épidermique des kératinocytes

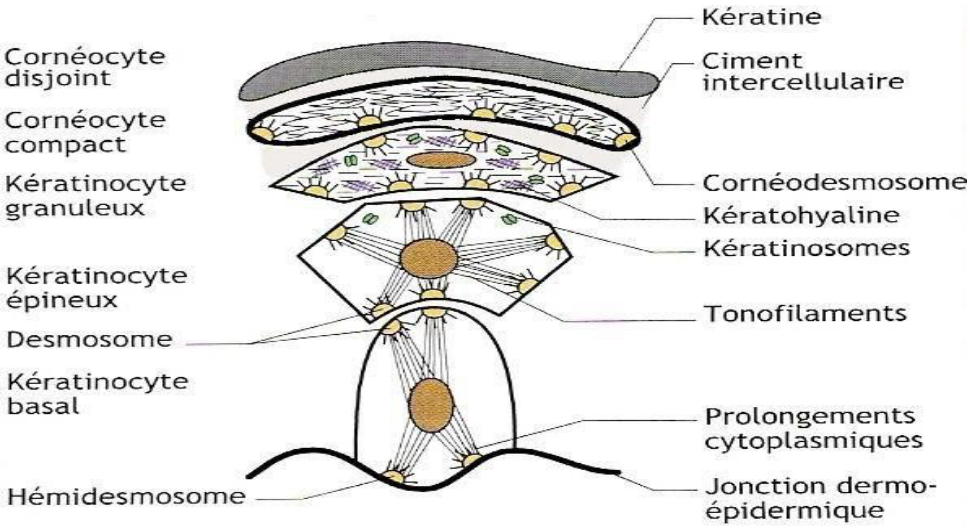


Figure 3: Kératinocytes et kératinisation

1.2.1. La couche basale

C'est une couche de cellules cubiques ou prismatiques basophiles, dont le cytoplasme est riche en organites et contient des mélanosomes ainsi que des tonofilaments de kératine **[Figure 4].** La couche germinative assure par les mitoses de ses cellules le renouvellement de l'épiderme ; par ailleurs, la présence de grains de mélanine dans les mélanosomes permet à l'épiderme d'assurer son rôle de protection de la lumière et qui sous-tendent le rôle de régulation de la pigmentation cutanée qu'ont les kératinocytes. De plus, ces derniers élaborent les constituants de la lame basale (collagène IV ; VII. Fibronectine, laminine)

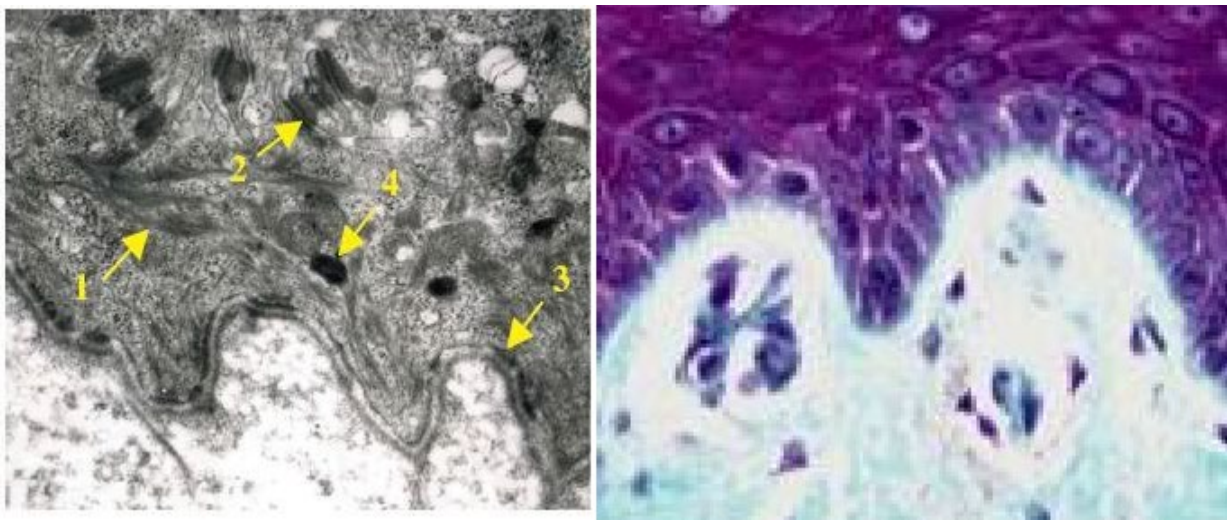


Figure 4 : Observation microscopique de la couche basale en ME et MO

(*1 ➔ Tonofilaments : filaments intermédiaires de kératine ; 2 ➔ desmosomes ; 3 ➔ hemidesmosomes ; 4 ➔ melanosomes).*

1.2.2. La couche à épines

Elle est constituée de plusieurs assises de kératinocytes polygonaux dans les assises profondes et de plus en plus aplaties dans les assises superficielles. Les desmosomes très nombreux au niveau des interdigitations de la membrane cytoplasmique des kératinocytes, expliquent les "épines" vues en optique, d'où le nom de couche épineuse **[Figure 5]**.

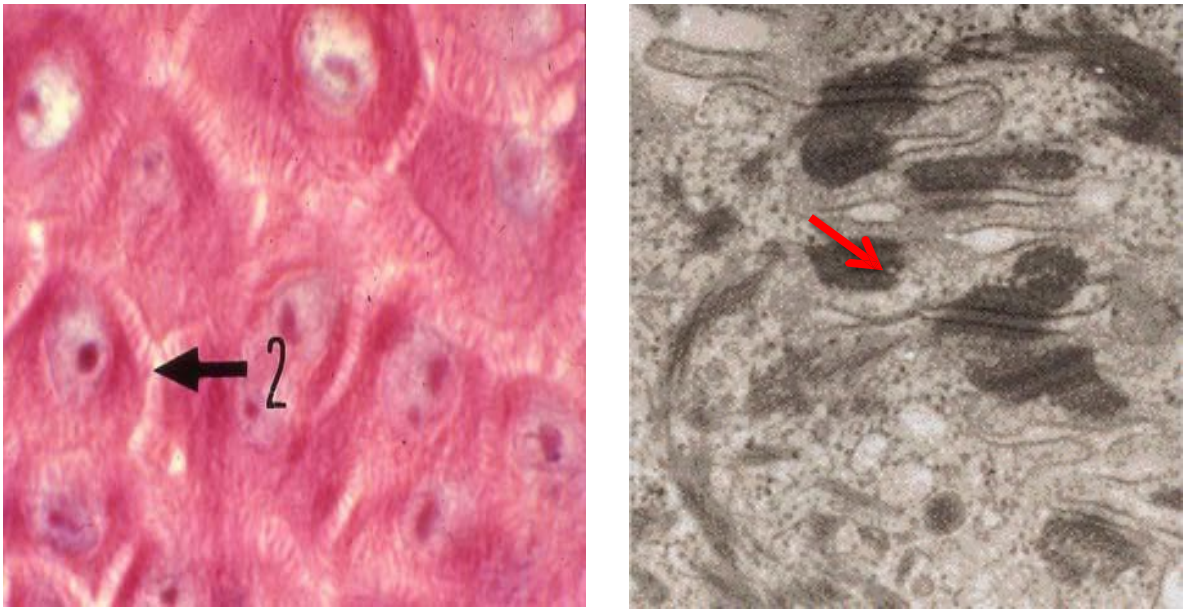


Figure 5: Observation microscopique de la couche basale en ME et MO

(Les flèches désignent les épines correspondant aux interdigitations membrannaires)

1.2.3. La couche granuleuse

Dans la couche granuleuse, la cellule est très aplatie, le noyau commence à dégénérer et surtout apparaissent au sein des trousseaux de filaments de kératine de nombreux **grains de kératohyaline** et des **kératinosomes**.

La molécule constituant les **grains de kératohyaline** est la **profilagrine**, qui, dans la couche cornée, se transforme en **filagrine**, la matrice du cytoplasme des cornéocytes.

Les **kératinosomes** sont de petits organites ovalaires, entourés d'une membrane. Ils contiennent une substance déversée par exocytose dans les espaces intercellulaires de la couche cornée qui apparaîssent ainsi remplis d'une sorte de **cément intercellulaire[Figure 6].**

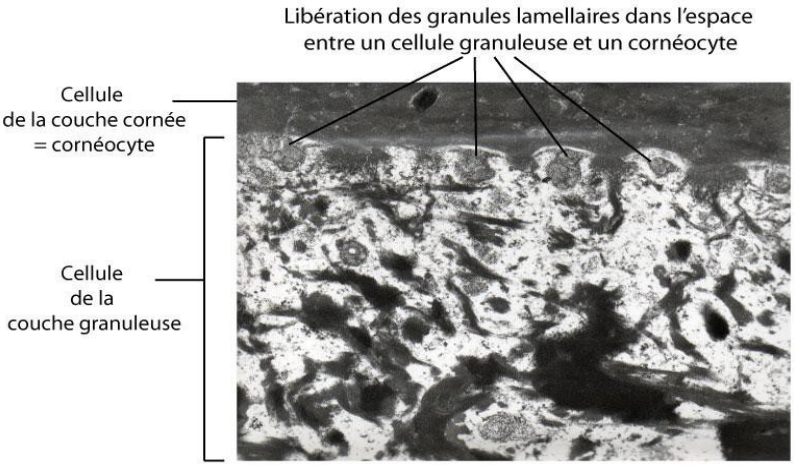


Figure 6:Les kératinosomes

1.2.4. La couche claire

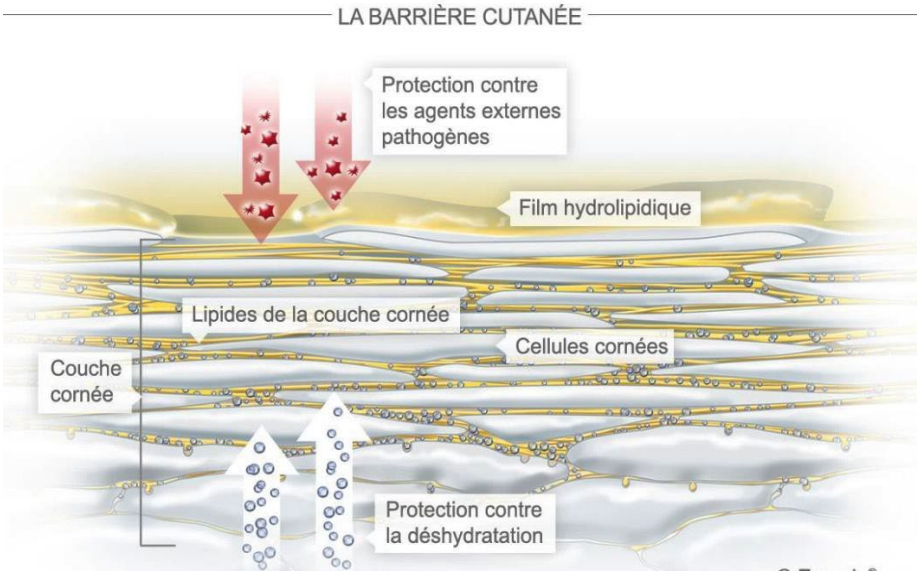
C'est une couche faite de cellules anuclées aplaties avec un cytoplasme claire bourré de kératohyaline. Cette couche est spécifique de la pêau épaisse ou glabre (paumes des mains et plantes des pieds).

1.2.5. La couche cornée

C'est une couche pluristratifiée composée de cellules spécifiques appelées cornéocytes. Il s'agit d'une cellule aplati au noyau pycnotique avec membrane plasmique épaisse ; **l'enveloppe cornée**. La kératine se dispose en fibrilles ; agrées avec la filagrine qui assure leur disposition en réseau. Les cornéocytes disposent de systèmes de jonctions plus espacées (cornéodesmosomes) et l'espace intercellulaire est occupé par le contenue des kératinosomes formant ainsi le cément intercornéocytaire.

Les kératinocytes assurent trois grandes fonctions liées à des structures morphologiquement individualisables :

- ✓ **la cohésion** de l'épiderme par leur cytosquelette et les systèmes de jonction qu'ils établissent entre eux (desmosomes) et avec la matrice extracellulaire (hémi-desmosomes).
- ✓ **la barrière** entre le milieu extérieur et le milieu intérieur au niveau de la couche cornée, caractérisé par son enveloppe cornée et la kératine agréés avec la filagrine
- ✓ **La protection** des radiations lumineuses grâce au mélanosomes qu'ils ont phagocyté à partir des mélanocytes.



1.3. Les mélanocytes et pigmentation de la peau

Les mélanocytes apparaissent comme des cellules dendritiques, avec un corps cellulaire situé entre les kératinocytes basaux de l'épiderme (1 mélanocyte pour 10 kératinocytes basaux) et des prolongements entre les kératinocytes supra-basaux, l'ensemble formant une **unité de mélanisation** (1 mélanocyte pour 36 kératinocytes). Ils sont dépourvus de systèmes de jonction intercellulaire avec les cellules voisines. **[Figure 3]**

La mélanogenèse commence par la synthèse de granules de mélanine dans les mélnocytes qui migrent dans les prolongements cytoplasmiques et sont transférés aux cellules de la couche basales et épineuse. Dans les kératinocytes, les grains de mélanine s'accumulent dans la région

supra nucléaire. Leur fonction est la synthèse des mélanines : phéomélanines (couleur jaune orangé) et eumélanines (couleur noir marron), dans des organites spécialisés, les mélanosomes qui sont ensuite transférés aux kératinocytes. Les eumélanines ont un rôle photoprotecteur. En revanche, sous l'action des radiations lumineuses, les phéomélanines sont carcinogènes.

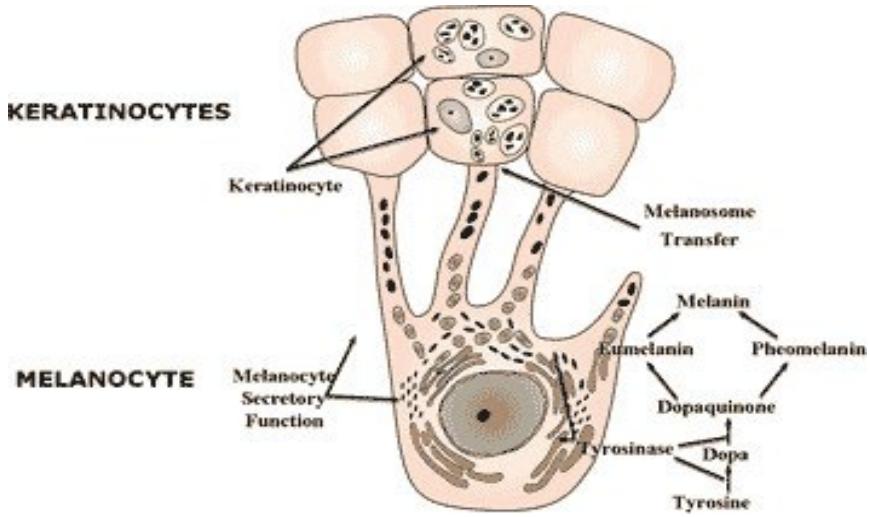


Figure 7: Unité de mélanisation

1.4. Les cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans, appartiennent au groupe des **cellules dendritiques présentatrices d'antigènes** et apparaissent en microscopie optique comme des cellules claires en particulier dispersées entre les kératinocytes de la couche à épines de l'épiderme.

La microscopie électronique permet de distinguer les cellules de Langerhans des mélanocytes, en mettant en évidence **la présence pathognomonique des granules de Birbeck**, en forme de raquettes de tennis **[Figure 8].**

Les cellules de Langerhans initient et propagent les réponses immunes dirigées contre les antigènes appliqués sur la peau.

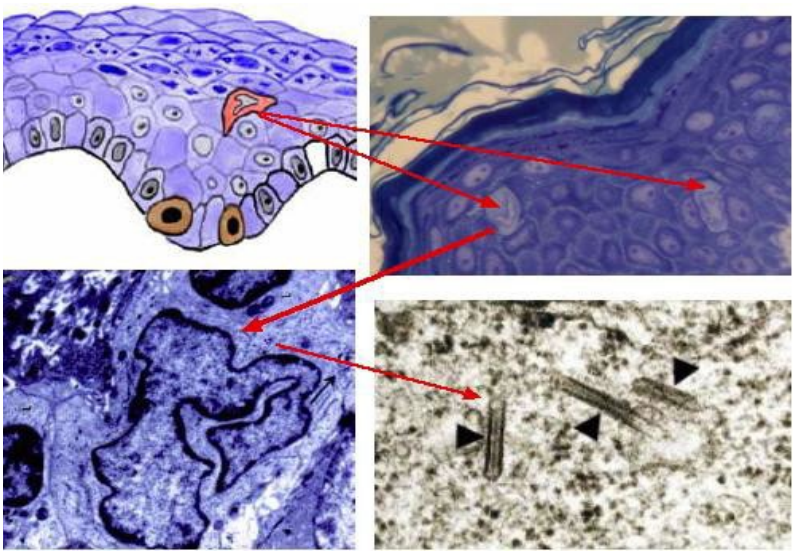


Figure 8: Schéma et structure microscopique de la cellule de Langerhans

1.5. Les cellules de Merkel

Les cellules de Merkel sont situées, de façon dispersée, dans la couche germinative, entre les kératinocytes basaux, au contact d'une terminaison nerveuse libre. **[Figure 9].** Les cellules de Merkel sont des mécanorécepteurs qui auraient également des fonctions inductives et trophiques sur les terminaisons nerveuses de l'épiderme et sur les annexes cutanées.

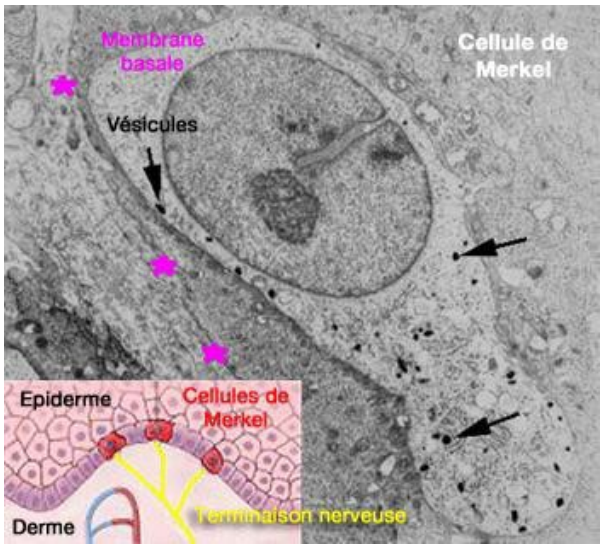


Figure 9: Schéma et structure microscopique de la cellule de Merkel

2. La Jonction dermo-épidermique

La jonction dermo-épidermique comme son nom l'indique sépare l'épiderme du derme. La complexité de sa structure et son importance fonctionnelle en font une zone à part entière. **En microscopie optique**, la jonction dermo-épidermique n'est pas identifiable après une coloration de routine ; elle n'est vue qu'après des colorations spéciales (comme le PAS) ou des études immun histochimiques. Elle apparaît entre les kératinocytes basaux et le derme comme une ligne ondulée, où alternent les saillies de l'épiderme dans le derme dites "crêtes épidermiques" et les saillies du derme dans l'épiderme dites "papilles dermiques".

En microscopie électronique, on distingue **:1)** la lamina lucida claire aux électrons, **2)** la lamina densa particulièrement épaisse et **3)** la zone sous basale composé par des fibrilles d'ancrage (collagène VII) **[Figure 10]**.

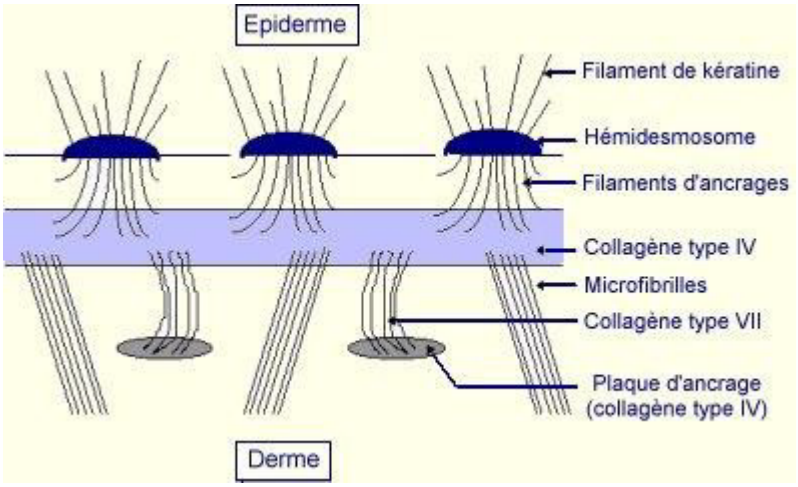


Figure 10: Schéma de la jonction dermo-épidermique

L'intégrité de ces composants avec les hémidesmosomes assure la cohésion entre l'épiderme et le derme et prévient le clivage dermo-épidermique au cours des dermatoses bulleuses sous-épidermiques.

3. Le derme

Le derme, d'origine mésoblastique ; a en moyenne une épaisseur de 1 à 2 mm. Il comporte deux zones: le derme papillaire et le derme réticulaire **[Figure 11]**.

Le derme papillaire, superficiel, mince, est constitué de l'ensemble des papilles dermiques. Il est formé de tissu conjonctif lâche richement vascularisé et innervé.

Le derme réticulaire, profond, plus épais, est formé d'un tissu conjonctif dense (les fibres de collagène (type I et III) et les fibres élastiques). Le derme réticulaire est richement vascularisé (particulièrement les glomus artério-veineux) et innervé. Il contient de plus les annexes cutanées (des follicules pilo-sébacés et les glandes sudorales).

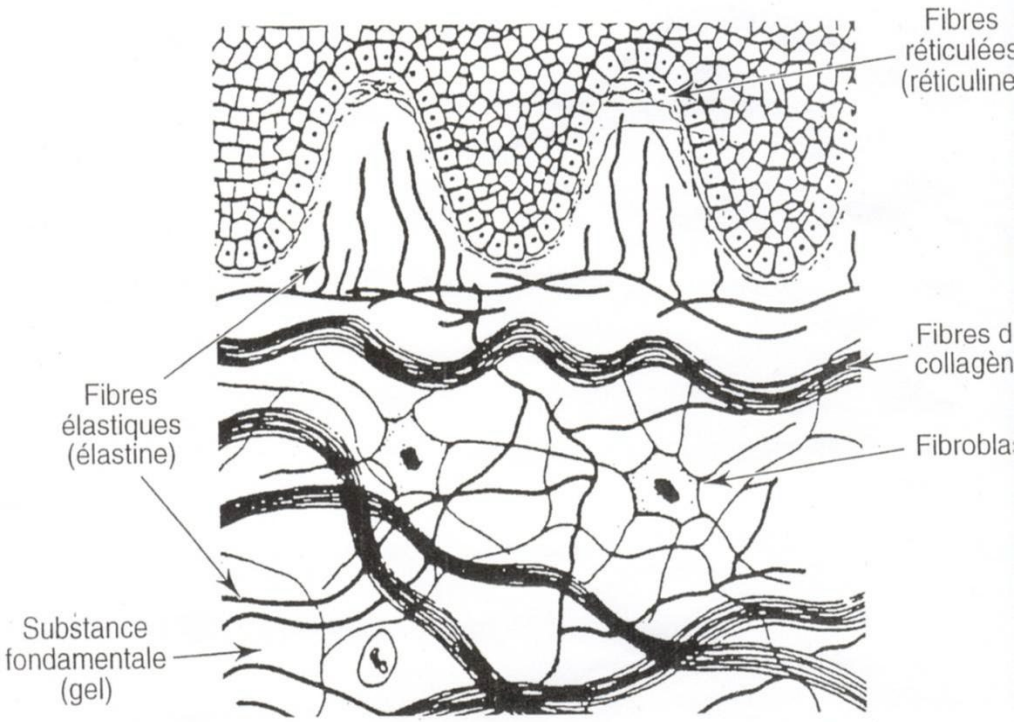


Figure 11: Structure du derme

Le réseau élastique du derme donne à la peau son élasticité qui perd sa fonction avec l'age et l'exposition à l'UV (élastose sénile) ou lors des altérations génétiques (syndrome de Marfan).

Les fibres de collagène donnent au derme sa résistance aux forces de traction (Les syndromes d'Ehlers Danlos ; pathologies des collagènes fibrillaires, se traduit par une hyperlaxité)

4. L'hypoderme

Le derme se continue par l'hypoderme sans limite franche**;** ce dernier s'étend jusqu'aux plans aponévrotiques ou périostés sauf au niveau des paupières, des oreilles et des organes génitaux masculins, où il n'y a pas d'hypoderme. L'hypoderme est constitué de lobes eux-mêmes subdivisés en petits **lobules graisseux** de tissu adipeux blanc séparés par des **septums interlobulaires** conjonctivo-élastiques servant de passage aux vaisseaux et nerfs destinés au derme **[Figure 12]**. L'abondance du tissu adipeux varie avec les habitudes alimentaires mais aussi les régions du corps et le sexe.

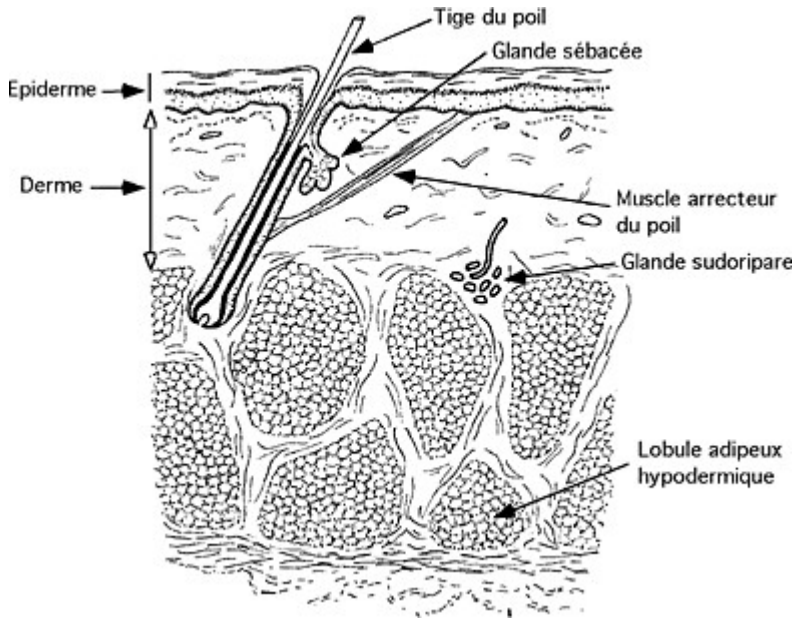


Figure 12: Structure de l'hypoderme (avec derme et Epiderme)

Les adipocytes constituant l'hypoderme ont pour fonction principale la synthèse (lipogénèse), le stockage et la dégradation (lipolyse) des triglycérides ; ils constituent un réservoir énérgétique. Par leur masse, les adipocytes assurent aussi une protection mécanique,

notamment au niveau des plantes des pieds et des hanches chez la femme où ils sont particulièrement abondants.

Remarque

Par convention on distingue selon l'épaisseur de l'épiderme la peau épaisse (au niveau des régions palmo-plantaires ; 1.4 mm) et la peau fine (reste du corps ; 0.05 mm au niveau des paupières).

La subdivision du derme et de l'hypoderme en plusieurs régions n'est pas artificielle ; elle correspond à des phénomènes physiologiques et physiopathologiques différents, sous-tendus par une vascularisation très systématisée.

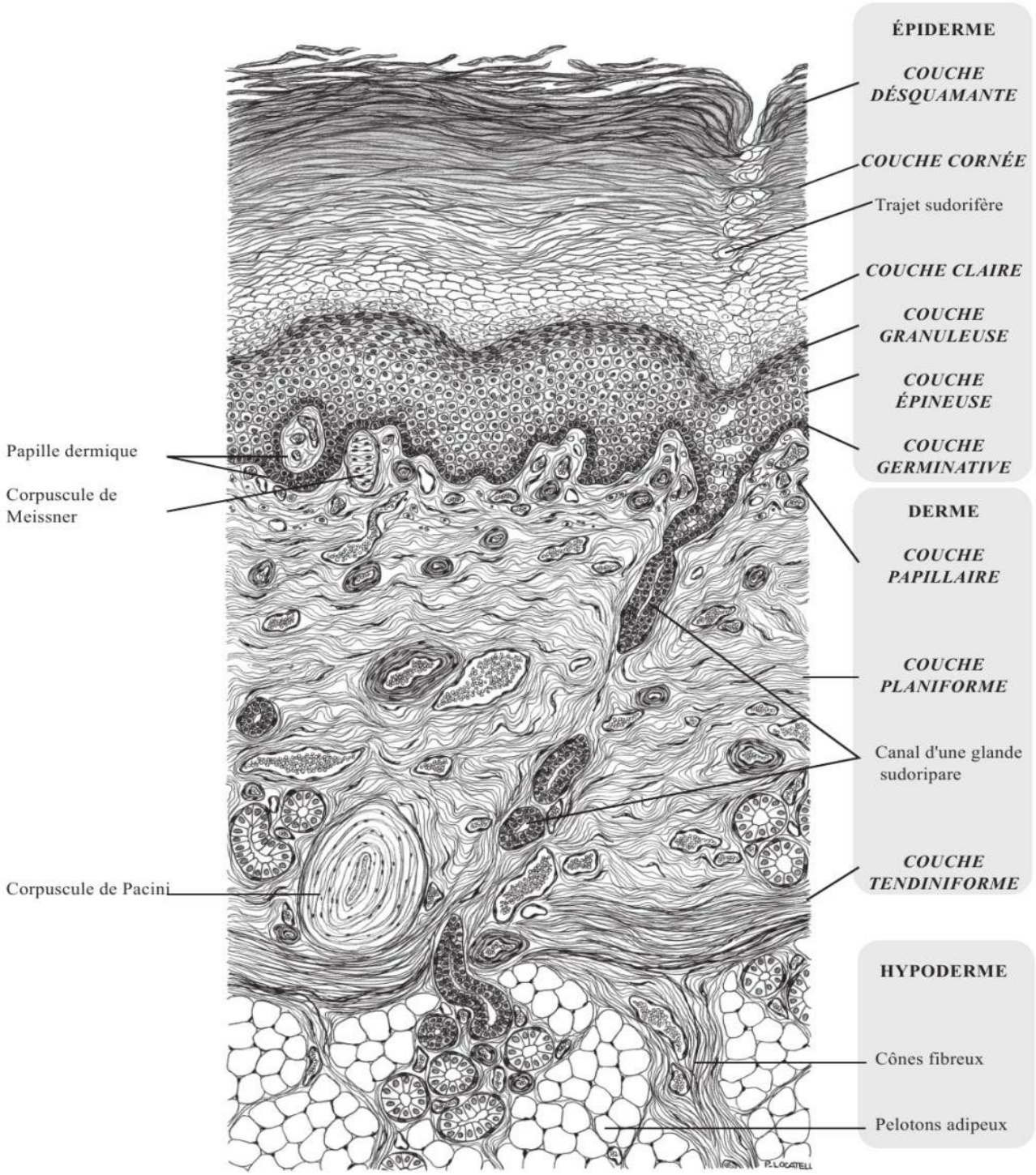


Figure 13: Structure de la peau

5. Vascularisation

L'épiderme, comme tout épithélium, n'est pas vascularisé; il est nourri par imbibition par les réseaux capillaires des papilles dermiques. Le derme et l'hypoderme sont en revanche richement vascularisés par un réseau très systématisé **[Figure 13].**

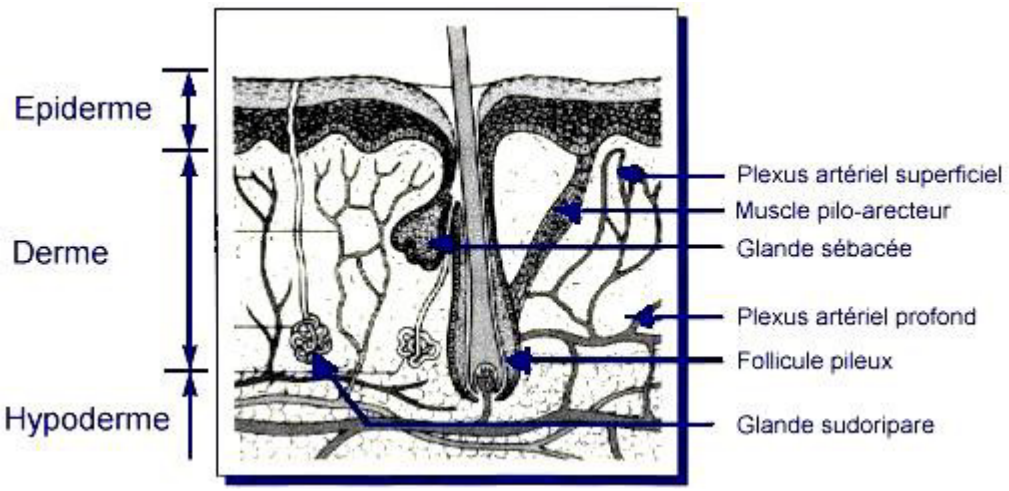


Figure 14: La vascularisation cutanée

- ✓ Les artères abordent le tégument à la partie profonde de l'hypoderme. Elles forment 3 plexus anastomotique respectivement : sous cutanée ; à la jonction hypoderme / derme réticulaire et à la jonction derme réticulaire / derme papillaire. De ce dernier réseau, partent des capillaires qui gagnent les papilles dermiques.
- ✓ Le réseau veineux est calqué sur le modèle artériel. Les lymphatiques naissent par une anse borgne du sommet des papilles dermiques et suivent le trajet du réseau veineux.
- ✓ Des anastomoses artério-veineuses avec ou sans glomus se trouvent au niveau du lit des ongles et des régions palmo-plantaires (mains, doigts, pieds et orteils). Elles jouent un rôle fondamental dans la thermorégulation. La fermeture des anastomoses entraine le sang vers le système capillaire très développé du derme caractérisé par sa localisation superficielle, ce qui permet de dissiper de la chaleur.

6. Innervation

La peau est richement innervée par des nerfs cérébro-spinaux et végétatifs. Les nerfs végétatifs sympathiques sont destinés aux vaisseaux, muscles arrecteurs du poil et aux glandes sudoripares.Les nerfs cérébro-spinaux sont impliqués dans la sensibilité cutanée. Ces fibres sensitives peuvent être isolé (libres) ou associées à d'autres structures (corpuscules sensorielles).

On distingue quatre types de corpuscules assurant la sensibilité cutanée **: [Figure 14]**

- Les corpuscules de Meissner (tact fin)
- Les corpuscules de Pacini (pression et vibration)
- Les corpuscules de Ruffini (chaleur)
- Les corpuscules de Golgi (pression)
- Les corpuscules de Merkel

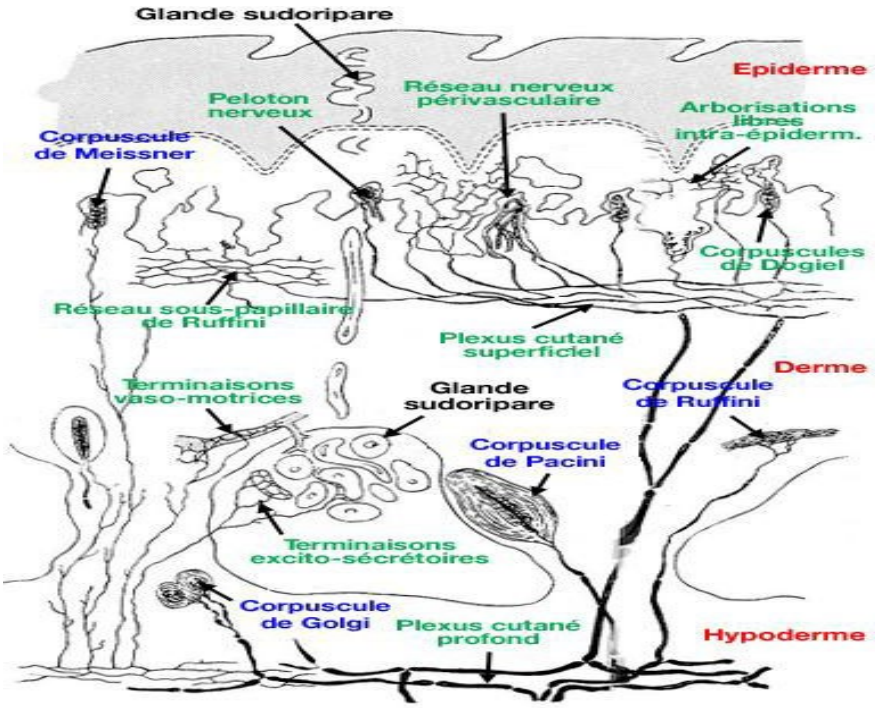


Figure 15: Les différents récepteurs cutanés

III. Les annexes cutanées

Les annexes cutanés regroupent les glandes cutanées [glandes sudoripares (sudorales) eccrines et apocrines et glandes sébacées] et les phanères (poils et ongles) **[Figure 15]**.

Les glandes sébacées sont annexées aux poils, l'ensemble constituant les follicules pilo-sébacés. Les glandes sudoripares apocrines sont annexées à certains de ces follicules pilo-sébacés alors que les glandes sudoripares eccrines sont toujours indépendantes des poils.

1. Les glandes sudoripares

Ce sont des glandes exocrines, tubuleuses simples pelotonnées, sécrétant la sueur. Leur portion sécrétrice (épithélium cubique simple) entourée de cellules myo-épithéliales, siège dans le derme profond. Leur canal excréteur (épithélium cubique bistratifié) gagne la surface de l'épiderme par un trajet hélicoïdal.

On distingue deux variétés de glandes sudoripares.

1.1. Les glandes sudoripares apocrines

Les glandes sudoripares apocrines ne sont présentes que dans certaines régions de l'organisme: creux axillaire, pubis, scrotum, petite lèvre, région péri-anale, conduit auditif externe, paupières et sont toujours annexées à un follicule pilo-sébacé. Le produit de sécrétion est opaque, gras et alcalin. Il est sécrété sur un mode mérocrine.

1.2. Les glandes sudoripares eccrines

Les glandes sudoripares eccrines sont réparties sur toute la surface de la peau, très abondantes au niveau des paumes et des plantes **(Figure 16).** Elles élaborent la sueur : liquide aqueux, incolore et salé, dont le rôle est fondamental dans la thermorégulation : L'activation de ces glandes (La sudation) entraine l'évaporation de la sueur et consécutivement le refroidissement du corps.

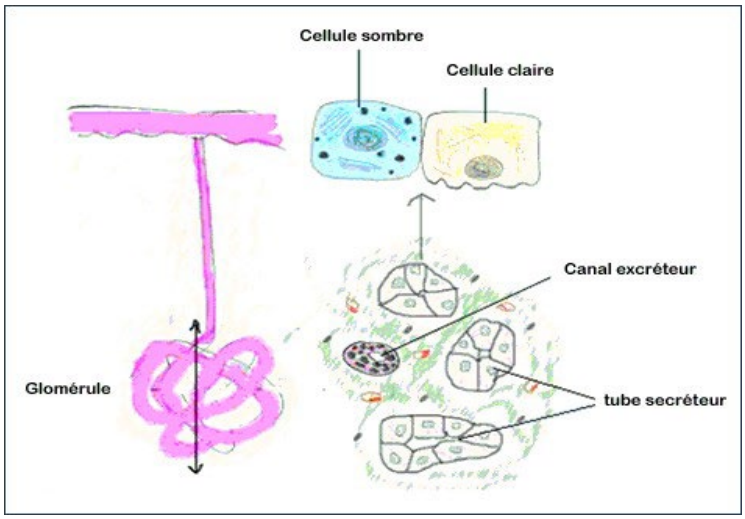


Figure 16: Glande sudoripare éccrine

2. Les follicules pilo-sébacés

2.1. Le poil

Les poils proviennent d'une invagination tubulaire de l'épiderme qui s'enfonce dans le derme. ce sont des structures kératinisées dans leur partie visible externe (la tige) en continuité avec un follicule pileux enfoncé dans la peau (la racine).

Cette invagination épidermique, constituant la gaine épithéliale du poil est entourée par le « sac fibreux du poil », gaine conjonctive formée par le derme et renfermant des vaisseaux et des terminaisons nerveuses sensitives.

La tige est formée de 3 parties concentriques :

- ✓ La moelle ou la médullaire (centrale)
- ✓ Le cortex ou l'écorce : constitué par des lamelles de kératine autour de la moelle. La pigmentation du cortex détermine la couleur du poil assuré par les mélanocytes de la partie profonde.
- ✓ La cuticule : constituée de lamelles de kératine dure emboîtées les unes dans les autres.

La racine du poil présente une dilatation terminale constituant **le bulbe pilaire**. A la base de celui-ci se trouve **la papille dermique** autour de laquelle on décrit la **matrice du poil** constituée par des cellules épidermiques dont la prolifération et la différenciation de la couche germinative vont donner naissance à l'axe du follicule pileux et aux deux gaines épithéliales externe et interne **[Figure 17].**

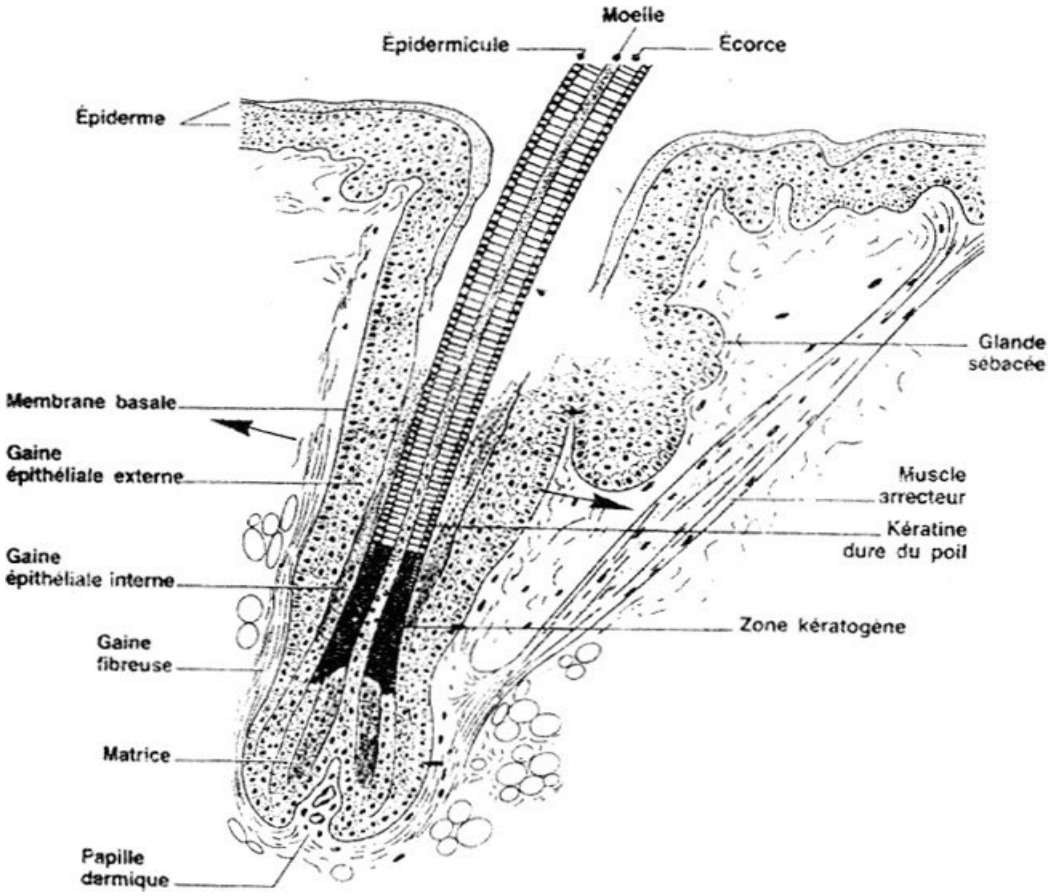


Figure 17: Structure du poil

La coloration des poils et des cheveux est due à l'incorporation de mélanosomes aux cellules épithéliales destinées à former la kératine des phanères. Elle s'explique à la fois par la quantité de mélanosomes présents et par la qualité du pigment (eumélanine noire ou phémélanine jaune orangée).

2.2. Les glandes sébacées

Les glandes sébacées, exocrines, alvéolaires simples, holocrines et sécrétant un produit lipidique, le sébum, sont annexées aux poils. Leur portion sécrétrice est formée d'un ou de plusieurs alvéoles dilatés en sacs. La cellule sécrétrice est entièrement éliminée avec son contenu. Le canal excréteur, unique et très court, débouche au niveau de la gaine épithéliale du poil.

2.3. Le muscle arrecteur du poil

Le muscle arrecteur du poil est un petit muscle lisse à innervation sympathique segmentaire dont la contraction (sous l'effet du froid, de la peur, etc.) déclenche le redressement du poil (« chair de poule »).

3. Les ongles

On décrit à l'ongle 2 parties: une partie visible, le **corps de l'ongle** ou **limbe** et une partie cachée sous un repli cutané, la **racine [Figure 18].**

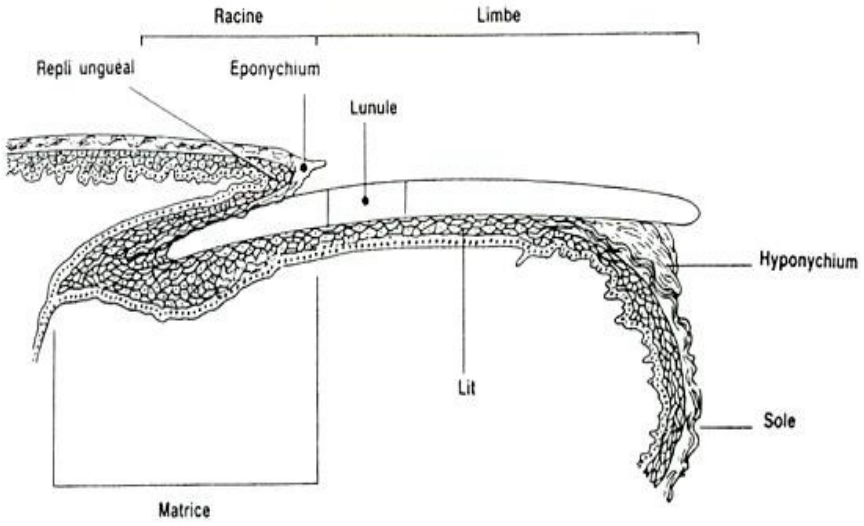


Figure 18: Structure de l'ongle

La ***lunule*** est la partie blanchâtre du limbe situé au voisinage de la racine. Elle est particulièrement bien développée au niveau des pouces.

La peau qui recouvre la racine de l'ongle est appelé **bourrelet unguéal** et son extrémité libre très kératinisée **éponychium** ou **cuticule** alors que la région située sous le bord libre de l'ongle est **l'hyponychium**.

Sur une coupe longitudinale, on distingue de haut en bas au niveau du corps de l'ongle :

- ✓ **le plateau unguéal** qui est l'équivalent de la couche cornée de l'épiderme et qui est constitué de cellules cornifiées.
- ✓ **le lit unguéal** qui est un épithélium pavimenteux stratifié, en continuité en avant avec l'épiderme du bout du doigt ; la portion qui n'est pas recouverte par l'ongle est dénommée **sole.**
- ✓ **le derme** qui en avant de la lunule, au niveau de la zone rosée, est directement et fermement attaché au périoste de la phalange distale par des travées conjonctives denses, verticales.

  En arrière, la racine de l'ongle s'enfonce profondément dans le derme pour pratiquement atteindre l'articulation interphalangienne distale.

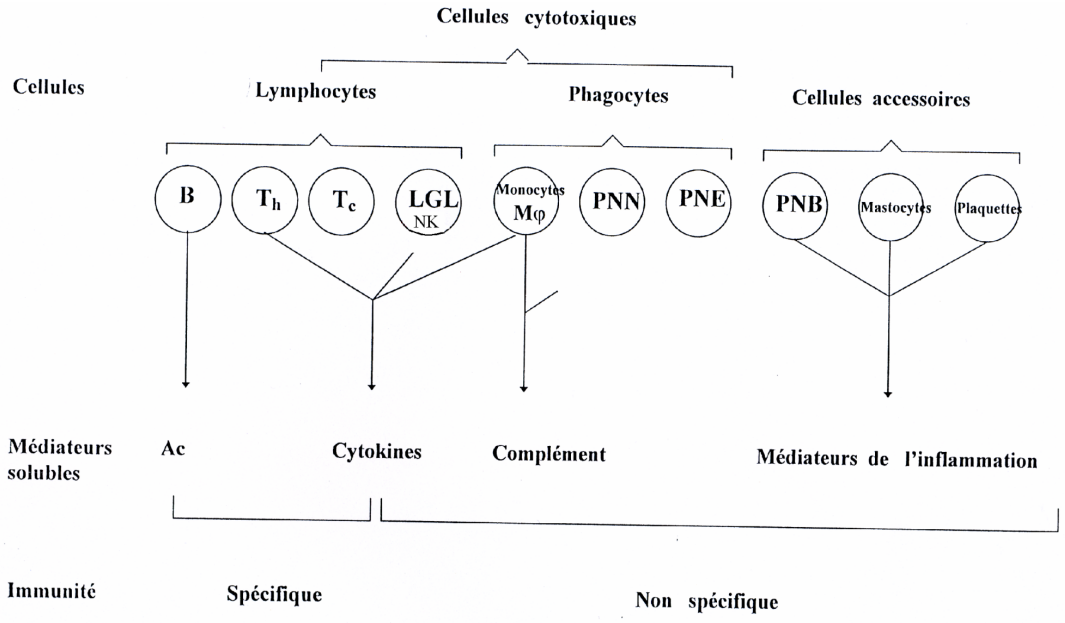
La croissance de l'ongle se fait par prolifération et différenciation de l'épithélium de la racine et de la lunule de l'ongle, encore appelé **matrice de l'ongle.**

2-IMMUNOLOGIE FONDAMENTALE

Introduction : Historique,
Vue d'ensemble du système immunitaire

IMMUNOLOGIE

- Science qui étudie les moyens et les mécanismes de défense de l'organisme contre les agressions extérieures (microbes..) et intérieures (tumeurs..)
- Système immunitaire:
  - substances et solubles cellules
  - résidentes dans les ≠ organes lymphoïdes ou autres
  - ou circulant dans le sang et la lymphe d'un organe ou tissu à un autre
  - fonctionnant en harmonie pour assurer l'intégrité de l'organisme face à toute agression



Les effecteurs cellulaires et solubles du système immunitaire

Immunité non spécifique

- Naturelle, innée
- Divers types d'effecteurs cellulaires et moléculaires agissant chacun contre un groupe d'agents pathogènes par le(s) même(s) mécanisme(s) sans faire la distinction entre les différents agents et sans en garder la mémoire
- Complément
- Médiateurs de l'inflammation aigue: histamine, PG, LT..
- PNN, Monocytes-Mϕ, PNE, NK
- PNB, Mastocytes

CELLULES DE L'IMMUNITE NON SPECIFIQUE

- Pas de récepteur spécifique pour l'Ag
- Pas de restriction allo génique
- Pas de mémoire immunitaire
- Pas de prolifération en périphérie (sauf NK)
- Immunité naturelle ou innée :
  - Nombre de cellules immédiatement disponible élevé
  - Pas de délai, action rapide
- 3 mécanismes d'action :
  - Phagocytose
  - Cytotoxicité
  - Libération de médiateurs de l'inflammation aigue
- Origine : Moelle osseuse (hématopoïèse)

CELLULES DE L'IMMUNITE SPECIFIQUE

- LB et LT: circulent dans le sang, la lymphe..à l'état naïf au repos
- Extraordinaire diversité du répertoire de reconnaissance de l'Ag:
- Expression d'un récepteur spécifique pour l'Ag polymorphique et clonalement distribué
- Capacité de prolifération en périphérie après activation par l'Ag
- Stimulation par l'Ag ⟶ Transformation lymphoblastique:
  petit lymphocyte au repos stade G_0 →
  lymphoblaste phase G_1 du cycle cellulaire:
  divisions ¢res successives + différenciation terminale ⟶
  ¢ effectrices +++ et ¢ mémoire toutes spécifiques de l'Ag

  Adaptation de la réponse immunitaire à l'environnement

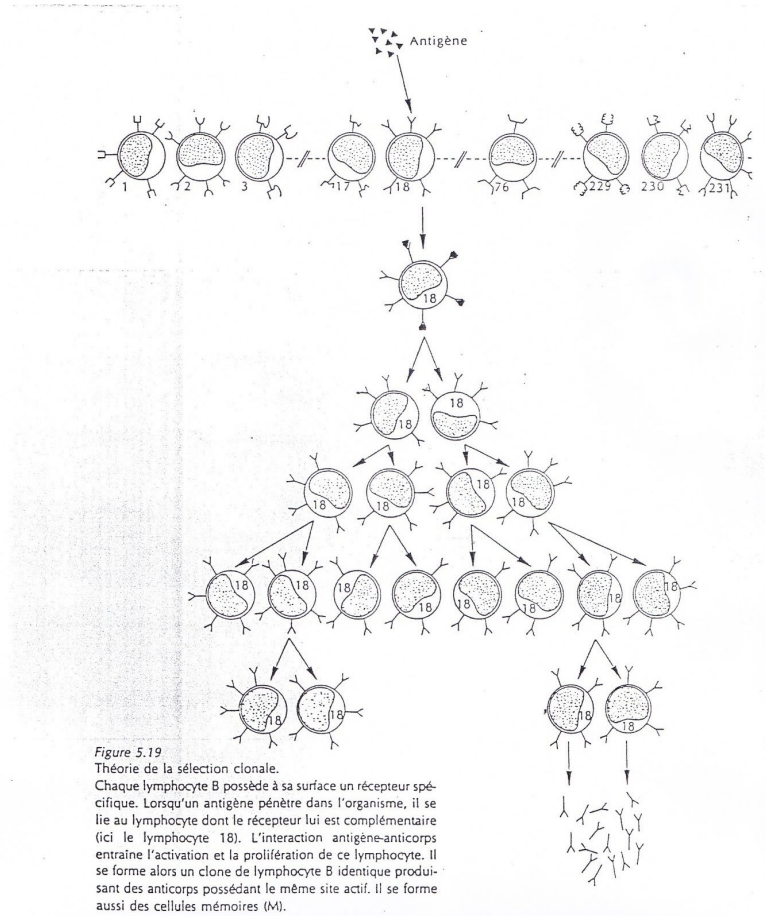


Figure 5.19
Théorie de la sélection clonale.
Chaque lymphocyte B possède à sa surface un récepteur spécifique. Lorsqu'un antigène pénètre dans l'organisme, il se lie au lymphocyte dont le récepteur lui est complémentaire (ici le lymphocyte 18). L'interaction antigène-anticorps entraîne l'activation et la prolifération de ce lymphocyte. Il se forme alors un clone de lymphocyte B identique produisant des anticorps possédant le même site actif. Il se forme aussi des cellules mémoires (M).

Prix Nobel attribués pour des recherches en Immunologie

Année	Récipiendaire(s)	Pays	Recherche
1901	Emil Von Behring	Allemagne	Antitoxines sériques
1905	Robert Koch	Allemagne	Immunité cellulaire contre la tuberculose
1908	Elie Metchnikoff Paul Ehrlich	Russie Allemagne	Rôle de la phagocytose (Metchnikoff) et des antitoxines (Ehrlich) dans l'immunité
1913	Charles Richet	France	Anaphylaxie
1919	Jules Bordet	Belgique	Bactériolyse médiée par le complément
1930	Karl Landsteiner	USA	Découverte des groupes sanguins humains
1951	Max Theiler	Afrique du sud	Développement du vaccin contre la fièvre jaune
1957	Daniel Bovet	Suisse	Antihistaminiques
1960	F. Macfarlane Burnet Peter Medawar	Australie UK	Théorie de la sélection clonale Découverte de la tolérance immunitaire acquise
1972	Rodney R. Porter Gerald M. Edelman	Grande Bretagne USA	Structure chimique des anticorps
1977	Rosalyn R. Yalow	USA	Développement des radioimmunodosages
1980	Georges Snell Jean Dausset Baruj Benacerraf	USA France USA	Complexemajeurd'histocompatibilité
1984	Cesar Milstein Georges F. Köhler Niels K. Jerne	Grande Bretagne Allemagne Danemark	Anticorps monoclonaux Théorie du réseau idiotypique
1987	SusumTonegawa	Japon	Réarrangement des gènes dans la production des anticorps
1991	E. Donnal Thomas Joseph Murray	USA USA	Immunologie des transplantations
1996	Peter C. Doherty Rolf M. Zinkernagel	Australie Suisse	Spécificités de la réponse immunitaire à médiation cellulaire
2011	Jules Hoffman, Bruce Beutler et Ralph Steinman	France USA Canada	Récepteurs de l'immunité innée (TLR) Cellules dendritiques
2018	James Allison TasukoHonjo	USA Japon	Immunothérapie anti-cancer

Quelques grandes dates de l'immunologie

L'immunité anti-infectieuse

1721	Lady Montagu	La vaccination interhumaine
1798	Edward Jenner	La vaccination bovine
1880	Louis Pasteur	Atténuation du bacille du choléra de la poule
1884	Élie Metchnikoff	La phagocytose
1885	Louis Pasteur	Le vaccin contre la rage
1890	Robert Koch	Le phénomène de Koch et la réaction d'hypersensibilité retardée
1890	Emil von Behring	Les antitoxines
1897	Paul Ehrlich	Études sur l'immunité antitoxique
1903	Maurice Arthus	L'hypersensibilité semi-retardée
1932	Gaston Ramon	L'anatoxine
1957	Alick Isaacs	L'interféron

La sérologie

1895	Jules Bordet	Le complément
1896	Max Gruber et Herbert Durham	L'agglutination
1897	Rudolf Kraus	La précipitation
1921	Carl Prausnitz et Heinz Küstner	Les réagines
1942	Albert Coons	L'immunofluorescence
1945	Robert Coombs	L'utilisation des antiglobulines
1946	Jacques Oudin et Orjän Outcherlöny	L'immunodiffusion
1953	Pierre Grabar	L'immunoélectrophorèse
1960	Roselyn Yalow et Solomon Berson	Les dosages radio-immunologiques

L'immunochimie

1917	Karl Landsteiner	Les haptènes
1929	Michael Heidelberger	La sérologie chimique quantitative
1938	Elvin Kabat	Les anticorps sont des gammaglobulines
1956	Jacques Oudin	Les allotypes
1958	Rodney Porter	La structure des immunoglobulines
1959	Gerald Edelman	Séquence d'une immunoglobuline
1963	Jacques Oudin et Henry Kunkel	Les idiotypes
1975	Susumi Tonegawa et Philip Leder	Les gènes des immunoglobulines
1984	Mark Davis et Tak Mak	Les gènes du récepteur des cellules T

L'immunologie cellulaire

1942	Merrill Chase et Karl Landsteiner	Le transfert de l'hypersensibilité retardée par les cellules
1958	Mac Farlane Burnet et Niels Jerne	La théorie de sélection clonale
1958	Peter Medawar	Le phénomène de tolérance
1959	James Gowans	Le rôle des lymphocytes dans l'immunité
1962	Jacques Miller	Les effets de la thymectomie à la naissance
1970	Avrion Mitchison	La reconnaissance du porteur par les cellules T auxiliaires
1975	Cesar Milstein et George Köhler	Les hybridomes

L'immunogénétique

1901	Karl Landsteiner	Les groupes sanguins ABO
1936	Perter Gorer	Les antigènes H-2 chez la souris
1940	Karl Landsteiner et Alexandre Wiener	Les antigènes rhésus
1948	George Snell	Les souris congéniques
1958	Jean Dausset	Les antigènes HLA
1963	Baruj Benacerraf et Hugh Mac Devitt	Les gènes de réponse immunitaire
1975	Rolf Zinkernagel et Peter Doherty	La restriction allogénique

L'immunopathologie

1902	Charles Richet et Paul Portier	L'anaphylaxie
1905	Clemens von Pirquet	La maladie sérique
1956	Ivan Roitt et Deborah Doniach	Les auto-anticorps antithyroglobuline
1957	Ernest Witebsky	L'auto-immunité
1959	Jean Hamburger et John Merrill	Les greffes de rein chez l'homme
1963	C.A. Clarke	La prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né
1963	Frank Dixon	Les glomérulonéphrites par dépôts de complexes immuns
1967	Kimishiga et Teruka Ishizaka	Le rôle des IgE dans l'allergie
1970	Robert Good	Le démembrement des déficits immunitaires congénitaux
1973	Jon Lindstrom	Les anticorps antirécepteurs de l'acétylcholine dans la myasthénie

LES ANTIGENES

Pr Hend HACHICHA
Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Définir « l'antigène », « l'immunogénicité » et « l'haptène »
2. Expliquer les facteurs qui contrôlent l'immunogénicité d'un antigène
3. Expliquer la notion de spécificité antigénique
4. Définir la notion de réaction croisée en en précisant les mécanismes
5. Enumérer les principales classes d'antigènes en donnant des exemples
6. Définir « le déterminant antigénique » ou « épitope » et distinguer entre épitope conformationnel et épitope séquentiel, et entre épitope immunodominant et épitope cryptique.
7. Définir un xéno-antigène, un allo-antigène et un auto-antigène

I. DEFINITION

Un antigène (Ag) est une substance étrangère à un individu qui lorsque injectée à cet individu induit la synthèse d'anticorps (Ac) spécifiques par ce même individu. Cette définition n'est plus valable aujourd'hui, car :

- elle ne précise pas très bien ce qu'est l'Ag ;

- il existe des antigènes qui sont incapables d'entraîner la synthèse d'Ac spécifiques (sauf s'ils sont couplés à des protéines porteuses) et qui pourtant sont reconnus par des anticorps spécifiques;

- les Ag n'interagissent pas seulement avec les Ac mais aussi avec le récepteur pour l'Ag des lymphocytes T (TCR) et des lymphocytes B (BCR);

- certains Ag peuvent dans certaines conditions induire une non réponse immunitaire spécifique ou tolérance;

- l'Ag n'est pas nécessairement étranger à l'individu, il peut en effet s'agir d'un Ag du soi ou auto-Ag.

*** <u>Définition actuelle</u>**

Un antigène est une espèce moléculaire bien définie, isolée ou constitutive d'une cellule, d'un virus ou d'un liquide biologique et caractérisée par ses interactions

spécifiques avec des molécules de reconnaissance immunologique : Ac, Igs (Immunoglobulines de surface) et/ou TCR.

Notion de déterminant antigénique

L'Ag c'est donc une molécule. En fait, l'Ac reconnaît une petite portion de l'Ag qu'on appelle déterminant antigénique ou épitope. Chaque molécule d'Ag comporte selon sa taille un ou plusieurs déterminants antigéniques.

La valence d'un antigène est exprimée par le nombre maximum de molécules Ac qu'une molécule d'Ag peut fixer (valence ≤ nombre de déterminants antigéniques).

Avec son TCR (″T cellreceptor″), le lymphocyte T lui aussi reconnaît une petite portion de l'Ag : un peptide de 10 à 20 acides aminés provenant de la dégradation partielle de la protéine antigénique.

II. Propriétés des Ag

1) **Immunogénicité**

C'est la capacité de l'Ag à induire une réponse immunitaire. Les Ag capables d'induire une réponse immunitaire sont dits immunogènes.

a) ***Notion d'haptène***

Un haptène est une petite molécule organique non immunogène par elle même, mais qui induit la synthèse d'Ac spécifiques quand elle est couplée à une protéine porteuse. Les haptènes sont donc des Ag non immunogènes, ex : DNP, TNP (di et tri-introphénol).

b) ***Facteurs conditionnant l'immunogénicité***

*Facteurs dépendants de l'Ag :

- *origine* : à moins d'être modifiés expérimentalement ou par des facteurs d'environnement, les Ag du soi sont habituellement peu ou pas immunogènes.
- *poids moléculaire* (PM) : un Ag est d'autant plus immunogène que son PM est élevé. Les Ag de PM compris 5 et 10 kDa (kiloDaltons) sont généralement peu immunogènes. Toutefois, quelques substances de PM < 1kDa se sont avérées immunogènes.
- *nature chimique* : les protéines et les lipopolysaccharides sont de puissantsimmunogènes. Les polysaccharides simples sont en général de bons

immunogènes chez l'homme et la souris mais non immunogènes chez le lapin et le cobaye. Les lipides se comportent comme les haptènes.

- *complexité chimique et structurale de la molécule Ag* : les expériences menées avec de polymères synthétiques d'acides aminés ont bien montré la corrélation entre l'immunogénécité d'une part et la taille et la complexité chimique (1, 2, 3 acides aminés ou plus) et structurale (structure linéaire, branchée …) de la molécule antigénique d'autre part.

- *dose et voie d'administration* : pour chaque Ag, il existe une courbe dose-réponse propre (pour chaque voie d'administration). Des doses trop faibles ou trop élevées d'Ag, non seulement ne stimulent pas la réponse immunitaire, mais peuvent même induire un état de tolérance immunitaire : non réponse immunitaire spécifique et durable. La dose immunogène optimum est d'autant plus faible que l'Ag est plus éloigné phylogéniquement par rapport à l'hôte : ex la dose immunogène d'endotoxine bactérienne chez le lapin est de 10^{-14} g, celle de la sérum albumine bovine est de 10^{-4} g.

En règle générale, une administration répétitive (rappels) sur plusieurs semaines est nécessaire pour stimuler une réponse immunitaire forte. L'administration simultanée de 2 ou plusieurs antigènes peut entraîner une synergie dans la production d'Ac, tandis que l'administration de deux Ag à 2 ou 3 jours d'intervalle peut entraîner une dépression de la réponse immunitaire vis à vis du 2ème Ag.

Les voies d'administration les plus utilisées pour l'immunisation sont les voies parentérales (autres que per-os) : sous-cutanée (SC), intradermique (ID), intramusculaire (IM) et intraveineuse (IV).

- *association d'adjuvants* : les adjuvants sont des substances qui lorsqu'elles sont mélangées à un Ag, augmentent son immunogénicité. Les adjuvants sont souvent utilisés pour exalter la réponse immunitaire pour les Ag à faible immunogénicité ou disponibles en petites quantités. L'adjuvant le plus utilisé en expérimentation animale est l'adjuvant de Freund (émulsion d'eau et d'huiles minérales avec ou sans mycobactéries tuées).

- *sensibilité de l'Ag à l'apprêtement et à la présentation aux lymphocytes T* : les macromolécules qui ne peuvent pas être dégradées et présentées aux lymphocytes T en association avec des molécules du CMH (complexe majeur d'hitocompatibilité) sont généralement de mauvais immunogènes.

*Facteurs dépendants de l'hôte :

- *constitution génétique* : espèce, souche, ethnie, individu
- *état physiologique* : âge, sexe, grossesse, état de santé...

c)Notion de pro-antigène

Les pro-antigènes sont des antigènes de faible PM qui deviennent immunogènes après fixation sur une protéine autologue ; à la différence des haptènes, ils entraînent surtout des réactions d'hypersensibilité retardée (HSR).

Ex : le DNCB (dinitrochlorobenzène), le chrome, le nickel, l'acrylique, certains produits cosmétiques…

2) **Spécificité antigénique**

L'immunisation par deux Ag différents induit la production de deux populations différentes d'Ac qu'on appelle immun-sérums (IS) ; chaque immun-sérum est spécifique d'un Ag donné, et dans chaque immunsérum, chaque type d'Ac est spécifique d'un déterminant antigénique bien déterminé. Ainsi par exemple, les Ac dirigés contre le virus de la rougeole se lient au virus de la rougeole mais pas à celui de la poliomyélite ou de la rage. Par conséquent ils ne protègent que contre la rougeole. De même, les Ac anti-para-amino-phenyl-glucoside sont différents des Ac anti-para-amino-phényl-galactoside. En effet et comme illustré dans le tableau 2, le système immunitaire arrive à distinguer entre ces 2 molécules qui pourtant se ressemblent tellement sur le plan de la structure et de la composition chimique en produisant contre chacune d'elle des Ac spécifiques qui ne reconnaissent pas du tout l'autre molécule.

Cette notion de spécificité antigénique a tout de même des limites. Il peut en effet y avoir une réaction croisée entre 2 Ag différents : l'Ac obtenu par immunisation avec un Ag réagit in vitro avec l'Ag immunisant (bien sûr) mais aussi

avec un 2ème Ag différent de l'Ag immunisant. Cette situation peut se produire lorsque :

- les 2 Ag ont des déterminants antigéniques communs (fig 1)

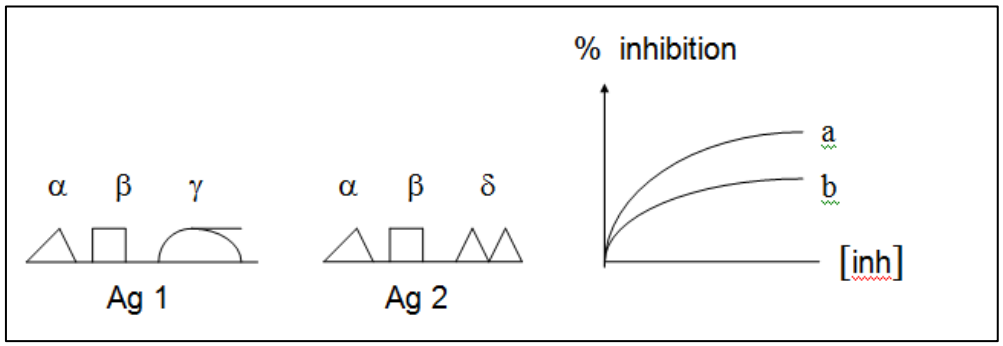


Figure 1 : *Réaction croisée entre 2 Ag différents (1 et 2) ayant des déterminants antigéniques communs (α et β)*

- les 2 Ag ont des déterminants antigéniques semblables donc reconnus avec les mêmes Ac mais avec des affinités différentes (fig2).

Dans le premier cas, l'inhibition de la réaction Ag-Ac avec l'Ag homologue (donnant une réaction croisée) reste toujours nettement inférieure à celle obtenue avec l'Ag spécifique lui-même quelle que soit la concentration de l'inhibiteur (fig1). Tandis que dans le deuxième cas et avec une concentration beaucoup plus importante de l'inhibiteur, l'inhibition avec l'Ag homologue atteint le plateau obtenu avec l'Ag spécifique (fig2).

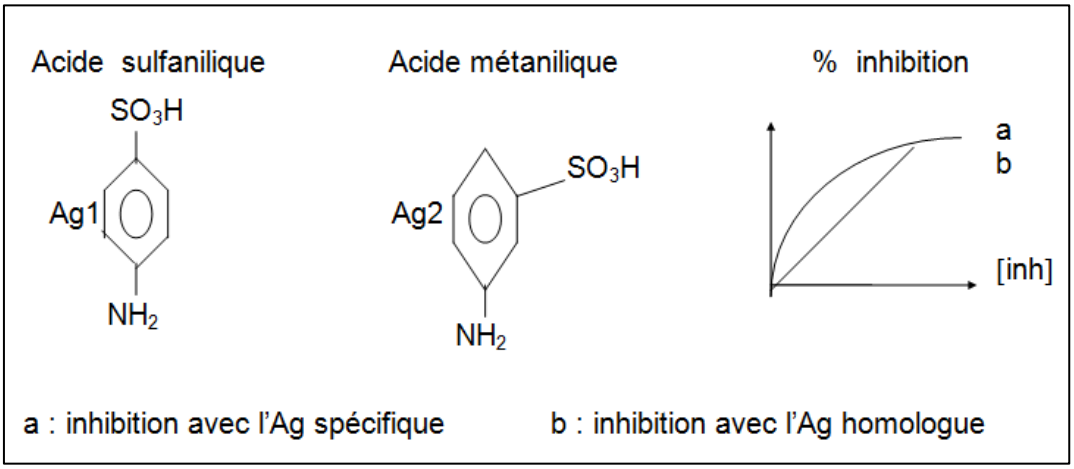


Figure 2 : *Réaction croisée entre 2 Ag différents ayant une forte similitude au niveau de leur structure*

III- Classification des Ag

1) **<u>Ag naturels</u>** : trouvés tels quels dans la nature

a) ***Selon la nature chimique***, les Ag naturels sont classés en 4 catégories :

*<u>Protéines</u> : holo et hétéro-protéines (glyco, lipo, nucléo et métallo-protéines). Les protéines sont généralement de très bons immunogènes.

Sur les protéines fibreuses, les déterminants antigéniques sont surtout de type <u>séquentiel</u> : linéaires dépendant de la structure primaire, taille <u>~</u> 10 à 20 acides aminés (aa).

Sur les protéines globulaires, les déterminants antigéniques sont aussi et surtout de type <u>conformationnel</u> : résultant de la juxtaposition dans l'espace d'aa non contigus, dépendent donc de la structure 2ère, 3ère voire même 4ère des protéines (figure 3).

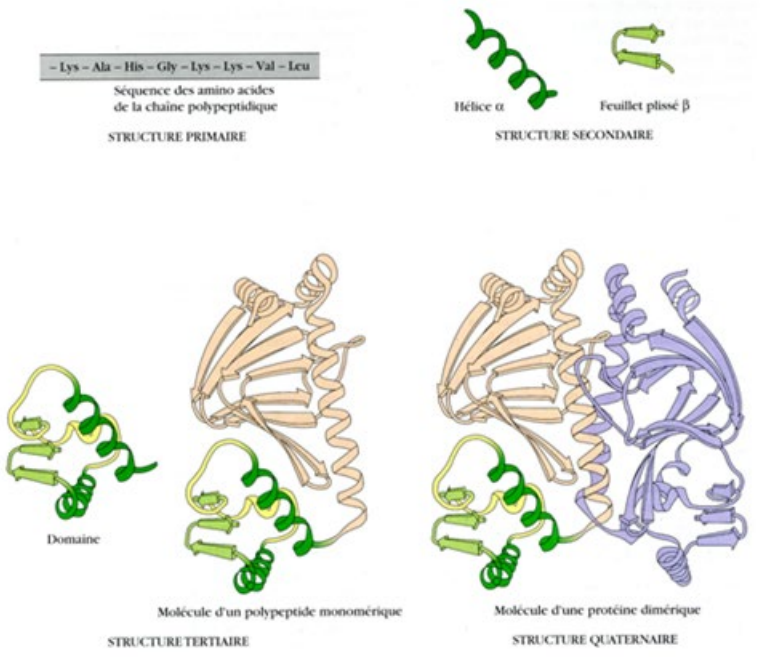


FIGURE 3 Les quatre niveaux de la structure des protéines. La disposition linéaire des amino acides constitue la structure primaire. Le repliement de certaines parties de la chaîne polypeptidique en des structures régulières (par exemple, les hélices α et les feuillets plissés β) crée la structure secondaire. La structure tertiaire se réfère au repliement des régions présentant des structures secondaires pour donner la forme d'ensemble de la molécule ou de parties de celles-ci (domaines) présentant des propriétés fonctionnelles spécifiques. La structure quaternaire résulte de l'association d'au moins deux chaînes polypeptidiques en une seule molécule protéique polymérique.

On distingue classiquement les déterminants antigéniques immuno-dominants, exposés à la surface de la molécule, des déterminants antigéniques cryptiques ou immuno-silencieux masqués dans la molécule native.

* Polysaccharides = polyosides :

Polyosides simples :
- linéaires
- arborescents (dextrane)
- branchés (polysaccharides du pneumocoque et du streptocoque)

Polyosides complexes :
- lipopolysaccharide (entérobactéries)
- glycoprotéines (groupes sanguins)

Les polysaccharides simples sont en général de bons immunogènes chez l'homme et la souris, mais ne sont pas immunogènes chez le lapin et le cobaye. Les polysaccharides complexes sont en général de bons immunogènes.

Les sucres immuno-dominants sont ceux qui déterminent la spécificité antigénique d'un polysaccharide et permettent de le distinguer des autres polysaccharides, du même groupe (exemple Ag A et B des groupes sanguins, Ag AO et BO des salmonelles...). Ils sont préférentiellement situés sur l'extrémité des chaînes latérales. Le sucre immuno-dominant représente le principal point de contact du déterminant antigénique avec le site de combinaison de l'Ac.

La taille du déterminant antigénique a été évaluée par Kabat à environ huit résidus de sucres.

*Lipides : les lipides se comportent comme les haptènes.

- lipides simples = homolipides : acides gras, stérols et stéroïdes
- lipides complexes = hértérolipides : glycophospholipides, sphingolipides.

*Acides nucléiques : Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont engénéral non immunogènes. Cependant, ils peuvent devenir immunogène après fixation à un porteur tel que la sérum-albumine méthylée qui protège l'acide nucléique en évitant sa dénaturation. Les malades atteints de lupus érythémateux disséminé ont en général des auto-Ac anti ADN natif et dénaturé.

b) ***Selon leur origine***, les Ag naturels sont classés en :

*hétéro-Ag ou xéno-Ag : Ag appartenant à des espèces différentes ;

*allo-Ag ou homo Ag : Ag appartenant à des individus différents de la même espèce ;

*auto-Ag : Ag appartenant à l'individu lui-même.

Les xéno-Ag sont en général des Ag présents chez tous les individus de la même espèce. Les allo-Ag sont des Ag présents chez certains individus et pas d'autres de la même espèce (formes alléliques).

2) **Ag artificiels**

Ce sont des Ag naturels modifiés chimiquement par la fixation d'haptènes, de polypeptides synthétiques...Ex : la gélatine est très peu immunogène mais si on lui greffe des chaînes de tyrosine ou de tryptophane elle devient fortement immunogène chez le cobaye et le lapin.

3) **Ag synthétiques** : ce sont des Ag créés de toute pièce.

Il s'agit surtout des polypeptides synthétiques : Les homopolymères (1 seul type d'aa) sont habituellement non immunogènes. Les copolymères de 2 aa sont inconstamment immunogènes (selon les aa et l'espèce hote). Les copolymères de 3 aa ou plus sont en général de bons immunogènes.

Les relations entre immunogénicité et structure primaire n'obéissent pas à une règle absolue. Un changement de plusieurs aa peut ne pas modifier l'immunogénicité ; alors que inversement, la substitution d'un seul aa peut suffire à faire perdre l'antigénicité. Il s'agit en général dans ce cas d'une substitution qui entraîne des modifications conformationnelles.

IV- Notion d'antigène thymo-indépendant :

Les polymères d'aa de configuration optique D, donnent une réponse Ac par les lymphocytes B qui ne nécessite pas l'aide des lymphocytes T, on parle d'Ag thymo-indépendants (TI).

D'une façon générale, les Ag thymo-indépendants sont caractérisés par le caractère répétitif de leurs déterminants antigéniques et leur dégradation lente ; ce qui leur permet d'interconnecter facilement les Ig de surface des lymphocytes B.

Il peut aussi s'agir d'activateurs polyclonaux (ou mitogènes) des lymphocytes B capables d'induire la prolifération de la quasi-totalité des clones B en se fixant sur un récepteur membranaire à leur surface.

Les Ag thymo-indépendants n'induisent ni à la commutation de classe (IgM → IgG, IgA…), ni la maturation de l'affinité des anticorps (due aux mutations somatiques) ni la différenciation en cellules B mémoire. Tous ces phénomènes nécessitent la coopération des cellules T helper (ou T auxiliaires). Exemple d'Ag thymo-indépendant : les lipopolysaccharides des endotoxines, le polysaccharide du pneumocoque, la flagelline, le dextrane…

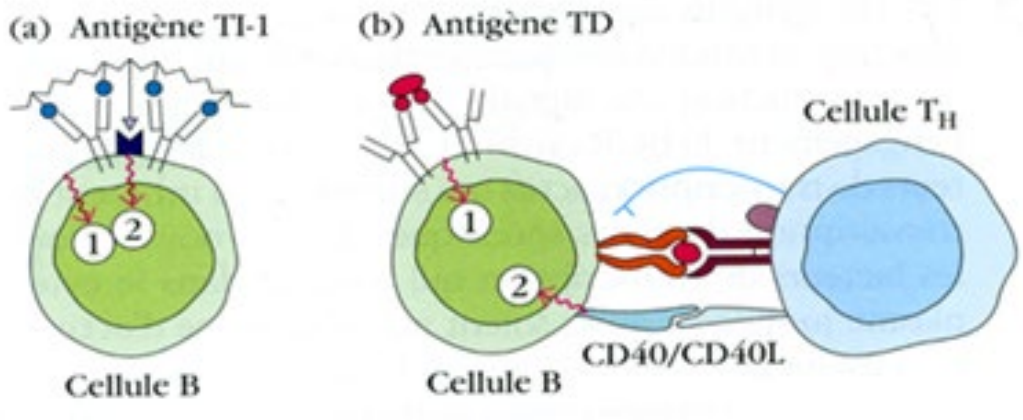
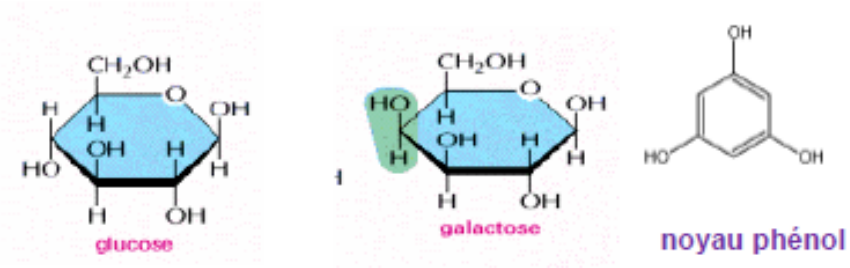


Figure 4 : *réponse des lymphocytes B aux Ag thymo-dépendants (à droite) et thymo-indépendants (à gauche)*

Spécificité antigénique

- En fixant, en position para, sur un noyaux phénol un résidu glucose et sur un autre noyau phénol un résidu galactose, on obtient 2 haptènes (H1 et H2) qui se ressemblent énormément : sont quasiment identiques
- Et pourtant le système immunitaire va pouvoir distinguer entre les 2 en produisant 2 types d'Ac ≠ : anti-H1 et anti-H2



Spécificité Antigénique

- 2 groupes d'animaux (souris ou lapins..) sont immunisés par le même haptène H1 fixé sur une protéine porteuse différente pour chaque groupe : OA et SA
- Les immuns sérums (IS) de chaque groupe sont testés in-vitro avec chacune des protéines porteuses seule et avec l'haptène
- Quand elle a lieu, la réaction Ag-Ac se traduit par une précipitation visible à l'œil nu
- Les résultats des 4 cases + et – prouvent que :
- les Ac anti-haptène sont ≠ des Ac anti-protéine porteuse

Tableaux 1 et 2 : **Notion de spécificité antigénique**

Réaction de précipitation de l'immun-sérum anti-haptène-protéine porteuse avec l'haptène et/ou la protéine porteuse ayant servi à l'immunisation ou leurs homologues de structure très proche (+ : indique une précipitation).

Tableau 1

Ag / Ac	SA	OA	H 1 . SA	H 1 . OA
IS anti-H 1.SA	+	-	++	+
IS anti-H 1.OA	-	+	+	++

IS : immun-sérum S.A : sérum albumine bovine O.A : ovalbumine

H : haptène

H1 : para-aminophényl-glucoside

H2 : para-aminophényl-galactoside

Tableau 2

IS épuisé par Ag X : adsorbé sur Ag X : duquel on a enlevé les Ac spécifiques de l'Ag X

Les Ac anti-H1 sont différents des Ac anti-H2

Ag / Ac	SA	SA.H1	SA.H2	H1.SA. H2
IS anti-H1.SA. H2	+	++	++	+++
IS anti-H1.SA. H2 Epuisé par SA	-	+	+	++
IS anti-H1.SA. H2 Epuisé par SA.H1	-	-	+	+
IS anti-H1.SA. H2 Epuisé par SA.H2	-	+	-	+

Spécificité Antigénique

- Sur la même protéine porteuse (SA), on fixe les 2 haptènes qui se ressemblent tellement : H1 et H2 et on immunise avec des animaux (souris ou lapins..)
- L'IS anti- H1-SA-H2 ainsi obtenu est testé in-vitro avec la SA seule, couplée avec H1, avec H2 et avec les 2 H
- Les mêmes Rx Ag-Ac sont ensuite reproduites successivement avec l'IS adsorbé sur la SA, et sur chacun des complexes SA-H1, SA-H2 et H1-SA-H2
- Les résultats des 4 cases + et – prouvent que :
- les Ac anti-haptène H1 sont ≠ des Ac anti-haptène H2

LES CELLULES DE L'IMMUNITE NON SPECIFIQUE

Pr Hend HACHICHA
Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Citer les différentes cellules de l'immunité non spécifique
2. Préciser la répartition sanguine et tissulaire des cellules de l'immunité non spécifique
3. Décrire les propriétés et les fonctions des cellules phagocytaires
4. Décrire les caractéristiques cytomorphologiques et fonctionnelles des cellules NK
5. Définir la notion de cellule Killer
6. Enumérer les cellules Killer et décrire leurs fonctions
7. Citer les cellules non phagocytaires et non cytotoxiques de l'immunité non spécifique en précisant leurs fonctions
8. Décrire les récepteurs de l'immunité innée

I- Introduction

Contrairement aux lymphocytes B et T, les cellules de l'immunité non spécifique ou naturelle n'ont pas de récepteur spécifique pour l'antigène (pas d'Ig membranaire ni de TCR et donc pas de mémoire de l'antigène) et sont incapables de proliférer en périphérie (à l'exception d'une sous-population de cellules NK). Disponibles en grand nombre avant toute immunisation, elles peuvent agir rapidement par l'un et/ou l'autre des 3 mécanismes suivants :

- phagocytose
- cytotoxicité
- libération de médiateurs de l'inflammation aiguë

Les cellules de l'immunité non spécifique (ou naturelle) sont les polynucléaires neutrophiles (PNN) et éosinophiles (PNE), les cellules monocyto-macrophagiennes (Mφ) et les cellules NK (″Natural Killer″). Accessoirement, les polynucléaires basophiles (PNB), les mastocytes et les plaquettes participent aux défenses immunitaires non spécifiques. Comme les lymphocytes, ces cellules dérivent toutes de cellules souches hématopoïétiques.

II- Les cellules phagocytaires

A) Propriétés et fonctions communes aux cellules phagocytaires

1) Origine

Les cellules phagocytaires (PNN et Mφ) dérivent d'un précurseur médullaire commun (CFU-GM) dont la détermination à partir de la cellule souche myéloïde dépend du GM-CSF ("Granulocyte Monocyte ColonyStimulating Factor"). Deux autres cytokines, le G-CSF et le M-CSF, sont respectivement impliquées dans la différenciation des précurseurs unipotents des granulocytes et des monocytes à partir des précurseurs bipotents de type CFU-GM (Figure 1).

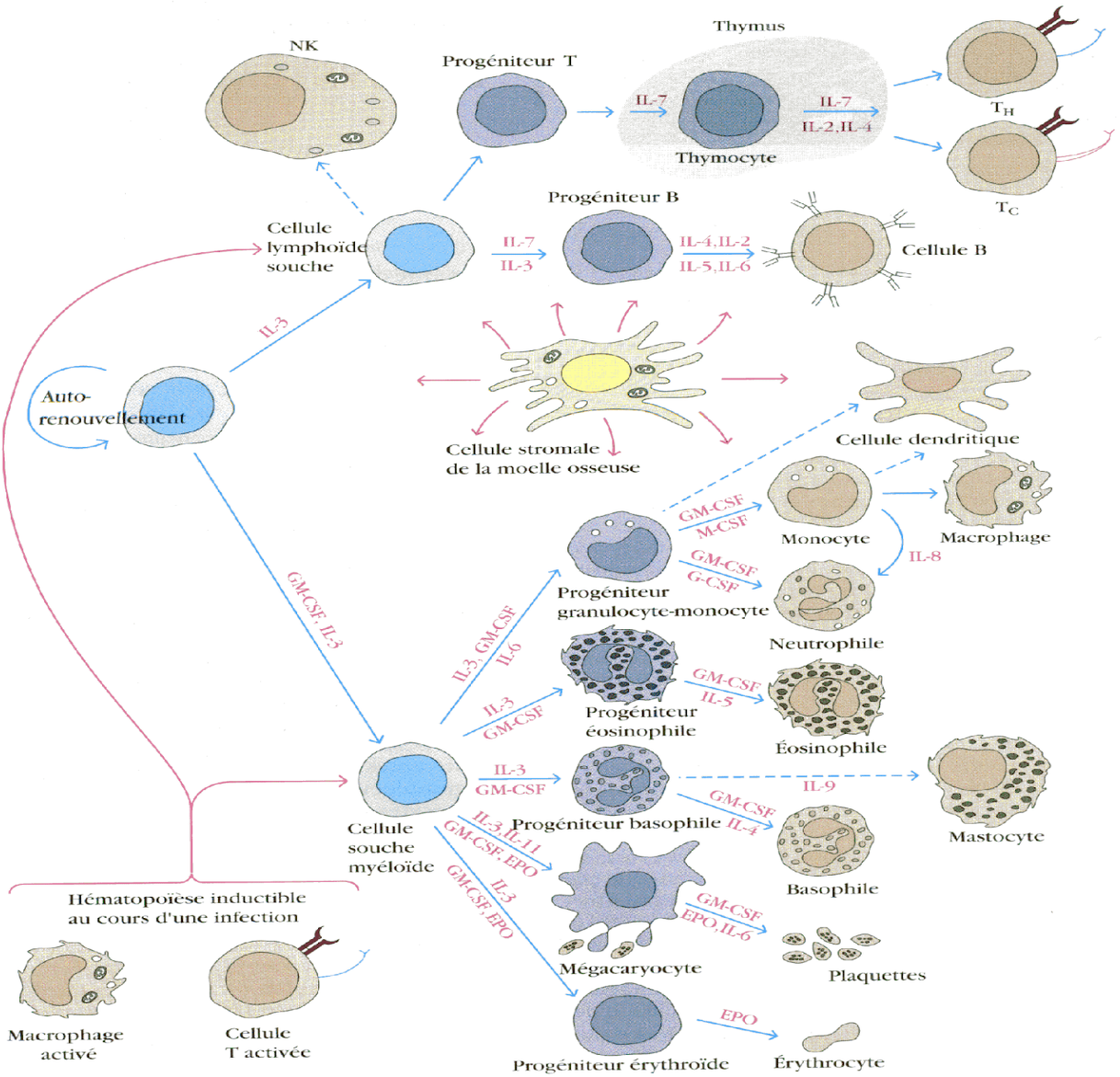


Figure 1: *Cellules de l'immunité, précurseurs et cytokines impliquées dans leur différenciation*

2) Adhésivité

In vivo, les cellules phagocytaires adhèrent aux cellules endothéliales et aux bactéries. In vitro, elles adhèrent aux surfaces de verre et de plastique.

L'adhésivité des cellules phagocytaires aux cellules de l'endothélium vasculaire est indispensable au processus de diapédèse (migration à travers la paroi vasculaire vers les tissus périphériques) et constitue une étape essentielle dans l'initiation et le développement de la réaction inflammatoire. Elle fait intervenir tout un ensemble de molécules d'adhésion telles que la sélectine L (ou CD62L) et l'intégrine LFA-1 (CD11a/CD18) exprimées à la surface des cellules phagocytaires et qui interagissent respectivement avec les molécules CD34 et ICAM-1 (ou CD54) sur l'endothélium vasculaire. L'importance de ces protéines d'adhésion dans l'immunité anti-infectieuse est démontrée par la gravité des déficits immunitaires héréditaires par défaut d'expression des molécules d'adhésion leucocytaire ou LAD (LAD1 : déficit portant sur l'expression des β2 intégrines, LAD2 : déficit portant sur les sélectines).

L'adhésivité aux bactéries est indispensable à la phagocytose. Elle fait intervenir des récepteurs pour les lectines de la paroi bactérienne tels que le MFR (″Mannosyl-Fucosyl-Receptor″) et le CD14 (récepteur pour le complexe LPS – LPS-Binding protein).

3)Mobilité

Les phagocytes sont des cellules extrêmement mobiles caractérisées par leur capacité à former des pseudopodes et de quitter les vaisseaux sanguins (diapédèse) pour accéder très vite au site de l'infection. En l'absence de stimulus, le déplacement des cellules phagocytaires se fait au hasard dans toutes les directions. En présence de certains agents dits chimiotactiques tels que des peptides d'origine bactérienne, des cytokines de la famille de l'interleukine 8 (IL8, MCP-1...), l'anaphylatoxine C5a libérée lors de l'activation du complément, le leucotriène B4 (LTB4) ou le PAF (facteur d'agrégation plaquettaire), la mobilité des phagocytes est considérablement accrue et devient orientée en direction de l'agent stimulant.

4)La phagocytose

La phagocytose désigne la faculté qu'ont certaines cellules de capter,internaliser et, dans la majorité des cas, dégrader des particules inertes ou viables d'une taille ≥ 100 nm. Cette variété d'endocytose est désignée pinocytose pour les substrats de taille < 100 nm. Chez les mammifères, la fonction de phagocytose est partagée par deux variétés de leucocytes : les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les monocytes-macrophages (Mφ).

La phagocytose se déroule en trois étapes :

1- adhésion de la cellule phagocytaire au substrat à phagocyter,

2- ingestion ou internalisation du substrat à l'intérieur d'un phagosome,

3- fusion phagosome-lysosome aboutissant généralement à la destruction (ou dégradation) du substrat phagocyté. Certains micro-organismes peuvent toutefois persister et/ou se multiplier à l'intérieur du phagocyte par résistance et/ou échappement à ses effecteurs microbicides.

La phagocytose est grandement facilitée par **l'opsonisation** (″opsonen″ en grec: préparer la nourriture) préalable de la particule ou du micro-organisme à phagocyter par des Ac spécifiques de classe IgG et/ou par des fractions du complément (C3b, C4b ou C3bi). En effet, les cellules phagocytaires expriment à leur surface chacun des trois récepteurs pour le fragment Fc des IgG (FcγRI, FcγRII et FcγRIII), ainsi que le récepteur pour le C3b et le C4b (C3b-R ou CR1), et les récepteurs pour le C3bi (C3bi-R : CR3 et CR4).

L'opsonisation renforce l'adhésion de la cellule phagocytaire au substrat et facilite son ingestion et sa dégradation (fusion phagosome-lysosome). (Figure 2)

Les systèmes moléculaires effecteurs de l'activité lytique des cellules phagocytaires relèvent de 2 types de mécanismes :

- <u>mécanismes oxygène-dépendants</u> faisant intervenir l'explosion respiratoire, processus métabolique aboutissant à la génération de radicaux oxygénés libres toxiques (anion superoxyde $O^{\cdot}{}_2^-$, radical hydroxyle $OH^{\cdot}$, peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée H_2O_2..) à partir de l'oxygène moléculaire par le complexe NADPH-oxydase. Avec les ions chlorure, le peroxyde d'hydrogène est converti enClO^-ou

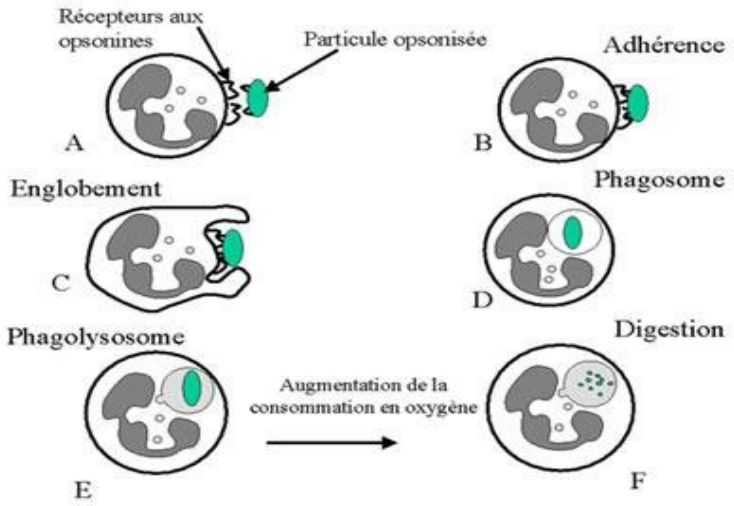


Figure 2: *Etapes successives de la phagocytose*

hypochlorite, agent actif du blanchiment ménager hautement toxique pour les microbes. D'un autre côté, l'oxyde nitrique NO, puissant agent antimicrobien produit par la NO-synthétase à partir de l'arginine et de l'oxygène moléculaire en présence de NADPH, peut se combiner avec l'anion super oxyde et les radicaux hydroxyles pour donner des substances anti-microbiennes encore plus puissantes.

- <u>mécanismes indépendants de l'oxygène</u> et faisant intervenir l'acidification de la vacuole de phagocytose et surtout l'activité lytique des enzymes microbicides (lysozyme et autres hydrolases, élastase, cathepsine G et autres protéases), d'une part et le pouvoir bactéricide, indépendant de leur éventuelle activité enzymatique, des protéines cationiques encore appelées protéines antibiotiques (défensines, cathepsine G...) d'autre part.

L'importance de la NADPH-oxydase et des radicaux oxygénés toxiques qu'elle génère dans l'immunité anti-infectieuse est démontrée par la gravité des infections bactériennes répétées observées chez les enfants atteints de granulomatose septique chronique ou CGD : affection héréditaire liée à un déficit génétique fonctionnel de la NADPH-oxydase (tableau 1).

5) <u>La cytotoxicité</u>

La cytotoxicité désigne la capacité qu'ont certaines cellules de lyser d'autres cellules ou des micro-organismes sans les internaliser (il n'y a pas de phagocytose) : la cellule cytotoxique vient au contact du micro-organisme ou de la

cellule cible et déverse en sa direction le contenu lytique (lysozyme, enzymeshydrolytiques et radicaux oxygénés toxiques pour ce qui est des granulocytes et des monocytes, granzymes et perforines pour les cellules NK) de ses granules intra cytoplasmiques ce qui aboutit à la lyse osmotique de la cellule cible et sa mort par un mécanisme de nécrose.

Tableau 1: *Médiateurs de l'activité antimicrobienne et cytotoxique des macrophages et des neutrophiles*

Microbicidie dépendante de l'oxygène	Microbicidie indépendante de l'oxygène
Intermédiaires réactifs dérivés de l'oxygène	Défensines
O_2^- (anion superoxyde)	Facteur de nécrose tumorale
$OH^·$ (radicaux hydroxyle)	α (macrophage seulement)
H_2O_2 (peroxyde d'hydrogène)	Lysozyme
ClO^- (anion hypochlorite)	Enzymes hydrolytiques
Intermédiaires réactifs dérivés de l'azote	
NO (oxyde nitrique)	
NO_2 (dioxyde d'azote)	
HNO_2 (acide nitreux)	
Autres	
NH_2Cl (monochloramine)	

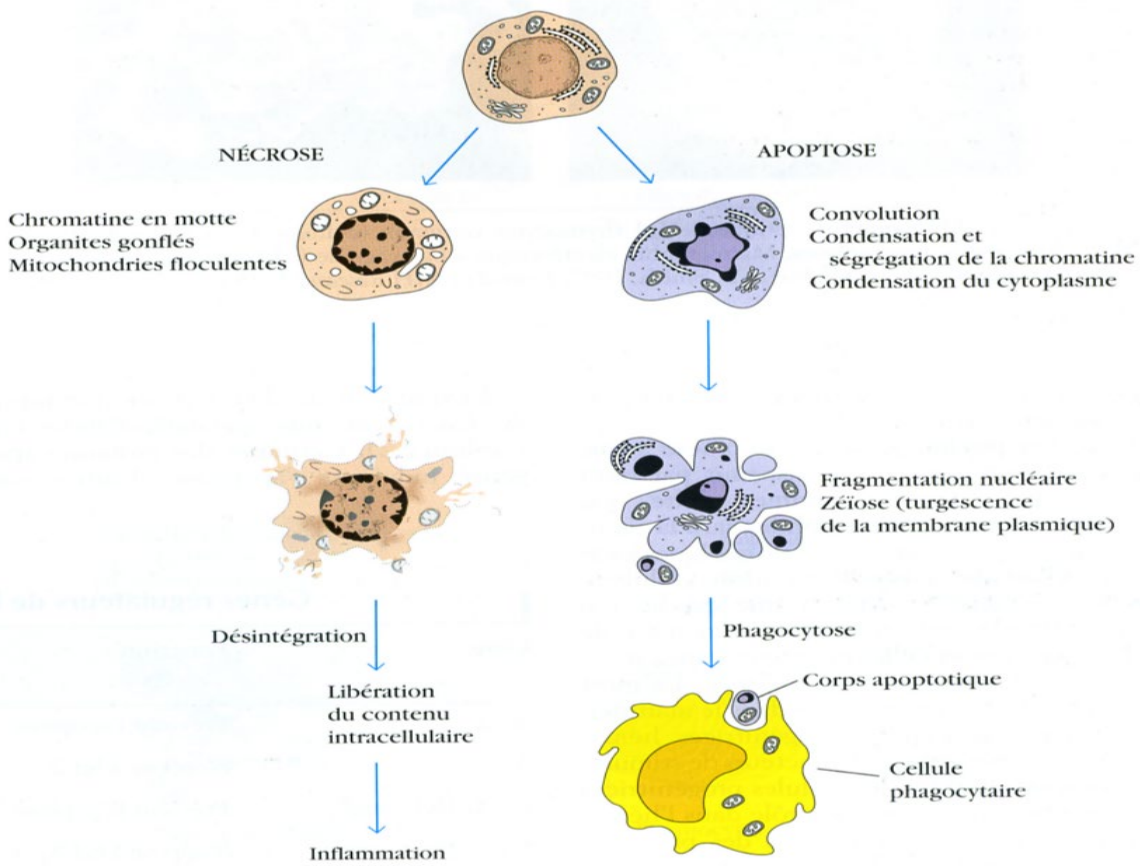


Figure 3: *Comparaison des changements morphologiques qui apparaissent dans l'apoptose et la nécrose*

La cytotoxicité est une fonction partagée par les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, les Mφ, les cellules NK et les lymphocytes T cytotoxiques (CTL). Les macrophages, les cellules NK comme les CTL, peuvent exercer leur effet cytotoxique par un autre mécanisme appelé apoptose et où la cellule cytotoxique ne fait que transmettre un message de mort qui est exécuté par la cellule cible. La fixation du médiateur produit par la cellule cytotoxique (ex : TNFα, Fas-Ligand…) sur son récepteur membranaire (TNFα-R, Fas..) exprimé à la surface de la cellule cible déclenche l'activation des caspases et une cascade de réactions biochimiques complexes aboutissant à la fragmentation de l'ADN avec diminution importante du volume nucléaire et cytoplasmique et mort de la cellule par apoptose (Figure 3).

B) Les polynucléaires neutrophiles

Les polynucléaires sont des cellules de 12 à 15 µm (microns) de diamètre auxquelles la possession d'un noyau polylobé a valu la dénomination erronée de polynucléaires. Leur cytoplasme contient de nombreuses granulations d'où l'autre appellation souvent utilisée pour désigner ces cellules : granulocytes.

Selon la coloration de leurs granules intra-cytoplasmiques les polynucléaires ou granulocytes sont répartis en 3 types distincts :

- polynucléaires neutrophiles (PNN) : cellules phagocytaires et cytotoxiques
- polynucléaires éosinophiles (PNE) : cellules cytotoxiques
- polynucléaires basophiles (PNB) : interviennent avec les mastocytes dans les réactions d'hypersensibilité immédiate médiées par les IgE.

Les PNN représentent 50 à 70 % des leucocytes circulants et plus de 90 % des polynucléaires circulants. En cas d'infection ou de réaction inflammatoire, les PNN sont les premières cellules à arriver sur place par diapédèse. Leur durée de vie est courte de 2 à 3 jours seulement. Ils interviennent dans les infections aiguës dues à des germes à multiplication extracellulaire.

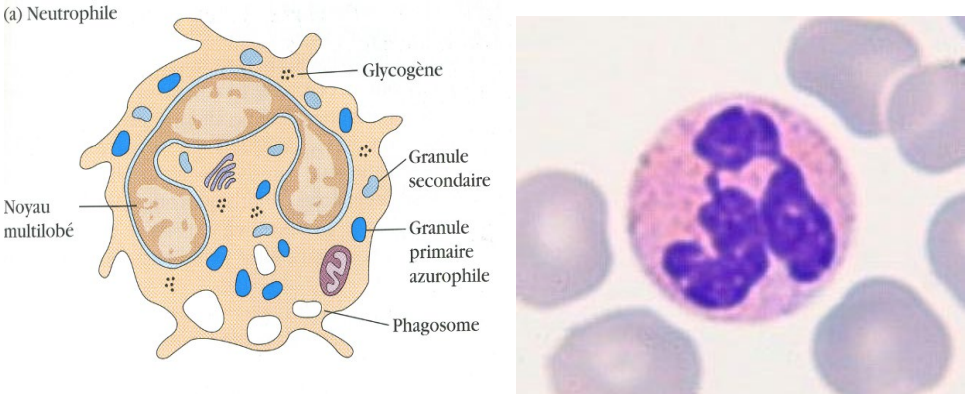


Figure 4: *Polynucléaire neutrophile : schéma morphologique et aspect en microscopie optique*

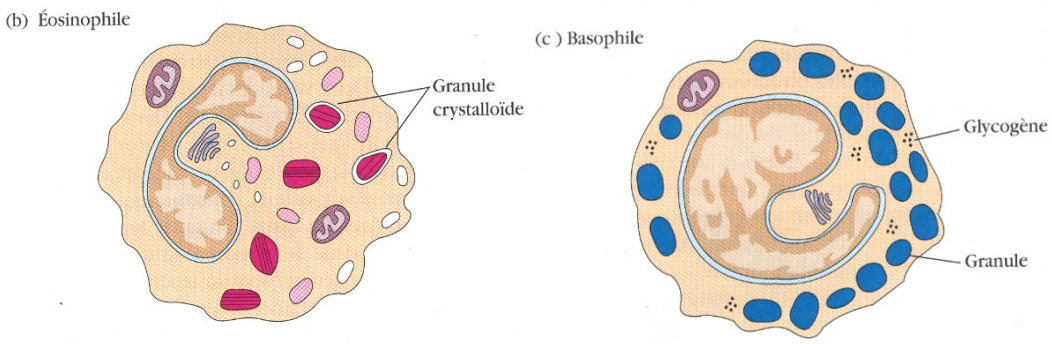


Figure 5: *schémas morphologiques des polynucléaires éosinophile et basophile*

C) Les monocytes-macrophages ou phagocytes mononuclées

Les macrophages tissulaires forment un réseau auquel on associait les polynucléaires et les cellules endothéliales pour désigner le système réticulo-endothélial en raison de la capacité de ces cellules à fixer les colorants vitaux.

Actuellement, on préfère parler des phagocytes mononuclées pour désigner les monocytes circulants et les macrophages tissulaires qui en dérivent.

Les monocytes représentent 4 à 8 % des leucocytes circulants. Ce sont des cellules de 10 à 18 µm de diamètre avec un noyau habituellement en fer à cheval et de nombreuses granulations intra-cytoplasmiques.

Les monocytes ne restent que quelques heures dans le sang circulant. Ils migrent ensuite rapidement vers les différents tissus et organes et entreprennent sur place une différenciation en macrophages tissulaires (cellules bien plus volumineuses et plus actives que les monocytes circulants) adoptant parfois des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles spécifiques du tissu ou de l'organe où ils ont élu

domicile. Ainsi, l'histiocyte du tissu conjonctif, la cellule de Kuppfer du foie, les cellules micro-gliales du cerveau, les cellules mésangiales du rein, les ostéoclastes, les macrophages spléniques, alvéolaires, pleuraux, péritonéaux etc., sont des cellules plus ou moins différentes les unes des autres mais qui dérivent toutes du monocyte circulant.

L'aspect des macrophages diffère selon leur localisation mais aussi selon leur état : résident, inflammatoire ou activé. En effet, les fonctions du macrophage et en particulier la bactéricide sont fortement augmentées après activation par les cytokines produites par les lymphocytes T helper $CD4^+$ spécifiques de l'Ag.

En cas d'activation prolongée, les macrophages peuvent eux-mêmes se transformer en cellules épithéloïdes puis en cellules géantes multinucléés.

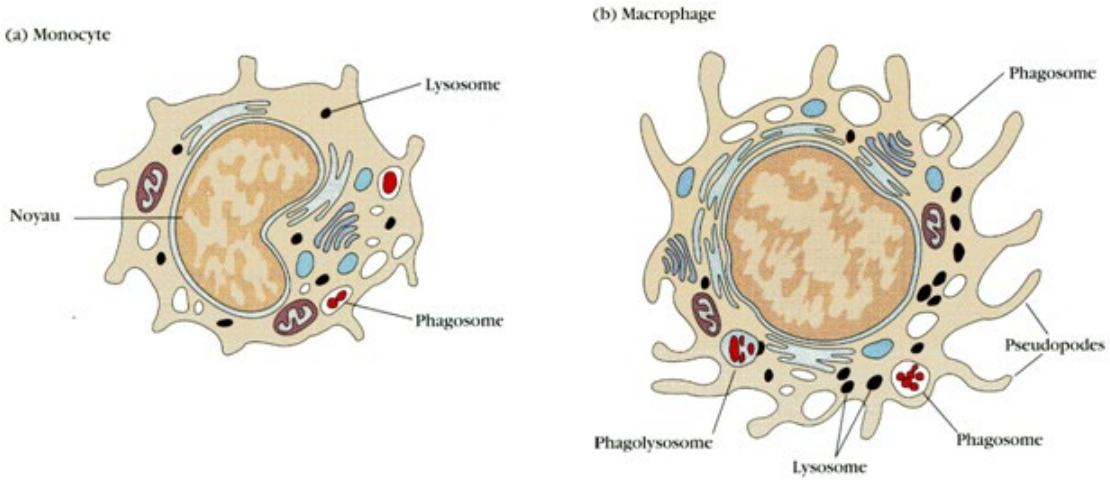


Figure 6: *Monocyte et macrophage : schémas et image microscopique*

La durée de vie des phagocytes mononuclées est bien plus longue que celle des PNN : de plusieurs semaines à plusieurs mois. Ils interviennent surtout dans les infections chroniques dues à des germes à multiplication intracellulaire.

Le rôle et les fonctions des macrophages débordent largement des limites de la phagocytose et de la détoxification qui leurs avaient été assignées à l'origine pour s'étendre à de nombreuses autres fonctions telles que :

- la sécrétion de nombreuses cytokines : IL1, IL6, IL8, IL12, INFα, TNFα, GM-CSF..,

- la synthèse de médiateurs de l'inflammation aiguë : PAF, leucotriènes (LTB4, LTC4, LTD4) et prostaglandines (PGE2, TXA2, PGD2),

- la production des principaux facteurs du complément et de la coagulation et de nombreuses autres protéines plasmatiques (transferrine, α2-macroglobuline...),

- la digestion des chylomicrons et le métabolisme lipidique,

- le catabolisme des Ig et des complexes immuns,

- l'élimination des globules rouges sénescents et des lymphocytes qui meurent par apoptose dans les organes lymphoïdes primaires et secondaires et surtout

- la présentation de l'Ag aux lymphocytes T $CD4^+$, les Mφ exprimant à leur surface les molécules HLA classe II

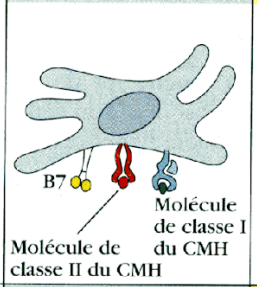
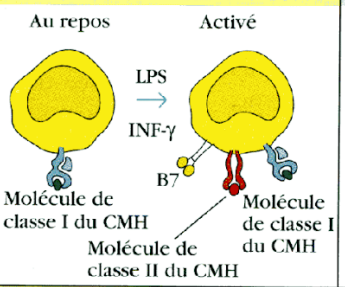
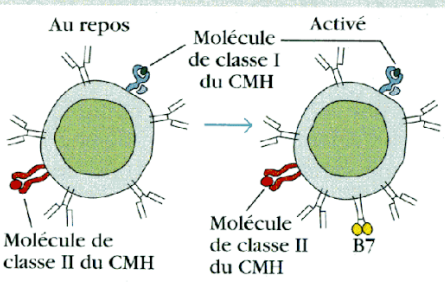
	Cellule dendritique	Macrophage		Lymphocyte B	
					
Capture de l'antigène	Endocytose Phagocytose (par les cellules de Langerhans)	Phagocytose	Phagocytose	Endocytose médiée par un récepteur	Endocytose médiée par un récepteur
Expression des molécules de classe II du CMH	Constitutive (+++)	Inductible (−)	Inductible (++)	Constitutive (++)	Constitutive (+++)
Activité de costimulation	Constitutive (B7) (+++)	Inductible (B7) (−)	Inductible (B7) (++)	Inductible (B7) (−)	Inductible (B7)
Activation des cellules T	Cellules T naïves Cellules T effectrices Cellules T à mémoire	(−)	Cellules T effectrices Cellules T à mémoire	Cellules T effectrices Cellules T à mémoire	Cellules T naïves Cellules T effectrices Cellules T à mémoire

Figure 7: *Propriétés des cellules présentatrices de l'antigène*

Ainsi, et en plus d'être un effecteur cellulaire essentiel de l'immunité non spécifique avec ses activités de phagocytose, de cytotoxicité et de libération de médiateurs de l'inflammation aiguë, le Mφ participe activement aux réponses immunitaires spécifiques en présentant l'Ag aux lymphocytes T helper $CD4^+$ et en étant la principale cellule effectrice des réactions d'hypersensibilité retardée (HSR), recrutée et activée sur place par le lymphocyte T helper. De plus, et avec les nombreuses

cytokines qu'il produit, le macrophage participe à la régulation des réponses immunitaires.

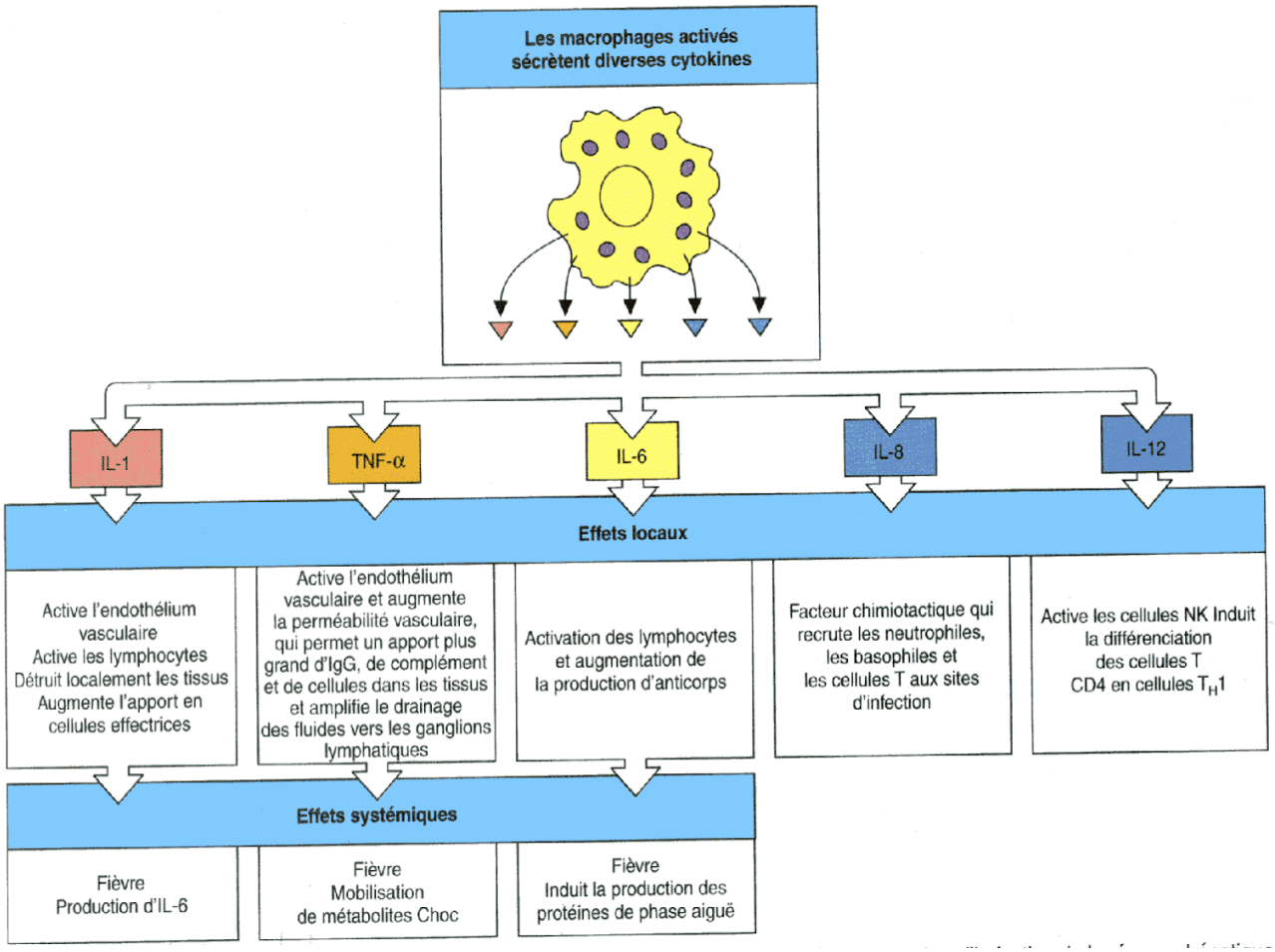


Figure 8: *cytokines secrétées par les macrophages: effets locaux et systémiques*

III- Les polynucléaires éosinophiles

Les PNE représentent 1 à 4 % des leucocytes circulants. Leur taux augmente en cas de parasitose ou d'allergie. Les PNE du sang circulant ne représentent qu'environ 5% du pool total de PNE. Les PNE sont des cellules cytotoxiques qui agissent en libérant le contenu lytique de leurs granules intra-cytoplasmiques dans le milieu extracellulaire contre des cibles trop importantes pour être ingérées : vers, schistosomes...

Les PNE sont dotés d'un récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (FcεRII = CD23) et du récepteur de moyenne affinité pour le fragment Fc des IgG (FcγRII = CD32), ce qui leur permet d'agir aussi comme cellule K (ou ″killer″)

par cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ou ADCC) et de jouer ainsi un rôle important dans l'immunité anti-parasitaire et plus particulièrement anti-helminthes.

Les PNE se différencient dans la moelle osseuse à partir d'un pro géniteur propre d'origine myéloïde sous l'effet de l'IL5.

IV- Les cellules NK ou " Natural Killer "

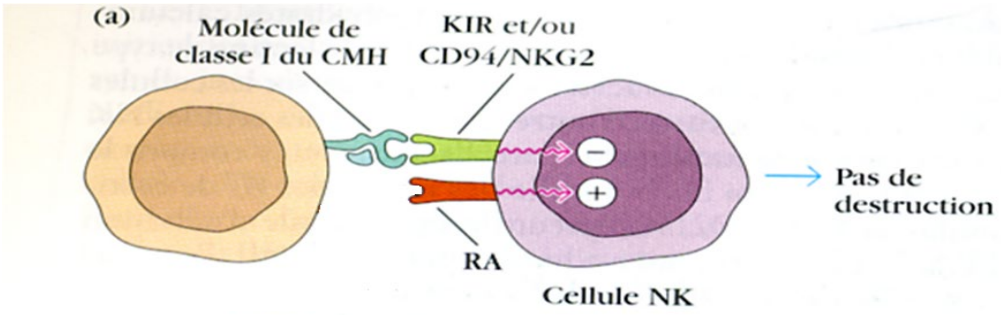
Les cellules NK (cellules tueuses naturelles) sont des cellules cytotoxiques qui tuent de façon non spécifique les cellules tumorales et les cellules infectées par des virus. L'essentiel de l'activité NK est assuré par les lymphocytes granuleux larges ou LGL qui représentent 5 à 10 % du total des lymphocytes à la numération formule sanguine (NFS).

Ce sont des cellules au même aspect que les petits lymphocytes au repos, mais de taille plus grande avec un cytoplasme bien plus développé et contenant de très nombreuses granulations. En dépit de leur ressemblance aux lymphocytes, ce ne sont ni des lymphocytes B (pas d'Ig membranaire ni de CD19 ou CD20) ni des lymphocytes T (pas de TCR ni de CD3) d'où leur ancienne dénomination de lymphocytes non B-non T ou encore de lymphocytes nuls. Les cellules NK expriment le récepteur Fcγ d'affinité intermédiaire ou CD16 (Fcγ-RIII), la molécule d'adhésion CD56 ou NKH1, le CD161 ou NK1.1 et des ″killer cellsIg-like receptors″ ou KIR. Comme les neutrophiles et les monocytes-macrophages, les cellules NK expriment les molécules d'adhésion CD11a/CD18 ou LFA-1 (exprimée sur la majorité des cellules lymphoïdes et myéloïdes), CD11b/CD18 ou CR3 et CD11c/CD18 ou CR4 (3 intégrines qui partagent la même chaîne β de 95 kDa : CD18).

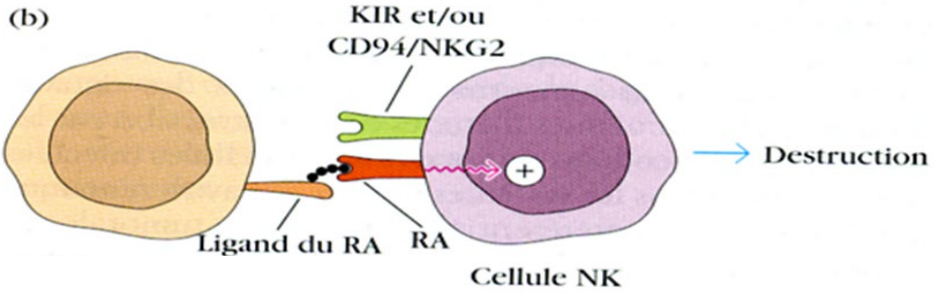
La majorité des cellules NK expriment, comme les lymphocytes T, la molécule de co-activation CD2 (ligand de LFA3 ou CD58).

La question du mode de reconnaissance des cellules cibles (à tuer) et de la distinction entre le soi et le non-soi par les cellules NK semble aujourd'hui résolue. Il est bien établi que le déclenchement de l'activité lytique des cellules NK résulte de l'interaction (la reconnaissance) de leurs récepteurs activateurs (tels que NKG2D, NKG2C) avec les ligands correspondants habituellement exprimés sur la membrane

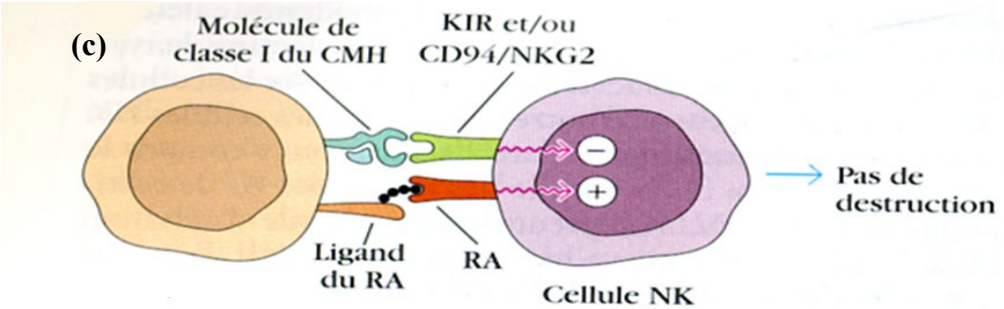
des cellules transformées (cancéreuses ou infectées par des virus) et ce en l'absence de signaux inhibiteurs. En effet, lorsque la cellule cible en face de la cellule NK est une cellule du soi normale qui exprime les molécules HLA classe I et/ou classe I like ou d'autres molécules communes du soi, l'interaction de ces molécules avec les récepteurs inhibiteurs correspondants (KIR, NKG2A…) à la surface de la cellule NK transmet un signal inhibiteur qui empêche toute activation de la cellule NK (les signaux inhibiteurs sont en règle dominants par rapport aux signaux activateurs).



Signal inhibiteur seul sans signal activateur



Signal activateur seul sans signal inhibiteur



Signal activateur et signal inhibiteur

Figure 9: *Modèle de signaux opposés montrant comment l'activité cytotoxique des cellules NK est limitée aux cellules du soi altéré n'exprimant pas les molécules HLA classe I :*

(a) Il s'agit d'une cellule normale du soi, les molécules HLA de classe I (et/ou d'autres molécules ubiquitaires du soi) présentes à la surface de la cellule du soi sont reconnues par les récepteurs inhibiteurs de la cellule NK ou KIR (Killing Inhibitory Receptors) : la cellule NK ne tue pas, il n'y a pas de destruction de la cellule du soi normale

(b) Il s'agit d'une cellule du soi transformée (cellule infectée par un virus ou cellule tumorale) : les néo-antigènes (d'origine virale ou de cancer) sont reconnus par les récepteurs activateurs (RA) ou KAR (Killing Activating Receptors). En l'absence de molécule HLA de classe I et donc de signal inhibiteur, la cellule NK est activée et tue cette cellule, il y aura donc destruction de la cellule du soi transformée

(c) Lorsque la cellule NK reçoit en même temps les 2 signaux, activateur et inhibiteur, elle ne tue pas, le signal inhibiteur étant dominant par rapport au signal activateur. Il peut s'agir dans ce cas d'une cellule cancéreuse ou d'une cellule infectée par un virus qui exprime donc des néo-antigènes (signal activateur) tout en continuant à exprimer les molécules HLA classe I et/ou d'autres molécules ubiquitaires du soi (signal inhibiteur)

Comme les lymphocytes T cytotoxiques, les cellules NK peuvent exercer leur effet de cytolyse par exocytose granulaire (granzymes, perforines…) ou par apoptose (TNFα…). L'activité cytotoxique des cellules NK est exaltée par les INF α et β, le TNFβ, l'IL12 et l'IL15.

A côté des cellules NK tueuses classiques, on distingue une sous-population minoritaire de cellules NK productrices de cytokines et capables de prolifération en périphérie (comme les lymphocytes B et T). Ces cellules non tueuses expriment le CD56 à forte densité ($CD56^{high}$), la chaîne α du récepteur à l'IL2 ou CD25 et produisent de nombreuses cytokines : INFγ, TNFα et β, IL10, IL3, GMCSF…

Les cellules NK se différencient dans la moelle osseuse vraisemblablement à partir de précurseurs lymphoïdes communs sous l'influence de l'IL15.

V- Notion de cellules K ou ″ killer ″ :

Les cellules K ou ″killer″ sont les cellules responsables de la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante ou ADCC. Il s'agit d'une fonction, l'ADCC, qui peut être exercée par différents types cellulaires, cellules NK, monocytes macrophages, PNN, PNE. Le point commun de toutes ces cellules et qui définit les cellules K est que ce sont des cellules cytotoxiques dotées de récepteurs membranaires pour le fragment

Fc des IgG (Fcγ-RI, RII ou RIII), des IgE (Fcε-RII) et/ou des IgA (Fcα-RI). Les cellules K peuvent ainsi tuer des cellules cibles ou des micro-organismes sur lesquels sont fixés des Ac spécifiques de classe IgG, IgE ou IgA. Grâce à leur récepteur Fcγ-RIII (CD16), les cellules NK assurent une grande partie de l'activité de type K ou ADCC.

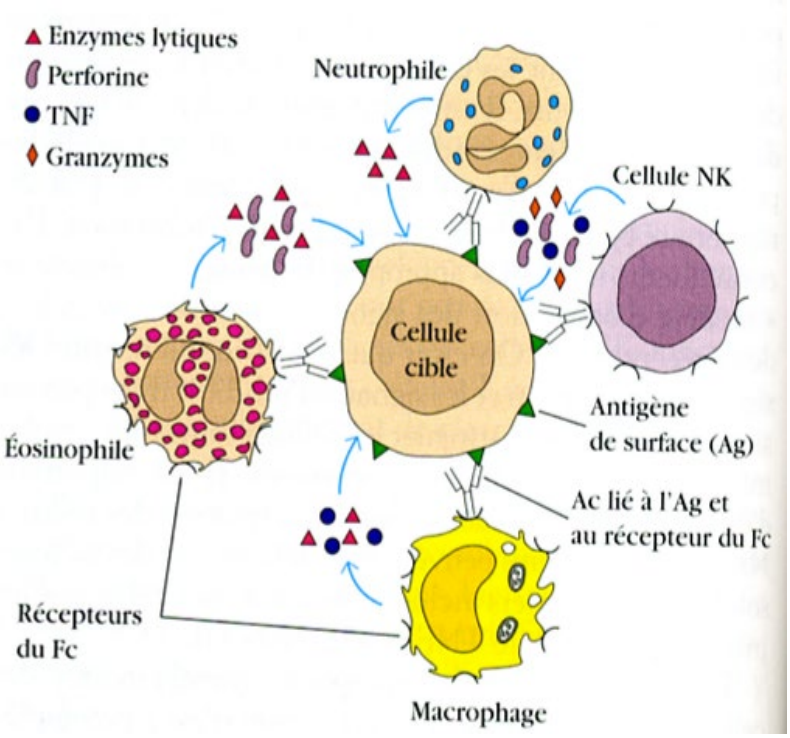


Figure 10: *Cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps (ADCC)*

VI- Les basophiles et les mastocytes :

Les PNB et les mastocytes sont des cellules non phagocytaires et non cytotoxiques. Elles participent aux réponses immunitaires naturelles grâce à leur capacité de produire en abondance de nombreux médiateurs de l'inflammation aiguë : histamine (stockée dans les granules intra-cytoplasmiques), prostaglandines (PG) et leukotriènes (LT). Elles jouent surtout un rôle clé dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (HSI) grâce à leur récepteur membranaire de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RI).

Les basophiles et les mastocytes se différencient dans la moelle osseuse vraisemblablement à partir d'un précurseur commun (d'origine myéloïde) que l'IL4 oriente vers la lignée basophile et l'IL9 vers la lignée mastocytaire.

Les PNB restent dans le sang circulant tandis que les mastocytes gagnent rapidement les tissus périphériques où ils parachèvent leur maturation en mastocytes muqueux (muqueuses intestinale, broncho alvéolaire…) ou en mastocyte tissulaire (tissus conjonctifs).

VII- Les Cellules dendritiques

La cellule dendritique tire son nom du fait qu'elle est couverte d'un écheveau de longues extensions membranaires qui ressemblent aux dendrites des cellules nerveuses (Figure 11) . La plupart des cellules dendritiques apprêtent l'antigène et le présentent aux cellules T_H. Ces cellules peuvent être classées en fonction de leur localisation :

- Les cellules de Langerhans, rencontrées dans l'épiderme et les muqueuses ;
- Les cellules dendritiques interstitielles, qui peuplent la plupart des organes (cœur, poumons, foie, reins, tractus gastro-intestinal) ;
- Les cellules dendritiques inter digitées présentes dans les zones T du tissu lymphoïde secondaire et de la médullaire thymique ;
- Les cellules dendritiques circulantes qui incluent les cellules du sang, représentant 0,1% des leucocytes sanguins, et celles de la lymphe (connues sous le nom de cellules voilées).

Les cellules dendritiques, dans leurs différentes localisations, ont des formes et des fonctions différentes. En dépit de leurs différences, toutes expriment de façon constitutive des taux élevés de molécules de classe II du CMH et de membres de la famille de co-stimulation B7. Pour cette raison, ce sont des cellules présentatrices de l'antigène plus puissantes que les macrophages et les cellules B qui nécessitent toutes deux d'être activées avant de fonctionner comme cellules présentatrices de l'antigène (ou APC : *antigen-presentingcells*). Après avoir capté l'antigène dans les tissus par phagocytose ou endocytose, les cellules dendritiques migrent dans le sang ou la lymphe et circulent en direction des différents organes lymphoïdes où elles présentent l'antigène aux lymphocytes T.

Les cellules dendritiques descendent des cellules souche hématopoïétiques par la lignée myéloïde. La ou les voies exactes prises par ces cellules sont encore en

cours d'étude. Le problème majeur est de savoir si les cellules dendritiques appartiennent à la lignée monocyte/macrophage ou se développent à partir d'une lignée entièrement séparée.

Certaines observations suggèrent même que les macrophages matures et les cellules dendritiques pourraient être inter convertibles. On pense que les différences morphologiques et fonctionnelles observées entre les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques intestinales, inter digitées ou circulantes reflètent des états de maturation différents des cellules, ainsi que les microenvironnements différents dans lesquels elles résident.

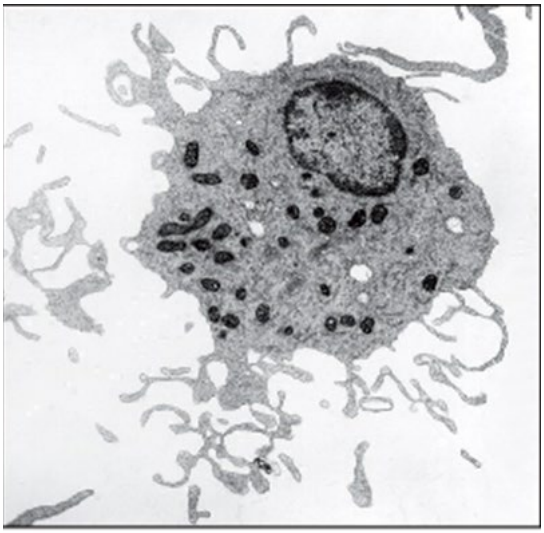


Figure 11:*Aspect en microscopie optique d'une cellule dendritique*

Un autre type de cellule dendritique, la cellule dendritique folliculaire (FDC), semble avoir une origine et une fonction différentes des cellules dendritiques présentatrices de l'antigène décrites ci-dessus. Les FDC ("Follicular Dendritic Cells") n'expriment pas les molécules de classe II du CMH et, par conséquent, ne fonctionnent pas comme cellules présentatrices de l'antigène pour l'activation des cellules Th. Ces cellules dendritiques ont été dénommées ainsi en raison de leur localisation exclusive dans les structures organisées des ganglions, appelées follicules lymphoïdes, qui sont riches en cellules B. Bien qu'elles n'expriment pas de molécules de classe II, les cellules dendritiques folliculaires expriment des taux élevés de récepteurs membranaires des anticorps et du complément. On pense que

la liaison des complexes antigène-anticorps par ces récepteurs facilite l'activation des cellules B dans les ganglions et joue un rôle dans le développement des cellules B à mémoire dans le follicule.

VIII- Les récepteurs de l'immunité innée

Bien que le système immunitaire naturel n'ait pas la spécificité étroite de l'immunité adaptative ni la mémoire immunologique qui est associée, il peut distinguer le soi du non-soi. Des motifs moléculaires réguliers et répétés sont habituellement présents à la surface des micro-organismes mais absents des cellules de l'hôte (acides lipotéichoïques des parois des bactéries $Gram^+$, lipopolysaccharide de la membrane externe des bactéries $Gram^-$, répétitions de dinucléotides CpG non méthylés de l'ADN bactérien, ARN double brin exprimé par les virus au cours de leur cycle vital…). Ces structures répétitives sont en général appelées « motifs moléculaires liés aux pathogènes » ou PAMP (*Pathogen-Associated MolecularPatterns*) et les récepteurs qui les reconnaissent à la surface des macrophages, neutrophiles, cellules dendritiques… « récepteurs de reconnaissance de motifs » ou **PRR *("Pattern Recognition Receptors").***

Contrairement aux récepteurs d'antigène des lymphocytes B et T, les récepteurs du système immunitaire inné ne sont pas distribués d'une manière clonale ; un assortiment donné de récepteurs est présent sur toutes les cellules de même type. Contrairement aux récepteurs d'antigène. La liaison des composants du pathogène par ces récepteurs suscite des réponses très rapides, qui deviennent opérationnelles sans le délai imposé par la nécessité pour les lymphocytes activés de proliférer et de se différencier au cours du développement d'une réponse immune adaptative.

Les récepteurs du système d'immunité innée exercent plusieurs fonctions différentes. Beaucoup sont des récepteurs phagocytaires qui stimulent l'ingestion des pathogènes qu'ils reconnaissent. Certains sont des récepteurs chimiotactiques, qui guident les cellules jusqu'au foyer infectieux. Une troisième fonction est l'induction de la production de molécules effectrices qui influencent le déclenchement et la nature de toute réponse immune adaptative subséquente.

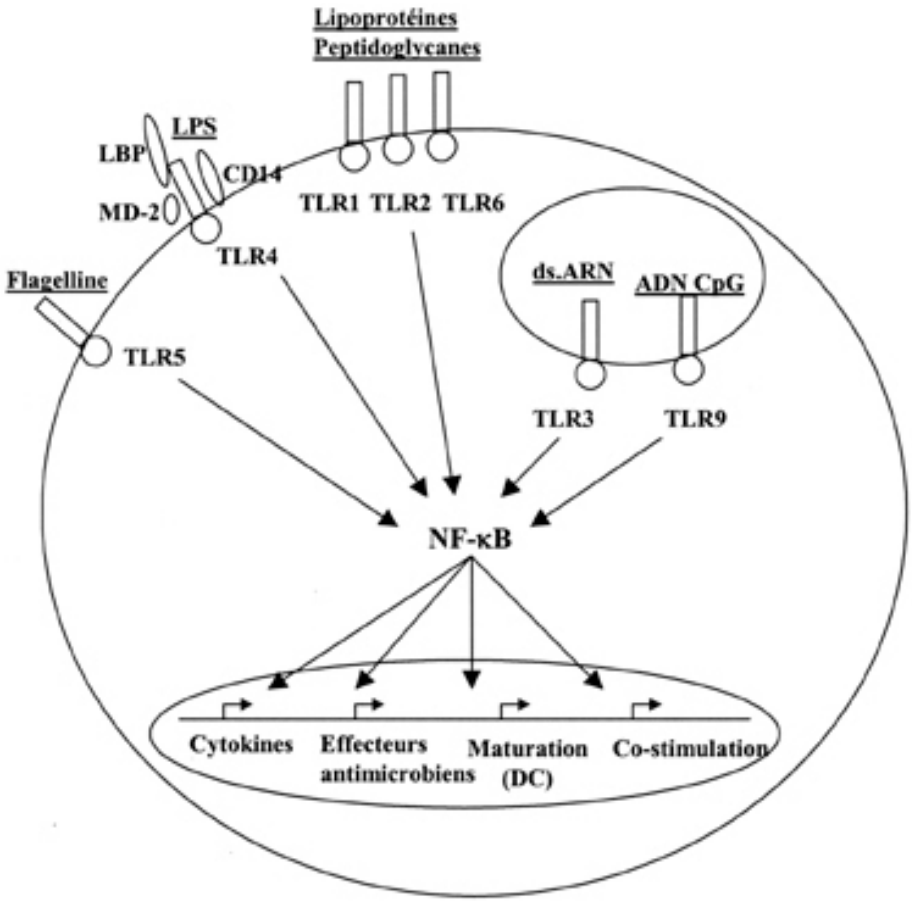
Un de ces récepteurs est la lectine liant le mannose (**MBL**, "*Mannan-Binding Lectin"*), présente comme protéine libre dans le plasma sanguin et qui peut déclencher la voie du complément dite des lectines. Le pathogène est reconnu et distingué du soi par la MBL en raison d'une orientation et d'un espacement particuliers de certains de ses résidus glucidiques, disposition que l'on ne retrouve pas sur les cellules de l'hôte. Une fois formé, le complexe MBL-pathogène est capté par des phagocytes, soit par des interactions directes avec la MBL ou par des récepteurs des phagocytes pour le complément, qui lui aussi s'est attaché au pathogène. Le résultat est la phagocytose et la lyse du pathogène ainsi que l'induction d'autres réponses cellulaires comme la production de chimiokines.

Un second groupe de récepteurs de phagocytose, nommés récepteurs « éboueurs » ("***scavengerreceptors"***), reconnaît divers polymères anioniques ainsi que des lipoprotéines de basse densité acétylées. Ces récepteurs forment une famille hétérogène, comprenant au moins six formes moléculaires. Tous les récepteurs qui reconnaissent des molécules spécifiques de pathogènes n'induisent pas nécessairement la phagocytose. La séquence des polypeptides bactériens commence de manière typique par un résidu de méthionine formylée, et le récepteur de fMet-Leu-Phe (**fMLP**) des macrophages et des neutrophiles lie ces peptides *N*-formylés. Ce récepteur est de type chimiotactique et son engagement guide les neutrophiles vers le foyer infectieux.

Les récepteurs de type Toll (**TLR**, "*Toll-Like Receptors"*) sont des récepteurs de signalisation qui distinguent différents types de pathogènes et contribuent au choix *d'une* réponse immunitaire appropriée.

On a décrit 10 gènes *TLR* chez la souris et chez l'homme, et chacune des 10 protéines correspondantes (TLR 1, TLR 2..) est destinée à reconnaître un assortiment distinct de motifs moléculaires qui sont normalement absents chez les vertébrés normaux. Ces motifs sont caractéristiques de composants de micro-organismes pathogènes à l'un ou l'autre stade de l'infection. Bien que la diversité des récepteurs de type Toll soit limitée, ils peuvent reconnaître des éléments de la plupart des microbes pathogènes.

Certains TLR mammaliens sont des récepteurs de surface, tandis que d'autres sont situés à l'intérieur de la cellule et insérés dans la membrane des endosomes, où ils détectent la présence des pathogènes ou de leurs composants ingérés par endocytose ou macropinocytose.



Les membres dela famille des TLRs reconnaissent des patterns microbiens et participent à l'activation des réponses immunitaires innées et adaptées.

LE COMPLEMENT

Pr Hend HACHICHA

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Définir le complément
2. Enumérer les 3 voies d'activation du complément et en citer les composants
3. Enumérer les activateurs des différentes voies d'activation du complément
4. Décrire en s'aidant de schémas les séquences d'activation des différentes voies
5. Connaître les facteurs et les mécanismes de régulation du complément
6. Citer les récepteurs cellulaires du complément
7. Préciser pour chaque récepteur le(s) composant(s) du complément reconnu(s) et les principales cellules qui l'expriment
8. Décrire en s'aidant de schémas les fonctions biologiques du complément

I - INTRODUCTION

1- Historique

La découverte du complément remonte à l'observation faite par Buchner en 1880, de la présence dans le sérum normal d'une substance à activité bactéricide qu'il appelle " alexine".

Plus tard en 1898, Bordet remarque que le pouvoir bactériolytique in vitro d'un immun sérum disparaît, après chauffage à 56°C et est restauré par simple addition de sérum frais. Bordet a ainsi démontré que l'activité bactéricide provient de l'action conjointe de 2 substances :

- L'une thermostable et spécifique de l'antigène immunisant appelée bactériolysine par Bordet et qui n'est autre que l'anticorps.

- L'autre thermolabile et non spécifique (présente dans le sérum normal). Bordet l'appelle "complément". Elle se révèle par la suite identique à l'alexine de Buchner.

2- Définition et généralités

Le complément est un système biologique constitué par un ensemble de protéines sériques dont l'activation mutuelle en cascade engendre diverses activités biologiques.

Dans le sérum normal, ces protéines sont à l'état natif (exception faite du facteur D). L'activation du système peut se faire par 2 voies différentes :

- la voie classique, sur laquelle se greffe la voie des lectines et
- la voie alterne qui se rejoignent en un tronc commun final aboutissant à la formation du complexe d'attaque de membrane ou " MAC".

Les composants du système s'activent mutuellement en cascade c'est à dire qu'un constituant activé par le composant précédent devient lui même activateur du composant suivant et ainsi de suite.

Le complément participe à la réponse immunitaire spécifique et à la réaction inflammatoire. La plupart des activités biologiques résultant de l'activation du complément dépendent de l'interaction de ses constituants ou de leurs fragments de clivage avec des récepteurs cellulaires spécifiques.

Le complément a pour vocation d'être activé rapidement et de façon localisée. Les conséquences biologiques de l'activation du système peuvent être aussi bien bénéfiques que néfastes pour l'organisme, ce qui implique l'existence de mécanismes efficaces d'amplification et de contrôle de l'activité.

3 - Nomenclature

- Les composants du complément sont appelés C1, C2, ..., C9 selon l'ordre chronologique de leur découverte.

- Les fragments de clivage sont désignés par l'adjonction d'une lettre minuscule a, b, c ou d (ex : C3a, C3b ...)

- Les produits ayant une activité enzymatique (généralement sérine- estérase) sont marqués par une barre horizontale (ex : C1s, C4b2a ...)

- Les fragments inactivés sont affectés de la lettre i (ex : C3bi = iC3b)

- Les composants propres à la voie alterne sont désignés par des lettres majuscules : P, B et D. Il en est de même pour certains facteurs de régulation : H, I…

II - LA VOIE CLASSIQUE D'ACTIVATION DU COMPLEMENT

La voie classique est activée principalement par les complexes antigène-anticorps (Ag-Ac) impliquant des IgM ou des IgG, (chez l'homme surtout IgG3 et IgG1, pas IgG4). Dans le cas des IgG, le complexe immun doit comporter au moins 2 molécules d'Ac. L'interaction Ag-Ac entraîne des modifications allostériques de la molécule d'immunoglobuline (Ig) qui démasquent le site de fixation de C1 q sur le fragment Fc de la molécule d'Ig (domaines CH2 pour les IgG et CH4 pour les IgM).

La voie classique peut secondairement être activée, en l'absence de complexe Ag-Ac, par des endotoxines bactériennes, des protéines virales, l'ADN, la CRP ("*C-ReactiveProteïn*"), l'héparine (abondamment produite par les mastocytes pulmonaires)...

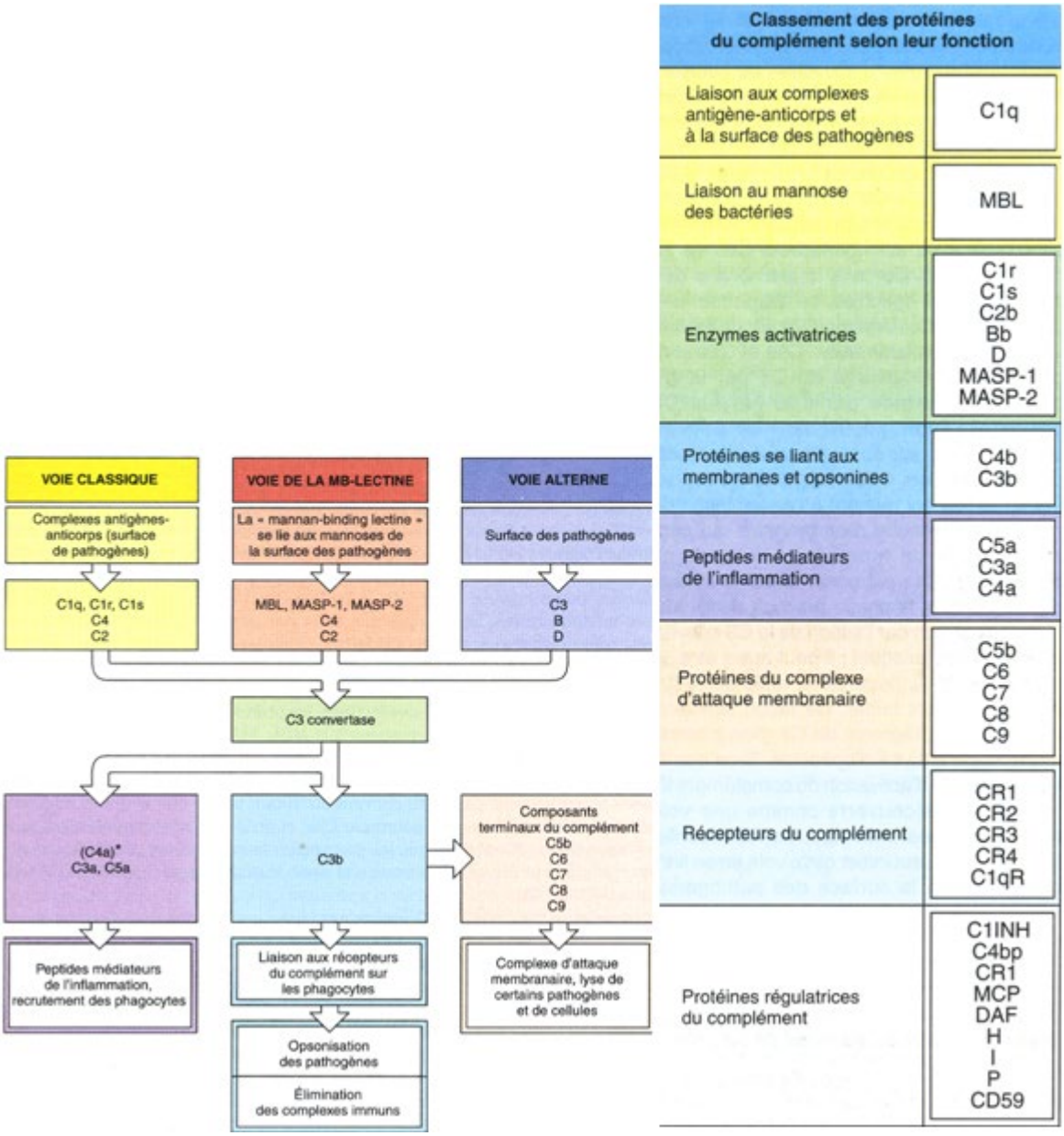


Figure 1: *Activation du complément et principales protéines impliquées*

1- L'activation de C1

C1 est un complexe macromoléculaire composé de 2 sous-unités : C1q et un tétramère formé de 2 molécules C1r et 2 molécules C1s (C1 = C1q-C1r2-C1s2)

La liaison multivalente de C1q avec un activateur de la voie classique favorise (en présence de Ca^{++}) son interaction avec le tétramère C1r2- C1s2, stabilise le complexe ainsi obtenu (C1q-1r2-1s2) et déclenche le clivage et l'auto-activation de C1r.

C1r ainsi activé clive C1s en 2 fragments dont un qui porte l'activité enzymatique sérine-estérase : $\overline{C1s}$

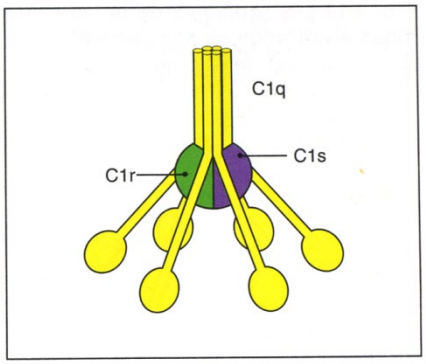


Figure 2: *complexe macromoléculaire C1*

2 - La C3 convertase classique

C1s clive C4 en 2 fragments : l'anaphylatoxine C4a, et un fragment C4b porteur d'un site labile de fixation covalente aux membranes cellulaires ou aux IgG des complexes immuns, et d'un site d'interaction avec C 2.

C2 qui est clivée par $\overline{C1s}$ en un fragment C2b à activité de type kinine, et un fragment C2a qui reste associé à C4b pour former la C3 convertase classique C4b2a dont $\overline{\text{l'activité}}$ enzymatique est portée par C2a.

3 - La C5 convertase classique

$\overline{C4b2a}$ clive C3 en 2 fragments : l'anaphylatoxine C3a et un fragment C3b. La liaison de plusieurs molécules C3b à proximité de la C3 convertase classique aboutit à la formation de la C5 convertase classique $C4b2a\overline{(3b)n}$ dont l'activité enzymatique est portée par C2a.

La C5 convertase classique clive C5 en 2 fragments: l'anaphylatoxine C5a et un fragment C5b qui porte un site labile de liaison avec C6.

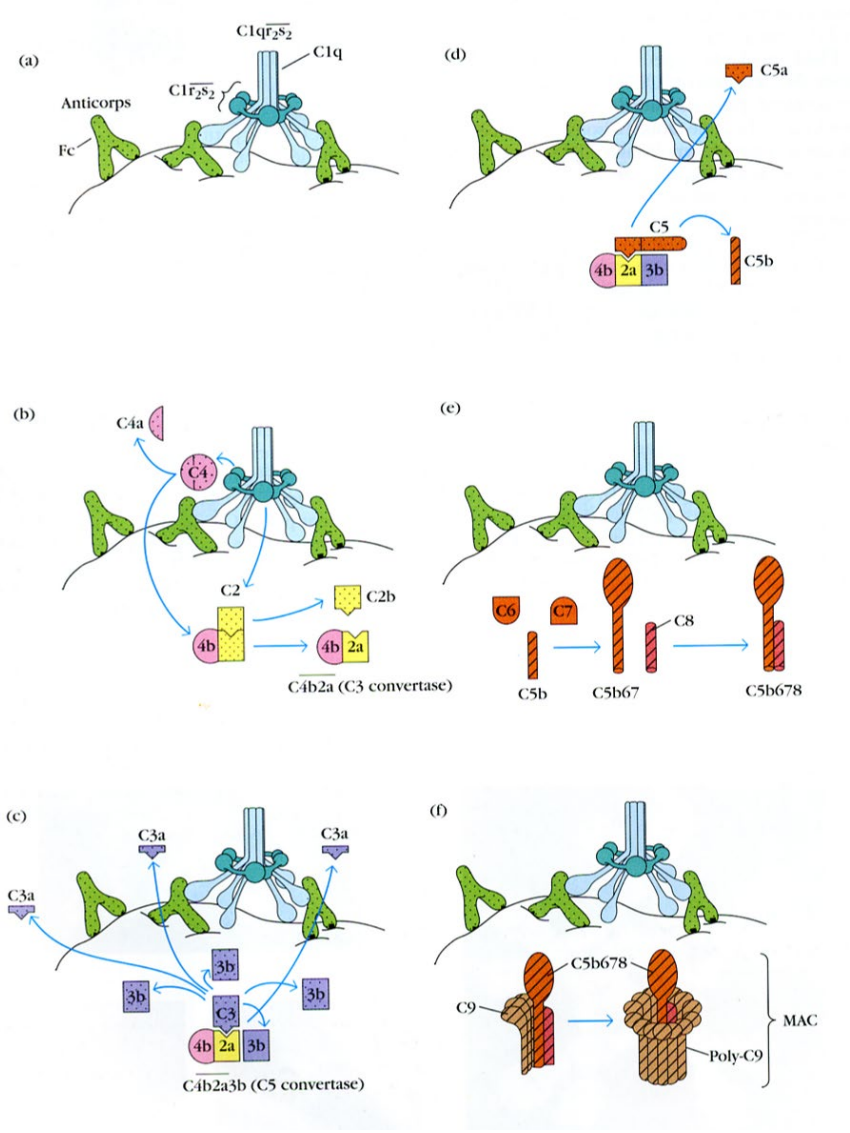


Figure 3: *voie classique d'activation du complément*

III- LA VOIE ALTERNE D'ACTIVATION DU COMPLEMENT

La voie alterne est activée en l'absence de complexe Ag-Ac par diverses particules et substances biologiques : des bactéries gram négatif, des cellules infectées par des virus, des levures, des lipo-polysaccharides, des IgA agrégées, le venin de cobra ...

La voie alterne constitue un moyen de défense anti-infectieuse de première ligne, en place avant même le développement d'une immunité spécifique.

On distingue 2 phases dans le mécanisme d'activation de la voie alterne : une phase initiale qui a lieu de façon spontanée et indépendamment de la présence

d'activateurs, et une phase amplificatrice soumise à une régulation très stricte et qui ne peut fonctionner qu'à la surface de particules activatrices.

Le C3 natif est une glycoprotéine de 195 KDa de PM composée de 2 chaînes α etβ liées par des ponts disulfures. Le C3 est de loin le composant du complément le plus fortement représenté dans le plasma avec une concentration de l'ordre de 1 g/ l.

Le facteur B est une globuline monocaténaire thermolabile de 93 KDa de PM. Il porte le site enzymatique des C3 et C5 convertases alternes.

Le facteur D est une sérine-estérase de 24 KDa de PM, présente dans le plasma sous forme active à une concentration de l'ordre de 1 g/ml.

Le facteur P est une glycoprotéine de 220 KDa de PM constituée de 4 sous-unités identiques réunies par des liaisons non covalentes. La properdine stabilise les C3 et C5 convertases alternes, leur durée de vie passe ainsi de 2 à 30 min.

1 - La C3 convertase alterne

La C3 convertase alterne initiale est obtenue à partir de molécules de C3 dites C3b-like ou C3(H_20) qui sontproduites,en permanence et en toute petites quantités,parl'hydrolyse spontanée d'un pont thiol-ester interne fragile de la chaîne α de la molécule de C3 natif. Les molécules de "C3b-like" ainsi obtenues lient le facteur B et s'associent au composant D (qui circule sous forme activée) pour former un complexe capable de cliver C3 en C3a et C3b. Ainsi, la C3 convertase alterne initiale libère en permanence dans le plasmade très petites quantités de C3b qui, en l'abscence d'activateurs, est immédiatement inactivé par le facteur I en C3bi.

En présence d'activateurs, le C3b ainsi formé, se dépose sur une surface cellulaire dite activatrice (pauvre en acide sialique) et, en présence de Mg^{++}, lie le facteur B qui peut alors être clivé par le facteur D en 2 fragments, un fragment Ba libéré dans le milieu et un fragment Bb qui reste associé à C3b pour constituer la C3 convertase alterne amplificatrice : C3bBb. La $\overline{C3}$ convertase alterne amplificatrice est stabilisée par la properdine.

2 - La C5 convertase alterne

La C3 convertase alterne clive C3 en C3a et C3b. Le dépôt de plusieurs molécules de C3b sur la surface cellulaire à proximité de $\overline{C3bBb}$ aboutit à la formation de la C5 convertase alterne $\overline{C3bBb(C3b)n}$ qui clive C5 en C5a et C5b (Figure4).

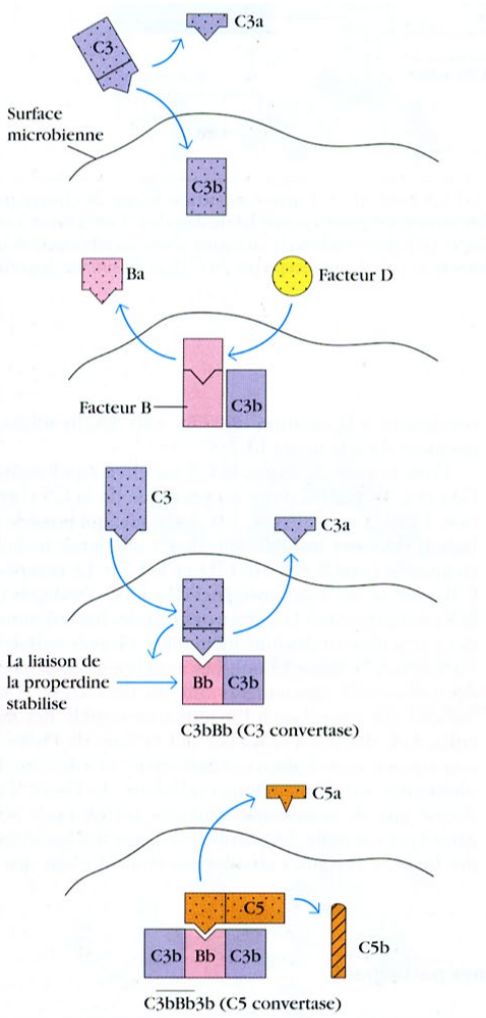
IV - LA VOIE DES LECTINES

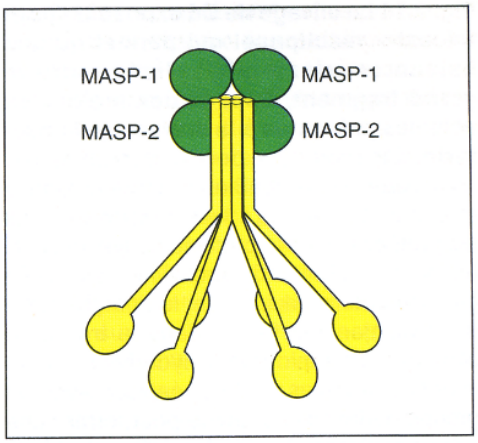
Il s'agit d'une voie d'activation homologue à la voie classique récemment identifiée et qui utilise une protéine à 6 têtes similaire à C1q, la lectine liant le mannane ou MBL (Figure5), pour initier la cascade du complément.

La MBL se lie spécifiquement aux résidus de mannose et d'autres sucres à la surface de nombreux pathogènes ; ce qui active les sérine-protéases MASP-1 et MASP-2 ("*MBL associated serine protease*") qui lui sont associées dans le cadre d'un complexe semblable au complexe C1 : le complexe MBL.

Ainsi activées, MASP-1 et MASP-2 clivent C4 et C2 de la même manière que C1s dans la voie classique conduisant à la formation de la même C3 convertase $\overline{C4b2a}$.

Figure 4: *voie alterne d'activation du complément*





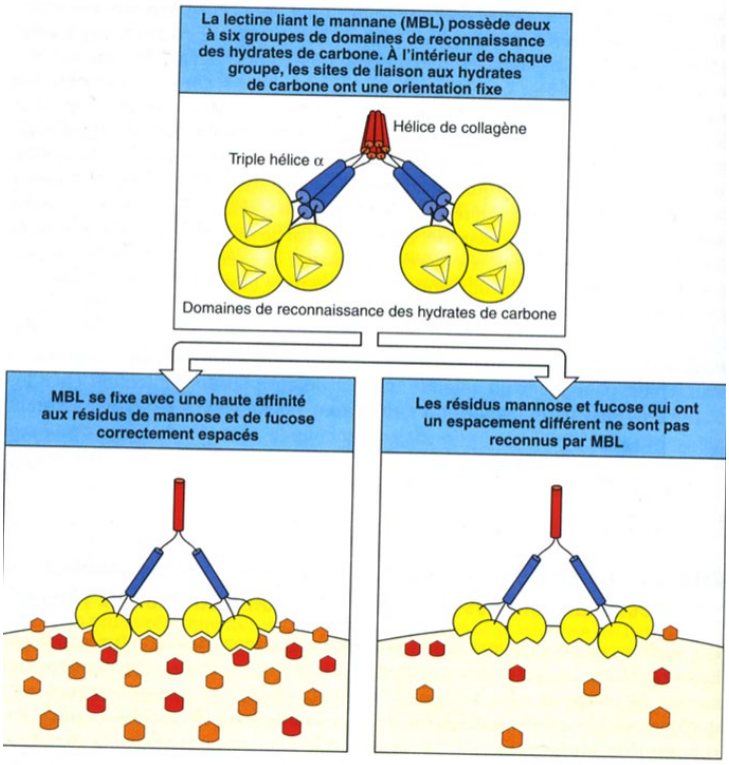


Figure 5:*schéma de la lectine liant le mannane ou MBL (les résidus de sucre sont agencés d'une manière différente (non reconnue par la MBL) à la surface des cellules eucaryotes.*

V- LE COMPLEXE D'ATTAQUE DE LA MEMBRANE ("MAC")

C5b formé par les C5 convertases classique et/ou alterne se lie à C6 et forme avec lui un complexe stable qui se dépose sur une surface cellulaire. Le complexe C5b-6 fixe C7 qui subit un changement de conformation le rendant hydrophobe. Le complexe C5b-6-7 s'insère donc dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire et fixe C8. Le complexe C5b-8 a une activité lytique très lente qui est accélérée par la polymérisation de C9. En effet, sur le complexe C5b-8 viennent se polymériser plusieurs molécules de C9 aboutissant à la formation du complexe d'attaque de la membrane C5b-9. Ce dernier en forme de manchon circulaire, s'insère dans la membrane cellulaire et creuse un véritable tunnel trans-membranaire aboutissant à la lyse osmotique de la cellule. S'il s'agit d'une cellule nucléée, sa lyse nécessite l'action prolongée et simultanée de plusieurs complexes C5b-9.

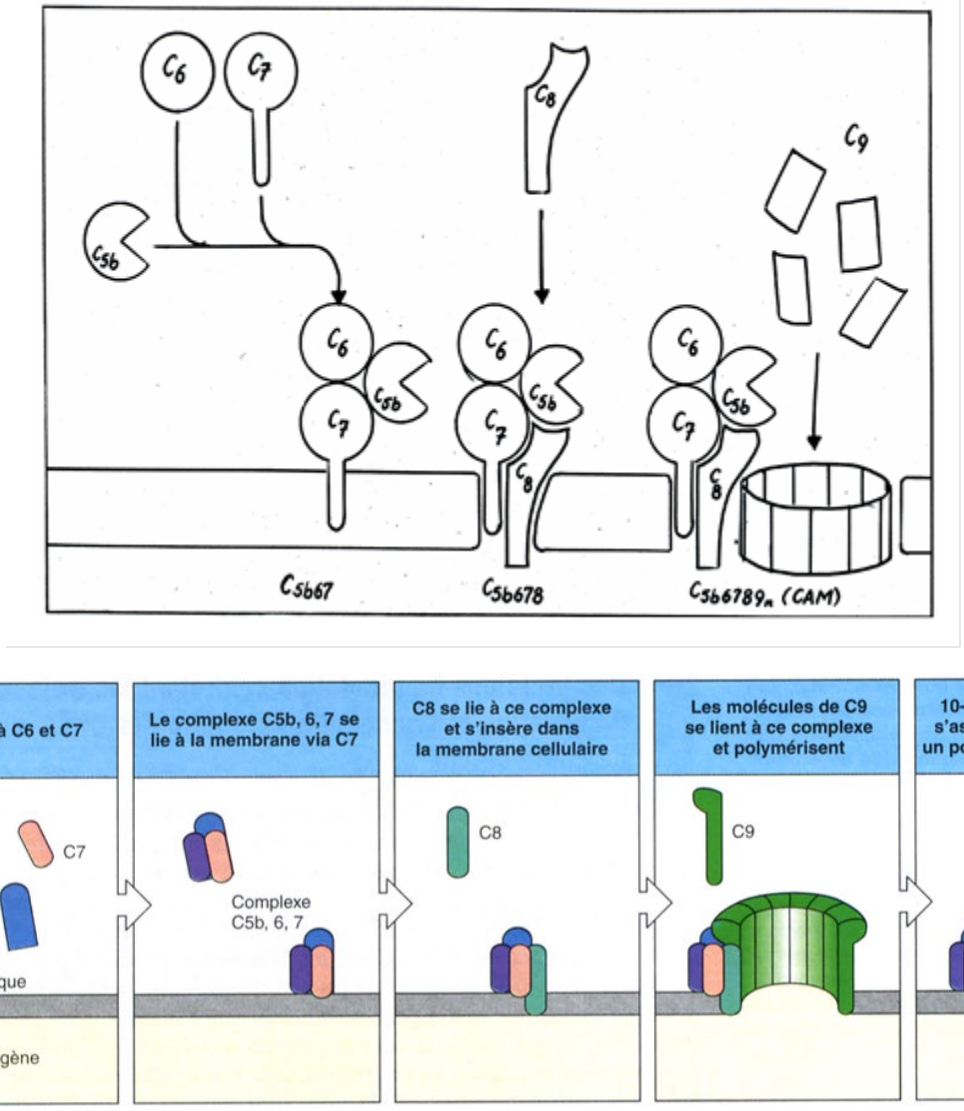


Figure 6:*Schémas de la voie lytique du complément*

VI - RECEPTEURS MEMBRANAIRES POUR LE COMPLEMENT

*** CR1 = C3b-R = CD35** :

CR1 est le récepteur membranaire du C3b. C4b est capable de se lier au CR1 mais avec une affinité bien plus faible par rapport au C3b.

CR1 est présent principalement sur :

- les polynucléaires et les monocytes-Mφ → opsonisation, phagocytose,
- les globules rouges → épuration des complexes immuns.

*** CR2 = C3d-R = CD21** : lie la partie C3d des fragments iC3b, C3d et C3dg du C3 et sert aussi de récepteur à l'interféron α (INFα) et au virus d'Epstein Barr (EBV).

CR2 est exprimé principalement sur les lymphocytes B, les cellules dendritiques et les cellules épithéliales du nasopharynx (le virus EBV est un des principaux facteurs favorisants du cancer du nasopharynx).

*** CR3 = CD11b/CD18** : lie le fragment iC3b (C3b inactivé). C'est une intégrine de la famille des molécules d'adhésion leucocytaire constituée d'une chaîne α de 170 KDa (CD11b) et de la chaîne β2 des intégrines (CD18) de 95 KDa partagée par LFA1 (CD11a/CD18) et CR4. CR3 est exprimé par les monocytes- Mφ, les PNN et les cellules NK.

*** CR4 = CD11c/CD18 = p150-95** : lie le fragment C3bi. C'est une intégrine impliquée dans les phénomènes d'adhésion leucocytaireet constituée d'une chaîne α de 150 KDa et de la chaîne β2 de 95 KDa.

CR4 est exprimé principalement sur les macrophages tissulaires et accessoirement sur les PNN, les monocytes et les cellules NK.

Comme LFA1 (CD11a/CD18), CR3 et CR4 interagissent avec la molécule d'adhésion intercellulaire 1 ou ICAM1 (CD54).

*** C3a/C4a-R et C5a-R** :

Exprimés sur les polynucléaires basophiles (PNB) et les mastocytes, ils lient les anaphylatoxines (C3a et C4a, ou C5a) entraînant la dégranulation de ces cellules et la libération d'histamine. C3a/C4a-R et C5a-R sont aussi exprimés sur les cellules phagocytaires (PNN et monocytes-Mφ) auxquelles ils transmettent un signal chimiotactique et activateur.

Tableau 1: *Récepteurs du complément*

Récepteur	Ligands majeurs	Activité	Distribution cellulaire
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Bloque la formation de la C3 convertase ; lie les complexes immuns aux cellules	Érythrocytes, neutrophiles, monocytes, macrophages, éosinophiles, cellules dendritiques folliculaires, cellules B et certaines cellules T
CR2 (CD21)	C3d, C3dg,* iC3b	Partie du corécepteur des cellules B ; se lie au virus d'Epstein-Barr	Cellules B, certaines cellules T
CR3 (CD11b/18)	iC3b	Se lient aux molécules d'adhésion cellulaire des neutrophiles, facilitant ainsi leur extravasation ; masquent les complexes immuns, augmentant ainsi leur phagocytose	Monocytes, macrophages, neutrophiles, cellules NK et certaines cellules T
CR4 (CD11c/18)	iC3b	Se lient aux molécules d'adhésion cellulaire des neutrophiles, facilitant ainsi leur extravasation ; masquent les complexes immuns, augmentant ainsi leur phagocytose	Monocytes, macrophages, neutrophiles, cellules NK et certaines cellules T
Récepteur du C3a/C4a	C3a, C4a	Induit la dégranulation des mastocytes et des basophiles	Mastocytes, basophiles, granulocytes
Récepteur du C5a	C5a	Induit la dégranulation des mastocytes et des basophiles	Mastocytes, basophiles, granulocytes, monocytes, macrophages, plaquettes, cellules endothéliales

* Le clivage du C3dg par les protéases sériques génère le C3d et le C3g.

VII - REGULATION DU SYSTEME DU COMPLEMENT

1 - Régulation intrinsèque ou endogène

La durée de vie très courte (de l'ordre de la milliseconde pour C3b) de certains complexes ou composants activés et leur tendance spontanée à la dissociation (ou "decay") constituent une limitation endogène de l'activation du système du complément. Ainsi le C2a se dissocie spontanément du complexe C4b2a en perdant irréversiblement son activité enzymatique. De même le fragment Bb se dissocie spontanément du complexe C3bBb en perdant lui aussi son activité...

2 - Régulation extrinsèque ou exogène

Il existe un certain nombre de protéines plasmatiques et de récepteurs membranaires qui contrôlent l'activité du complément :

a) Facteurs plasmatiques

*Le C1-Inh (ou inhibiteur de la C1-estérase) :

- Se lie au C1r et au C1s dès qu'ils sont activés, bloque leur activité sérine-estérase et les dissocie du C1 q.

*La C4bp (ou C4 "*binding protein*")

- En se liant au C4b libre, elle l'empêche d'interagir avec C2a et le rend accessible à l'action du facteur I.
- En se liant au C4b lié au C2a, elle chasse C2a et permet le clivage de C4b par le facteur I. L'instabilité intrinsèque de la C3-convertase classique est donc accélérée par la C4bp.

* Le facteur I (ou inactivateur de C3b et C4b) :
- Clive le C4b lié à la C4bp ou à la MCP ("*membrane cofactorprotein*") en C4c et C4d
- Inactive le C3b lié au facteur H ou au CR1 (C3b-R) en C3bi, puis clive ce dernier en C3c et C3 dg.

* La properdine (ou facteur P) :
- En se liant spécifiquement au complexe C3bBb, elle le stabilise et augmente d'environ dix fois sa durée de vie.

*Le facteur H :
- Sur une surface dite non activatrice (riche en acide sialique), le facteur H se lie au C3b avec beaucoup plus d'affinité que le facteur B et ainsi il dissocie la C3 convertase alterne C3bBb et prévient sa formation.
L'instabilité intrinsèque de la C3 convertase alterne est donc tempérée par la properdine et accélérée par le facteur H.
- H sert de cofacteur à l'inactivation et au clivage de C3b par le facteur I.
* La protéine S (ou vitronectine) :
- Elle se lie de façon irréversible au complexe C5b-6-7 et empêche ainsi son insertion dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire. Le complexe S-C5b-7 ainsi formé peut interagir avec C8 et C9, mais la protéine S empêche la polymérisation du C9 au contact du complexe S-C5b-8.

b) Protéines et récepteurs membranaires

* Le DAF ("*Decayaccelerating factor* " ou CD 55)

-Le facteur accélérant la dissociation est une protéine membranaire présente sur toutes les cellules du sang (exceptées les cellules NK), et sur les cellules endothéliales et épithéliales.
- Il accélère la dissociation spontanée de la C3 convertase classique C4b2a et, à un moindre degré, celle de la C3 convertase alterne C3bBb

* Le CR 1 (C3b-R = CD35)
- En fixant C3b avec une forte affinité, le CR1 accélère la dissociation spontanée des C3 et C5 convertases classique et alterne et prévient leur formation.
- Il sert de cofacteur dans le clivage de C3b et C4b par le facteur I. En effet, C4b est capable de se lier au CR1 mais avec une affinité bien plus faible par rapport au C3b.

*La MCP (" Membrane CofactorProteïn ") :
La MCP est une glycoprotéine largement distribuée sur toutes les cellules sanguines à l'exception des globules rouges, sur les cellules endothéliales, épithéliales et sur les fibroblastes. La MCP fixe le C4b et le rend ainsi accessible à la dégradation par le facteur I. La MCP peut lier le C3b et favoriser ainsi sa dégradation par le facteur I. Ainsi, le DAF (dissociation), la MCP (cofacteur pour la dégradation) et le CR1 (les deux à la fois) exercent au niveau des membranes cellulaires le rôle joué au niveau du plasma par les facteurs C4bp (voie classique) et H (voie alterne) dans la régulation de l'activation du complément.
* Le HRF ("*homologous restricting factor*") :
Le HRF correspond en fait à deux facteurs membranaires qui participent à la restriction homologue du complexe terminal, c'est à dire à la protection des cellules de l'hôte contre les effets de l'activation du MAC.
Il s'agit de la protéine liant C8 ou C8bp et de la protectine ou CD59. Ces deux facteurs se lient au C8 et empêchent la polymérisation de C9 et l'insertion du MAC dans la membrane.

Tableau 2:*Protéines régulatrices du système du complément*

Protéines	Type de protéine	Voie concernée	Fonction immunitaire
Inhibiteur du C1 (C1Iinh)	Soluble	Classique	Inhibiteur des sérine protéases ; provoque la dissociation du $C1r_2s_2$ du C1q
Protéine de liaison au C4b (C4bBP)*	Soluble	Classique et lectine	Bloque la formation de la C3 convertase en se liant au C4b ; cofacteur du clivage du C4b par le facteur I
Facteur H*	Soluble	Alterne	Bloque la formation de la C3 convertase en se liant au C3b ; cofacteur du clivage du C3b par le facteur I
Récepteur du complément du type 1 (CR1)* Cofacteur protéique membranaire (MCP)*	Membranaire	Classique, alterne et lectine	Bloque la fomation de la C3 convertase par liaison au C4b ou au C3b ; cofacteur du clivage catalysé par le facteur I du C4b ou du C3b
Facteur accélérateur de la dissociation (DAF)*	Membranaire	Classique, alterne et lectine	Accélère la dissociation du $\overline{C4b2a}$ et du $\overline{C3bBb}$ (C3 convertases classique et alterne)
Facteur I	Soluble	Classique, alterne et lectine	Sérine protéase : clive le C4b ou le C3b en utilisant le C4bBP, le CR1, le facteur H, le DAF ou le MCP comme cofacteur
Protéine S	Soluble	Terminale	Se lie au C5b67 soluble et prévient son insertion dans la membrane cellulaire
Facteur de restriction homologue (HRF) Inhibiteur membranaire de la lyse réactive (MIRL)	Membranaire	Terminale	Se lie au C5b678 sur les cellules autologues, bloquant ainsi la liaison du C9
Inactivateur des anaphylatoxines	Soluble	Effectrice	Inactive l'activité d'anaphylatoxine du C3a, du C4a et du C5a par élimination carboxypeptidasique N du résidu Arg C-terminal

VIII- LES EFFETS BIOLOGIQUES DU COMPLEMENT :

1/ Défense anti-infectieuse :

a) Bactériolyse, virolyse et lyse des cellules infectées par des virus:

- Le complément est l'agent cytotoxique de la réaction Ag-Ac

- L'activation du complément à la surface des bactéries conduit au complexe d'attaque membranaire C5b-9 qui, avec l'aide du lysozyme et en présence d'Ac à la surface des bactéries, est capable de lyser celles-ci.

- De nombreux virus activent le complément par les voies classique et/ou alterne et sont ainsi lysés par le complexe C5b-9 en présence d'Ac spécifiques à leur surface.

- Les cellules infectées par une grande variété de virus sont lysées par le complément en présence d'Ac dirigés contre les Ag viraux exprimés à leur surface.

b) Opsonisation, stimulation de la phagocytose :

Lorsque les bactéries activent le complément par les voies classique ou alterne, des fragments C3b, C4b et C3bi se déposent à leur surface et permettent ainsi aux cellules phagocytaires (PNN, monocytes et macrophages) qui portent des récepteurs membranaires spécifiques de ces fragments du complément (CR1, CR3 et CR4) d'adhérer plus facilement à ces bactéries, l'adhésion étant la première étape de la phagocytose.

c) Neutralisation virale :

De nombreux virus activent la voie classique du complément même en l'absence d'Ac. Les composants C1q, C4 et C3 activés se déposent à la surface du virus et forment une enveloppe protéique qui interfère avec l'attachement du virus à la cellule cible et sa pénétration à l'intérieur de celle-ci.

2/ Action pro-inflammatoire :

Le complément joue un rôle important dans le déclenchement de l'inflammation à proximité du site de son activation. Cet effet est essentiellement sous la dépendance desanaphylatoxines C4a, C3a et surtout C5a, libérées lors de l'activation du complément et qui interagissent avec les récepteurs cellulaires C3a/C4a-R et C5a-R présents sur les mastocytes, les P.N.B et les cellules phagocytaires (Figure 9). Ces anaphylatoxines sont rapidement clivées dans le sang par la N-carboxypeptidase plasmatique qui limite ainsi la diffusion de leurs effets et favorise le développement local de l'inflammation.

Seul l'effet chimiotactique de C5a est conservé après clivage par la carboxypeptidase-N en C5-des-arg.

D'autres fragments ou complexes libérés ou formés lors de l'activation du complément participent à l'action pro-inflammatoire du complément. Ainsi le C2b encore appelé C2-kinine induit une augmentation de la perméabilité capillaire, et le complexe C5b-9 est capable d'activer la phosphalipase-A2 membranaire et donc d'induire la libération, par la cellule cible, de divers médiateurs de l'inflammation aiguë dérivés de l'acide arachidonique (leucotriènes, prostaglandines..).

Les principaux effets pro-inflammatoires des anaphylatoxines sont :

* Contraction du muscle lisse qui se traduit par une vasoconstriction des veinules post-capillaires avec augmentation de la perméabilité capillaire et une bronchoconstriction.

* Libération d'histamine, par les PNB et les mastocytes, qui vient accentuer l'augmentation de la perméabilité capillaire et la broncho constriction.

* Chimiotactisme et activation des polynucléaires et des monocytes :

C5a attire les polynucléaires et les monocytes du sang circulant vers le site de l'inflammation puis induit la libération par les cellules phagocytaires ainsi recrutées d'enzymes lysosomiales et de radicaux oxygénés toxiques.

3/ Solubilisation et épuration des complexes immuns :

a) Solubilisation :

Les molécules de C3b et de C4b fixées sur les complexes immuns (Ag-Ac) s'intercalent entre les Ac et empêchent ainsi les interactions Fc-Fc, cruciales dans le processus de d'agrégation des complexes immuns et leur précipitation.

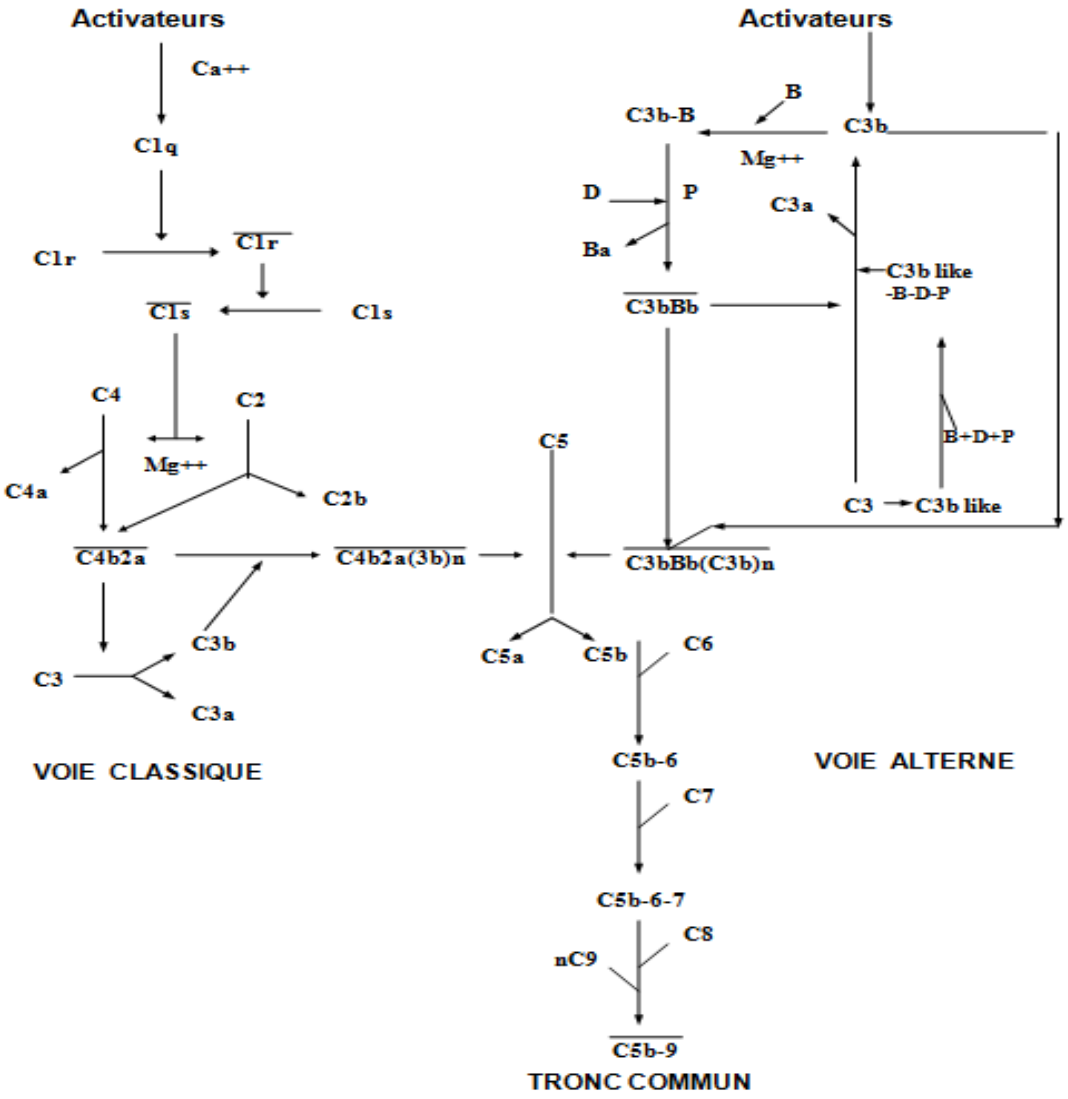
b) Epuration :

Les complexes immuns opsonisés par du C3b ou C4b se lient au CR1 des érythrocytes (quantitativement prédominants dans le sang par rapport aux phagocytes) qui les transportent vers le foie et la rate où ils sont dissociés des GR avant d'être dégradés par les macrophages. Chez les malades atteints de lupus érythémateux disséminé (LED), le nombre de récepteur CR1 à la surface des GR est souvent fortement abaissé.

Tableau 3 : Effets biologiques du complément

Effets	Facteurs	Médiateurs ou cellules impliqués
Lyse des bactéries et des virus	C5-b9	Ac
Opsonisation ↑ phagocytose	C3b, C4b, iC3b	PNN, Monocytes / Mφ → enzymes lysosomales
Chimiotactisme Activation des cellules phagocytaires	C5a, C3a	
Neutralisation des virus	C3b, C1q, C4b	
Dégranulation des basophiles et des mastocytes	C5a, C3a	PNB, Mastocytes → Histamine
Solubilisation des complexes immuns	C3b, C4b	
Epuration des Complexesimmuns	C3b, C4b	GR ⇒ Mφ (foie, rate)

ACTIVATION DU COMPLEMENT
(Schéma de synthèse)



LES IMMUNOGLOBULINES : STRUCTURE ET FONCTIONS

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Définir les immunoglobulines
2. Citer les classes et les sous classes d'Ig chez l'Homme
3. Décrire la structure et les différentes composantes d'une molécule d'immunoglobuline
4. Préciser les fonctions des différents fragments et domaines d'une molécule d'Ig
5. Préciser la composition normale en Ig dans le sérum humain
6. Préciser les fonctions effectrices des différentes classes et sous-classes d'Ig
7. Décrire l'ontogénie des différentes classes d'Ig
8. Définir et expliquer le polymorphisme antigénique des Ig
9. Décrire les mécanismes à l'origine de la diversité des anticorps
10. Expliquer le phénomèned'exclusionallélique
11. Décrire le mécanisme de la commutation isotypique
12. Distinguer entre Ac polyclonal et Ac monoclonal en précisant les méthodes d'obtention et les avantages de chacun de ces 2 types de réponse Ac in vivo et/ou in vitro
13. Enumérer les composants (récepteur et corécepteur) du récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte B en précisant leurs fonctions respectives
14. Décrire le rôle des anticorps dans l'immunité anti-infectieuse.

I) Introduction

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines globulaires produites exclusivement par les lymphocytes B et les plasmocytes et douées de multiples activités biologiques, en particulier l'activité anticorps (Ac) : aptitude à se fixer spécifiquement et de façon réversible à une espèce moléculaire donnée ou antigène (Ag).LesIg sont présentes sous 2 formes :

- une forme circulante : dans le sérum et les liquides interstitiels ;
- une forme membranaire : à la surface des lymphocytes B.

Leur activité Ac d'une part, et les fonctions effectrices dont elles sont douées (fixation du complément, cytophilie, transfert placentaire) d'autre part, confèrent aux Ig un rôle primordial dans la réponse immunitaire.

II) Structure des Ig

1) Structure multicaténaire des Ig, les classes et sous-classes

On distingue, chez les mammifères, 5 classes d'Ig qui diffèrent parleurs caractéristiques physicochimiques, biologiques et antigéniques : IgG, IgA, IgM, IgE et IgD.

Les IgG sont largement majoritaires dans le sérum des vertébrés supérieurs (70 à 75 % des Ig sériques).

KABAT : Electrophorèse du sérum d'un lapin avant et après immunisation par l'ovalbumine⇒ augmentation importante du taux des gammaglobulines.

Absorption de l'immun sérum sur l'ovalbumine⇒ disparition du pic γ à l'électrophorèse (Figure 1).Kabat en conclut que les Ac anti-ovalbumine sont des γ globulines.

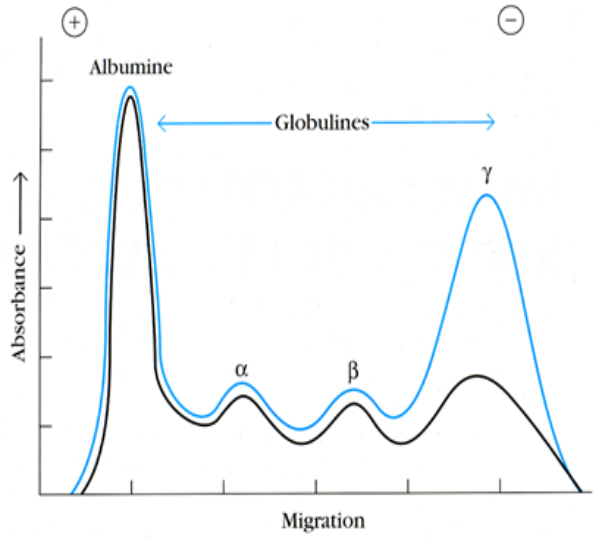


Figure 1 Démonstration expérimentale de la présence des anticorps dans la fraction γ–globulinique des protéines sériques. Après que des lapins aient été immunisés avec de l'ovalbumine (OVA), leurs antisérums étaient poolés et soumis à une électrophorèse qui séparait les protéines sériques selon leur charge électrique et leur masse. La ligne bleue représente le profil électrophorétique d'un antisérum non traité. La ligne noire montre le profil d'un antisérum incubé avec de l'OVA afin d'éliminer l'anticorps anti-OVA, puis soumis à l'électrophorèse [d'après A Tiselius et EA Kabat, 1939, *J. Exp. Med.* **69**:119.]

Par la suite, on s'est rendu compte que d'autres Ac pouvaient avoir une migration électrophorétique β voire mêmeα, d'où l'introduction du terme immunoglobulines (Ig) pour désigner les Ac.

EDELMAN : Réduction alkylation puis chromatographie sur gel de sephadex en milieu dissociant d'une préparation purifiée d'IgG ⇒ 2 pics à 50 KDa (kilo Daltons) et à 25 kDa⇒ l'IgG, molécule de 150 kDa environ de poids moléculaire (PM), est composée de 4 chaînes polypeptidiques :

- 2 chaînes lourdes H identiques (H pour "heavy", PM ≈ 50 kDa).

- 2 chaînes légères L identiques (L pour "light", PM ≈ 25 kDa).

Les chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfures (intercaténaires) et des liaisons de faible énergie.

PORTER : Clivage enzymatique par la papaïne d'une préparation purifiée d'IgG puis chromatographie sur CM-cellulose à pH acide ⇒ 3 pics de 50 kDa de PM environ chacun (figure 2) :

- 2 pics correspondant à des fragments portant chacun un site Ac, fragments Fab ("antigen binding")

- 1 pic correspondant à un fragment assez homogène et cristallisable à froid, fragment Fc.

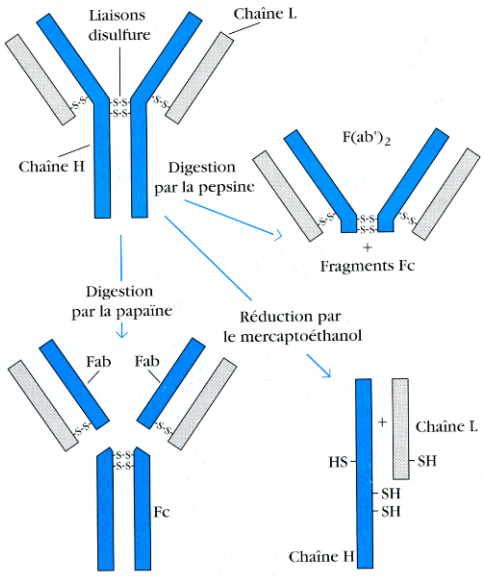


Figure 2 : Prototype de la structure de l'IgG, proposé par Porter en 1962, montrant la structure en Y et les liaisons disulfure interchaînes. Les fragments produits par différents traitements sont aussi indiqués. Les chaînes légères (L) sont en gris et les chaînes lourdes (H) en bleu.

La confrontation des résultats de ces deux types d'approches permet à PORTER de proposer son modèle topologique linéaire et symétrique pour la structure des IgG (figure 3).

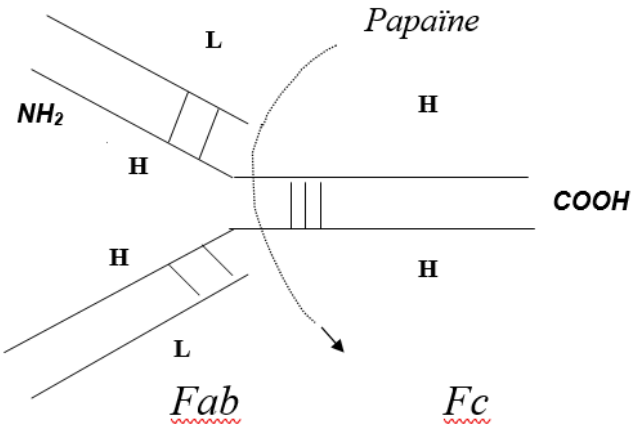


Figure3 :Modèle topologique de Porter pour la structure des IgG

Les autres classes d'Ig sont toutes construites selon le même modèle $(L_2H_2)n$, où n varie de 1 à 5.

n = 1 pour les IgG, IgE, IgD et pour les IgM membranaires.

n = 5 pour les IgM sériques avec chaîne J ("joining") reliant les 5 monomères L_2H_2.

$1 \leq n \leq 3$ pour les IgA avec chaîne J reliant les di et les trimères et, pour les IgA sécrétoires, une pièce sécrétoire S produite par la cellule épithéliale de la muqueuse et qui protège l'IgA de l'action lytique des enzymes digestives.

La caractéristique de classe est déterminée par la nature de la chaîne lourde : γ pour les IgG, α pour les IgA, μ pour les IgM, ε pour les IgE et δ pour les IgD.

Les classes d'Ig diffèrent les unes des autres par :

- Le nombre et la position des ponts disulfure intercaténaires (figure 4 : lignes noires).
- La longueur de la région charnière (Les IgM et les IgE n'ont pas de région charnière)
- Le nombre de domaines de la chaîne lourde (les IgM et les IgE ont un domaine supplémentaire au niveau de leur chaîne lourde.
- La distribution des sites de N-glycosylation (figure 4 : hexagones turquoise).

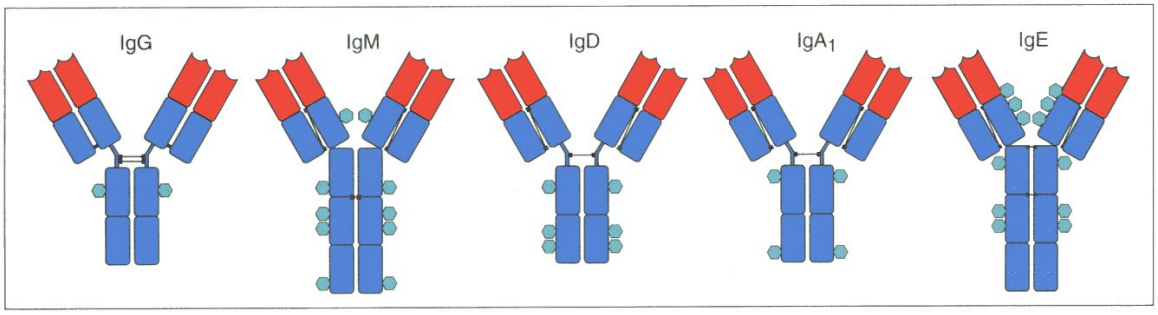


Figure 4 : Organisation structurale des monomères des principaux isotypes humains.

La pepsine clive la molécule d'IgG en un fragment F(ab)'$_2$ qui conserve l'activité Ac (capable, comme l'Ig entière, de se fixer sur l'Ag spécifique)sans les ennuis et problèmes éventuels dus au fragment Fc qui est découpé en plusieurs petits segments désignés Fc'. Il est à noter que le fragment Fab seul est incapable de se fixer sur l'Ag.

Il existe deux types de chaînes légères : Kappa (κ) et lambda (λ)pouvant s'associer indifféremment à l'une ou l'autre des 5 types de chaînes lourdes. Le pourcentage relatif des chaîne κ et λ varie suivant les espèces. Ainsi, chez l'homme le rapport κ/λest de 60/40. On connaît un seul isotype κet 4 isotypes (sous-classes) λchez l'homme.

On a décrit à l'intérieur de certaines classes d'Ig l'existence de sous-classes qui diffèrent légèrement entre elles par leurs propriétés antigéniques, physicochimiques et biologiques. Ainsi chez l'homme, on distingue 4 sous-classes d'IgG (IgG1 à IgG4) et 2 sous-classes d'IgA (IgA1 et IgA2).

Comme les classes, les sous-classes traduisent un polymorphisme multi-génique. Elles coexistent chez tous les individus de l'espèce.

2) Structure primaire des Ig, région variable et région constante

L'analyse de la structure fine des Ig a largement bénéficié des méthodes et techniques d'obtention d'Ac monoclonaux (protéines de myélome, Ac produits par les hybridomes), et du séquençage protéique de plusieurs chaînes légères Kappa humaines (HILSCHMANN et CRAIG).

En comparant la séquence en acides aminés (aa) de plusieurs chaînes

légères Kappa humaines (chaînes légères κ monoclonales sous forme de protéinurie de Bence Jones obtenues chez des malades atteints de myélome à chaînes légères κ), HILSCHMANN et CRAIG ont constaté que la séquence de la moitié N-terminale (≈ 110 aa) est relativement variable d'une chaîne à l'autre, alors que celle de la moitié C-terminale est très conservée. Ils ont appelé la moitié N-terminale,région variable de Kappa ou Vκ,et la moitié C-terminale, région constante de Kappa ou Cκ.

Cette notion de région variable et région constante a été vérifiée pour la chaîne légère lambda et les différents types de chaînes lourdes.

Ainsi, la chaîne légère lambda est composée d'une région variable Vλ de 110 aa environ, différente de Vκ, et d'une région constante Cλde 110 aa environ, différente de Cκ.

Les chaînes lourdes sont composées d'une région variable VH de 110 aa environ et d'une région constante CH de 330 à 440aa selon la classe (les chaînes μ et ε sont plus longues) (figure 5).

Contrairement aux chaînes légères où la région variable porte la marque de la classe κou λ, pour les chaînes lourdes, c'est la région constante CH et elle seule qui caractérise et définit la classe et la sous-classe de la chaîne lourde.

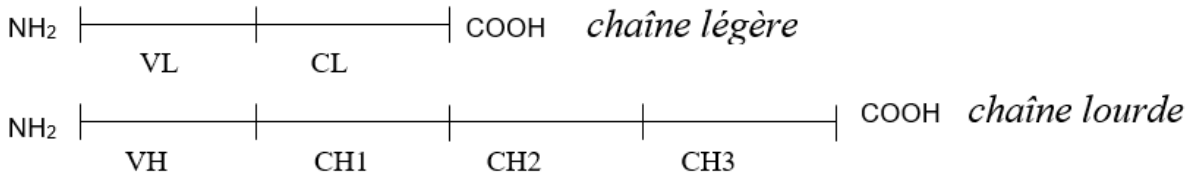


Figure 5 :Région variable, région constante et domaines

Les régions variables Vκ, Vλ et VH sont construites selon le même schéma. On y distingue deux types de positions selon que les résidus d'aa sont relativement conservés ou au contraire fortement variables. Les positions fortement variables sont regroupées dans 3 sections occupant des localisations sensiblement homologues pour les chaînes H et L et que l'on appelle régions hypervariables ou régions

déterminant la complémentarité("complementarity determining regions" ou CDR) et ce en raison de leur implication directe dans la géométrie du site Ac.

Les régions hypervariables sont séparées par les régions de charpente ("framework") qui n'expriment qu'un bruit de fond de variabilité. Les régions de charpente représentent 80 % environ de la région variable, elles constituent l'armature de cette région.

3) notion de domaine, superfamille des immunoglobulines

L'analyse des séquences des chaînes légères et des chaînes lourdes des Ig a montré l'existence en nombre variable de ponts disulfure à l'intérieur de chaque chaîne : 2 pour les chaînes légères, 4 à 5 pour les chaînes lourdes selon la classe.Ces ponts disulfures intracaténaires sont extrêmement difficiles à réduire et essentiels au reploiement et à l'activité des Ig. Ils sont disposés d'une manière caractéristique : chaque pont est présent tout entier sur un segment de 110 résidus d'aa environ et relie des résidus séparés par 60 positions environ formant ainsi une boucle d'une soixantaine de résidus (figure 6).

En étudiant la séquence de fragments Fc d'IgG, HILL a le premier remarqué l'existence d'homologies internes dans la structure des Ig. Cette observation a été confirmée par EDELMAN avec la détermination de la première séquence complète d'une IgG humaine. EDELMAN a appelé domaine, chaque segment d'homologie interne de 110 aa. Chaque domaine possède son autonomie thermodynamique qui lui permet d'acquérir sa conformation propre indépendamment des autres. D'autre part, chaque domaine est codé par un gène (un segment génétique, voir plus loin) et a été sélectionné au cours de l'évolution pour une fonction particulière.

Fonction	**Domaine**
- Ac (liaison à l'Ag)	- VH + VL
- Fixation du C4b	- CH 1
- Fixation du C1q	- CH 2 (IgG) et CH4 (IgM)
- Cytophilie	- CH 2+CH 3
- Transfert placentaire	- CH 2 + CH 3

Par la suite, il s'est avéré que cette organisation structurale, biochimique et génétique en domaines est valable pour un très grand nombre de protéines exprimées par des cellules du système immunitaire ou en dehors (TCR, Fc-R, HLA, Igα, Igβ, CD3, CD4, CD8, ICAM, LFA3…).

Le terme de superfamille des Ig a donc été introduit pour désigner toutes ces protéines qui, comme les Ig, ont une structure caractéristique en domaines. Les gènes codant ces protéines de la superfamille des Ig dériveraient tous de la duplication d'un seul et même gène ancestral commun codant pour un polypeptide d'une centaine d'acides aminés comportant un pont disulfure reliant 2 cystéines séparées par une soixantaine de résidus.

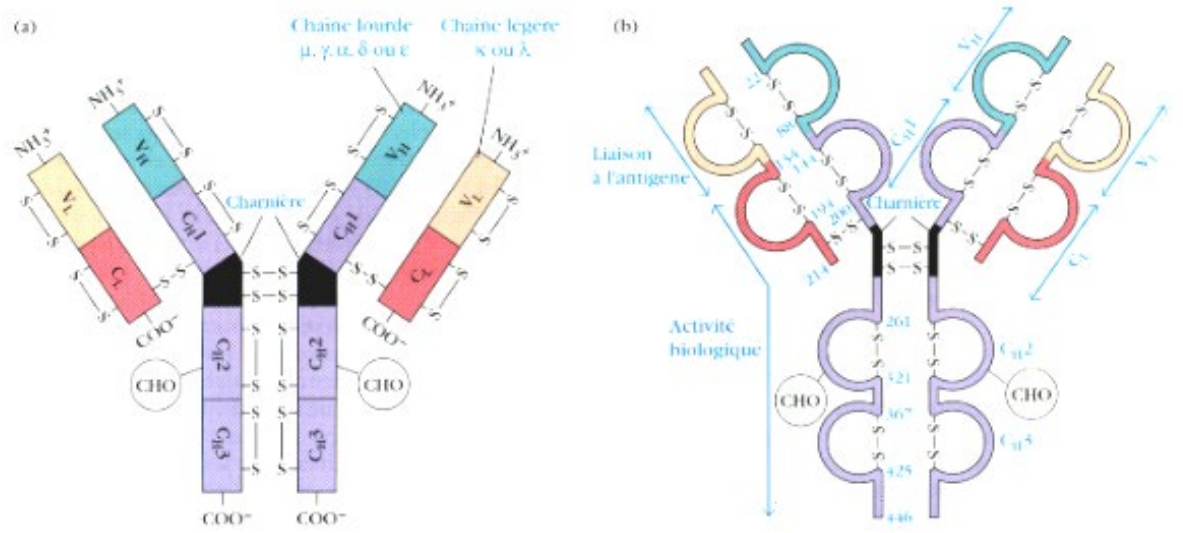


Figure 6 Représentation schématique de la structure des immunoglobulines dérivée de l'étude des séquences des amino acides. (a) Chaque chaîne lourde et chaque chaîne légère d'une molécule d'immunoglobuline contient une région amino terminale variable (V) constituée de 100-110 amino acides qui diffère d'un anticorps à un autre. Le reste de chaque chaîne de la molécule, les régions constantes (C) (rouge et violet), présente une variation limitée qui définit les deux sous-types des chaînes légères et les cinq sous-classes des chaînes lourdes. Certaines chaînes lourdes (γ, δ et α) contiennent aussi une région charnière riche en proline (noire). (b) Les chaînes lourdes et les chaînes légères sont repliées en domaines, contenant chacun environ 110 résidus amino acides et une liaison disulfure intrachaîne qui forme une boucle de 60 amino acides. Les domaines amino-terminaux, qui correspondent aux régions V, se fixent à l'antigène ; les fonctions effectrices sont médiées par les autres domaines. Les chaînes lourdes μ et ε, qui n'ont pas de région charnière, contiennent un domaine supplémentaire dans le milieu de la molécule.

4) Structure tridimentionnelle des Ig, le site actif

L'étude en microscopie électronique de la structure des Ig a montré qu'elles ont effectivement la forme d'un Y dont les bras sont constitués par les 2 fragments Fab et le pied par le fragment Fc. Les fragments Fab font un angle variable par articulation autour de la région médiane flexible qui connecte les fragments Fab et Fc et qu'on appelle région charnière ou "*hingeregion*".

L'utilisation de la technique de diffraction des rayons X a permis une connaissance approfondie de la structure des Ig (POLJAK). L'IgG est composée de 12 régions globulaires (4 pour chaque fragment Fab et 4 pour le fragment Fc) correspondant chacune à un domaine (figure 7). Chaque domaine possède la même organisation spatiale générale : 7 segments de feuillets plissés β réunis les uns aux autres par des boucles ou des hélices de longueur variable et organisés en 2 plans sensiblement parallèles (un plan de 4 et l'autre de 3 segments) reliés entre eux par un pont disulfure intra-caténaire. C'est au niveau des boucles qu'on retrouve les parties les plus variables des Ig.

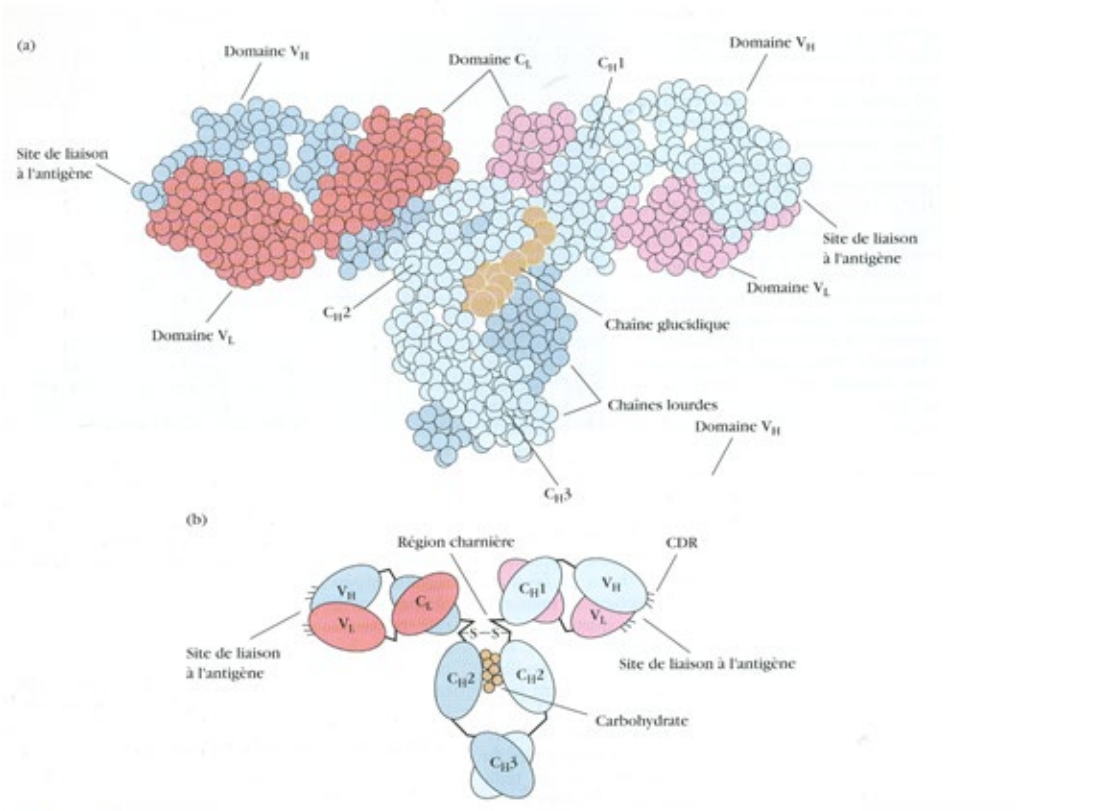


Figure 7 Les interactions entre les domaines des chaînes séparées d'une molécule d'immunoglobuline sont essentielles pour la structure quaternaire de cette dernière. (a) Modèle de la molécule d'IgG, basé sur une analyse cristallographique par rayons X, montrant les associations entre les domaines. Chaque boule pleine représente un résidu amino acide ; les boules brunes plus grosses sont des carbohydrates (glucides). Les deux chaînes légères sont représentées en rouge clair, les deux chaînes lourdes en bleu. (b) Représentation schématique montrant les interactions entre les domaines des chaînes lourdes et des chaînes légères. Remarquer que les domaines C_H2/C_H2 font protrusion en raison de la présence des carbohydrates (brun) à l'intérieur. La protrusion rend ce domaine plus accessible, ce qui lui permet d'entrer en interaction avec des molécules telles que certains composants du complément. [Partie (a) d'après EW Silverton *et al.*, 1977, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **74**:514]

Concernant le site Ac, les résultats préalablement obtenus grâce aux techniques d'hybridation moléculaire et de marquage d'affinité ont été confirmés par l'analyse de la diffraction aux rayons X de complexes Ag-Ac cristallisés :

- la chaîne lourde et la chaîne légère participent à l'architecture du site Ac (site partagé);
- ce sont précisément les régions hypervariables qui forment le site Ac (figure 8).

Ainsi, et alors que pour toutes les autres protéines les variations semblent tolérées uniquement dans les parties non essentielles, pour les Ac c'est au niveau de la partie la plus essentielle de la molécule, à savoir le site actif, qu'on retrouve les variations les plus importantes. Ce qui est tout à fait compréhensible puisque ce sont justement ces variations qui font naître la diversité des Ac.

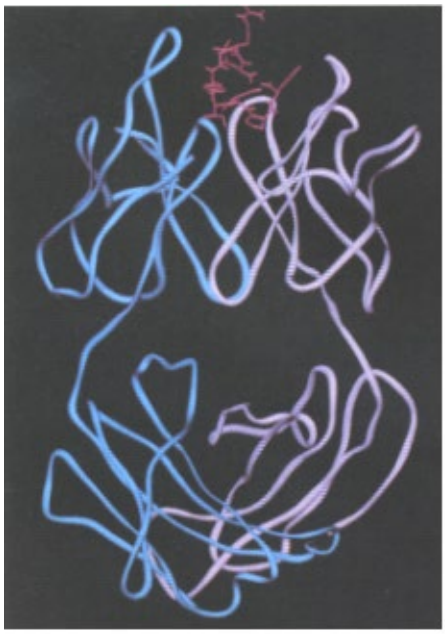


Figure 8 Structure tridimensionnelle d'une hormone octapeptidique (l'angiotensine II) complexée au fragment Fab d'un anticorps monoclonal, fragment qui est l'unité de liaison à l'antigène de la molécule d'anticorps. Le peptide angiotensine II est représenté en rouge, la chaîne lourde en bleu et la chaîne légère en violet. [D'après KC Garcia *et al.*, 1992, *Science* 257:502.]

5) Dualité structurale et fonctionnelle des Ig

Les Ig exercent 2 types de fonction, la fonction Ac et des fonctions effectrices. Cette dualité fonctionnelle des Ig a pour support leur dualité structurale: la fonction Ac est assurée par les régions variables des Ig (domaines VH et VL) alors que les fonctions effectrices sont dues aux régions constantes des Ig (domaines CH et CL).

III) Propriétés physico-chimiques et biologiques des Ig(TableauI etFigure 9)

1) IgG

- 70 à 75 % du total des Ig sériques soit une concentration sérique de 7 à 14 g/l
- Monomère H_2L_2
- 4 sous classes : IgG1 à IgG4 (IgG1 = 2/3 des IgG) (figure 10)

- Fixent le complément (sauf IgG4)
- Traversent la barrière placentaire (IgG2 ±)
- Cytophiles vis à vis des cellules phagocytaires: IgG1 et IgG3 surtout, IgG4±

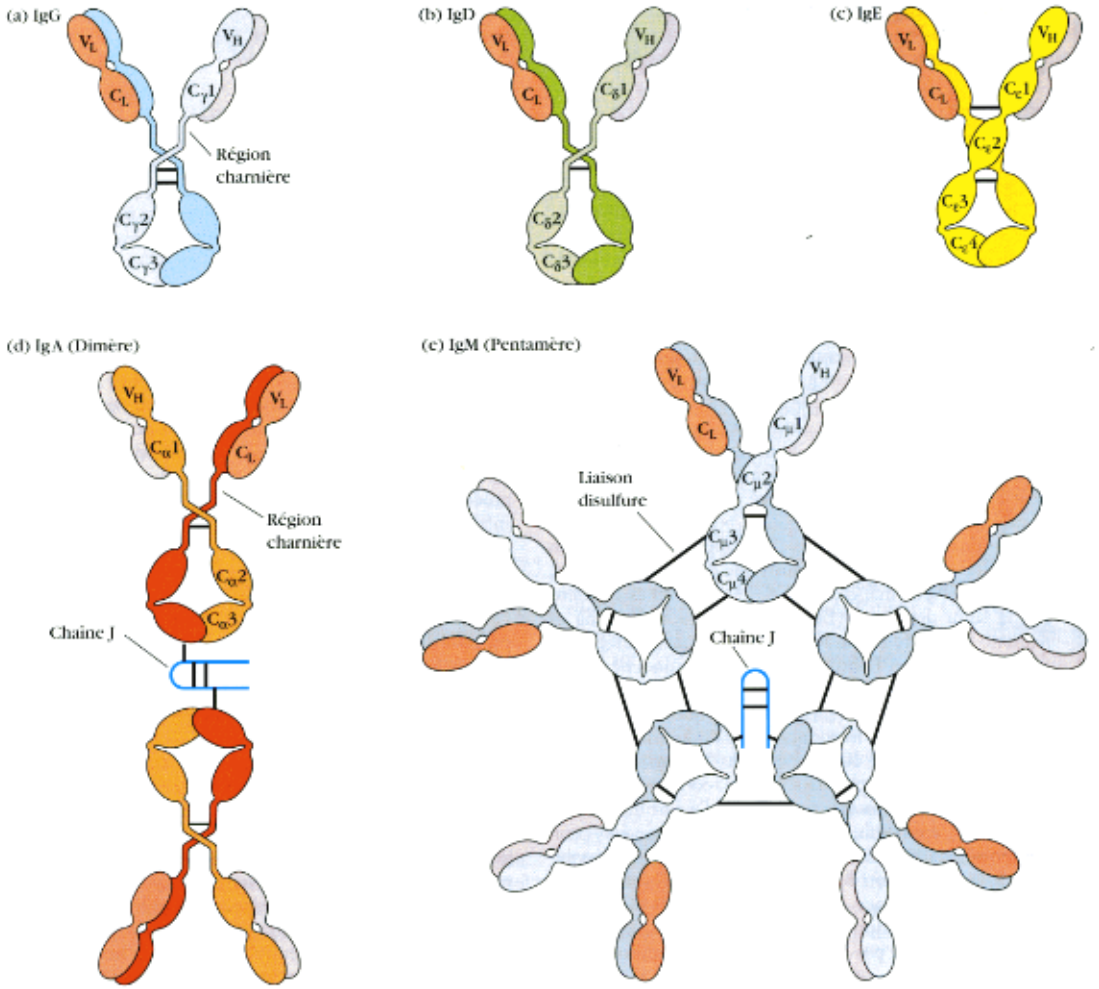


Figure 9 Structures générales des cinq classes majeures d'anticorps sécrété. Les chaînes légères sont représentées en rose, les ponts disulfure sont indiqués par des lignes noires épaisses. Remarquer que les chaînes lourdes de l'IgG, de l'IgA et de l'IgD (bleu, orange et vert, respectivement) contiennent quatre domaines et une région charnière, tandis que les chaînes lourdes de l'IgM et de l'IgE (violet et jaune, respectivement) contiennent cinq domaines mais pas de région charnière. Les formes polymériques de l'IgM et de l'IgA contiennent un polypeptide, appelé chaîne J, qui est lié par deux liaisons disulfure à la région Fc de deux monomères différents. L'IgM sérique est toujours un pentamère ; la plus grande partie de l'IgA sérique existe sous forme monomère, bien que certains dimères, trimères et même tétramères soient parfois présents. Les liaisons disulfure intrachaînes et les liaisons disulfure reliant les chaînes légères et les chaînes lourdes ne sont pas représentées dans ces figures

2) IgA

- 15 à 20 % du total des Ig sériques (2à4 g/l chez l'adulte)
- 2 types : IgA sériques et IgA sécrétoires
- 2 sous classes : IgA1 et IgA2. Les IgA2 représentent 7 % des IgA sériques mais près de la moitié des IgA sécrétoires.
- IgA sériques : essentiellement sous forme monomérique.

- IgA sécrétoires : essentiellement sous forme de dimère $(H_2L_2)2$, avec chaîne J (jonction) et pièce sécrétoire S produite par les cellules épithéliales ; sont retrouvées dans les secrétions nasales, salivaires, trachéo-bronchiques, gastro-intestinales et urogénitales, ainsi que dans le colostrum et le lait maternel (fig. 11).
- Les IgA sont capables, sous forme agrégée, d'activer la voie alterne du complément.
- Les IgA sont cytophiles pour les Mφ, les PNN et les PNE (FcαRI = CD89).

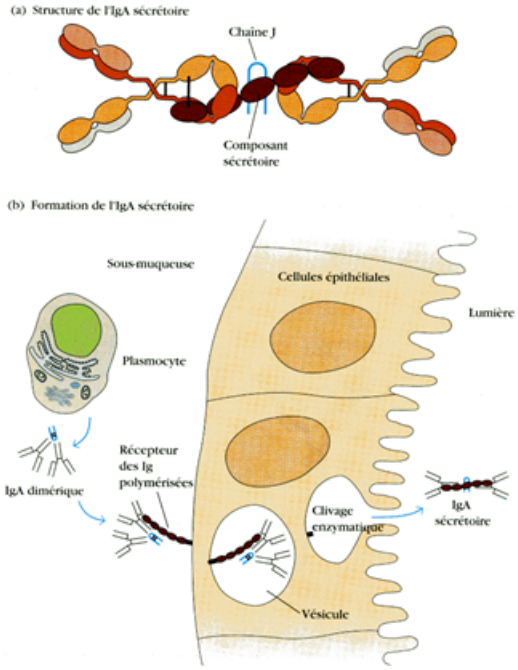


Figure 11 Structure et formation de l'IgA sécrétoire. (a) L'IgA sécrétoire est constituée d'au moins deux molécules d'IgA qui sont unies par covalence à une chaîne J et au composant sécrétoire. Le composant sécrétoire contient cinq domaines de type immunoglobulinique et il est lié à l'IgA dimérique par une liaison disulfure entre son cinquième domaine et l'une des chaînes lourdes de l'IgA. (b) L'IgA sécrétoire est formée lors du transport à travers les cellules épithéliales des muqueuses. L'IgA dimérique se lie au récepteur des Ig polymérisées sur la membrane basolatérale d'une cellule épithéliale et elle est internalisée par endocytose médiée par un récepteur. Après transport du complexe récepteur-IgA vers la surface luminale, le récepteur des Ig polymérisées est clivé enzymatiquement, ce qui libère le composant sécrétoire lié à l'IgA dimérique.

3) IgM

- Représentent 10 % environ du total des Ig sériques : 1 à 2 g/l.
- Structure pentamérique $(H_2L_2)5$ avec une chaîne J (jonction) et sans région charnière.
- La chaîne lourde µ comporte un domaine Cµ4 supplémentaire.
- Les IgM fixent très bien le complément mais ne traversent pas la barrière placentaire et ne sont pas cytophiles vis à vis des cellules phagocytaires.
- Les IgM sont les premiers à apparaître lors de la réponse humorale (réponse primaire), par la suite et en règle générale, les IgG et les IgA prennent la relève : c'est le phénomène de commutation isotypique ou "*Switch*".
- L'IgM existe aussi sous une forme monomérique à la surface des lymphocytes B, IgM membranaire ou de surface.

Tableau I: Caractéristiquesphysicochimiques et propriétés biologiques des différentes classes et sous-classes d'Immunoglobulines

Caractéristiques physicochimiqueset propriétés biologiques	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgM	IgE	IgD
Poids moléculaire (KDa)	150	150	150	150	160/ 385	160/ 385	970	188	184
Chaîne lourde	γ1	γ2	γ3	γ4	α1	α2	μ	ε	δ
Taux sérique normal (g/l)	7 à 14				2 à 4		1 à 2	0,0005	0,03
Demi vie dans le sérum in vivo (jours)	23	23	8	23	6	6	5	2,5	3
Activation de la voie classique du complément	+	+/-	++	-	-	-	+++	-	-
Passage à travers le placenta	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-
Présence sur la membrane des lymphocytes B matures	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Liaison aux récepteurs Fc des phagocytes	++	+/-	++	+	+	+	-	-	-
Induction de la dégranulationdes mastocytes	-	-	-	-	-	-	-	++	-

Les niveaux d'activité sont indiqués comme suit : ++ = élevée ; + = modérée ; +/- = faible ; - = aucune

4) IgE

- Présentes à l'état de traces dans le sérum humain normal (≈ 0,0005 g/l, 100 milles fois moins que les IgG !)

- Les IgE n'ont pas de région charnière et leur chaîne lourde ε comporte un domaine Cε4 supplémentaire.

- Les IgE sont cytophiles vis à vis des PNE, des monocytes-Mφ et des plaquettes qui toutes expriment un récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fc ε-RII ou CD23)⇒ les IgE jouent un rôle important dans l'immunité anti-parasitaire (anti-helmintes).

- Les IgE sont cytophiles vis à vis des polynucléaires basophiles (PNB) et des mastocytes qui expriment un récepteur de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε- RI) ⇒ les IgE jouent un rôle essentiel dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (asthme, rhume des foins, choc anaphylactique...). Les PNE activés (par les cytokines, chémokines..) expriment ce récepteur de forte affinité.

5) IgD

- Représentent moins de 1 % des Ig sériques, ≈ 0,03 g/l
- Rôle peu connu pour les IgD sériques.
- L'IgD membranaire représente, avec l'IgM membranaire, l'essentiel des Ig de surface des lymphocytes B.

IV) Phylogénie et Ontogénie des Ig

Le développement du système immunitaire est progressif des vertébrés primitifs (une seule classe d'Ig qui ne fixe pas le complément) aux mammifères (5 classes d'Ig avec diverses fonctions effectrices).

La production des IgM suivie de celle des IgG commence entre la 10ème et la 15ème semaine de la vie fœtale. Les IgM sont les premiers à atteindre le niveau de l'adulte (8 à 12 mois) suivis des IgG (2 à 4 ans) puis des IgA (4 à8 ans) (figure 12).

Pendant les 3 premiers mois de la vie, l'essentiel des Ig du sang circulant du nouveau-né est représenté par les IgG maternelles transmises par voie fœto-placentaire et dont le taux baisse progressivement à partir de la naissance.

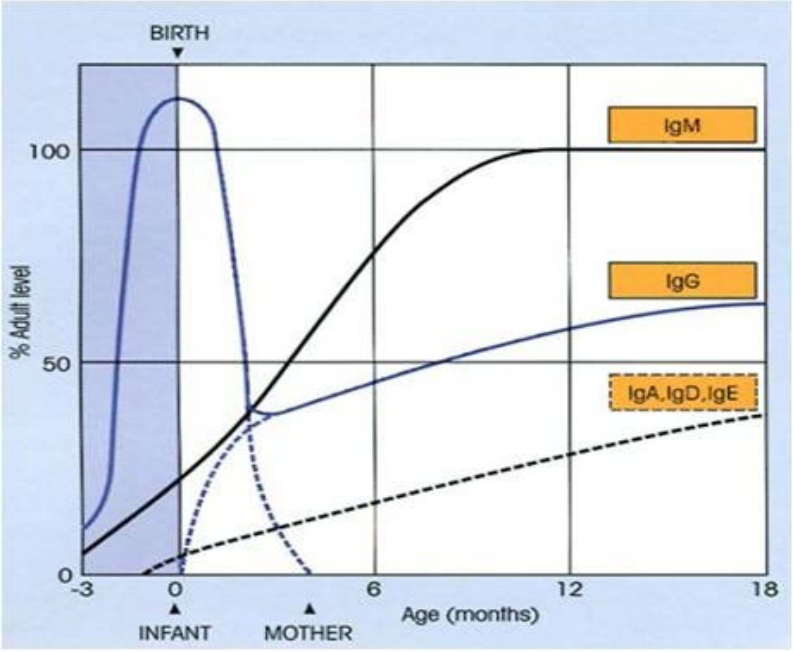


Figure 12 : évolution du taux sérique des Ig chez le nouveau-né humain

V) Polymorphisme génétique et propriétés antigéniques des Ig

Les Ac ou Ig sont des glycoprotéines, donc de bons Ag. Comme les autres glycoprotéines, les Ig portent des déterminants antigéniques.

On distingue trois types de déterminants antigéniques sur les Ig (figure 13):

1) Déterminants isotypiques

Présents chez tous les individus de la même espèce. Ils caractérisent l'espèce, la classe et la sous classe de l'Ig. Ils sont portés par les régions constantes des chaines H et L. Ils traduisent un polymorphisme multigénique (9 loci CH chez l'Homme)

2) Déterminants allotypiques

Pour une classe ou une sous classe d'Ig donnée, ces déterminants sont variables d'un groupe d'individus à un autre au sein de la même espèce. Ils sont transmis selon les lois mendéliennes. Chez l'hétérozygote, les 2 allèles sont phénotypiquement exprimés. La variation allotypique traduit un polymorphisme multi-allélique mettant en jeu plusieurs allèles au même locus (ex : série Gm pour les IgG, Inv pour les chaînes κ...).

Chaque allèle correspond au niveau de la molécule d'Ig à une ou plusieurs spécificités ou déterminants allotypiques qui constituent le motif allotypique ou allotype.

3) Déterminants idiotypiques

Ce sont des déterminants antigéniques particuliers aux Ac dirigés contre un Ag donné et synthétisés par un individu ou un groupe d'individus donnés.

Les déterminants idiotypiques sont localisés dans les régions variables VH et VL, ils varient donc chez le même individu d'un Ac à l'autre en fonction de la spécificité antigénique et, pour le même Ag, d'un individu à l'autre en fonction de la combinaison VH-VL utilisée pour produire l'Ac spécifique.

L'isotypie et l'allotypie sont des propriétés partagées par les autres protéines ; tandis que l'idiotypie est une propriété particulière aux Ig. L'ensemble des déterminants idiotypiques exprimés à la surface des régions VH et VL d'un Ac constituent l'idiotype de cet Ac.

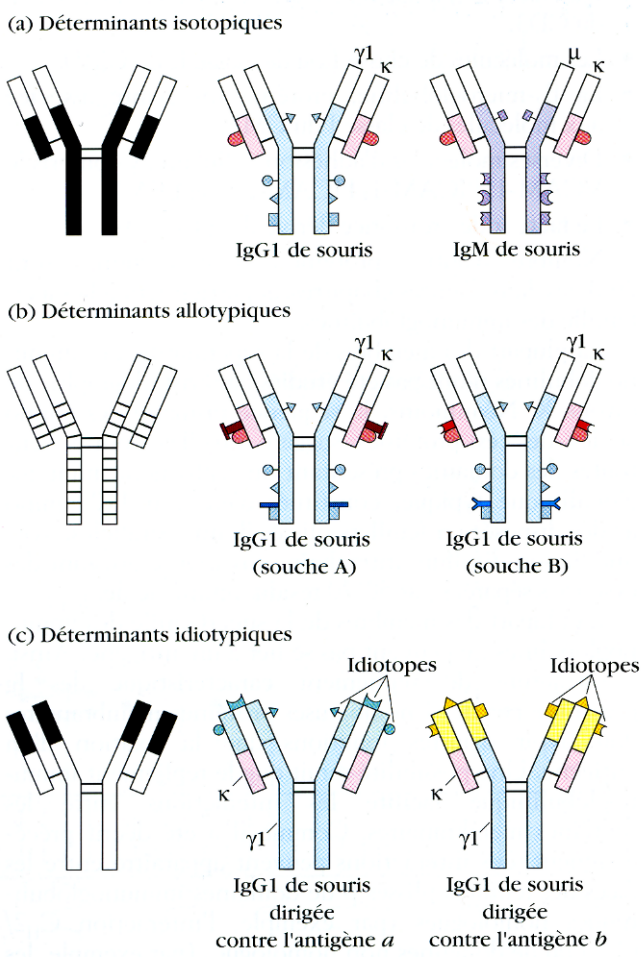


Figure 13 : Déterminants antigéniques des Ig

VI) Origine de la diversité des Ac, gènes codant pour les Ig

L'homme est capable de produire des Ac spécifiques contre n'importe lequel des millions d'Ag différents présents dans la nature, ou même contre les nouveaux antigènes synthétiques qu'il n'a jamais rencontrés au cours de son évolution. On estime qu'un individu produit plus d'Ac différents que de différents types d'autres protéines pour l'ensemble de l'organisme.

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce polymorphisme. Au début on a avancé l'hypothèse que l'Ac est une molécule modulable et que l'Ag induirait une transformation de la structure de cette molécule de façon à faire apparaître un site Ac qui lui est complémentaire: théories informatives.

Les progrès de la biologie moléculaire dans les années 50-60 ont discrédité cette hypothèse: l'Immunoglobulineest une protéine et à ce titre elle ne peut que traduire l'information génétique inscrite dans l'ADN. Les théories informatives ont donc été abandonnées au profit des théories sélectives de BURNETet JERNE (figure 14).

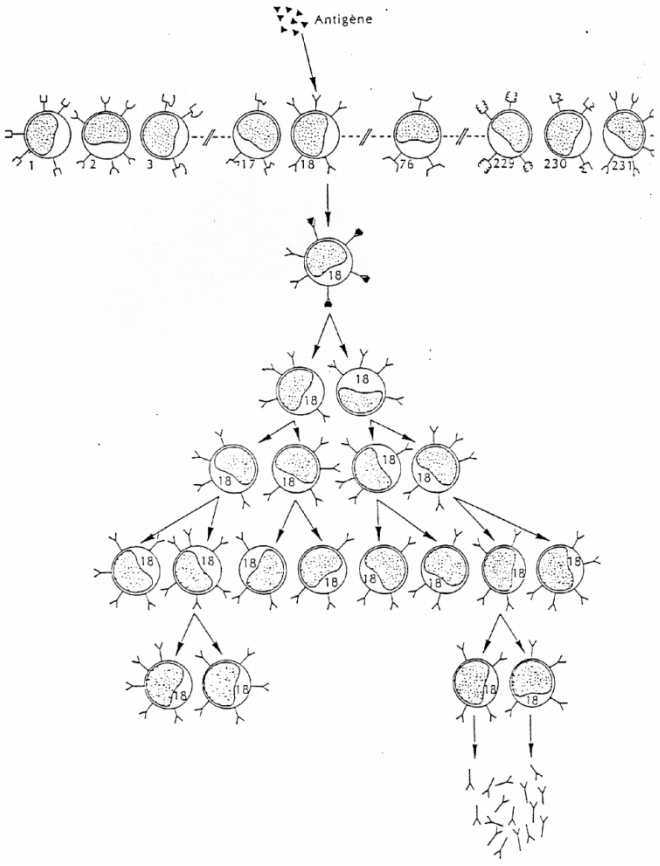


Figure 14 : Théorie de la sélection clonale

Pour Burnet et Jerne, chaque lymphocyte B ne peut produire qu'un seul type d'Ac et porte à sa surface un seul type de récepteur pour l'Ag (Ig membranaire) tous deux spécifiques d'un seul et même Ag. Lorsqu'un Ag pénètre dans l'organisme, il sélectionne et stimule la prolifération exclusive des clones de lymphocytes qui le reconnaissent spécifiquement.

Cette théorie dite théorie de la sélection clonale suppose que chaque individu possède ou peut produire autant de types ou de clones de lymphocytes B qu'il existe d'Ag différents. Dans le cadre des théories sélectives, deux hypothèses ont été avancées par différents auteurs pour expliquer cela.

Les hypothèses germinales expliquent la diversité par un grand nombre de gènes inscrits dans le génome. Les hypothèses somatiques expliquent la diversité par les mutations somatiques survenant lors de l'ontogénèse des lymphocytes B à partir d'un nombre minimum de gènes V.

Avec la connaissance de plus en plus approfondie de la structure et de l'expression des gènes codant pour les Ig, on s'est acheminé vers une solution médiane entre ces deux hypothèses tout en reconnaissant un rôle important aux recombinaisons génétiques.

L'hypothèse de DREYER et BENETT émise pour expliquer le paradoxe de la grande variabilité de la région V contrastant avec la forte conservation de la région C a été rapidement confirmée par les travaux de TONEGAWA. La région variable et la région constante de chaque chaîne lourde ou légère sont codées chacune par un gène différent. De plus, la région variable estelle-même codée par 2 ou 3 gènes différents, 2 gènes, VL et JL, pour les chaînes légères (le gène J - pour jonction- codant pour les dix derniers aa du côté C-terminal) et 3 gènes, VH, D et JH, pour les chaînes lourdes (le gène D - diversité - codant pour 2 à 10 acides aminés interposés entre le segment VH et le segment JH) (figure 15).

Les gènes codant pour les Ig sont portés par 3 chromosomes différents, chromosome 2 pour les gènes de la chaîne légère κ, chromosome 22 pour ceux de la chaîne légère λ et chromosome 14 pour les gènes de la chaîne lourde H (ceci chez l'homme).

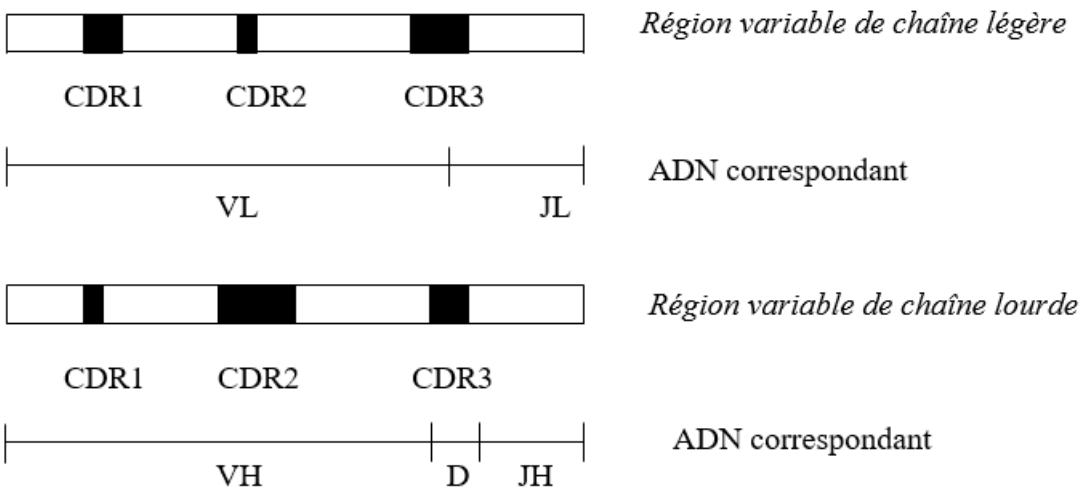


Figure 15 : Segments d'ADN codant pour les régions variables de chaînes légères et de chaînes lourdes où sont indiquées les zones hypervariables CDR.

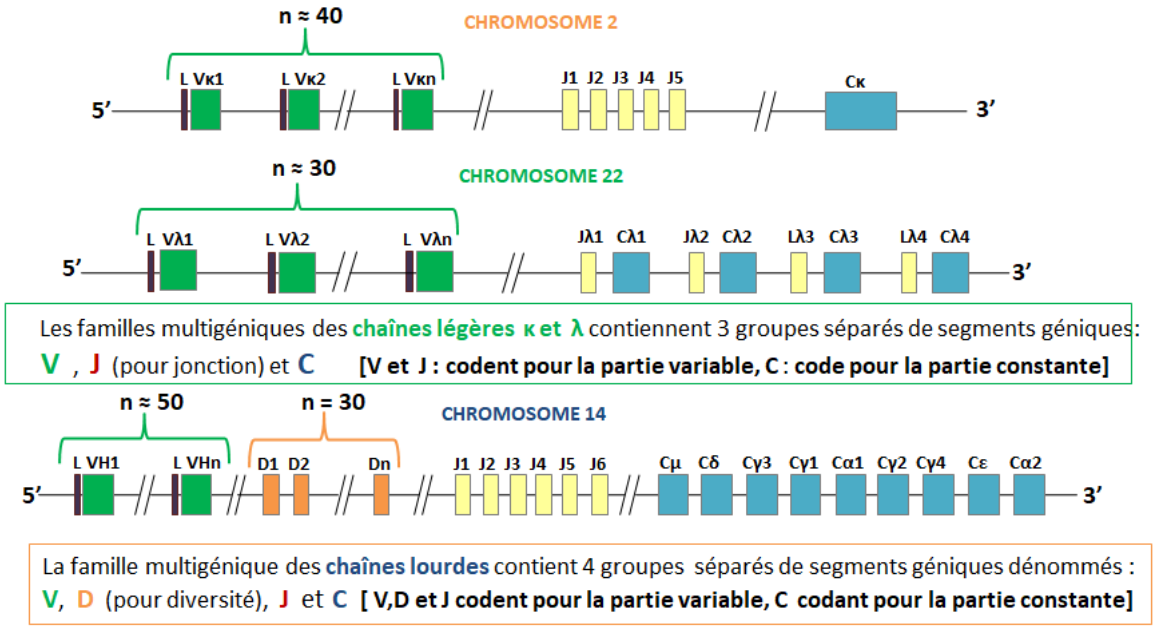


Figure 16 :organisation multigénique des gènes des Ig

Au niveau des cellules ne synthétisant pas d'Ac (cellules germinales, cellules somatiques autres que les lymphocytes B et les plasmocytes), les gènes ou plutôt les segments génétiques (V, D et J) codant pour un même type de chaîne (κ, λ ou H) occupent des positions éloignées sur le même chromosome (Figure 16).

Au niveau des lymphocytes B et des plasmocytes, un gène V, un gène D (pour les chaînes lourdes seulement), un gène J et un gène C se trouvent rapprochés par des mécanismes de recombinaison génétique et rassemblés en un gène fonctionnel actif VJ-C ou VDJ-C (Figures 17 et 18).

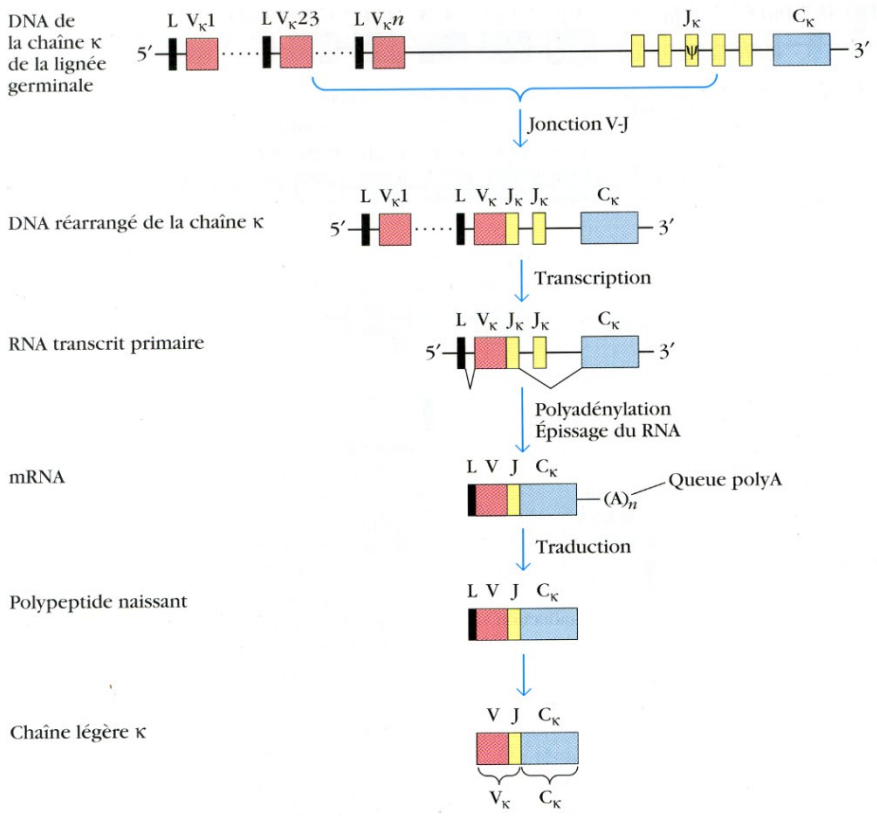


Figure 17 :réarrangements géniques en vue de la synthèse d'une chaîne légère κ

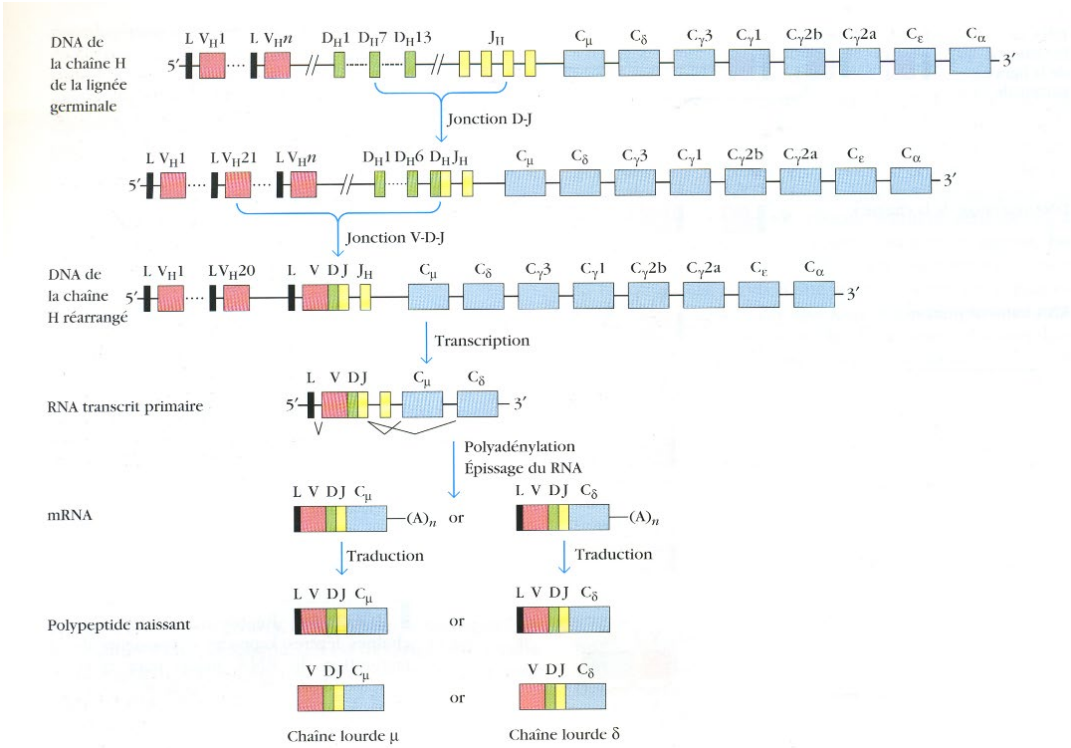


Figure 18 :réarrangements géniques en vue de la synthèse d'une chaîne lourde d'Ig

Ainsi donc, la génération de la diversité des Ac peut s'expliquer par 5 mécanismes :

1) **Diversité germinale: Familles multigéniques germinales de gènesV (duplication des gènes V)**

Chaque gène VH ou VL est présent sur le chromosome correspondant en de très nombreux exemplaires, on compte chez l'Homme 30 à 50gènes V et 4 à 6 gènes J pour chaque type de chaîne κ, λ et H ; le gène D existe en une trentaine d'exemplaires (figure 16).

2) **Diversité combinatoire :Recombinaisons V-J et V-D-J**

La région variable VH est codée par 3 segments génétiques V, D et J ; il devient ainsi possible, avec les 50 gènes V, 6 gènes J et 30 gènes D et grâce aux recombinaisons génétiques aléatoires V-D-J, d'avoir jusqu'à 9000 gènes VH fonctionnels différents (Tableau II).

Tableau II : Effet cumulé desdiversitésgerminale, combinatoire et associative*

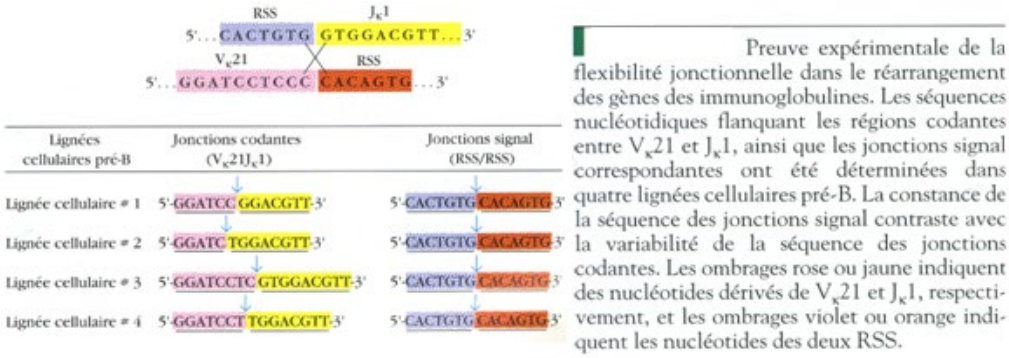
Segment génique	**Chaîne lourde**	**Chaîne Kappa**	**Chaîne Lambda**
V	50	40	30
D	30	0	0
J	6	5	4
Jonction V-J ou V-D-J	9000	200	120
Association Chaîne lourde et légère	9 000 x (200 + 120) ≈**3 x 10^6***		

***** la diversitéjonctionnelle et les mutations somatiques augmentent de façon exponentielle ces chiffres

3) **Diversité jonctionnelle : Variabilité de la jonction V-J et V-D-J lors de la recombinaison**

Les enzymes qui coupent l'ADN lors des recombinaisons ne sont pas précises et peuvent ne pas le faire exactement à l'extrémité du gène V, D ou J à couper ; la jonction peut ainsi fluctuer de quelques nucléotides en 3' ou en 5'. De plus et juste avant que les ligases ne raccommodent les 2 bouts d'ADN à joindre, la TdT

("terminal desoxynucleotidyl-transferase") peut venir rajouter quelques nucléotides de part et d'autre de la jonction (figure 19).



Preuve expérimentale de la flexibilité jonctionnelle dans le réarrangement des gènes des immunoglobulines. Les séquences nucléotidiques flanquant les régions codantes entre $V_κ21$ et $J_κ1$, ainsi que les jonctions signal correspondantes ont été déterminées dans quatre lignées cellulaires pré-B. La constance de la séquence des jonctions signal contraste avec la variabilité de la séquence des jonctions codantes. Les ombrages rose ou jaune indiquent des nucléotides dérivés de $V_κ21$ et $J_κ1$, respectivement, et les ombrages violet ou orange indiquent les nucléotides des deux RSS.

Figure 19 : Diversité jonctionnelle

4) Association des chaînes lourdes et légères

Le site Ac étant partagé (VH et VL) et les chaînes légères ubiquitaires, une même région variable VH peut être associée indifféremment à l'une ou l'autre des régions variables Vκ ou Vλ constituant autant d'Ac différents. Ainsi, pour n combinaisons possibles Vκ-Jκ, p combinaisons possibles Vλ-Jλ et q combinaisons possibles VH-D-JH, le nombre de combinaisons VH-VL (donc d'Ac) possibles est de (n + p) x q.

Cette diversité associative est significativement amplifiée lors de l'ontogénie des lymphocytes B (et T aussi) lorsque la grande cellule pré-B (ou pré-B initiale) qui vient d'achever le réarrangement V-D-J et qui exprime une chaîne lourde μ, se met à se diviser 4 à 6 fois de suite avant d'amorcer le réarrangement des gènes de chaînes légères, chaque chaîne μaura ainsi la possibilité de s'associer à une chaîne légère différente dans chacune des 16 à 64 petites cellules pré-B ainsi obtenues.

5) Mutations somatiques

A la différence des mécanismes précédents communs avec les lymphocytes T et qui ont tous lieu dans la moelle osseuse au cours de la différenciation des lymphocytes B, ce dernier mécanisme est propre aux lymphocytes B et se déroule en périphérie au cours des divisions cellulaires successives des lymphocytes B activés par la reconnaissance de l'Ag spécifique.

En effet, la plupart des lymphocytes B expriment des gènes V qui ont subi des mutations somatiques ponctuelles. Il existerait, en effet, un mécanisme actif d'hyper-mutation au niveau de la lignée lymphocytaire B (environ 1000 fois plus de mutations que dans les autres cellules somatiques). L'événement mutationnel serait associé au cours de la différenciation terminale du lymphocyte B à la commutation isotypique ou " *Switch* " (IgM vers IgG et IgA) et permettrait l'obtention de variants de l'Ac ayant une meilleure affinité pour l'Ag.

VII) Exclusion allélique ou haploïdie fonctionnelle

Bien qu'ayant potentiellement la possibilité d'avoir 2 réarrangements productifs (un sur chacun des 2 chromosomes homologues) des gènes des chaînes lourdes et 4 pour les gènes des chaînes légères, le lymphocyte B n'arrive à réaliser qu'un seul réarrangement productif aussi bien pour les gènes des chaînes lourdes que pour les gènes des chaînes légères.

L'explication largement acceptée à l'heure actuelle à ce phénomène d'exclusion allélique est que le réarrangement des gènes H, κ et λ est ainsi ordonné (H puis κpuisλ) au cours de l'ontogénèse du lymphocyte B et régulé par les produits de recombinaison selon un mécanisme de " *feed back* " actif (modèle ordonné régulé) (figures 20, 21).

VIII) Commutation isotypique ou ″ Switch ″

Au cours de l'ontogénèse du lymphocyte B, le premier gène fonctionnel qui se forme et s'exprime est un gène VH-D-JH-C qui code pour une chaîne μ. Ultérieurement, le même gène VH-D-JH peut s'associer et/ou s'exprimer avec un autre gène CH pour former un autre type de chaîne lourde. Ce phénomène qui permet le changement de la région constante de la chaîne lourde tout en maintenant
la même région variable est connu sous le nom de commutation isotypique ou "*Switch* ". Il fait intervenir des réarrangements supplémentaires au niveau de l'ADN : recombinaison intra-chromosomique éliminant le gène Cμ et les gènes CH précédant celui à exprimer.

Des séquences particulières appelées S ("*Switch*") ont été mises en évidence en 5' de chaque gène CH sauf Cδ.

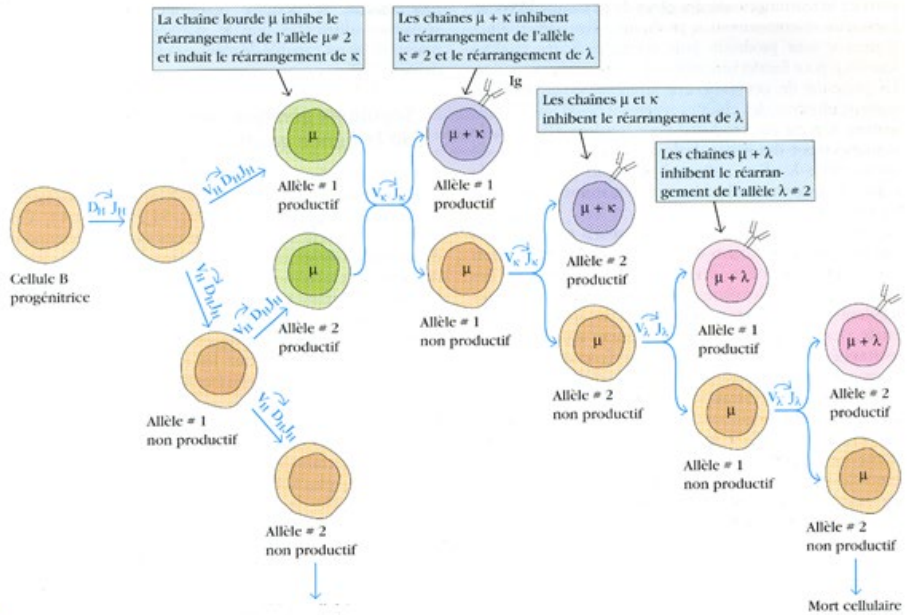


Figure 20 Modèle d'explication de l'exclusion allélique. Les gènes des chaînes lourdes se réarrangent en premier et dès qu'un réarrangement productif des gènes des chaînes lourdes s'effectue, la protéine μ produite prévient le réarrangement de l'autre allèle de chaîne lourde et initie le réarrangement des gènes des chaînes légères. Chez la souris, le réarrangement des gènes des chaînes légères κ précède celui des gènes λ, comme il est montré ici. Chez l'Homme, cependant, un réarrangement κ ou un réarrangement λ peut se produire dès qu'un réarrangement productif des chaînes lourdes a eu lieu. La formation d'une immunoglobuline complète inhibe le réarrangement ultérieur des gènes des chaînes légères. Lorsqu'un réarrangement non productif a lieu pour un allèle, la cellule tente alors le réarrangement de l'autre allèle. [Adapté de GD Yancopoulos et FW Alt, 1986, *Annu. Rev. Immunol.* 4:339.]

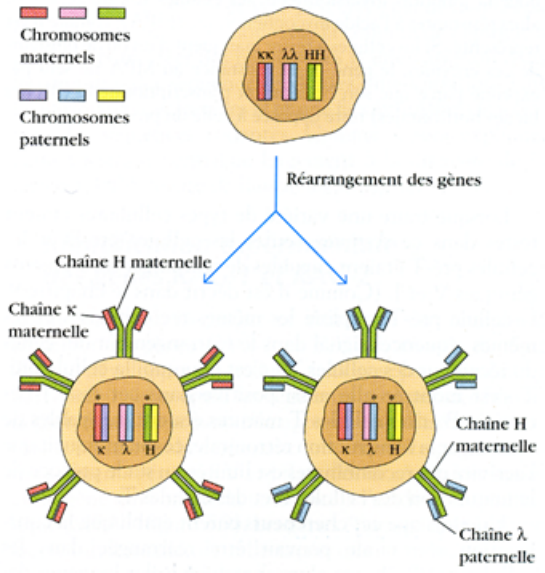


Figure 21 En raison de l'exclusion allélique, les gènes des chaînes lourdes ou des chaînes légères des immunoglobulines d'un seul chromosome parental sont exprimés dans une cellule. Ce processus assure qu'une cellule B sera spécifique d'un épitope donné. La sélection de l'allèle de chaque paire qui sera réarrangé pour produire un gène fonctionnel se fait au hasard. Ainsi, l'immunoglobuline exprimée peut contenir une chaîne maternelle et une chaîne paternelle ou encore les deux chaînes peuvent dériver d'un seul parent. Seules les cellules B et les cellules T présentent une exclusion allélique. Les astérisques (*) indiquent les allèles exprimés.

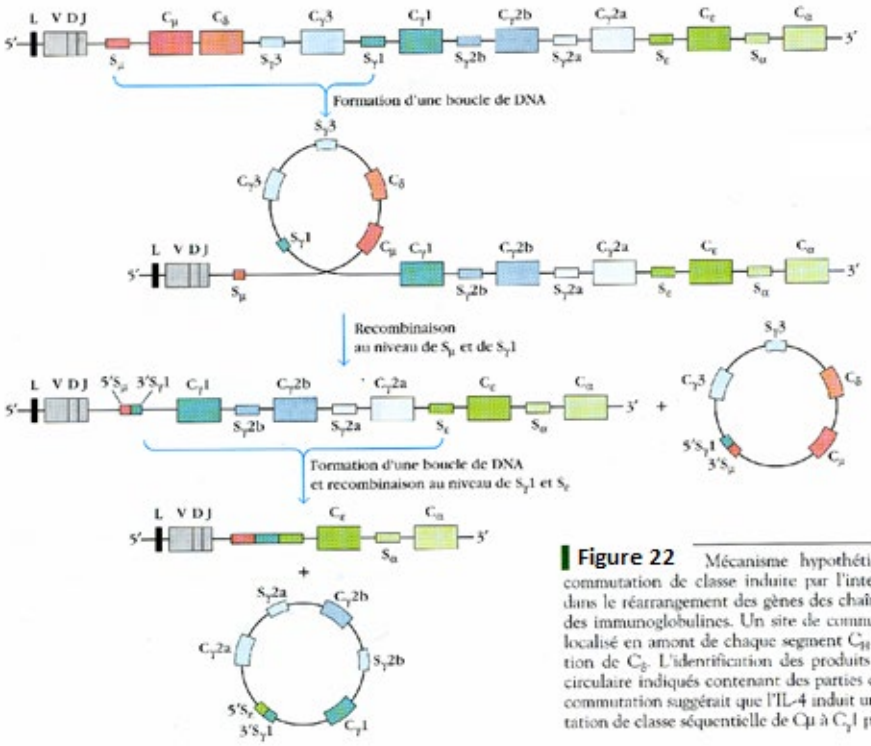


Figure 22 Mécanisme hypothétique de la commutation de classe induite par l'interleukine 4 dans le réarrangement des gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines. Un site de commutation est localisé en amont de chaque segment C_H, à l'exception de C_δ. L'identification des produits d'excision circulaire indiqués contenant des parties des sites de commutation suggérait que l'IL-4 induit une commutation de classe séquentielle de Cμ à $C_\gamma 1$ puis à C_ε.

La commutation isotypique a lieu à la fin de la réponse Ac primaire et lors de la réponse secondaire (2ème contact avec le même Ag).

Les lymphocytes T interviennent dans le switch directement (contact B-T : CD40-CD40L) ou par le biais de certaines cytokines.

IX) Anticorps monoclonaux

La plupart des antigènes possèdent de nombreux épitopes et, par conséquent, induisent la prolifération de différents clones de cellules B. Les Ac sériques ainsi obtenus sont constitués d'un mélange d'Ac, chacun d'eux étant spécifique d'un épitope. Ces Ac hétérogènes retrouvés dans l'immun-sérum (sérum de l'individu immunisé) sont appelés Ac polyclonaux. Une telle ***réponse anticorps polyclonale*** facilite la localisation, la phagocytose et la lyse médiée par le complément ou par une cellule K d'un antigène ou d'une cellule cible. Une telle réponse a clairement des avantages pour l'organisme *in vivo*. Malheureusement, l'hétérogénéité des Ac réduit souvent l'efficacité de l'antisérum dans différentes utilisations *in vitro*. Pour la plupart des applications en recherche, en diagnostic et en thérapeutique, les

anticorps monoclonaux, dérivés d'un clone unique et donc spécifiques d'un seul épitope, sont préférables.

La purification biochimique directe d'un Ac monoclonal à partir du sérum ou d'une préparation d'anticorps polyclonaux n'est pas réalisable. En 1975, Georges Köhler et Cesar Milstein ont conçu une méthode pour préparer un Ac monoclonal. En fusionnant une cellule B productrice d'Ac (normale activée) et une cellule de myélome (un lympho-plasmocyte cancéreux prétraité pour être non secrétant), ils ont été capables de créer une cellule hybride, appelée **hybridome**, qui possède les propriétés d'immortalité de la cellule de myélome et sécrète l'Ac produit par lacellule B. Les clones de cellules d'hybridome qui en résultent et quisécrètent chacun de très grandes quantités du seul et même Ac monoclonal peuvent être cultivés indéfiniment(figure 23).

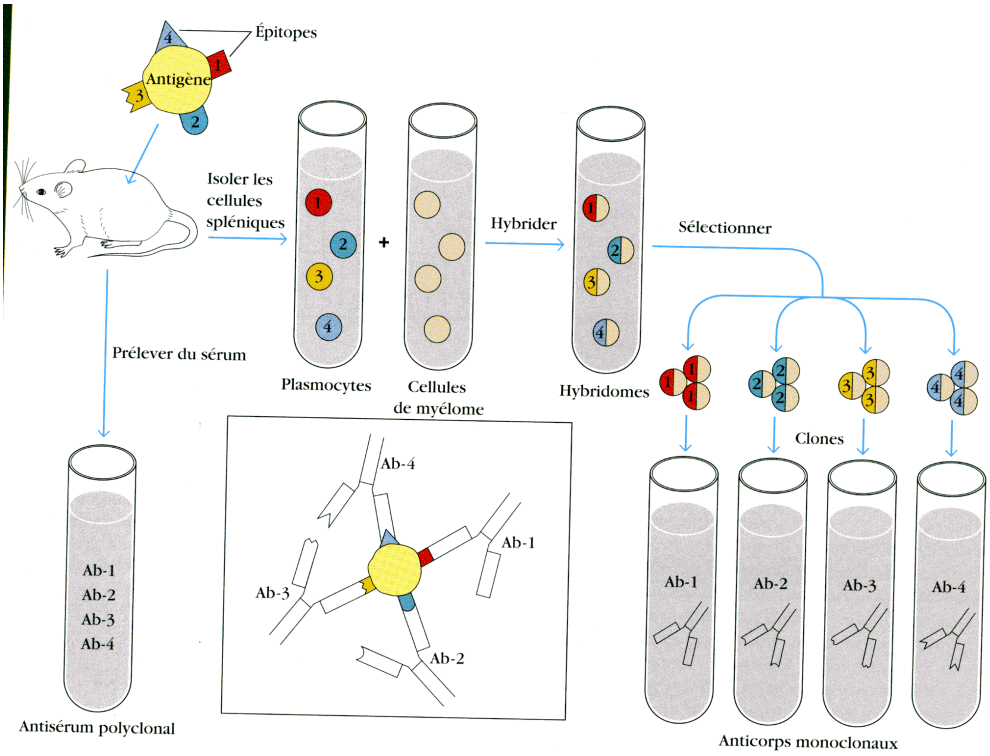


Figure 23 : Le sérum polyclonal conventionnel produit en réponse à un antigène complexe contient un mélange d'anticorps, spécifique chacun d'un des quatre épitopes différents présents sur l'antigène représenté ici. En revanche, un anticorps monoclonal, dérivé d'un seul plasmocyte, est spécifique d'un épitope bien déterminé de la molécule d'antigène. Les grandes lignes de la méthode de base pour l'obtention d'un anticorps monoclonal sont illustrées sur ce shéma.
L'astuce trouvée par les inventeurs de la technique pour être sûr que,pour tout puits de la plaque de culture où il y aura des cellules qui poussent, celles-ci ne peuvent l'avoir fait qu'à partir d'une seule et unique cellule au départ, est (l'astuce) de diluer les cellules hybrides dans le milieu de culture à une concentration de 1¢/300 µl avant de répartir dans les plaques de culture à raison de 100 µl/puits, comme ça on est sûr qu'il ne peut y avoir au départ qu'une cellule tous les 3 puits !

X) Récepteurs pour le fragment Fc des Ig

Divers types de cellules effectrices expriment des récepteurs pour le fragment Fc des Ig (Fc-R). Il existe différents types de Fc-R (Fcγ-R, Fcε-R et Fcα-R) capables chacun de fixer, avec une plus ou moins forte affinité, le fragment Fc des Ig d'une même classe (IgG, IgE et IgA respectivement) indépendamment de leur spécificité antigénique et chaque type ou lignée cellulaire exprime un assortiment particulier de ces récepteurs.

Les récepteurs pour le fragment Fc des Ig font partie de la superfamille des Ig.

Le tableau III présente les différents Fc-R avec l'isotype d'Ig reconnu, l'affinité de cette liaison, la distribution cellulaire et la ou les fonctions effectrices mises en jeu (après fixation) pour chacun.

Tableau III : Récepteurs membranaires pour le fragment Fc des Ig

Récepteur	**Classe d'Ig**	**Affinité**	**Distribution cellulaire**	**Fonctions**
FcγRI = CD64	IgG	Forte (10^{-8}M)	Mφ, DC (PN N et PNE activés)	Opsonisation
FcγRII = CD32		Moyenne ($2x10^{-6}$M)	PNN, Mφ, PNE, plaquettes	Phagocytose
FcγRIII=CD16		Faible ($5x10^{-5}$M)	PNN, Mφ, NK, PNE	ADCC
FcεRI	IgE	Forte (10^{-9} à 10^{-10}M	Mastocytes, PNB (PNE activés)	HSI (type I)
FcεRII = CD23		Faible 10^{-6}M	PNE, Mφ	ADCC
FcαRI= CD89	IgA	Moyenne (10^{-7}M)	Mφ, PNN (PNE activés)	Phagocytose ADCC

XI) Fonctions des immunoglobulines

La réponse immunitaire est basée sur des phénomènes de reconnaissance moléculaire se développant en solution ou à la surface des cellules. Les Ig jouent un rôle essentiel dans la réponse immunitaire puisqu'elles fonctionnent à la fois comme

récepteur soluble ou membranaire. L'Ag est reconnu par les domaines variables des chaînes lourdes et légères, les domaines constants étant eux reconnus, après liaison de l'Ag, par divers systèmes effecteurs tels que le complément, les récepteurs cellulaires pour le fragment Fc des Ig et les récepteurs placentaires.

1) Récepteur pour l'Ag

La plupart des récepteurs membranaires sont composés d'une chaîne polypeptidique unique assurant à la fois les fonctions de reconnaissance et celles de couplage aux effecteurs intracellulaires. De manière contrastée, le récepteur pour l'Ag du lymphocyte B (BCR), tout comme celui du lymphocyte T (TCR), est un complexe multi-caténaire où les fonctions de reconnaissance et les fonctions de couplage aux effecteurs intracellulaires sont attribuées à des chaînes polypeptidiques distinctes.

La fixation de l'Ag sur l'Ig de surface (sIg) du lymphocyte B provoque l'activation, la prolifération et la différenciation terminale de cette cellule.

Après la fixation spécifique de l'Ag sur le site Ac des Ig membranaires et le pontage de celles-ci, la transmission du signal d'activation au lymphocyte B est assurée par un complexe moléculaire analogue à celui qui entoure le récepteur de l'Ag à la surface du lymphocyte T ou TCR (figures 24, 25). Ce complexe comprend un hétéro-dimère covalent Igα-Igβ (ou MB1-B29 correspondant aux CD79 a et b). Le lymphocyte B activé devient sensible aux signaux permettant sa prolifération par divisions cellulaires successives et sa différenciation terminale en plasmocyte sécréteur d'Ac ou en lymphocyte B mémoire à longue durée de vie. Ces signaux sont fournis par les interactions cellulaires directes avec le lymphocyte T helper spécifique du même Ag ou par l'intermédiaire des cytokines qu'il secrète.

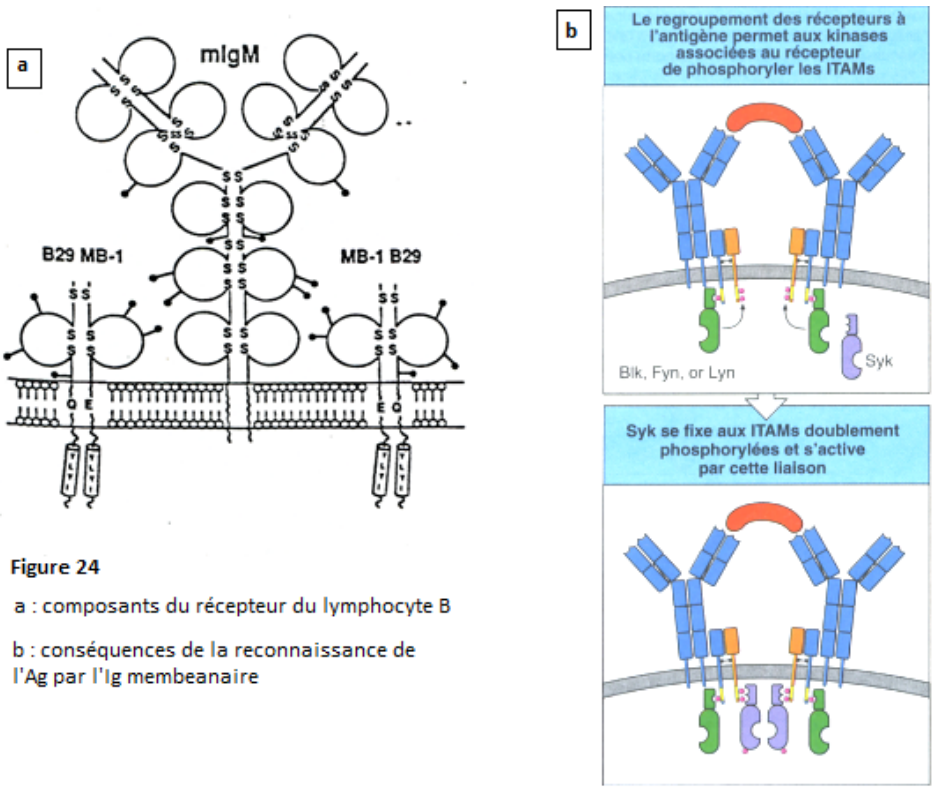


Figure 24

a : composants du récepteur du lymphocyte B

b : conséquences de la reconnaissance de l'Ag par l'Ig membeanaire

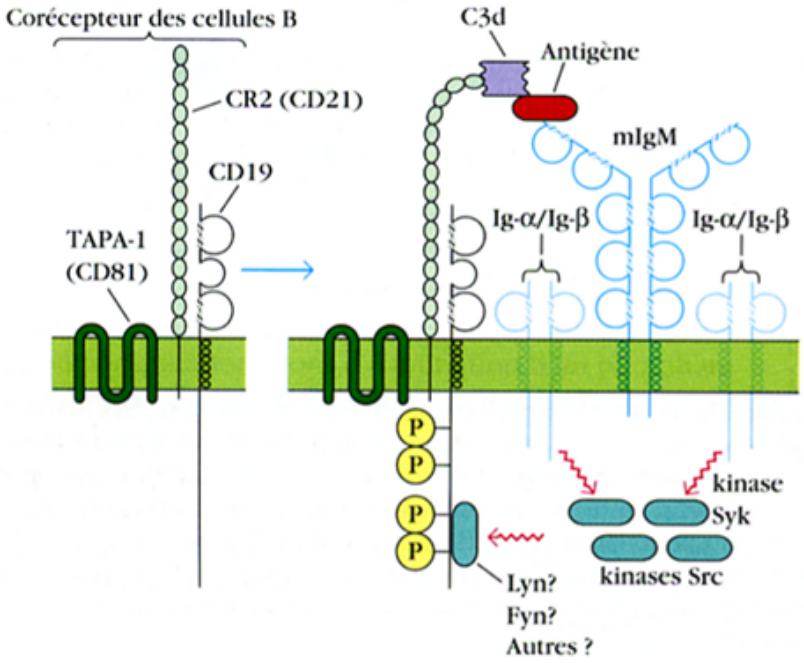


Figure 25 :
corécepteur des cellules B, composition et rôle dans l'activation du lymphocyte B

2) Rôle des anticorps dans l'immunité anti-infectieuse

a) Neutralisation des exotoxines bactériennes

Elle a été à l'origine des premières applications de prophylaxie anti-infectieuse par la sérothérapie et la vaccination. L'Ac fixé sur la toxine prévient la fixation cellulaire et la pénétration de la toxine et/ou de ses sous-unités (exotoxines

tétanique, diphtérique et botulinique).

b) Bactériolyse dépendante du complément

Les Ac de classe IgG ou IgM fixés sur la paroi de certaines bactéries gram négatif (*Neisseria gonorrheae* et *Méningitidis*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*...) entraînent la lyse bactérienne par action du complexe C5-b9 du complément. En dehors du *Neisseria*, l'action du complément doit être associée à l'action lytique du lysozyme sur les couches sous-jacentes de la paroi bactérienne.

c) Opsonisation et stimulation de la phagocytose

Les Ac jouent un rôle important dans les mécanismes cellulaires de défense anti-bactérienne en facilitant la phagocytose des bactéries à multiplication extracellulaire (pneumocoques, streptocoques, staphylocoques, certains méningocoques et entérobactéries…)

Les Ac fixés sur les bactéries favorisent leur ingestion par les cellules phagocytaires (polynucléaires et monocytes-macrophages) en permettant l'ancrage des bactéries par fixation du fragment Fc des Ig sur les récepteurs membranaires spécifiques des cellules phagocytaires (figure 26). Cette action des Ac est complétée et renforcée par la participation des fragments C3b, C4b et iC3b du complément. Les cellules phagocytaires portent à leur surface les 3 types de récepteurs pour le fragment Fc des IgG (Fcγ-RI = CD64, Fcγ-RII = CD32 et Fcγ-RIII = CD16) ainsi que les récepteurs pour les fragments C3b, C4b (CR1 = CD35) et iC3b (CR3 = CD11b/CD18 et CR4 = CD11c/CD18) du complément.

d) Neutralisation des virus

L'Ac fixé sur le virus prévient la fixation cellulaire et la pénétration du virus (figure 27). C'est un mécanisme important dans l'immunité de guérison des infections virales dues à des virus à dissémination extracellulaire. De plus, les Ac jouent un rôle essentiel dans l'immunité de prévention des infections virales (ex : Ac anti-HBs induits par le vaccin contre l'hépatite B)

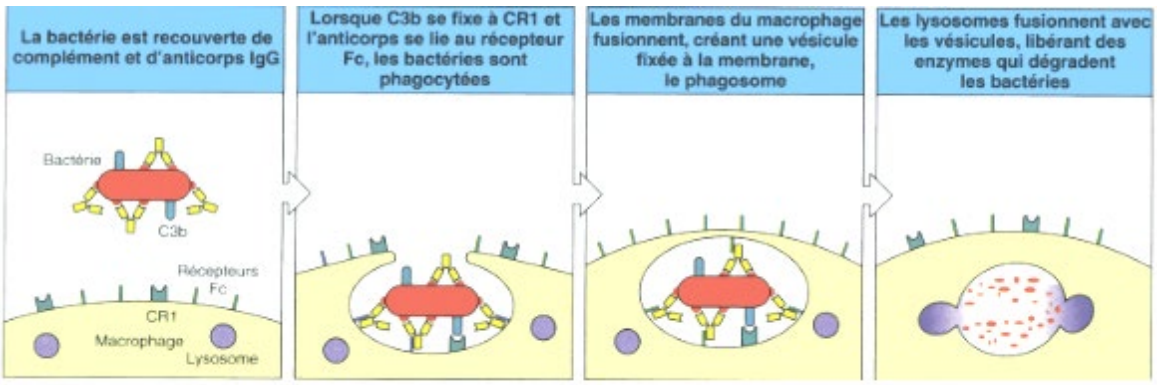


Figure 26

Les récepteurs Fc et les récepteurs du complément des phagocytes induisent la capture et la dégradation des bactéries couvertes d'anticorps. De nombreuses bactéries résistent à la phagocytose par les macrophages et les neutrophiles. Les anticorps fixés à ces bactéries permettent qu'elles soient ingérées et dégradées grâce à l'interaction entre les domaines Fc des anticorps recouvrant la surface bactérienne avec les récepteurs Fc de la surface des phagocytes. La fixation de l'anticorps induit aussi l'activation du système du complément et la fixation des composants du complément à la surface bactérienne. Ceux-ci peuvent interagir avec les récepteurs du complément (par exemple CR1) sur le phagocyte. Les récepteurs Fc et les récepteurs du complément entrent en synergie pour induire la phagocytose. En effet, les bactéries recouvertes d'anticorps de type IgG et de complément sont plus facilement ingérées que celles qui ne sont recouvertes que d'anticorps IgG. La fixation des récepteurs Fc et des récepteurs du complément envoie un signal au phagocyte pour augmenter l'activité phagocytaire, fusionner les lysosomes et les phagosomes et amplifier l'activité bactéricide.

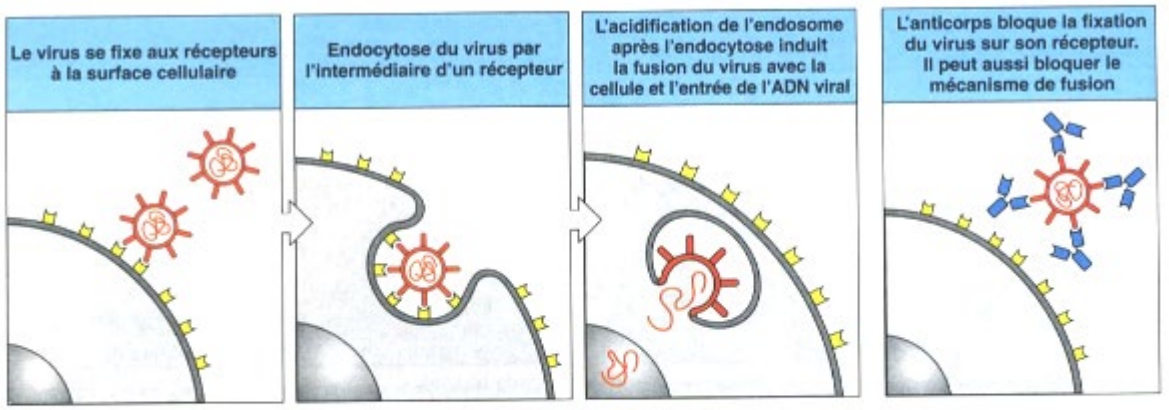


Figure 27

L'infection virale des cellules peut être bloquée par des anticorps neutralisants. La multiplication d'un virus dans une cellule nécessite que le virus ait introduit ses gènes dans la cellule. La première étape de cette entrée est généralement la fixation du virus à un récepteur de la surface cellulaire. L'entrée des virus enveloppés dans le cytoplasme, comme le montre la figure, nécessite la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire. Pour certains virus, la fusion a lieu à la surface de la cellule (non montré). Pour d'autres, la fusion ne peut se produire que dans l'environnement plus acide des endosomes, comme on le voit sur la figure. Les virus non enveloppés peuvent aussi se fixer à des récepteurs membranaires, ils entrent dans le cytoplasme en détruisant les endosomes. Les anticorps fixés à la surface virale neutralisent le virus, inhibant à la fois sa fixation à la cellule et dès lors son l'entrée dans la cellule.

e) Cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC)

Ce type de cytotoxicité est dû aux cellules K ou cellules "Killer".

Les cellules K sont des cellules cytotoxiques pourvues de récepteurs membranaires pour le fragment Fc des Ig.

Grâce à ses récepteurs pour le fragment Fc des Ig, la cellule K s'attache indirectement au micro-organisme recouvert d'Ac spécifiques en liant le fragment Fc de ces Ac. La cellule K ainsi activée libère des substances lytiques qui tuent le micro-organisme. L'Ac assure ainsi la spécificité de l'action lytique, qui elle, est exercée par la cellule K.

Ce mécanisme d'ADCC semble intervenir dans le contrôle de certaines

infections virales. Les Ac impliqués sont de classe IgG, les cellules killer sont surtout des cellules NK (figure 28).

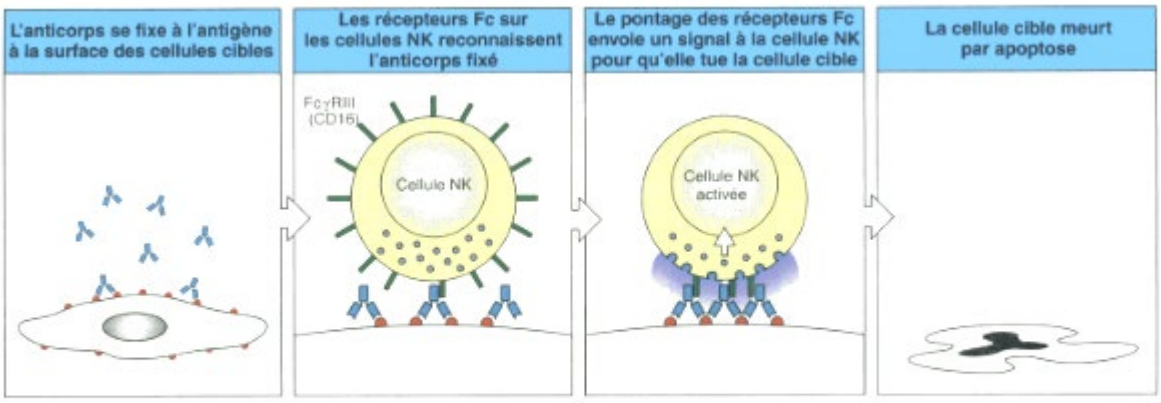


Figure 28
Les cellules cibles recouvertes d'anticorps peuvent être tuées par les cellules NK par le mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Les cellules NK (voir chapitre 2) sont des cellules lymphoïdes non-T non-B avec de grands granules qui possèdent le récepteur FcγRIII (CD16) à leur surface. Lorsque ces cellules rencontrent une cellule recouverte d'anticorps de type IgG, elles tuent rapidement la cellule cible. L'importance de l'ADCC dans la défense de l'hôte ainsi que dans les lésions tissulaires est encore controversée.

Ce mécanisme joue un rôle très important dans le contrôle de nombreuses infections parasitaires. Les Ac impliqués peuvent être de classe IgG ou IgE. L'essentiel de l'activité Killer est dû aux macrophages et aux PNE.

f) Prévention de la fixation des micro-organismes sur les cellules épithéliales des muqueuses

En se fixant sur les micro-organismes pathogènes, les IgA sécrétoires empêchent leur fixation sur les cellules épithéliales des muqueuses (digestives, bronchiques, urogénitales, etc) et par la même le démarrage du processus infectieux (figure 29).

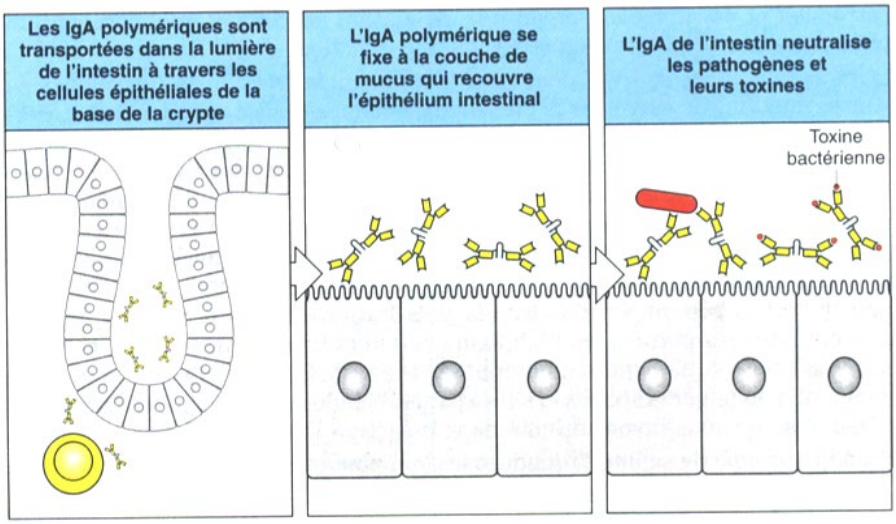


Figure 29 : rôle des IgA dans l'immunité des muqueuses

g) Expulsion des vers intestinaux par hypersensibilité immédiate (HSI ou type I de Gell et Coombs)

Dans les infections intestinales à nématodes ou à cestodes, l'expulsion des vers s'accompagne d'une hyperplasie mastocytaire de la muqueuse intestinale, d'une hypersécrétion de mucus et d'une forte réaction inflammatoire locale. Le rejet des parasites coïncide avec la dégranulation des mastocytes.

Les mastocytes expriment une forte densité de récepteurs de haute affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RI). La fixation des vers sur les Ac spécifiques de classe IgE, liés par leur fragment Fc sur la membrane des mastocytes intestinaux, active ces cellules.

L'activation des mastocytes se traduit, d'une part, par la libération immédiate des médiateurs stockés dans leurs granules intracytoplasmiques et, d'autre part, par la libération dans un deuxième temps de médiateurs néoformés dérivés des phospholipides membranaires. Ces médiateurs stockés et néosynthétisés sont responsables, directement et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils recrutent, de la réaction inflammatoire locale et de l'hypersécrétion de mucus qui contribuent à l’expulsion des parasites.

LE RECEPTEUR POUR L'ANTIGENE DU LYMPHOCYTE T

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Décrire la structure du récepteur pour l'antigène du lymphocyte T : le TCR et le CD3
2. Préciser les fonctions de chacune de ces 2 composantes et celle des molécules accessoires
3. Définir la notion de superantigène
4. Décrire l'organisation et l'expression des gènes codant pour le TCR
5. Décrire les différents mécanismes à l'origine de la diversité du TCR

I- Introduction

La différence majeure qui sépare les vertébrés des animaux inférieurs au niveau du système immunitaire est l'apparition des cellules lymphoïdes qui sont :

- dotées de récepteurs spécifiques pour l'antigène (Ag), BCR correspondant aux immunoglobulines de surface (sIg) ou membranaires (Igm) pour les lymphocytes B et TCR ("T CellReceptor") pour les lymphocytes T,
- capables de prolifération en périphérie.

Chaque lymphocyte B ou T n'exprime à sa surface qu'un seul type de récepteur dirigé contre un Ag bien déterminé. Mais, pris globalement, les lymphocytes sont caractérisés par l'extraordinaire diversité de leur répertoire de reconnaissance de l'Ag. Lorsqu'un Ag étranger pénètre dans l'organisme, il va se fixer sur (ou il est pris en charge par) le ou les lymphocytes B et T qui le reconnaissent spécifiquement. Les lymphocytes ainsi sélectionnés sont activés et vont entrer dans une phase d'expansion clonale et de différenciation terminale aboutissant à la mise en place de différents types de réponses immunitaires toutes ciblées contre l'Ag de départ. C'est là l'essence même des réponses immunitaires spécifiques (humorales et cellulaires). La fixation de l'Ag sur ses récepteurs membranaires spécifiques à la surface des lymphocytes constitue ainsi le point de départ des réponses immunitaires spécifiques.

II- Structure du récepteur pour l'Ag du lymphocyte T

La plupart des récepteurs hormonaux et autres sont formés d'une seule chaîne polypeptidique qui assure à la fois les fonctions de reconnaissance (fixation de l'hormone...) et celles de couplage aux effecteurs intracellulaires notamment aux protéines G.

Par contre, le récepteur pour l'Ag des lymphocytes T (comme celui des lymphocytes B) est un complexe multimoléculaire formé de plusieurs chaînes polypeptidiques intimement liées entre elles et où les fonctions de reconnaissance (fixation de l'Ag) et les fonctions de couplage (transmission du signal d'activation) sont assurées par des chaînes polypeptidiques différentes :

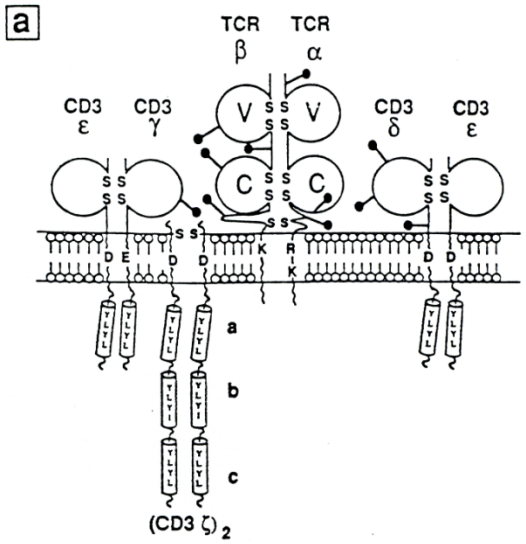
- les fonctions de reconnaissance sont assurées par le TCR (ou Ti) ;
- les fonctions de couplage sont assurées par le CD3 (ou T3).

1) Le TCR

C'est un hétéro-dimère formé de 2 chaînes polypeptidiques (αet β, ou γ et δ) qui sont exprimées de façon exclusive à la surface des lymphocytes T. Chaque lymphocyte T exprime à sa surface plusieurs copies strictement identiques d'un seul type de TCR, soit α/β soit γ/δ. Les lymphocytes T à TCR de type γ/δ sont prédominants au cours de l'embryogénèse. Chez l'adulte, ils ne représentent que 5 à 10 % des lymphocytes T circulants et sont retrouvés surtout au niveau des épithéliums des muqueuses (lymphocytes intra-épithéliaux ou IEL). Le TCR est constitué de 2 chaînes polypeptidiques de 40 à 60 KDa chacune. Chaque chaîne comporte une longue portion extracellulaire, une portion transmembranaire et une très courte portion intra-cytoplasmique. La portion extracellulaire est constituée de 2 régions, une région variable V et une région constante C, correspondant chacune à un domaine d'une centaine d'acides aminés avec un pont disulfure interne. La fixation de l'Ag en association avec une molécule HLA est assurée par les 2 régions variables qui comporte chacune 4 zones hypervariables HV1, HV2, HV3 et HV4.

2) Le CD3

C’est un complexe formé de 4 types de chaînes polypeptidiques (γ, δ, ε et ξ) associées sous forme de paires de part et d’autre du TCR (γε, δε et ξξ). Les portions extracellulaires des chaînesγ, δ et ε ont une structure en domaine. La portion intra-cytoplasmique de chacune des chaînes γ (gamma), δ (delta), ε (epsilon) et ξ (zêta) du CD3 contient au moins une copie d’un domaine fonctionnel d’une vingtaine d’acides aminés appelé ITAM ("Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif"), incluant la séquence consensus (YXXL/I) 2 et assurant le couplage aux effecteurs intracellulaires et par la même, la transmission du signal d’activation.



III- Fonctions du récepteur pour l’Ag du lymphocyte T

1) Reconnaissance de l’Ag

Elle est assurée par le TCR représenté par l’hétéro-dimèreα/β ou γ/δ. Contrairement à l’Ig membranaire du lymphocyte B, le TCR comporte un seul site de reconnaissance. Ce sont les régions variables et plus particulièrement les zones hypervariables HV1, HV2, HV3 et HV4 qui assurent la reconnaissance de l’Ag. Cette reconnaissance est restreinte par les molécules codées par le complexe majeur d’histocompatibilité (MHC) quicorrespond au système HLA chez l’homme. En effet, le TCR reconnaît à la fois l’Ag et une zone polymorphe (variable) de la molécule HLA (classe I pour les lymphocytes $TCD8^+$ et classe II pour les

lymphocytes TCD4^{+}). La reconnaissance de l'Ag par le lymphocyte T nécessite donc un contact cellulaire direct entre le lymphocyte T et la cellule qui présente l'Ag.

Ce contact initié par l'interaction spécifique TCR-Ag, est renforcé et stabilisé par des molécules d'adhésion intercellulaire notamment CD4 et CD8 qui reconnaissent une portion monomorphe des molécules HLA classe II et classe I respectivement, mais aussi LFA-1 (ou CD11a/CD18), CD2 et CD28 qui interagissent respectivement avec ICAM-1 (ou CD54), LFA-3 (ou CD58) et B7/BB1 (ou CD80) à la surface de la cellule qui présente l'Ag.

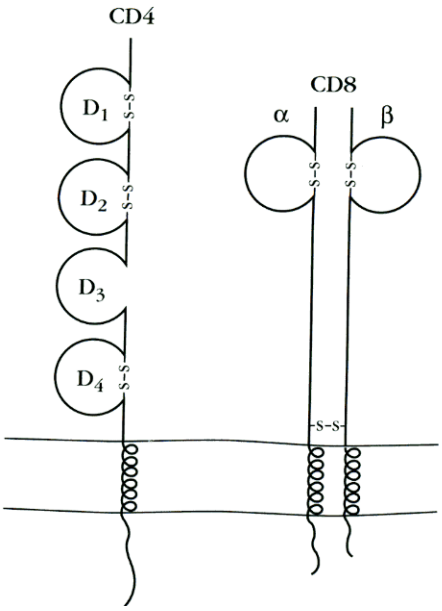


FIGURE 9.10 Structure générale des corécepteurs CD4 et CD8. Le CD8 peut prendre la forme d'un hétérodimère αβ ou celle d'un homodimère αα. La molécule de CD4 monomérique contient quatre domaines présentant le repliement immunoglobulinique, tandis que chaque chaîne de la molécule de CD8 contient un seul domaine présentant le repliement immunoglobulinique.

Généralement, le lymphocyte T ne reconnaît pas l'Ag natif mais un peptide antigénique de 10 à 20 acides aminés environ obtenu après dégradation partielle de la molécule native et exprimé à la surface d'une cellule du soi en association avec une molécule HLA du soi, c'est la restriction allogénique.

Le peptide antigénique est logé à l'intérieur d'une sorte de niche ou de poche à la surface de la molécule HLA. Sur le même Ag, les lymphocytes T et les lymphocytes B ne reconnaissent pas la même structure. Les expériences de Mitchinson l'ont bien démontré dans le modèle haptène-protéine porteuse : le lymphocyte T se fixe sur la protéine porteuse, tandis que le lymphocyte B se fixe sur l'haptène.

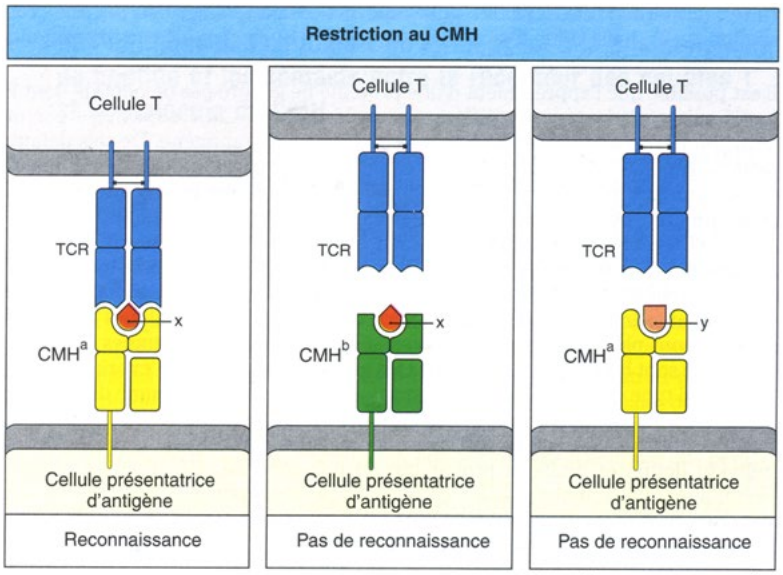


Fig. 5.16 La reconnaissance des antigènes par les cellules T est restreinte par le CMH. Le récepteur à l'antigène des cellules T (TCR) reconnaît un complexe formé du peptide et du CMH. En conséquence, une cellule T spécifique d'un peptide *x* et d'un allèle du CMH particulier, CMH^a (à gauche), ne reconnaîtra pas le complexe du même peptide *x* avec le CMH^b (au centre) ou le complexe du peptide y avec le CMH^a (à droite). La reconnaissance conjointe du peptide et du CMH est appelée restriction par le CMH, parce que la molécule du CMH « restreint » la capacité de reconnaissance antigénique de la cellule T. Cette restriction peut soit résulter d'un contact direct entre la molécule du CMH et le récepteur de la cellule T ou être un effet indirect du polymorphisme du CMH sur les peptides qui se fixent ou sur la conformation du complexe.

* **<u>Notion de super Ag :</u>**

Il s'agit d'antigènes d'origine bactérienne ou virale qui se lient à la molécule HLA et au TCR d'une façon tout à fait différente de ce qui vient d'être décrit. Le surper-Ag reste à l'état natif (pas de dégradation partielle) et se lie à la molécule HLA non pas au niveau de la niche à peptide mais latéralement. De même, il se fixe au TCR non pas au niveau du site de reconnaissance spécifique mais latéralement au niveau de la chaîne Vβ. Le super-Ag active ainsi un très grand nombre de lymphocytes T exprimant le même gène V indépendamment de la spécificité de leur TCR. La reconnaissance du super Ag n'est pas restreinte par les molécules codées par le complexe majeur d'histocompatibilité.

2) Transmission du signal d'activation

Elle est assurée par les portions intracellulaires du complexe CD3 et plus particulièrement par les domaines fonctionnels de type ITAM contenant la séquence consensus (YXXL/I)2. La fixation de l'Ag sur le TCR déclenche l'activation quasi-immédiate d'une ou de plusieurs tyrosine-kinases (p59-fyn, ZAP70...) couplées aux portions intracellulaires des chaînesγ, δ, ε et ξ du CD3 et qui assurent la

phosphorylation de plusieurs substrats intracellulaires. Une cascade de réactions biochimiques complexes aboutit ainsi à l'activation du gène de l'interleukine 2 (IL2), point de départ de l'activation du lymphocyte T.

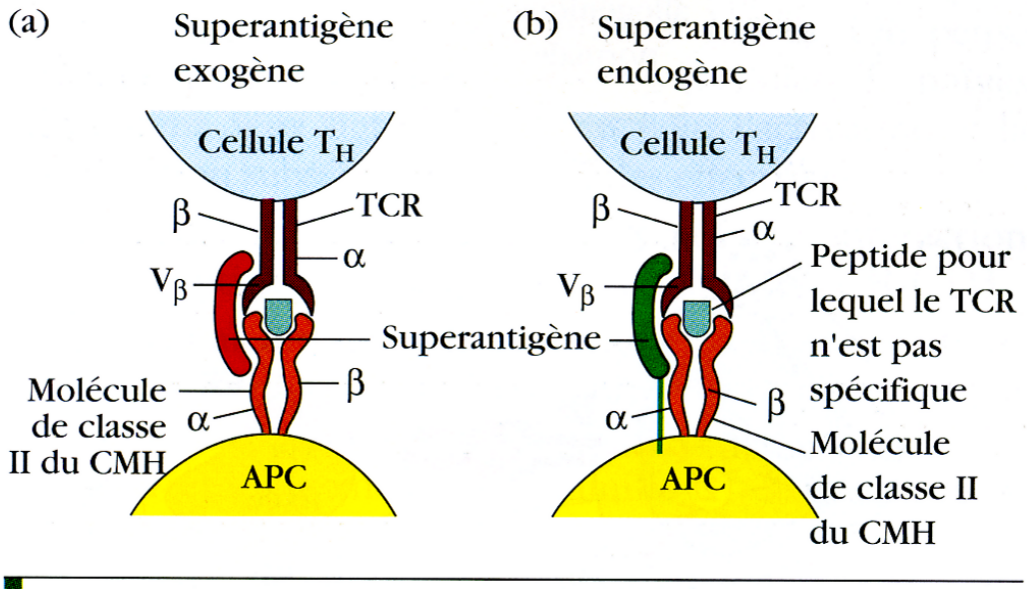


FIGURE 10.16 Liaison (pontage) d'un récepteur des cellules T et de molécules de classe II du CMH médiée par un superantigène. Un superantigène se lie à tous les TCR porteurs d'une séquence V_β particulière, indépendamment de la spécificité antigénique de ces derniers. (a) Les superantigènes exogènes sont des protéines solubles sécrétées par les bactéries ; parmi ceux-ci figurent diverses exotoxines. (b) Les superantigènes endogènes sont des protéines incluses dans la membrane produites par certains virus ; parmi eux figurent les antigènes Mls codés par le virus de la tumeur mammaire de la souris.

IV- Organisation et expression des gènes codant pour le TCR

Les gènes codant pour le TCR sont organisés en 4 groupes de gènes portés chez l'homme par les chromosomes 7 et 14. Les gènes codant pour les chaines β et γ sont portés par le chromosome 7. Ils occupent des positions éloignées sur ce chromosome. Les gènes codant pour les chaînes α et δ sont portés par le chromosome 14. Chez l'homme comme chez la souris, les gènes δ sont intégrés dans le locus α.

La région constante de chacune des chaînes α, β, γ et δ est codée par un segment génétique. La région variable est codée, comme pour les Ig, par

2 segments génétiques V et J pour les chaînes αet γ,et 3 segments génétiques V, D et J pour les chaînes β et δ.

Pour chaque type de chaîne α, β, γ ou δ, les segments génétiques V, D et J sont présents en de multiples exemplaires sur les chromosomes 7 ou 14. Ces multiples copies sont organisées en librairies V, D et J qui occupent des positions éloignées sur l'ADN en configuration germinale.

Lors de la différenciation et de la maturation intra-thymique des lymphocytes T, il se produit un réarrangement génétique entre un segment Vα (ou Vγ) et un segment Jα (ou Jγ) qui se traduit par la jonction des 2 segments génétiques V et J choisis et la délétion de l'ADN les séparant. Parallèlement, se produisent successivement 2 autres réarrangements similaires au niveau des gènes β (ou δ) : D avec J puis V avec DJ.

Le réarrangement VJ ou VDJ entraîne l'activation du gène α, β, γ ou δ correspondant et la transcription d'un ARN messager initial ou primaire VJ-C ou VDJ-C. L'épissage de l'intron entre VJ (ou VDJ) et C sur cet ARN donne l'ARN messager mature ou secondaire qui est traduit en une chaîne polypeptidique α, β, γ ou δ.

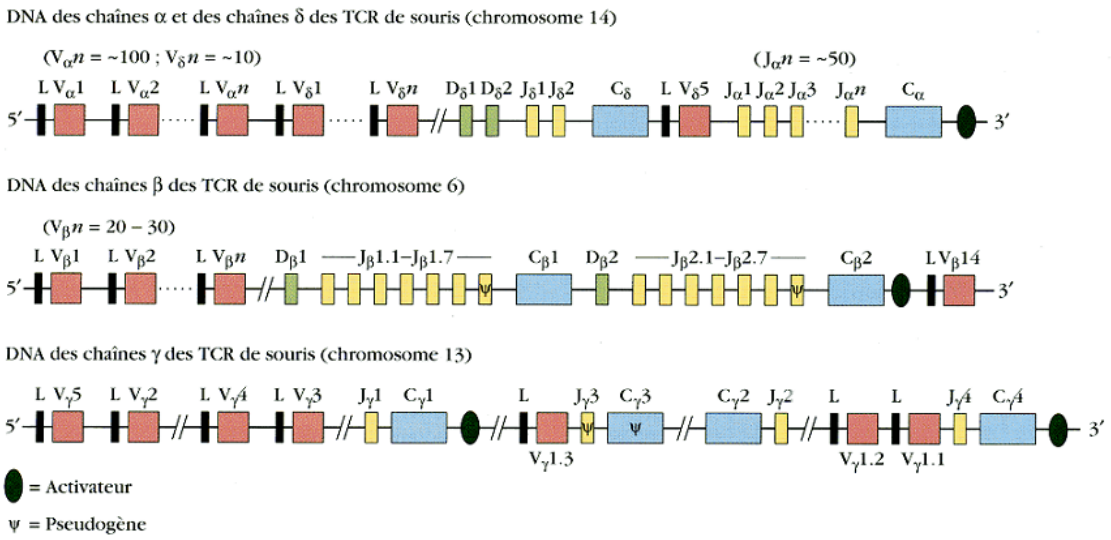


FIGURE 9.5 Organisation des segments géniques des chaînes α, β, γ et δ des TCR de souris de la lignée germinale. Chaque segment génique C est constitué d'une série d'exons et d'introns qui ne sont pas représentés. L'organisation des segments géniques des TCR chez l'Homme est semblable, bien que le nombre des divers segments géniques diffère dans certains cas (voir le tableau 9.1). [Adapté de D Raulet, 1989, *Annu. Rev. Immunol.* 7:175, et M Davis, 1990, *Annu. Rev. Biochem.* 59:475.]

V- Origine de la diversité des TCR

Le système immunitaire doit répondre à la diversité du monde microbien par une grande diversité d'Ac et de TCR spécifiques. Les mécanismes à l'origine de la diversité des TCR sont identiques à ceux déjà décrits pour les Ig à l'exception des mutations somatiques qui n'interviennent pas au niveau des TCR :

- diversité germinale
- diversité jonctionnelle
- diversité combinatoire
- diversité associative

TABLEAU 9.1 Familles multigéniques des TCR chez l'homme

		N° des segments géniques			
Gène	Chromosome	V	D	J	C
Chaîne α	14	50		70	1
Chaîne δ*	14	3	3	3	1
Chaîne β†	7	57	2	13	2
Chaîne γ‡	7	14		5	2

* Les segments géniques de la chaîne δ sont localisés entre les segments V_α et J_α.
† Il y a deux unités répétitives contenant chacune 1 D_β, 6 ou 7 J_β et 1 C_β.
‡ Il y a deux unités répétitives contenant chacune 2 ou 3 J_γ et 1 C_γ.
Source : D'après PAH Moss *et al.*, 1992, *Annu. Rev. Immunol.* **10**:71.

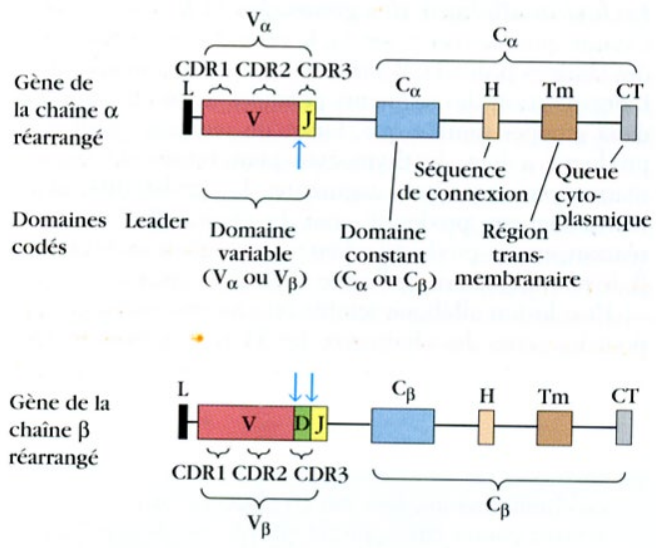


FIGURE 9.7 Représentation schématique des gènes réarrangés des TCR αβ montrant les exons qui codent les divers domaines du récepteur des cellules T αβ et la position approximative des CDR. La diversité jonctionnelle (flèches verticales) crée la CDR3 (voir la figure 9.8). Les structures des gènes réarrangés des chaînes γ et δ sont semblables bien qu'une diversité jonctionnelle supplémentaire puisse se produire dans les gènes des chaînes δ.

VI- Conclusion

Les lymphocytes T jouent un rôle essentiel dans les réponses immunitaires soit comme cellules effectrices de l'immunité à médiation cellulaire (cytotoxicité et hypersensibilité retardée), soit comme cellules régulatrices de l'immunité humorale ou à médiation cellulaire ou aussi de l'activité des cellules NK, des macrophages...

Dans tous les cas de figures, l'activation des lymphocytes T est déclenchée par la fixation de l'Ag sur le récepteur spécifique TCR qui joue ainsi un rôle essentiel dans l'initiation et la spécificité des réponses immunitaires.

Contrairement aux Igm des lymphocytes B, le TCR a un seul site actif et ne reconnaît pas l'Ag natif en solution, mais un peptide antigénique provenant de la dégradation partielle de l'Ag et présenté à la surface d'une cellule cible ou d'une cellule présentatrice de l'Ag en association avec une molécule HLA classe I ou classe II. La transmission du signal d'activation à l'intérieur du lymphocyte T est assurée par le CD3.

LES LYMPHOCYTES B & T : CELLULES DE L'IMMUNITE SPECIFIQUE

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Décrire les caractères communs aux lymphocytes (L) T et B en précisant ceux qui les distinguent des cellules de l'immunité non spécifique
2. Citer les éléments du microenvironnement médullaire nécessaires à la maturation du LB
3. Préciser les principales caractéristiques des différents stades de maturation des LB
4. Décrire la séquence des phénomènes de réarrangement selon le stade de maturation du LB
5. Citer les principales molécules de surface exprimées à chaque stade de maturation du LB
6. Enumérer les composants du BCR en précisant la fonction de chacun d'eux et le mode de reconnaissance de l'Ag par le lymphocyte B
7. Citer les éléments du microenvironnement thymique nécessaires à la maturation du LT
8. Préciser les principales caractéristiques des différents stades de maturation des LT
9. Décrire la séquence des phénomènes de réarrangement à chaque stade de maturation du LT
10. Citer les principales molécules de surface exprimées à chaque stade de maturation du LT
11. Expliquer le phénomène de sélection positive en en précisant l'aboutissement
12. Expliquer le phénomène de sélection négative en en précisant l'aboutissement
13. Citer les marqueurs membranaires du lymphocyte T au repos et après activation
14. Préciser les caractéristiques des sous populations de lymphocytes T et B

I- INTRODUCTION

Le système immunitaire a évolué de façon à reconnaître spécifiquement les micro-organismes et les éliminer. Les animaux inférieurs ont des mécanismes de défense peu élaborés. Ils produisent des protéines peu spécifiques permettant d'agglutiner un certain nombre de microbes et possèdent des cellules phagocytaires

capables de capter et de dégrader les microbes (immunité non spécifique). Les vertébrés ont en plus des cellules pouvant chacune reconnaître un antigène (Ag) différent grâce à un récepteur membranaire spécifique. Ces cellules circulantes au repos, sont capables, après activation par la reconnaissance spécifique de l'Ag, de proliférer par divisions cellulaires successives tout en poursuivant leur différenciation (maturation terminale) pour donner naissance à de très nombreuses cellules effectrices, toutes dirigées contre le même Ag de départ. La réponse immunitaire devient ainsi ciblée et adaptée à l'Ag ou au micro-organisme agresseur. Les cellules qui assurent cette immunité spécifique ou adaptive sont les cellules lymphoïdes ou lymphocytes.

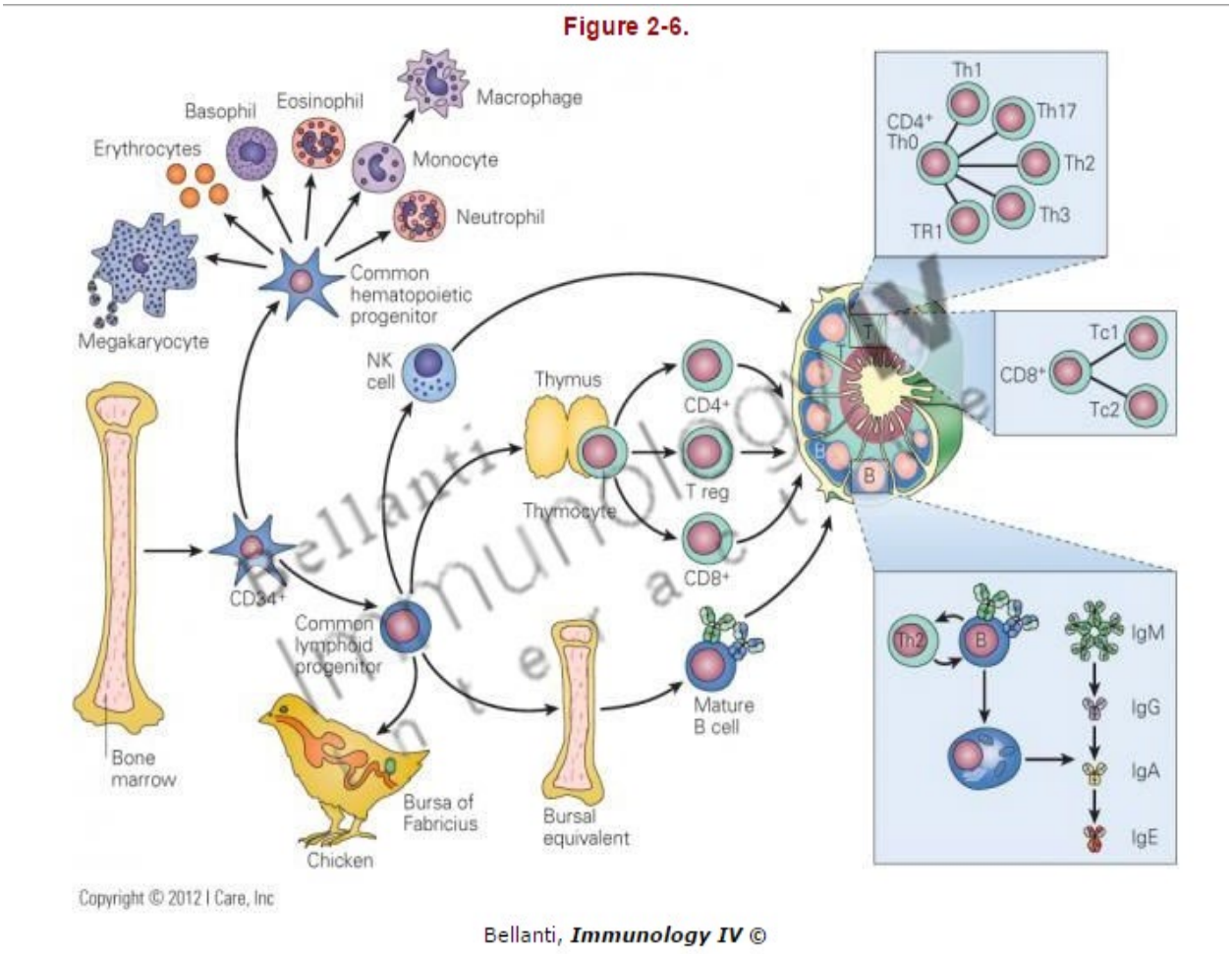
II- Caractères communs aux lymphocytes

Les lymphocytes B et T sont produits dans les organes lymphoïdes primaires à partir de cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse ou progéniteurs lymphoïdes communs (CLP: "Commun LymphoïdProgenitors"). Issus des cellules souches multipotentes ou hématopoïétiques (HSC: "Hematopoïetic Stem Cells"), les CLP donnent naissance aux lymphocytes T et B mais aussi aux cellules NK.

Les cellules souches hématopoïétiques sont à l'origine de toutes les cellules sanguines via les 2 principales voies : myéloïde et lymphoïde. Elles sont caractérisées par leur grande capacité d'auto-renouvèlement, leur potentiel de différenciation en de multiples lignées, et la présence à leur surface du marqueur CD34.

Les HSC $CD34^+$ circulent en tout petit nombre dans le sang circulant et peuvent être collectées, à l'aide d'un "CellSorter" (cytomètre en flux avec trieur de cellules), pour être utilisées chez les patients atteints d'hémopathie maligne comme source de progéniteurs cellulaires pour reconstituer la moelle osseuse après chimio/radiothérapie. Par ailleurs et lorsqu'elles se retrouvent dans des microenvironnements tissulaires adéquats, les HSC pluripotentes$CD34^+$ peuvent se différencier en différents types cellulaires tissu-spécifiques : hépatocytes, neurones, cellules musculaires, endothéliales…

Au cours de la vie fœtale, les HSC proviennent successivement du sac vitellin, du foie fœtal puis de la moelle osseuse qui dès le 7ème mois de la grossesse devient le site exclusif de l'hématopoïèse.



Les lymphocytes sont des cellules ubiquitaires. L'organisme humain compte environ 10^{12} lymphocytes représentant 1 à 2 % du poids corporel et répartis entre le sang, les organes lymphoïdes et les différents tissus. Les lymphocytes représentent 20 à 40 % des globules blancs ou leucocytes circulants chez l'adulte (valeur normale des globules blancs chez l'adulte : 5 à 8 milles/mm^3 ; chez l'enfant : 6 à 12 milles en fonction de l'âge).

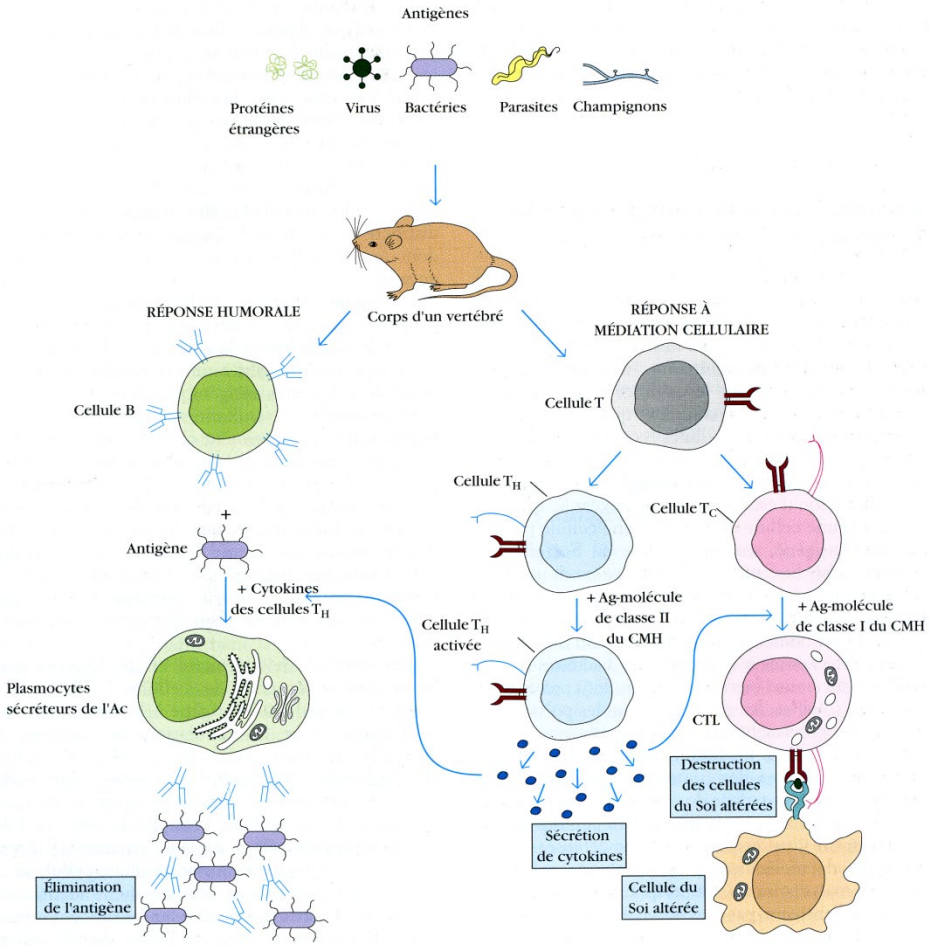
10 à 15 % des lymphocytes comptabilisés avec la NFS correspondent en fait aux lymphocytes granuleux larges (LGL) ou non B-non T responsables de l'activité NK ("Natural Killer") et qui font partie des cellules de l'immunité non spécifique.

Le petit lymphocyte circulant est une cellule arrondie de 6 à 8 µm de diamètre avec un noyau à chromatine dense et un cytoplasme réduit à une mince couronne périphérique et pauvre en organelles.

Les lymphocytes circulants se ressemblent tous sur le plan morphologique. Mais cette homogénéité apparente cache une grande hétérogénéité. On distingue ainsi deux grandes populations de lymphocytes différents par leur site de différenciation, la nature de leur récepteur membranaire pour l'Ag et le mode de reconnaissance, leurs marqueurs membranaires et leurs fonctions :

- les lymphocytes B (B pour bourse de Fabricius), support de l'immunité humorale médiée par les anticorps et transmissible par le sérum et qui représentent 5 à 15 % des lymphocytes circulants,

- les lymphocytes T (T pour thymus), support de l'immunité à médiation cellulaire (cytotoxicité et hypersensibilité retardée) transmissible par transfert de cellules et non de sérum et qui représentent 70 à 85 % des lymphocytes circulants.



Les lymphocytes sont des cellules à "turn over rapide", 10^9 lymphocytes soit un millième du pool total de lymphocytes sont ainsi renouvelés quotidiennement chez l'adulte. La majorité des lymphocytes (80 à 90 %) sont donc des cellules à durée de vie relativement courte de l'ordre de 1 à 3 semaines, tandis que 10 à 20 % des lymphocytes sont des cellules à longue durée de vie (quelques mois à plusieurs années) ou cellules mémoire.

Les lymphocytes B et T sont les cellules de l'immunité spécifique caractérisées par :

- L'extraordinaire diversité de leur répertoire de reconnaissance de l'Ag (10^{15} à 10^{18} récepteurs différents pour l'Ag peuvent ainsi être exprimés chez chaque individu),
- La distribution clonale de ces récepteurs (chaque lymphocyte exprime à sa surface des milliers de récepteurs pour l'Ag mais qui sont tous des copies du seul et même récepteur avec la même et unique combinaison VH-VL
- Leur capacité de prolifération en périphérie après activation par l'Ag.

En effet et à la différence de la plupart des autres cellules de l'organisme, les lymphocytes ne peuvent atteindre le stade terminal de leur différenciation qu'à la faveur d'une stimulation par l'Ag. Celle-ci se traduit par une prolifération cellulaire intense associée à une différentiation progressive vers le stade terminal de maturation.

Ce mécanisme est indispensable à l'adaptation de la réponse immunitaire de l'organisme à son environnement. En l'absence de stimulation antigénique, le lymphocyte meurt en quelques jours (1 à 3 semaines) par un mécanisme de mort cellulaire programmée ou apoptose.

L'activation du lymphocyte suite à la reconnaissance spécifique de l'Ag se traduit habituellement par une décondensation de la chromatine et une augmentation importante de la taille et des activités métaboliques de la cellule : le petit lymphocyte au repos, en phase G_0, devient un lymphoblasteen phase G_1 du cycle cellulaire ; c'est la transformation lymphoblastique. Elle est immédiatement suivie d'une phase de prolifération par divisions cellulaires (passage de G_1 à S, G_2 puis M) successives accompagnées d'une différenciation terminale aboutissant à la production de très

nombreuses cellules effectrices (plasmocytes, lymphocytes T cytotoxiques, lymphocytes T helper ou auxiliaires, lymphocytes T régulateurs) et d'un certain nombre de cellules mémoire.

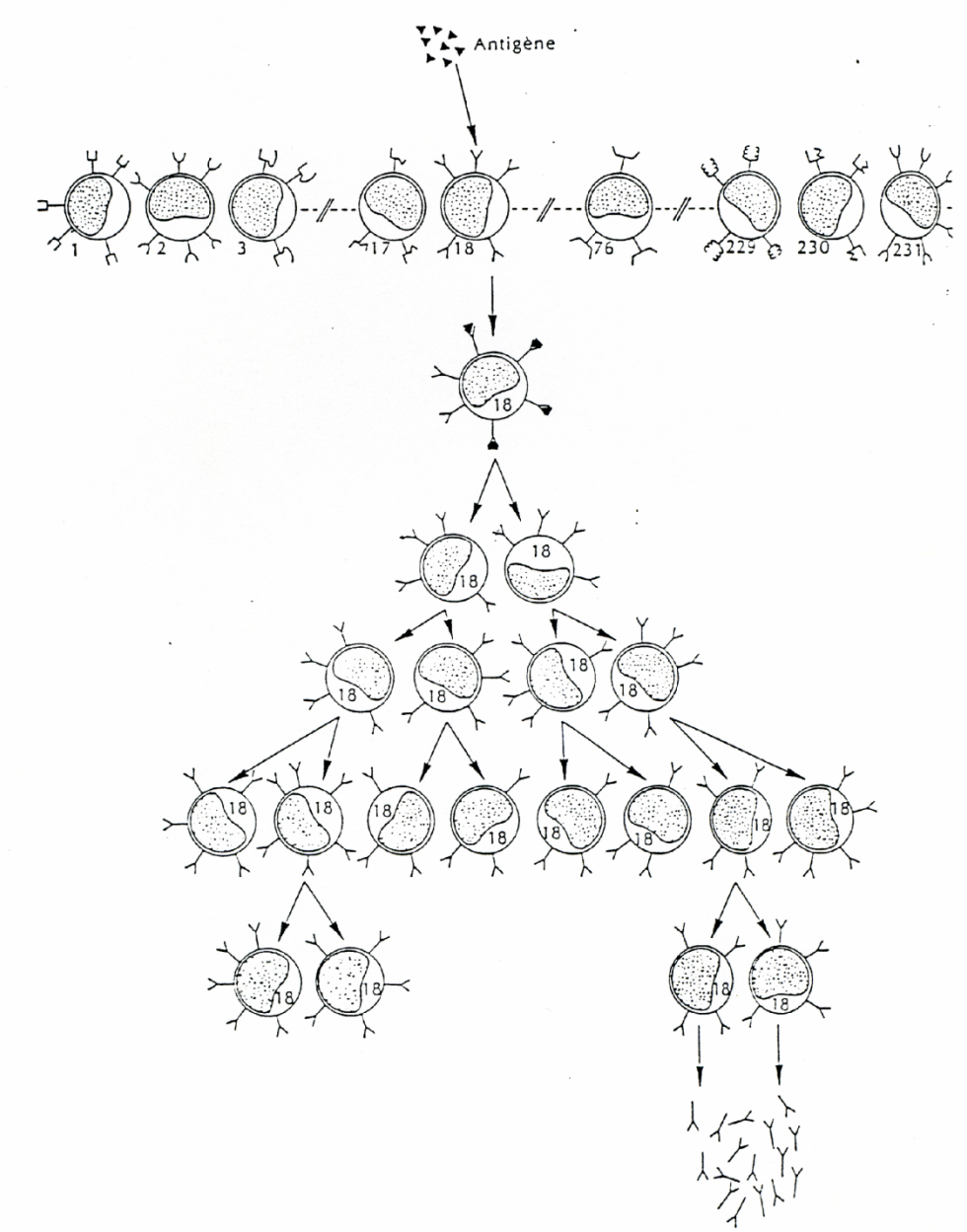


Figure 5.19
Théorie de la sélection clonale.
Chaque lymphocyte B possède à sa surface un récepteur spécifique. Lorsqu'un antigène pénètre dans l'organisme, il se lie au lymphocyte dont le récepteur lui est complémentaire (ici le lymphocyte 18). L'interaction antigène-anticorps entraîne l'activation et la prolifération de ce lymphocyte. Il se forme alors un clone de lymphocyte B identique produisant des anticorps possédant le même site actif. Il se forme aussi des cellules mémoires (M).

Le développement du système lymphoïde B et T comporte ainsi deux phases :

- une première phase (différenciation initiale ou maturation) indépendante de l'Ag se déroule au niveau des organes lymphoïdes primaires ou centraux et consiste à générer, à partir des cellules souches lymphoïdes, des lymphocytes B et T matures diversifiés ;

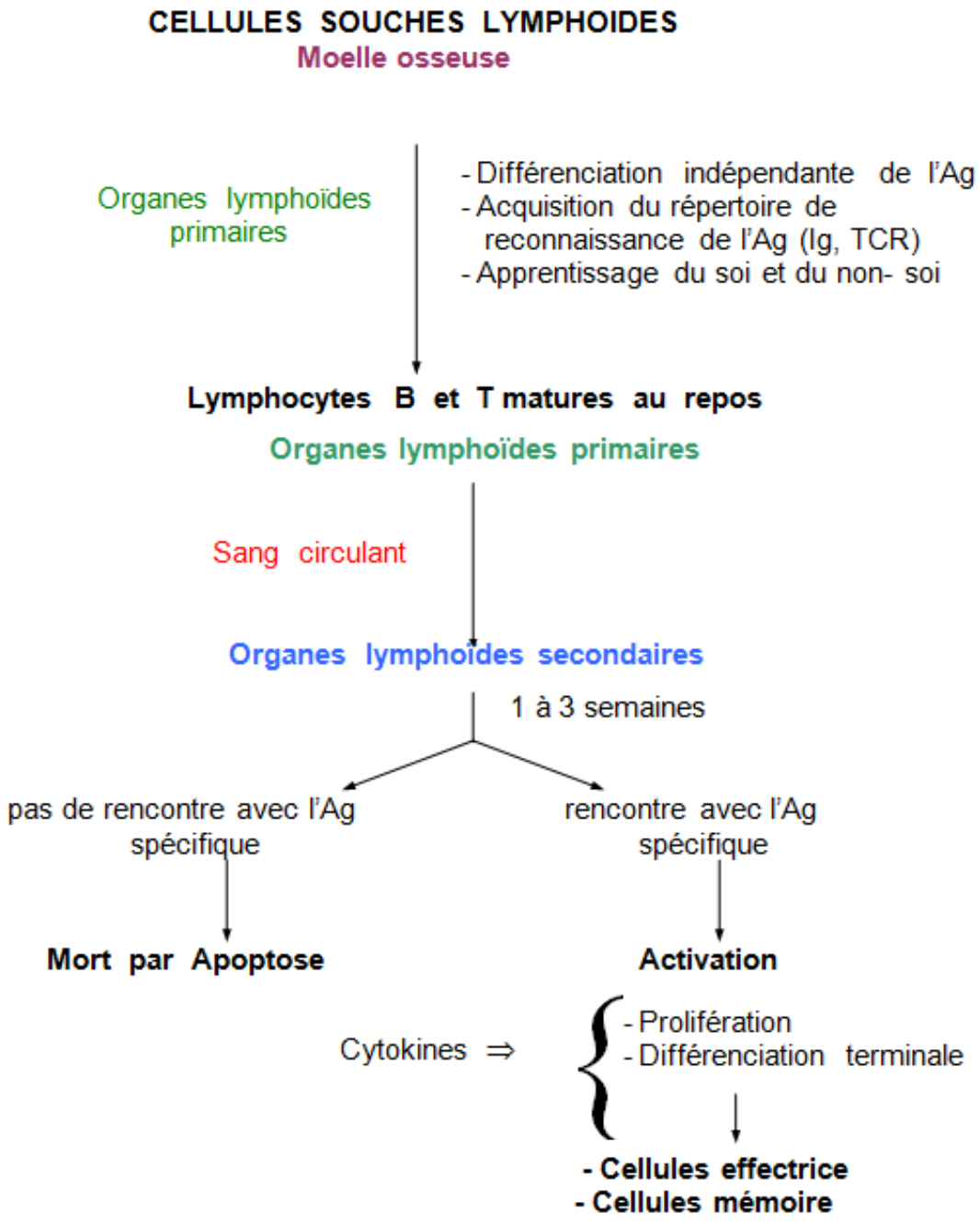


Figure 1 : Schéma de la différenciation des lymphocytes B et T

- une deuxième phase (activation et différenciation terminale) dépendante des stimulations antigéniques a lieu au niveau des organes lymphoïdes secondaires et/ou

des tissus périphériques et permet de produire, à partir des lymphocytes B et T matures au repos (ou naïfs) activés par l'Ag spécifique, des cellules effectrices et des cellules mémoire.

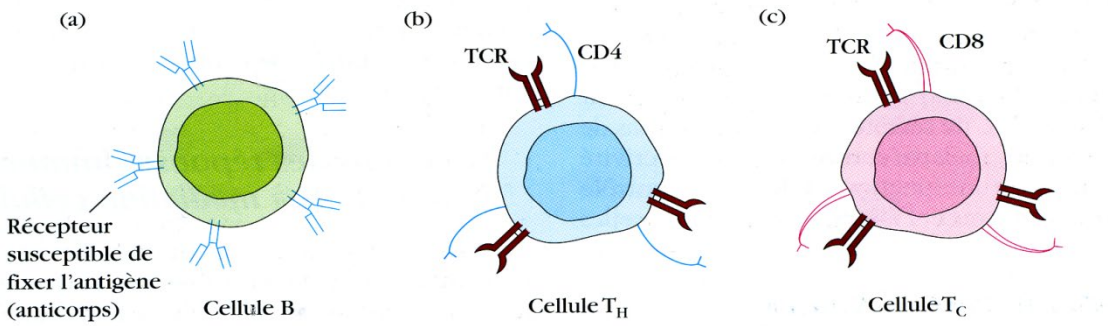


FIGURE 1.5 Molécules membranaires caractéristiques des lymphocytes. (a) Les cellules B ont environ 10^5 molécules d'anticorps membranaire par cellule. Toutes les molécules d'anticorps d'une cellule B donnée ont la même spécificité antigénique et peuvent entrer directement en interaction avec l'antigène. (b) Les cellules T portant le CD4 (cellules $CD4^+$) ne reconnaissent que les antigènes liés à des molécules de classe II du CMH. (c) Les cellules T portant le CD8 (cellules $CD8^+$) ne reconnaissent que l'antigène associé à des molécules de classe I du CMH. En général, les cellules T $CD4^+$ agissent comme cellules auxiliaires et les cellules T $CD8^+$ comme cellules cytotoxiques. Les deux types de cellules T expriment, par cellule, environ 10^5 molécules de récepteur des cellules T (TCR) susceptibles de fixer l'antigène ; ces derniers sont tous identiques et possèdent la même spécificité antigénique.

III- Les lymphocytes B

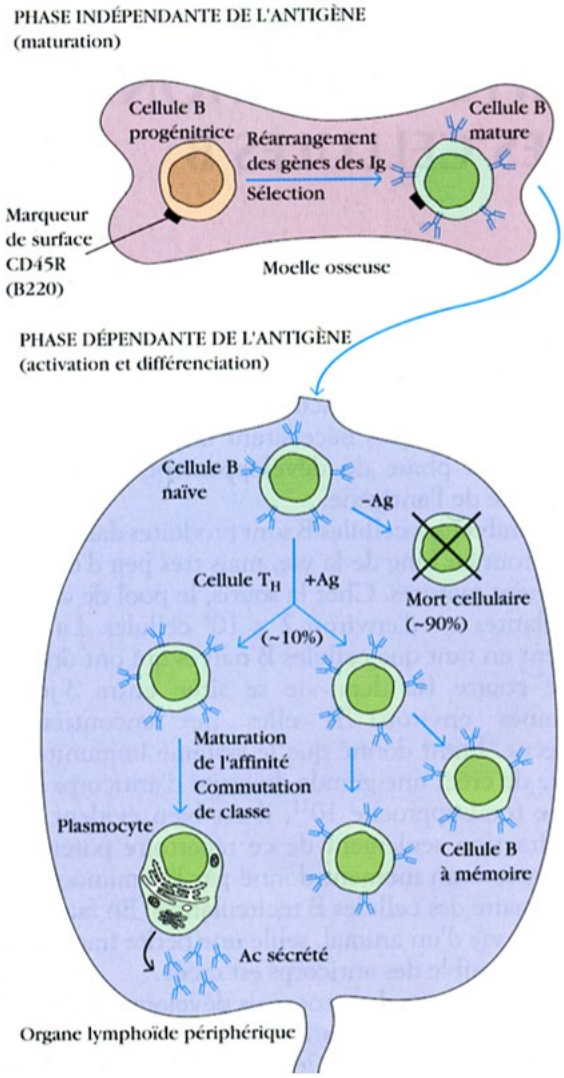
1- Ontogénie

Chez les oiseaux, la lymphopoïèse B a lieu au niveau d'un organe lympho-épithélial accolé au cloaque et assurant exclusivement cette fonction (différenciation des lymphocytes B à partir des cellules souches lymphoïdes) : la **B**ourse de Fabricius. La bursectomie néonatale entraîne chez le poulet une agammaglobulinémie permanente (absence de lymphocytes B matures et donc d'Ac). Chez le mouton et d'autres ruminants, l'ontogénèse des lymphocytes B a lieu au niveau du tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT "Gut Associated Lymphoïd Tissue") et plus particulièrement au niveau des plaques de Peyer iléales.

Chez l'homme, comme chez la souris, la lymphopoïèse B se déroule au niveau de la moelle osseuse (**B**one marrow) qui prend progressivement le relais au foie foetal dès le milieu de la gestation.

Le principal événement au cours de l'ontogénèse des lymphocytes B est le **réarrangement des gènes des Ig** (les cellules souches lymphoïdes ont leurs gènes des Ig et du TCR en configuration germinale non réarrangée). Chez les animaux utilisant les organes et tissus lymphoïdes associés à l'intestin pour produire les

lymphocytes B (poulet, mouton, lapin...), le réarrangement est utilisé au cours de la vie embryonnaire et pendant un temps très court après la naissance : l'organe primaire perd sa potentialité lymphopoïétique et/ou involue au bout de six mois à un an. La diversité est complétée par des mécanismes agissant après réarrangement (conversion génique ou mutations somatiques) et les cellules B périphériques se maintiennent grâce à leur capacité d'auto-renouvellement.



Chez l'homme comme chez la souris, il y a réarrangement continuel des gènes des Ig et production permanente de lymphocytes B pendant toute la vie au niveau de la moelle osseuse. Les cellules stromales de la moelle osseuse jouent un rôle essentiel dans le développement et la différenciation des cellules de la lignée B par les interactions membranaires (ex : SCF ou " Stem Cell Factor " à la surface de la

cellule stromale qui interagit avec son récepteur c-kit à la surface de la cellule pro-B activant ainsi la division cellulaire et induisant l'expression du récepteur de l'IL7) et la production de cytokines notamment l'interleukine 7 (IL7).

La différenciation des cellules de la lignée B est associée à une prolifération cellulaire active. Cependant, la majorité des cellules B qui se développent dans la moelle osseuse (plus de 75 %) subissent un processus de mort cellulaire programmée ou apoptose aboutissant à leur phagocytose par les macrophages médullaires. Seules les cellules ayant réussi un réarrangement productif de leurs
gènes d'Ig et dont l'Ac produit n'est pas dirigé contre un auto-Ag exprimé au niveau de la moelle osseuse sont autorisées à gagner la circulation sanguine.

Au cours de sa maturation dans la moelle osseuse, la cellule souche lymphoïde engagée dans la lignée B passe successivement par 4 stades, la dernière étape étant souvent accomplie en dehors de la moelle au niveau des organes lymphoïdes secondaires :

- la cellule pro-B (pro génitrice B) : elle dérive directement de la cellule souche lymphoïde ou CLP avec les gènes des Ig en configuration germinale. Le réarrangement des gènes des chaînes lourdes est entamé dès le stade pro-B, d'abord par la jonction D-JH suivie à la fin du stade pro-B par la jonction VH-DJH permettant la production d'une chaîne μ intra-cytoplasmique, caractéristique essentielle du stade suivant dit pré-B. Les protéines activant la recombinaison RAG1 et RAG2 de même que la TdT (l'enzyme qui permet l'addition de N-nucléotides) sont produites tout au long du stade pro-B.

La cellule pro-B exprime le récepteur de l'IL7 (IL7-R) ainsi que le c-kit : récepteur du facteur de croissance SCF ("Stem Cell Factor") exprimé sur les cellules stromales de la moelle osseuse.

Les molécules de transduction du signal Igα et Igβ (CD79 a et b) et le CD19 (associé avec le CD21 au récepteur de la cellule B mature) sont exprimés tout au long de la maturation des cellules de la lignée B dès le stade pro-B.

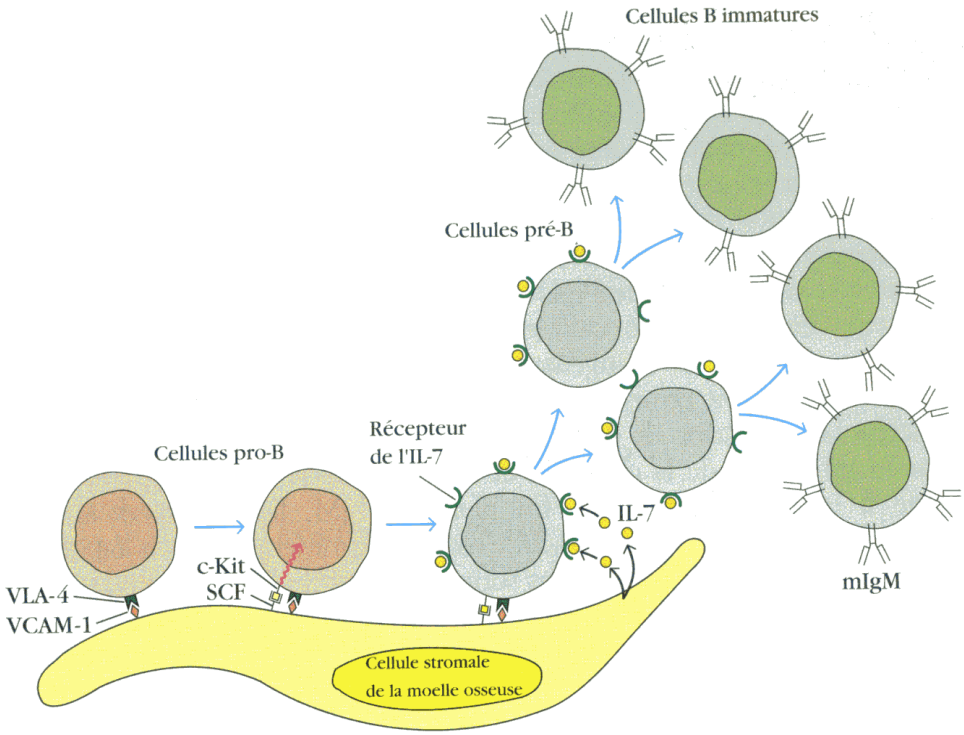


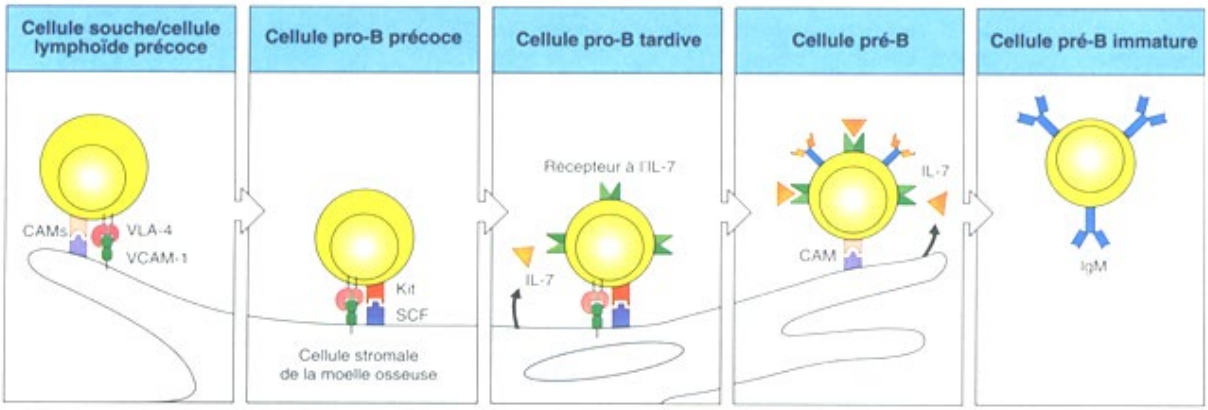
FIGURE 11.2 Les cellules stromales de la moelle osseuse sont nécessaires à la maturation des progéniteurs des cellules B en précurseurs des cellules B. Les cellules pro-B se lient aux cellules stromales par l'intermédiaire d'une interaction entre le VCAM-1 de la cellule stromale et le VLA-4 de la cellule pro-B. Cette interaction favorise la liaison du c-Kit des cellules pro-B au facteur de croissance des cellules souches (SCF) de la cellule stromale. Cette interaction déclenche un signal, médié par l'activité tyrosine kinase du c-Kit, qui stimule dans la cellule pro-B l'expression des récepteurs de l'IL-7. L'IL-7 libérée de la cellule stromale se lie ensuite aux récepteurs de l'IL-7, ce qui induit la cellule pro-B à effectuer sa maturation en cellule pré-B. Les cellules pré-B commencent à proliférer en raison de leur stimulation par l'IL-7, puis se différencient finalement en cellules B immatures.

- la cellule pré-B (précurseur B) : la cellule pré-B est d'abord une cellule de grande taille caractérisée par la présence de la chaîne μ intra-cytoplasmique. La chaîne μ s'associe à 2 protéines V pré-B et λ5 qui se lient de façon non covalente pour constituer une pseudo-chaîne légère ou chaîne légère de substitution ("Surrogate Light Chain" ou SLC). L'ensemble μ-VpréB-λ5 exprimé à la surface de la cellule pré-B en association avec les chaînes Igα-Igβ constitue le récepteur pré-B ou pré-BCR.

La grande cellule pré-B se met à se diviser plusieurs fois (4 à 6) de suite en diminuant de volume pour donner plusieurs petites cellules pré-B (amplification importante de la diversité associative) où le réarrangement est poursuivi sur les gènes des chaînes légères kappa puis lambda (en cas d'échec des réarrangements kappa).

Lorsqu'un assemblage Vκ-Jκ ou Vλ-Jλ en phase de lecture est obtenu, une chaîne légère κ ou λ est produite. La chaîne légère κ ou λ ainsi produite s'associe avec la chaîne lourde μ pour constituer l'IgM membranaire qui sera exprimée en surface en association avec l'hétérodimèreIgα/Igβ. L'expression de l'IgM sur la membrane annonce le passage au stade suivant, celui de cellule B immature avec arrêt de production des protéines RAG1 et RAG2. La TdT est beaucoup moins active au niveau des jonctions VJ des chaînes légères et sa production cesse bien avant celle des protéines RAG.

L'expression du récepteur de l'IL7 se poursuit au stade pré-B, celle du c-kit est relayée par le CD25, chaîne α du récepteur de l'IL2 permettant avec les chaînes constitutives β et γ l'obtention du récepteur de forte affinité IL2-R.



- ***la cellule B immature :*** définie par l'expression de l'IgMmembranaire en association avec les chaînes Igα–Igβ (CD79 a et b), la cellule B immature subit le processus de sélection négative aboutissant à la délétion clonale des lymphocytes B dont l'IgM membranaire interagit avec une forte affinité avec un antigène du soi exprimé dans la moelle osseuse (ou au niveau des organes lymphoïdes périphériques). Dans la moelle osseuse, la cellule B exprimant une IgM auto-réactive peut être sauvée de la délétion clonale en "éditant" une nouvelle copie de jonction V-J lui permettant d'exprimer une autre chaîne légère. La cellule Bimmature n'exprime plus VpréB-λ5, CD25 ni l'IL7-R ;

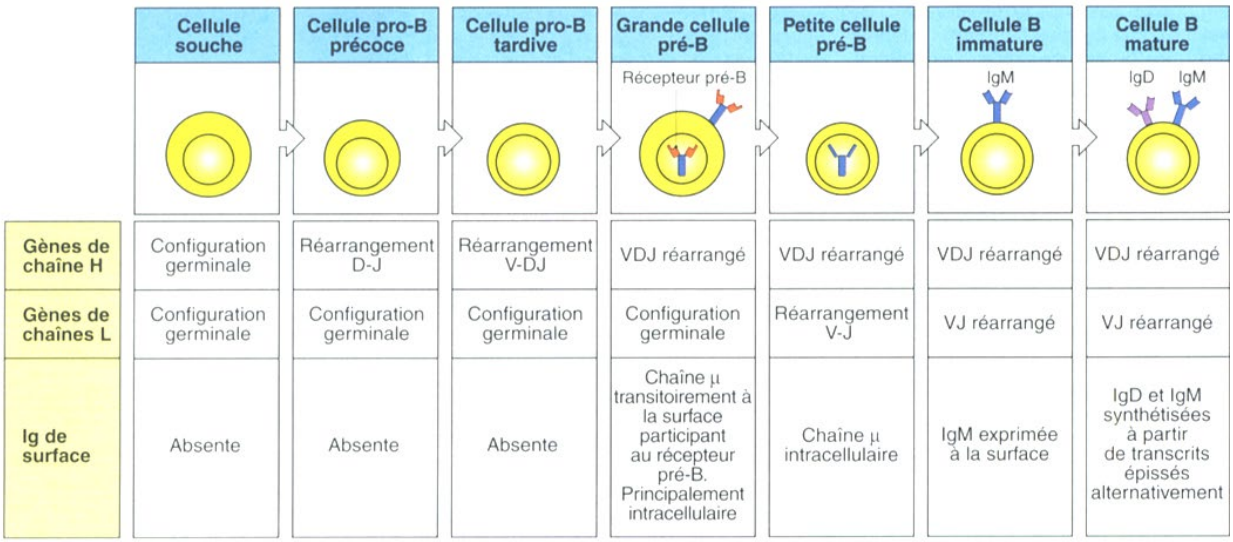
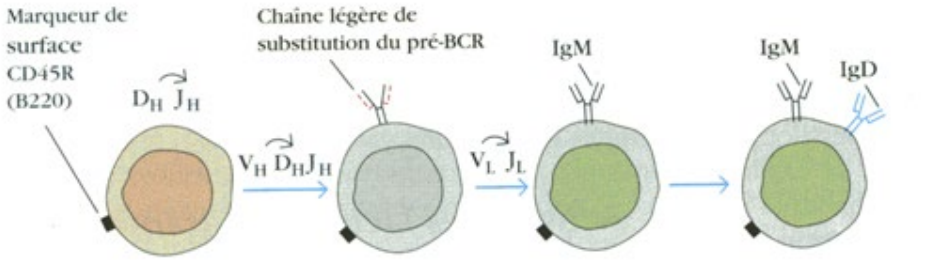
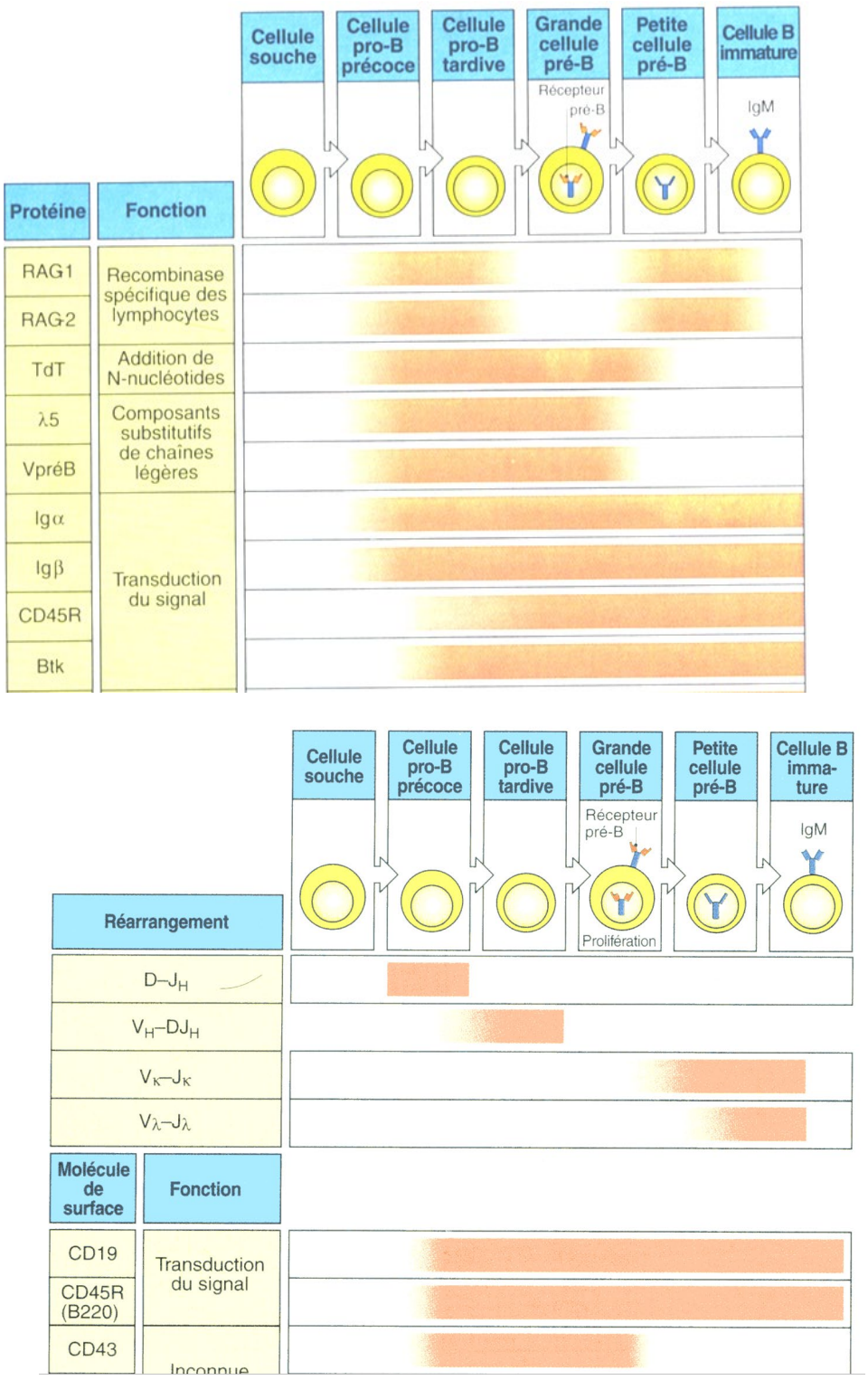


Fig. 7.5 Le développement des cellules de la lignée B passe par différents stades marqués par le réarrangement et l'expression des gènes d'immunoglobulines. La cellule souche n'a pas encore commencé à réarranger ses segments de gènes d'immunoglobulines (Ig) ; ils sont dans la configuration germinale comme ils le sont dans toutes les cellules non lymphoïdes. Le locus de chaîne lourde (chaîne H) se réarrange d'abord. Le réarrangement d'un segment de gène D avec un segment de gène J_H se produit tôt dans les cellules pro-B, aboutissant aux cellules pro-B tardives, dans lesquelles le réarrangement V_H avec DJ_H se produit. Un réarrangement correct VDJ_H conduit à l'expression d'une chaîne lourde complète d'immunoglobuline faisant partie du récepteur pré-B, qui se trouve principalement dans le cytoplasme et dans une moindre mesure à la surface de la cellule. Une fois produite, la cellule est stimulée pour devenir une grande cellule pré-B qui se divise activement. Les grandes cellules pré-B cessent alors de se diviser et deviennent de petites cellules pré-B quiescentes, à partir desquelles cesse l'expression des chaînes légères substitutives et apparaît la chaîne lourde μ seule dans le cytoplasme. Quand les cellules redeviennent petites, elles réexpriment les protéines RAG et commencent à réarranger les gènes de chaînes légères (chaîne L). Quand elles ont assemblé correctement un gène de chaîne légère, elles deviennent des cellules B immatures qui expriment une IgM complète à la membrane. Les cellules B matures produisent une chaîne lourde δ en même temps qu'une chaîne lourde μ, par un mécanisme d'épissage alternatif, et expriment en plus une IgD à la surface de la cellule.



	CELLULE PRO-B	CELLULE PRÉ-B	CELLULE B IMMATURE	CELLULE B MATURE
Gènes des chaînes H	D_HJ_H	$V_HD_HJ_H$	$V_HD_HJ_H$	$V_HD_HJ_H$
Gènes des chaînes L	Chaînes de substitution Vpré-B et λ5 Chaînes κ et λ de la lignée germinale	Chaînes de substitution Vpré-B et λ5 Chaînes κ et λ de la lignée germinale	V_LJ_L	V_LJ_L
RAG-1/2	+	+	−	−
TdT	+	−	−	−



- la cellule B mature :La transcription des gènes des immunoglobulines est étendue jusqu'au segment Cδ. Ainsi, l'épissage alternatif permettra la co-expression en surface d'IgM et d'IgD qui caractérise le stade B mature ou lymphocyte B naïf.

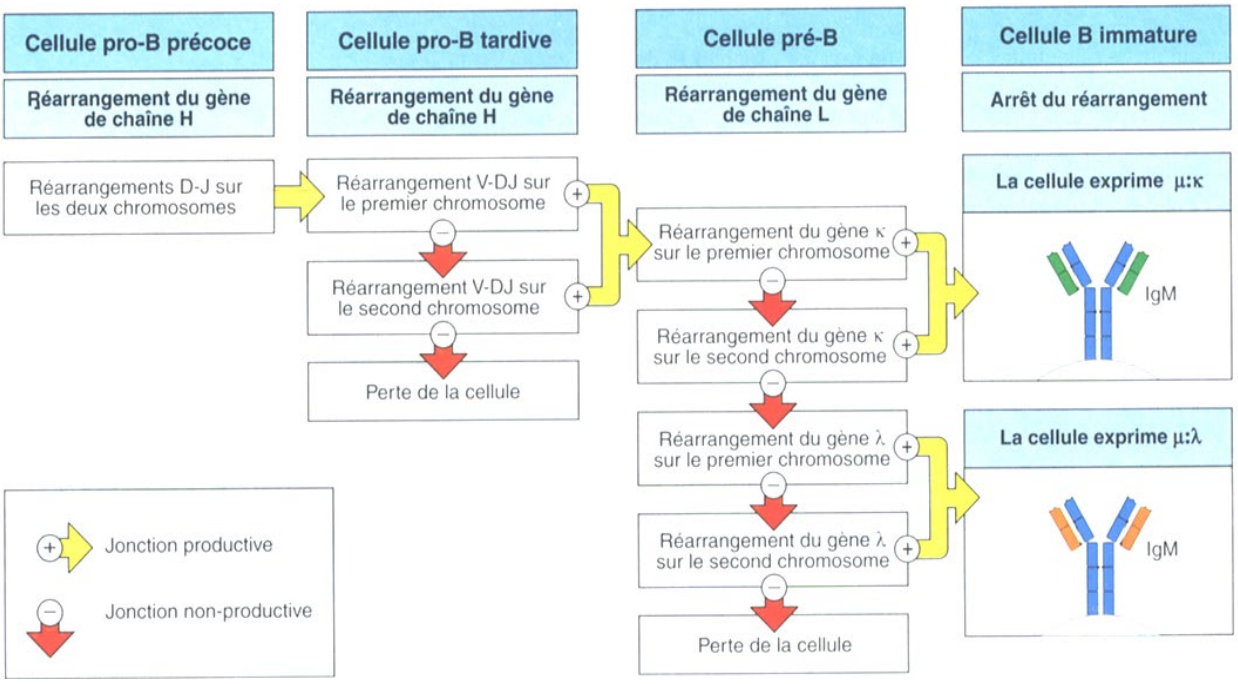
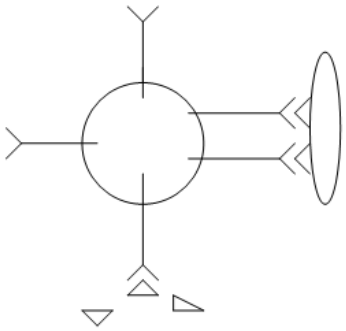


Fig. 7.14 Étapes du réarrangement des gènes des immunoglobulines au cours desquelles les cellules peuvent être perdues. Le programme de développement réarrange habituellement le locus de chaîne lourde (chaîne H) et puis les locus de chaînes légères (chaînes L). Les cellules sont autorisées à progresser vers le stade suivant quand un réarrangement productif a été réussi. Chaque réarrangement a environ une chance sur trois d'être correct, mais si la première tentative n'est pas productive, le développement est suspendu et il y a possibilité d'une tentative supplémentaire ou plus. Les possibilités de réarrangements répétés sont plus grandes pour les locus de chaînes légères (voir Fig. 7.16), de façon à ce que peu de cellules soient perdues entre les stades de cellules pré-B et B immatures par rapport au passage du stade pro-B au stade pré-B.

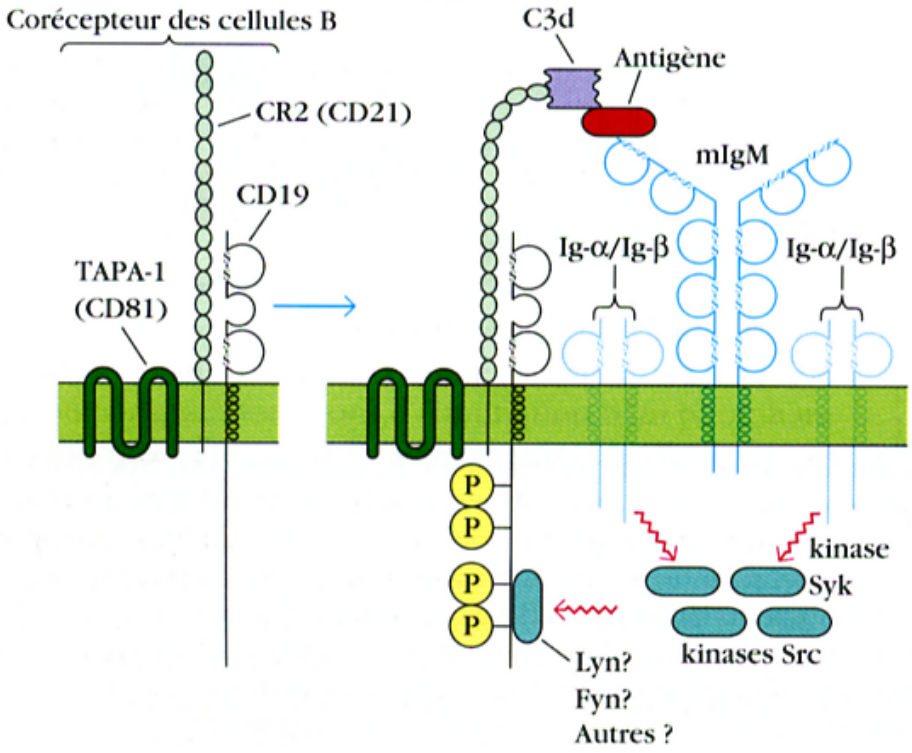
2/ Récepteur membranaire pour l'Ag et mode de reconnaissance

Le récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte B (LB) est l'Ig membranaire. Le lymphocyte B reconnaît l'Ag dans sa forme native, seul (pas de restriction HLA) en solution ou à la surface d'un micro-organisme ou d'une cellule. L'Ig membranaire est associée à la surface du lymphocyte B avec l'hétéro-dimèreIgα-Igβ(CD79a-CD79b) qui assure la transmission du signal d'activation à l'intérieur du lymphocyte B (cf cours les immunoglobulines : structure et fonctions).



- Ag natif
- En suspension ou à la surface d'une cellule ou d'un micro-organisme

Le corécepteur des lymphocytes B est constitué des molécules CD19, CD81 et CD21 (correspondant au CR2) qui sont constamment exprimées à la surface du LB à côté du BCR. En se liant au C3d fixé sur l'Ag, le CD21 permet de stabiliser la liaison de l'Ig membranaire à l'Ag et ainsi d'abaisser le seuil d'affinité pour le LB.



3/ Marqueurs membranaires

Le lymphocyte B mature au repos exprime en plus de l'Ig de surface, les molécules HLA classe I et classe II, les antigènes de différenciation CD19, CD20, CD21 = CR2, CD22, CD32 = FcγRII, CD35 = CR1, CD40 (interagit avec CD40L, son "ligand" sur les cellules T), CD45R et les molécules d'adhésion leucocytaires LFA-1 = CD11a/CD18 et LFA3 = CD58.

Parmi ces marqueurs membranaires et en plus de l'Ig membranaire qui définit le lymphocyte B, seul CD19 est spécifique des cellules de la lignée B et exprimé par tous les lymphocytes B matures : on parle de marqueur pan-B.

En plus de ces marqueurs, le **lymphocyte B activé** va exprimer CD23 (Fcε-RII), CD25 (IL2-Rα) et CD80 (ou B7-1 : ligand de CD28) et CD10.

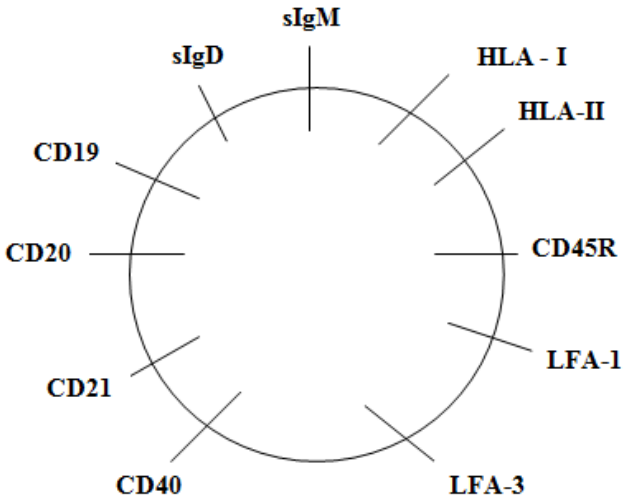


Figure : *Marqueurs membranaires du lymphocyte B mature au repos*

4/ Fonctions

Les lymphocytes B et surtout les plasmocytes qui en dérivent sont des cellules spécialisées dans la production d'Ac. Le lymphocyte B est ainsi le support de l'immunité humorale.

Le lymphocyte B exprime les molécules HLA classe II et peut ainsi présenter aux lymphocytes T helper $CD4^+$ des peptides antigéniques provenant de la dégradation partielle de l'Ag natif qu'il capte grâce aux sites Ac de son Ig membranaire.

5/ Sous-populations

Il existe chez l'homme comme chez la souris une sous-population minoritaire de lymphocytes B dits B1 ou B $CD5^+$ et caractérisés, en plus de l'expression de CD5 (Ly1b chez la souris), par leur capacité d'auto-renouvellement en périphérie notamment dans le péritoine où elles sont majoritaires et la production d'anticorps de classe IgM qui sont généralement poly-spécifiques et de faible affinité. Les lymphocytes B1 expriment peu ou pas d'IgD membranaires et répondent faiblement aux Ag protéiques et beaucoup mieux aux Ag glucidiques.

IV- Les lymphocytes T

1- Ontogénie

Les lymphocytes T se différencient dans le thymus à partir de cellules

souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse (ou du foie foetal pendant les premiers mois de gestation). La migration des cellules souches lymphoïdes de la moelle osseuse dans le thymus est un phénomène continu. Le rôle central du thymus dans la production des lymphocytes T est démontré par l'immunodéficience sévère observée chez la souris après thymectomie néonatale (J. Miller) ou associée à l'aplasie thymique congénitale chez l'homme (syndrome de Di-Georges). Le thymus involue progressivement à partir de la puberté et le nombre de cellules T se maintient chez l'adulte et le sujet âgé par division de lymphocytes T matures en dehors du thymus. La différenciation intra-thymique des cellules de la lignée T est associée à une prolifération active induite par l'IL1 et l'IL7 produites par les cellules du stroma thymique, l'IL2 produite par les thymocytes (¢ T en cours de différenciation dans le thymus) et l'IL3 produite par les 2 types de cellules. Il existe vraisemblablement un gradient de maturation des thymocytes du cortex externe vers la médullaire des lobules thymiques.

Le principal évènement au cours de la différenciation initiale (intra-thymique) ou maturation des cellules de la lignée T est le **réarrangement des gènes du TCR** permettant l'obtention d'un lymphocyte T mature à TCR de type α/β ou de type γ/δ. Les lymphocytes Tγ/δ semblent dériver directement des précurseurs T précoces doubles négatifs $CD4^-CD8^-$. Il en est de même pour une sous-population de lymphocytes T dite TNK exprimant un récepteur α/β de diversité très limité et portant le marqueur NK1.1 communément trouvé sur les cellules NK. Ces 2 sous-populations minoritaires de lymphocytes T (T γ/δ et TNK α/β) quittent le thymus à l'état de lymphocytes T matures double négatifs $CD4^-CD8^-$; tandis que la grande majorité des lymphocytes T produits dans le thymus sont des cellules T α/β simples positives $CD4^+$ ou $CD8^+$ exprimant un TCR hautement diversifié et dont la filiation intra-thymique peut schématiquement être subdivisée en 3 grandes étapes articulées autour de l'expression ou non des marqueurs CD4 et CD8 :

-Cellules double négatives $CD4^-$ $CD8^-$ (ou pro-T) : elles dérivent directement des cellules souches lymphoïdes avec les gènes du TCR en configuration germinale. La cellule pro-T double négative $CD4^-CD8^-$ commence par exprimer ckit, la TdT et le

complexe de transduction de signal spécifique des lymphocytes T, le CD3. Par la suite, elle exprime CD25 et les protéines RAG1 et RAG2 ce qui permet d'amorcer le réarrangement des gènes β (en même temps que celui des gènes γ et δ). La jonction d'un segment D avec un segment J est suivie par la jonction d'un segment V. Lorsqu'un assemblage VDJ-β en phase de lecture est obtenu (la cellule peut faire jusqu'à 4 tentatives pour obtenir un réarrangement productif), une chaîne β est produite dans le cytoplasme où elle s'associe avec la chaîne α de substitution pré-Tα (ou pTα) et les chaînes du CD3. L'ensemble β-pTα-CD3 exprimé à la surface du thymocyte constitue le récepteur pré-T ou pré-TCR.

L'expression de ckit, CD25 et des protéines RAG1 et RAG2 est arrêtée. La cellule double négative exprime CD2 et se met à proliférer (comme le fait la grande cellule pré-B dans la moelle osseuse) ce qui permet pour chaque réarrangement VDJβ productif d'avoir plusieurs cellules (avec la même chaîne β) qui au stade suivant pourront chacune faire son propre réarrangement VJα et exprimer ainsi des chaînes α différentes ; la diversité associative se trouve ainsi fortement amplifiée.

Comme mentionné plus haut, le réarrangement des gènes du TCR a lieu simultanément au niveau des gènes β, δ etγ. On pense que les thymocytes qui arrivent à faire un réarrangement productif sur δ puis sur γ arrêtent les réarrangements des gènes β et se différencient en lymphocytes Tγ/δ $CD4^-$ $CD8^-$; tandis que les lymphocytes qui arrivent à faire un réarrangement β productif leur permettant d'exprimer le pré-TCR bloquent les réarrangements sur les gènes δ et γ et poursuivent dans la voie α/β.

-Cellules double positives $CD4^+$ $CD8^+$: elles dérivent directement des cellules doubles négatives en prolifération. En plus du pré-TCR (comprenant le CD3) et de CD2, ces cellules expriment simultanément les 2 corécepteurs des cellules T : CD4 et CD8. Lorsque les grands thymocytes doubles positifs cessent de proliférer et deviennent de petits thymocytes doubles positifs, la transcription des gènes RAG1 et RAG2 est relancée de façon transitoire, ce qui permet depoursuivre le

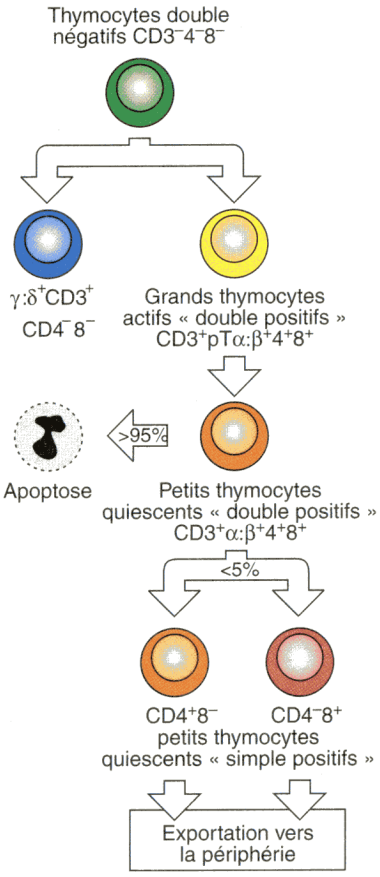


Fig. 7.11 Les changements des molécules à la surface de la cellule permettent de distinguer les populations de thymocytes à différentes étapes de maturation. Les molécules de surface les plus importantes pour l'identification des sous-populations de thymocytes sont CD4, CD8, et les molécules du complexe du récepteur (CD3 et les chaînes α et β du récepteur de la cellule T). Les populations cellulaires les plus précoces du thymus n'expriment aucun de ces marqueurs. Elles sont appelées thymocytes double négatifs, car ils n'expriment ni CD8, ni CD4. Ces précurseurs donnent naissance aux deux lignées de cellules T, la population minoritaire des cellules T γ:δ (sans CD4, ni CD8, même matures), et la lignée majoritaire des cellules T α:β. Le développement prospectif des cellules T α:β passe par des stades où CD4 et CD8 sont exprimés tous les deux par la même cellule ; elles sont appelées thymocytes double positifs. Les cellules T double positives expriment d'abord le récepteur pré-T (pTα:β). Ces cellules grossissent et se divisent. Plus tard, elles deviennent de petites cellules quiescentes double positives sur lesquelles s'exprime en faible densité le récepteur de cellule T (α:β). La plupart des thymocytes (97 %) meurent dans le thymus après être devenues des petites cellules double positives. Les cellules dont les récepteurs avec les molécules du CMH du soi perdent l'expression de CD4 ou de CD8 et augmentent le niveau d'expression du récepteur de la cellule T. Elles deviennent des thymocytes simple positifs, qui, après maturation, sont exportés du thymus comme des lymphocytes T CD8 ou des lymphocytes T CD4.

réarrangement sur les gènes α. La production de la TdT se poursuit de façon continue jusqu'à l'obtention d'un réarrangement VJαproductif permettant l'expression d'un TCR α/β en faible densité, à la surface du petit thymocyte double positif $CD4^+$ $CD8^+$ qui est maintenant prêt pour subir l'épreuve de la sélection positive. Les gènes de la chaîne α subissent des réarrangements successifs jusqu'à ce qu'une sélection positive ou la mort cellulaire intervienne.

Seuls les thymocytes dont le TCR est capable de reconnaître l'une ou l'autre des molécules HLA du soi exprimé par les cellules stromales thymiques (en l'occurrence, les cellules épithéliales du cortex) recevront les signaux nécessaires pour poursuivre leur différenciation et échapper à la mort cellulaire programmée (ou apoptose) : c'est la sélection positive qui permet d'adapter le répertoire de TCR de chaque individu à son haplotype (sa combinaison de molécules) HLA et ainsi de mettre en place la restriction allogénique. Les thymocytes dont le TCR interagit avec

une molécule HLA classe I perdent la molécule CD4 tandis que ceux dont le TCR interagit avec une molécule HLA classe II perdent CD8.

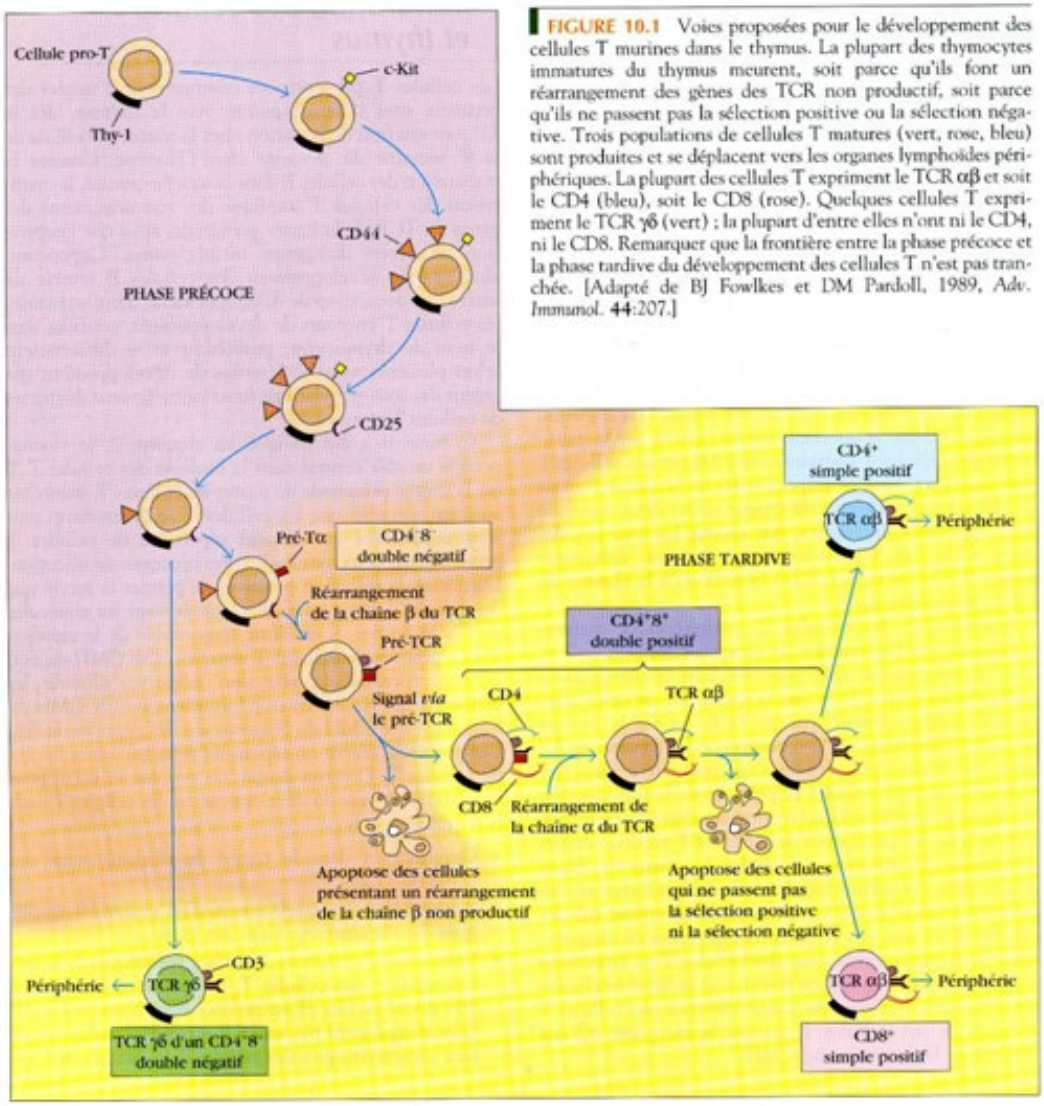


FIGURE 10.1 Voies proposées pour le développement des cellules T murines dans le thymus. La plupart des thymocytes immatures du thymus meurent, soit parce qu'ils font un réarrangement des gènes des TCR non productif, soit parce qu'ils ne passent pas la sélection positive ou la sélection négative. Trois populations de cellules T matures (vert, rose, bleu) sont produites et se déplacent vers les organes lymphoïdes périphériques. La plupart des cellules T expriment le TCR αβ et soit le CD4 (bleu), soit le CD8 (rose). Quelques cellules T expriment le TCR γδ (vert) ; la plupart d'entre elles n'ont ni le CD4, ni le CD8. Remarquer que la frontière entre la phase précoce et la phase tardive du développement des cellules T n'est pas tranchée. [Adapté de BJ Fowlkes et DM Pardoll, 1989, *Adv. Immunol.* **44**:207.]

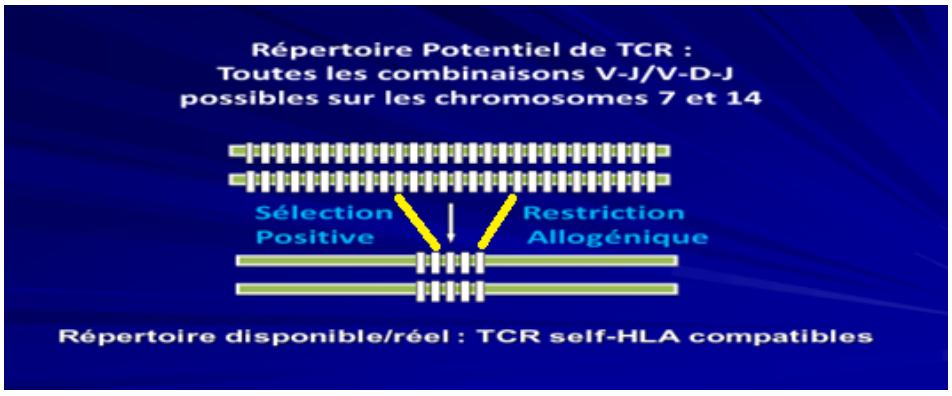


Figure : Représentation schématique de la sélection négative qui permet de mettre en place la restriction allogénique en ne gardant, pour chaque individu, que les lymphocytes T dont le TCR interagit avec ses propres molécules HLA.

- Cellules simple positives : encore appelées thymocytes immatures, ces cellules qui expriment soit CD4 soit CD8 en plus de CD2 et du complexe CD3/TCRαβ (exprimé à faible densité) sont retrouvées au niveau de la médullaire thymique. La sélection négative entamée au stade précédent se poursuit : les lymphocytes dont le TCR interagit avec une forte affinité avec une molécule HLA, seule ou avec un peptide antigénique du soi, exprimée par les cellules stromales thymiques (macrophages et cellules inter-digitées) sont tués ; c'est la délétion clonale qui permet d'éliminer une bonne partie des lymphocytes T (LT) auto-réactifs et qui représente le premier mécanisme de tolérance au soi. Les thymocytes ayant passé avec succès les épreuves de la sélection positive et de la sélection négative expriment à forte densité le complexe CD3-TCRα/β et quittent le thymus sous forme de lymphocytes T matures simple positifs $CD4^+$ ou $CD8^+$. On estime que plus de 90% des thymocytes n'arrivent pas à maturation et meurent par apoptose soit parce qu'ils ne sont pas arrivés à effectuer un réarrangement productif des gènes du TCR soit parce qu'ils n'ont pas été sélectionnés positivement ou enfin parce qu'ils ont été éliminés par la sélection négative.

Les LT auto-réactifs avec un TCR de forte affinité pour l'Ag du soi peuvent être convertis en Treg naturels $CD4^+$/ $CD25^+$/ $FOXP3^+$ et échapper ainsi à la délétion clonale.

Le gène AIRE (autoimmune regulator) code pour un facteur activateur de la transcription qui induitl'expression par les cellules épithéliales de la médullaire thymique ("medulla-thymic epithelial cells" oumTECs) de nombreux auto-Ag de divers organes périphériques, ce qui permet d'élargir l'éventail des auto-Ag rencontrés par les LT immatures dans le thymus.

Les mutations du gène AIRE se traduisent par un syndrome auto-immun appelé APECED pour"*auto-immune poly-endocrinopathy with candidiasis and ectodermal dysplasia"*.

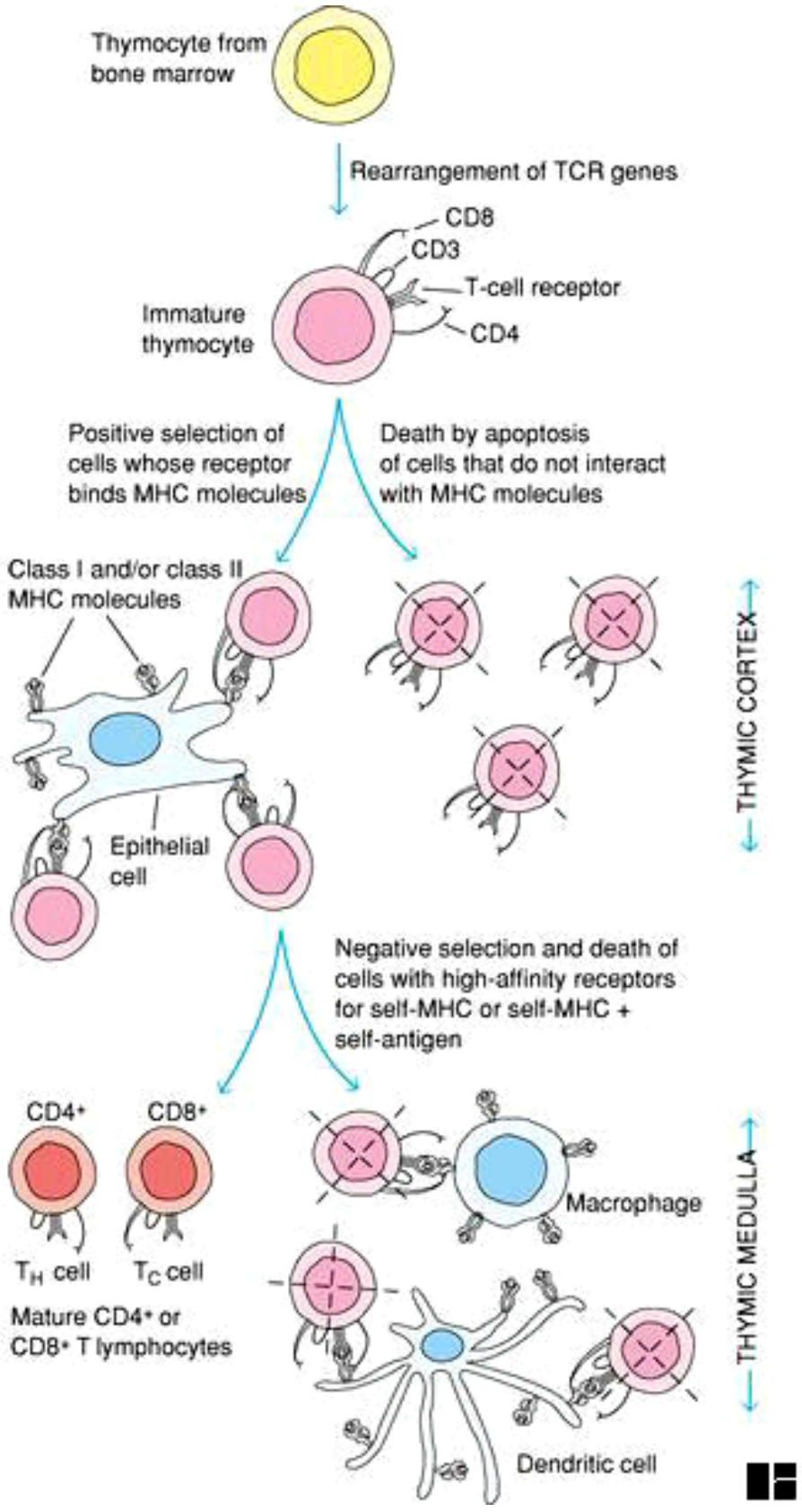
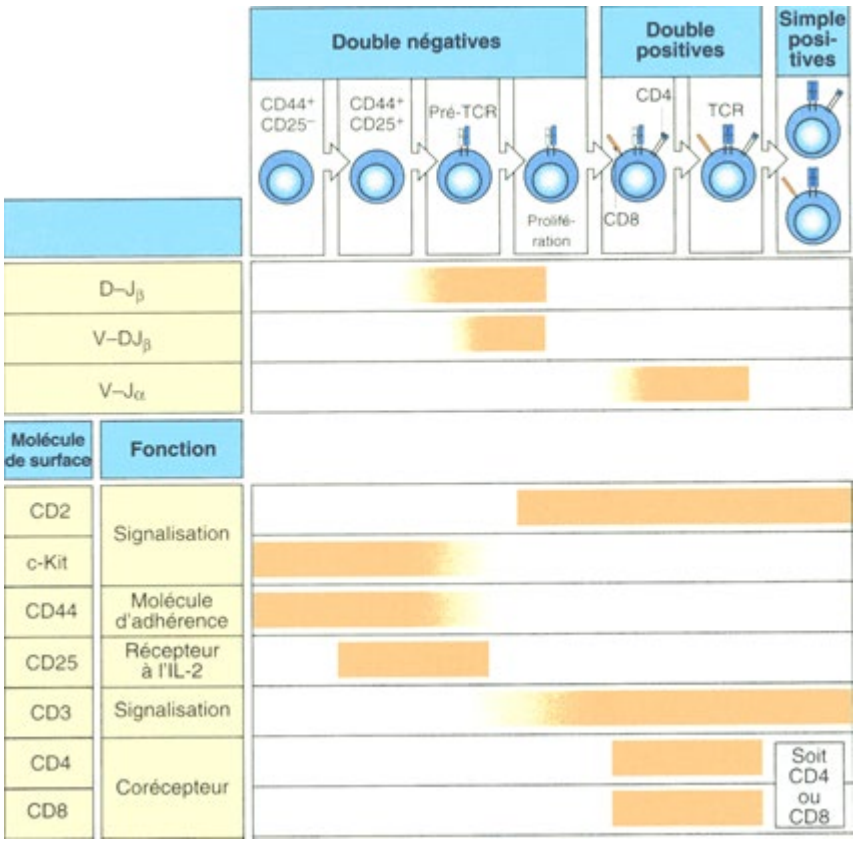
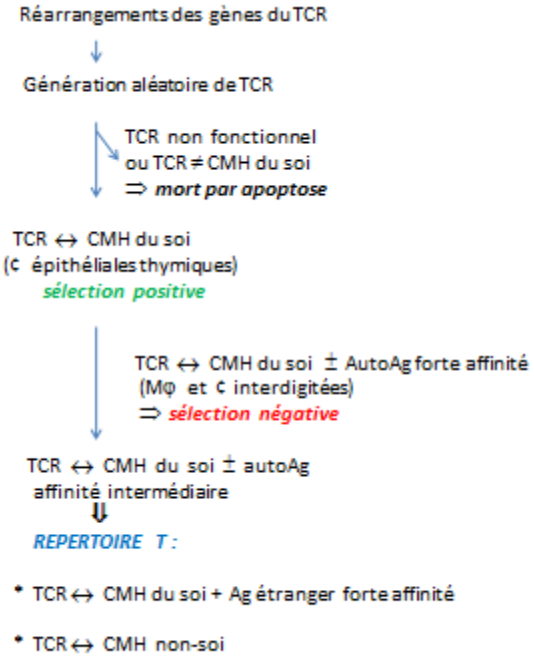


Figure : Etapes successives de la sélection du répertoire des lymphocytes T dans le thymus : sélection positive (restriction allogénique) et sélection négative (délétion clonale)





Récepteur pour l'Ag et mode de reconnaissance

Le récepteur spécifique pour l'Ag du lymphocyte T est le TCR, hétéro-dimèreα/β ou γ/δ. Les deux types de TCR sont exprimés de façon mutuellement exclusive. Plus de 90 % des lymphocytes T circulants de l'adulte expriment un TCR de type α/β qui

reconnaît l'Ag présenté à la surface d'une cellule du soi en association avec une molécule HLA classe I ou classe II. Il s'agit en général, non pas de l'Ag natif, mais d'un peptide d'une dizaine d'acides aminés provenant de la dégradation partielle de la molécule antigénique native.

3- *Marqueurs membranaires*

Le lymphocyte T périphérique au repos exprime en plus du complexe TCR/CD3, les molécules HLA classe I, LFA-1, CD2, CD5, CD7, CD28 et CD45R. Plus de 90 % des lymphocytes T périphériques expriment soit CD4 soit CD8 et 5 à 10 % sont des cellules double négatives $CD4^-$ $CD8^-$.

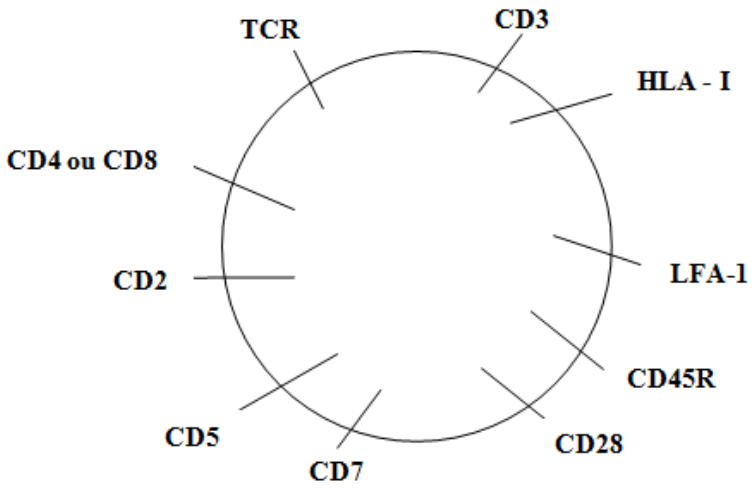


Figure : *Marqueurs membranaires du lymphocyte T mature au repos*

TABLEAU 9.3 Quelques molécules accessoires des cellules T

Nom	Ligand	Fonction		Membre de la superfamille des Ig
		Adhésion	Transduction du signal	
CD4	Classe II du CMH	+	+	+
CD8	Classe I du CMH	+	+	+
CD2 (LFA-2)	CD58 (LFA-3)	+	+	+
LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1 (CD54)	+	?	+/(–)
CD28	B7	?	+	+
CTLA-4	B7	?	+	–
CD45R	CD22	+	+	+
CD5	CD72	?	+	–

30 à 35% environ des lymphocytes T périphériques sont de phénotype $CD8^+$, tandis que 60 à 65 % sont de phénotype $CD4^+$.

Après **activation**, le lymphocyte T exprime un certain nombre de nouveaux marqueurs membranaires notamment les molécules HLA classe II, CD25 (IL2-Rα) et CD40-L (ligand du CD40 exprimé à la surface des LB).

4-Fonctions

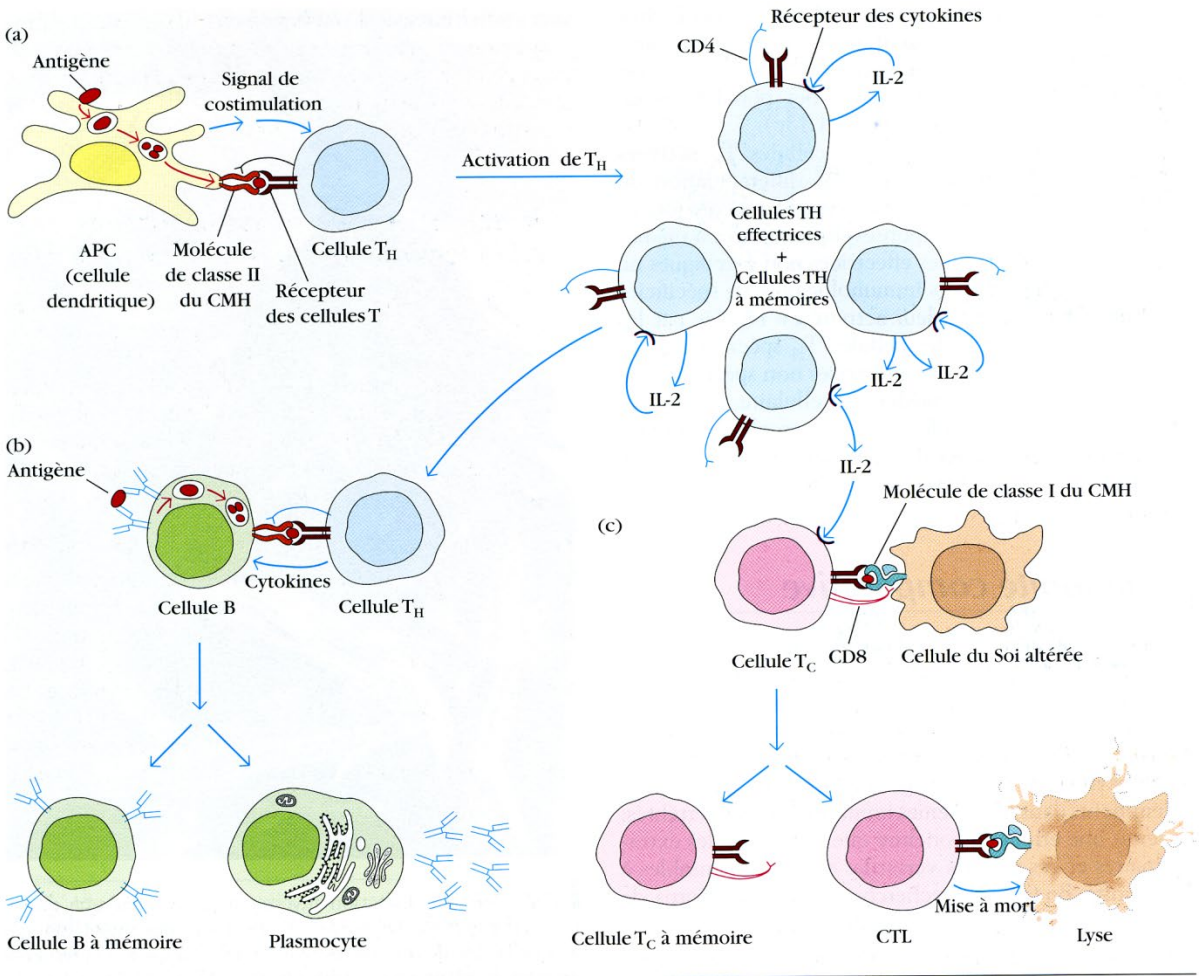
Les lymphocytes T sont le support de l'immunité à médiation cellulaire. Les lymphocytes T cytotoxiques (Tc) ou CTL sont les cellules effectrices de la **cytotoxicité à médiation cellulaire** tandis que les lymphocytes T helper (Th) ou auxiliaires sont les cellules effectrices des réactions **d'hypersensibilité retardée** (HSR). En règle générale, les lymphocytes T cytotoxiques sont de phénotype $CD8^+$ tandis que les lymphocytes T helper sont de phénotype $CD4^+$.

Les LT cytotoxiques $CD8^+$ jouent un rôle central dans le phénomène d'immuno-surveillance. En effet, les cellules du soi ne sont pas des entités figées, ce sont des cellules vivantes en permanant renouvellement. Chaque cellule soumet en permanence un échantillon de chaque protéine synthétisée à la dégradation partielle et la présentation antigénique via la voie de présentation endogène ou de l'exocytose. Il y a par conséquent une présentation permanente des peptides du soi avec les molécules HLA classe Ià la surface des cellules de l'organisme, ces peptides sont considérés comme une carte d'identité des cellules du soi. Les LT cytotoxiques surveillent en permanence la nature des peptides présentés et dès qu'une cellule est infectée par un virus ou transformée en cellule cancéreuse, les nouveaux peptides anormaux (viraux ou tumoraux) ainsi exprimés à sa surface vont être reconnus par les LT cytotoxiques spécifiques qui vont ainsi être activés et tuer cette mauvaise cellule infectée par un virus ou devenue cancéreuse.

En plus de leur fonction de cellules effectrices de l'immunité à médiation cellulaire, les lymphocytes T jouent un rôle central dans la régulation et le contrôle des réponses immunitaires spécifiques et non spécifiques et del'hématopoïèse. Ce rôle est essentiellement attribué aux lymphocytes T helper capables avec les multiples cytokines qu'ils produisent, non seulement de recruter sur place et d'activer les

macrophages et diverses autres cellules (hypersensibilité retardée), mais aussi d'aider la prolifération et la différenciation terminale des lymphocytes B pour la production d'Ac ou des pré-CTL pour la cytotoxicité à médiation cellulaire, de stimuler la prolifération et l'activité cytotoxique des cellules NK, de réguler l'hématopoïèse...

FIGURE 1.13 Interactions cellulaires impliquées dans l'induction des réponses immunitaires. L'activation (APC = cellule présentatrice de l'antigène) et la prolifération des cellules T_H (a) sont nécessaires au déclenchement d'une réponse humorale (b) et d'une réponse à médiation cellulaire contre des cellules du Soi altérées (c).



En fonction du profil de cytokines qu'ils produisent, on distingue chez l'homme comme chez la souris, 2 principales sous-populations de lymphocytes T helper :

- les lymphocytes T helper de type **Th1** secrètent l'IL2, l'INFγ et le TNFβ et sont essentiellement impliqués dans la coopération avec les CTL (cytotoxicité à

médiation cellulaire) et les macrophages (HSR). Les lymphocytes TH1 sont donc particulièrement impliqués dans l'immunité à médiation cellulaire.

- les lymphocytes T helperde type **Th2** produisent l'IL4, l'IL5, l'IL6, l'IL10 et l'IL13 et sont donc préférentiellement concernés par la coopération avec les lymphocytes B (immunité humorale).

Les 2 types de lymphocytes T helper secrètent l'IL3 et le GM-CSF permettant de stimuler l'hématopoïèse et la cytokine pro-inflammatoire TNFα permettant d'amorcer la réaction inflammatoire.

Notion de lymphocytes T suppresseurs ou T régulateurs

La réalité du phénomène de suppression et l'existence de lymphocytes T exerçant des fonctions suppressives ont été démontrées depuis les années 70 par des expériences d'induction et de transfert de tolérance à hautes et à basses doses d'Ag. On a pendant longtemps attribué abusivement cette fonction de suppression aux LT cytotoxiques $CD8^+$ qui étaient ainsi désignés LT cytotoxiques/suppresseurs (Tc/s). Cependant toutes les tentatives cherchant, depuis plus de 40 ans, à identifier une sous population de lymphocytes T spécialisés dans la suppression ont été vaines et tout laisse à penser que plusieurs sous-populations de lymphocytes T peuvent exercer une fonction suppressive au même titre que d'autres activités. L'identification des sous-populations Th1 et Th2 parallèlement à la caractérisation de cytokines à fonction suppressive (IL10, TGF-β...) a conforté cette vision et la plupart des auteurs utilisent maintenant le terme de lymphocytes **Trégulateurs** (Treg) pour désigner ces lymphocytes T qui contrôlent les fonctions des autres lymphocytes et qui sont habituellement des cellules T $CD4^+$ $CD25^+FoxP3^+$.

5/ Sous-populations :

A côté des **lymphocytes T α/β conventionnels** qui représentent près de 90% des lymphocytes T périphériques et sont caractérisés par l'expression d'un TCR de type α/β avec l'une ou l'autre des 2 molécules corécepteurs CD4 ou CD8 et la reconnaissance de peptides antigéniques présentés en association à des molécules

HLA classe I ou classe II, il existe 2 sous-populations minoritaires de lymphocytes T : les lymphocytes T γ/δ et les lymphocytes TNK.

Les **cellules T γ/δ** représentent moins de 5% des lymphocytes T périphériques mais constituent la population principale des cellules T de la peau et des muqueuses. Les lymphocytes intra-épithéliaux (IEL) sont habituellement des lymphocytes T γ/δ $CD8^+$, les autres cellules T γ/δ sont des cellules T double négatives $CD4^-$ $CD8^-$

Le mode de reconnaissance de l'antigène et les fonctions des cellules T γ/δ ne sont pas encore clairement établis. Une bonne partie de ces cellules expriment un TCR de diversité limité et restent fixés (ne circulent pas) dans les sites tissulaires épithéliaux où elles ont élu domicile. Certaines cellules T γ/δ peuvent avec leur TCR lier directement des protéines antigéniques sans nécessiter d'apprêtement ni de présentation par les molécules du CMH, d'autres cellules T γ/δse lient à des antigènes mycobactériens non peptidiques, d'autres enfin peuvent médier la lyse des cellules tumorales de façon non restreinte au CMH en fonctionnant comme des cellules NK.

Les **cellules TNK (ou NKT)** se présentent comme une petite population de lymphocytes T α/β $CD4^+$ ou double négatifs $CD4^-$ $CD8^-$ qui se distinguent des lymphocytes T α/β conventionnels par l'expression du marqueur NK1.1 (CD161) des cellules NK, un répertoire TCR de diversité très limité (avec une chaîne α quasi-invariante et une chaîne β de diversité restreinte), la reconnaissance de l'antigène avec une molécule de CMH non classique, le CD1d et la réponse rapide aux sollicitations antigéniques par la production explosive d'un large éventail de cytokines. Les cellules NKT semblent avoir pour vocation de reconnaître des antigènes glycolipidiques.

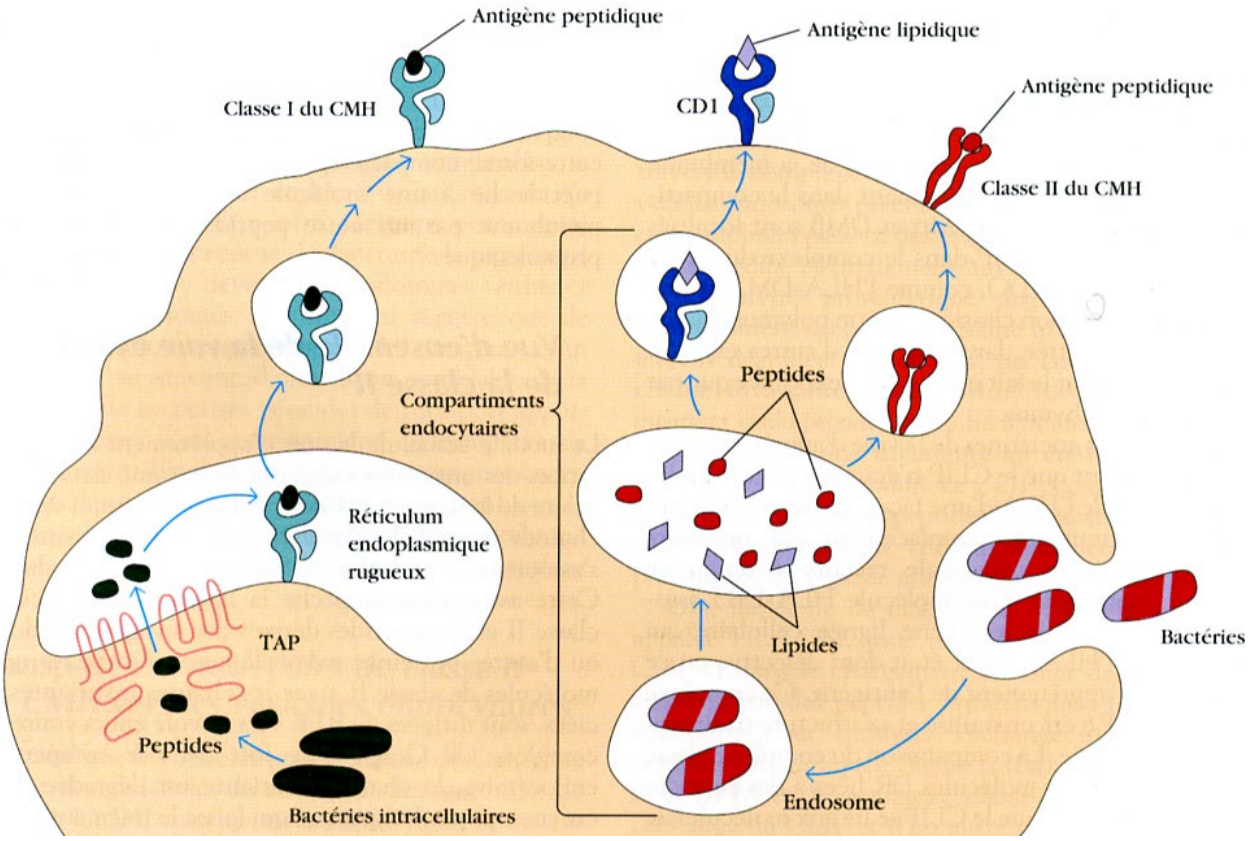


Figure:Rôle des molécules CD1 (HLA I like) dans la présentation des Ag glycolipidiques

V- Conclusion

Les cellules lymphocytaires de notre système immunitaire entreprennent au cours de leur différenciation un réarrangement intensif de leur génome afin d'obtenir un répertoire illimité et adapté de molécules réceptrices aux antigènes : les récepteurs des lymphocytes T et les anticorps produits par les lymphocytes B. Bien que nécessaire à l'établissement de notre défense immunitaire contre les pathogènes, cet exercice a un prix puisqu'il met en danger l'intégrité du génome et de fait, les lymphomes et leucémies sont parmi les néoplasies les plus fréquentes chez l'être humain.

La lymphopoïèse fait appel à des mécanismes génétiques bien connus, mais aussi à des mécanismes épigénétiques. Les modifications épigénétiques peuvent contribuer de façon significative à la leucémogénèse ou à la lymphomagénèse si elles se produisent de façon anormale. Cette compréhension nouvelle est la source de nouvelles voies thérapeutiques.

LE SYSTEME HLA
Complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Définir le système HLA
2. Décrire la structure des molécules HLA classe I et classe II
3. Préciser la distribution cellulaire des molécules HLA classe I et des molécules HLA classe II
4. Décrire les voies intracellulaires de biosynthèse des molécules HLA classe I et des molécules HLA classe II
5. Décrire l'organisation génétique de la région HLA
6. Expliquer le polymorphisme des gènes HLA
7. Connaître les fonctions des molécules du système HLA
8. Citer les applications en médecine et en génétique des populations du système HLA

I- Historique et introduction

En 1936, avec des expériences de greffe de peau et de transplantation de tumeurs entre souris de lignées différentes, Gorer a mis en évidence un facteur de rejet (résistance) des greffes : il s'agissait pour Gorer d'un nouveau groupe érythrocytaire exprimé par les cellules normales et les cellules tumorales qu'il appela antigène 2 (Ag II).

En 1943, Medawar montre que le rejet est un phénomène immunologique : le 2ème rejet est plus rapide et plus intense que le premier.

En 1948, en utilisant des souris congéniques (différentes au niveau du gène étudié, identiques au niveau de tous les autres gènes), Snell a établi que le rejet est déterminé par un système génétique transmis selon les lois mendéliennes qu'il appelle système d'histocompatibilité II ou H2.

En 1958, Dausset a montré qu'il existe à la surface des leucocytes humains des Ag semblables aux Ag H2 de la souris : les Ag HLA (*"HumanLeucocyteAntigens"*). Les Ag HLA comme les Ag H2 sont des

glycoprotéines codées par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC : ″Major Histocopatibility Complex″) : système HLA chez l'homme et système H2 chez la souris.

Complexe, parce que constitué d'un très grand nombre de gènes regroupés sur un court segment chromosomique.

Majeur, parce que en cas d'incompatibilité, le rejet de greffe est rapide avec production d'Ac spécifiques. Il existe d'autres systèmes d'histocompatibilité dits mineurs : en cas d'incompatibilité, le rejet est lent et sans production d'Ac.

Histocompatibilité, puisque intervient dans l'acceptation ou le refus des greffes allogéniques.

Pendant très longtemps, le complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH a été associé au rejet des greffes allogéniques. Ce n'est qu'à partir de 1974 avec les travaux de Zinkernagel et Doherty sur la restriction allogénique et la réponse cytotoxique des lymphocytes T qu'on a commencé à comprendre le véritable rôle physiologique du CMH : les gènes du CMH codent pour des glycoprotéines membranaires qui assurent la présentation de l'Ag aux lymphocytes T. Les molécules codées par les gènes du CMH jouent donc un rôle fondamental dans la réponse immunitaire spécifique au même titre que les Ig et le TCR comme en témoignent les rares cas de déficit immunitaire profond dû à un défaut d'expression des molécules HLA (*″Bare lymphocyte syndrome″* ou syndrome des lymphocytes dénudés).

On distingue 2 classes de molécules HLA différentes par leur structure, leur distribution cellulaire, leurs voies intracellulaires de biosynthèse, les gènes qui les gouvernent et le type de lymphocytes auxquels elles présentent l'Ag : HLA classe I : A, B et C ; HLA classe II : DR, DQ et DP.

II- Les molécules HLA classe I

1) Structure

Les molécules HLA classe I (A, B et C) sont composées chacune de 2 chaînes polypeptidiques, une chaîne lourde α transmembranaire de 43 KDa de

PM liée de façon non covalente mais avec une forte affinité à une chaîne légère extracellulaire de 12,5 KDa de PM, non glycosylée et monomorphe : la β2 microglobuline. Le polymorphisme des molécules HLA classe I est porté par la chaîne α dont la portion extracellulaire comporte 3 domaines : α1, α2 et α3. La β2 microglobulineaaussi, une structure endomaine (figure 1).

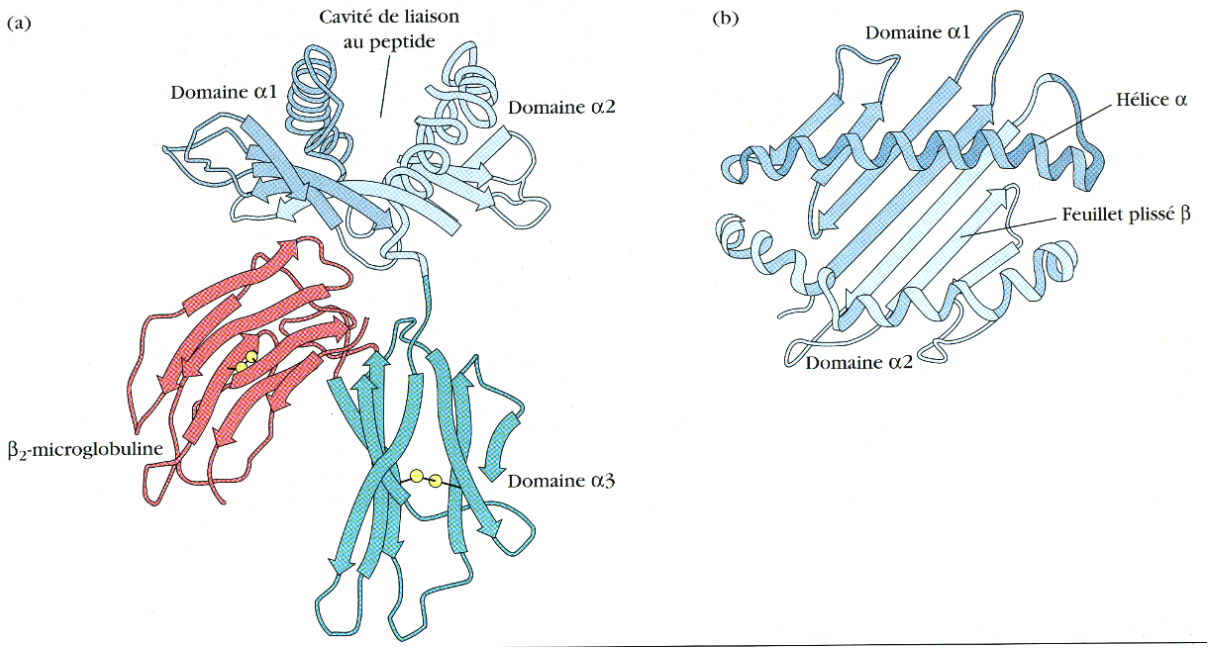


Figure 1 : Représentations de la structure tridimensionnelle des domaines externes d'une molécule de l'HLA humain d'après une analyse cristallographique par rayons X. (a) Vue latérale dans laquelle les brins β sont représentés sous la forme de flèches épaisses et les hélices α sous la forme de rubans en spirales. Les liaisons disulfure sont représentées par deux sphères interconnectées. Les domaines α1 et α2 interagissent pour former la cavité de liaison au peptide. Remarquer la structure en repliement immunoglobulinique du domaine α3 et de la β_2-microglobuline. (b) Les domaines α1 et α2 sont vus par le haut, ce qui montre la cavité de liaison au peptide constituée d'une base de brins β antiparallèles et de côtés formés d'hélices α. Dans les molécules de classe I, cette cavité peut recevoir des peptides contenant 8-10 résidus.

2) Distribution cellulaire

Les molécules HLA classe I sont exprimées à la surface de la quasi-totalité des cellules nucléées de l'organisme à l'exception des neurones, des spermatozoïdes, des cellules trophoblastiques et des tubules rénaux. Les molécules HLA classe I sont absentes aussi au niveau de l'os, du cartilage et de la cornée. Elles sont faiblement détectées sur les cellules endocrines, la muqueuse gastrique, le myocarde, le muscle strié et les hépatocyte. Les érythrocytes (cellules anucléées) n'expriment pas de molécules HLA I ; tandis que les plaquettes (proviennent de la défragmentation des mégacaryocytes, cellules nucléées) les expriment. L'expression quantitative varie selon le type cellulaire et le stade de différenciation. Elle peut être augmentée par

certaines cytokines notamment l'INFγet le TNFα. Elle peut être fortement diminuée dans le cas de certainscancers (les cellules cancéreuses échappent ainsi à l'action cytotoxique des lymphocytes TCD8$^+$).

3) voies intracellulaires de biosynthèse et partenaires antigéniques

Les molécules HLA classe I présentent des peptides du soi, normaux ou transformés (virus, cancer). Leur synthèse suit la voie de l'exocytose (figure 3).

La chaîne lourde α et la β2 microglobuline sont synthétisées et assemblées dans le réticulum endoplasmique. La protéine endogène ou d'origine virale est dégradée dans le cytosol par le protéasome dont 2 éléments, LMP2 et LMP7, sont codés dans le CMH. Le peptide antigéniqued'une dizaine d'acides aminés est acheminé du cytosol dans le réticulum endoplasmique grâce à des pompes à peptides codées par les gènes TAP1 et TAP2 intégrés eux aussi dans le CMH.

Le trio β2 microglobuline-chaîne lourde α-peptide antigénique formé dans le réticulum endoplasmique s'y associe successivement à diverses molécules chaperonnes (calnexine, calréticuline..) formant un complexe qui traverse l'appareil de Golgi (où la chaîne α est glycosylée) avant d'être exprimé à la surface de la cellule. Le peptide antigénique est logé dans une sorte de niche ou sillon au sommet des domaines α1 et α2 de la chaîneα.

4) Présentation de l'antigène

Les molécules HLA classe I présentent l'Ag aux lymphocytes T CD8$^+$. Le TCR (hétéro-dimèreα/β ou γ/δ) reconnaît à la fois le peptide antigénique et une région polymorphe des domaines α1 et α2 de la molécule HLA classe I. CD8 se lie à une région monomorphe du domaine α3. Les lymphocytes TCD8$^+$ correspondent en grande partie à des lymphocytes T cytotoxiques ou CTL.

III- Les molécules HLA classe II

1) Structure

Les molécules HLA classe II (DR, DQ et DP) sont composées chacune de 2 chaînes polypeptidiques transmembranaires glycosylées et polymorphes, une chaîne α de 31 à 34 KDa de PM et une chaîne β de 26 à 29 KDa de PM.

Comme les molécules HLA classe I, les molécules HLA classe II ont une structure en domaine et font partie de la superfamille des Ig. La région extracellulaire de chacune des chaînes α et β est formée de 2 domaines α1 et α2 pour la chaîne α, β1 et β2 pour la chaîne β. La chaîne β est globalement plus polymorphe que la chaîne α (figure 2).

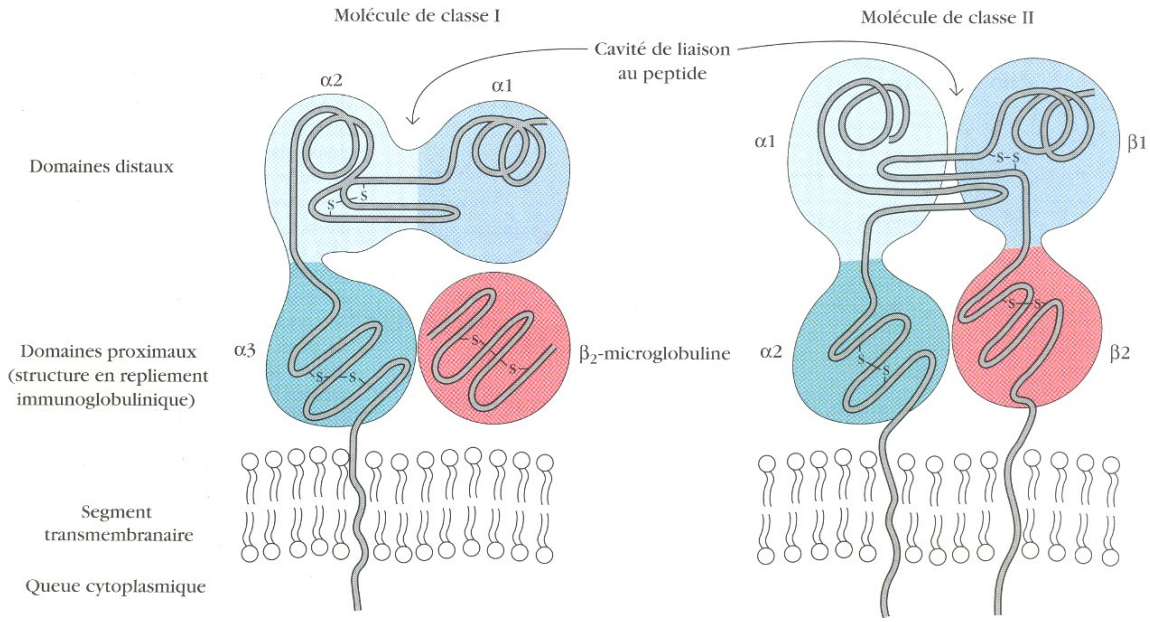


Figure 2 : présentations schématiques des molécules de classe I ou de classe II du CMH, montrant les domaines externes, le segment transmembranaire et la queue cytoplasmique. La cavité de liaison au peptide est formée par les domaines distaux des molécules de classe I ou de classe II. Les domaines proximaux possèdent la structure de base du repliement immunoglobulinique ; ainsi, les molécules de classe I ou de classe II du CMH sont considérées comme des membres de la superfamille des immunoglobulines.

2) Distribution cellulaire

Les molécules HLA classe II ont une distribution cellulaire restreinte aux cellules dites présentatrices d'Ag :

- Les monocytes-macrophages
- Les cellules dendritiques
- Les lymphocytes B
- Les lymphocytes T activés
- Les cellules épithéliales thymiques

Les monocytes et les macrophages tissulaires n'expriment de forts taux de molécules HLA classe II qu'après avoir réagi avec l'Ag et été activés par les cytokines produites par les lymphocytes T helper.

L'expression des molécules HLA classe II peut être induite et/ou augmentée par certaines cytokines notamment l'INFγ et le TNFα. Une expression aberrante des molécules HLA classe II est observée dans certaines maladies auto-immunes au niveau de l'organe atteint.

3) Voies intracellulaires de biosynthèse et partenaires antigéniques

Les molécules HLA classe II présentent des peptides antigéniques d'origine exogène (bactérie, toxine...). Leur synthèse suit la voie de l'endocytose (figure 3).

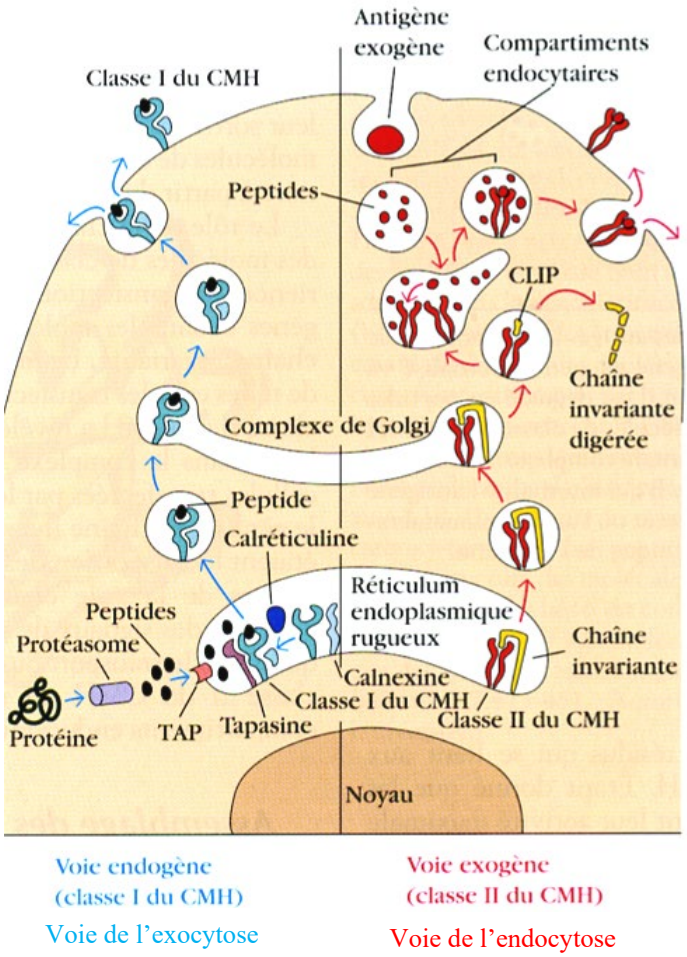


Figure 3 : Modèle des voies séparées de présentation de l'antigène pour des antigènes endogènes (vert) ou exogènes (rouge). Le mode d'entrée de l'antigène dans les cellules et le site d'apprêtement de l'antigène semblent déterminer l'association des peptides antigéniques et des molécules de classe I du CMH dans le réticulum endoplasmique rugueux, ou des molécules de classe II dans les compartiments endocytaires.

Les chaînes α et β sont synthétisées et assemblées dans le réticulum endoplasmique où elles se lient à la chaîne invariante li : une chaîne polypeptidique de 31 KDa de PM qui empêche la fixation de peptides endogènes.

Le trimère α-β-li est transporté à travers l'appareil de Golgi vers un endolysosome contenant des protéines endocytées par la cellule. Dans le compartiment endolysosomial à pH acide, la chaîne invariante est dissociée et dégradée, ce qui permet l'association d'un peptide antigénique de 13 à 17 acides aminés provenant de la dégradation partielle d'une protéine exogène endocytée. Le complexe α-β-peptide antigénique est exprimé à la surface cellulaire.

4) Présentation de l'antigène

Les molécules HLA classe II présentent l'Ag aux lymphocytes T $CD4^+$. Le TCR reconnaît en même temps le peptide antigénique et une zone variable des domaines N-terminaux α1 et β1 de la molécule HLA classe II ; CD4 interagit avec une région monomorphe du domaine β2 ($2^{ème}$ domaine de la chaîne β de la molécule HLA classe II).

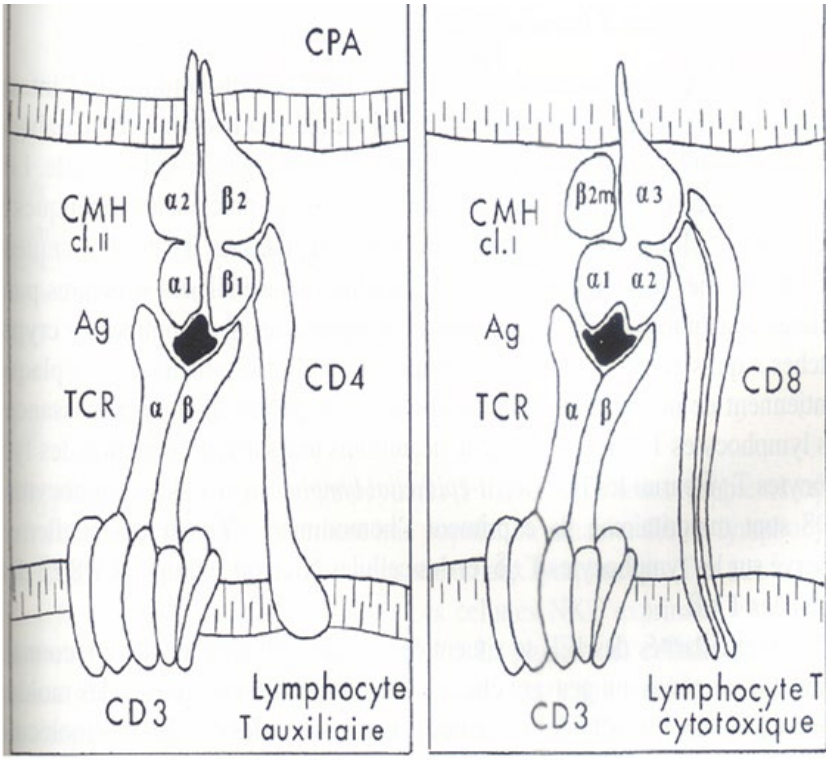


Figure 2 : Reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T
L'antigène (Ag) associé à des molécules de présentation, les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité ou CMH, est reconnu par les lymphocytes T CD4 (molécules du CMH de classe II) ou T CD8 (molécules de classe I).

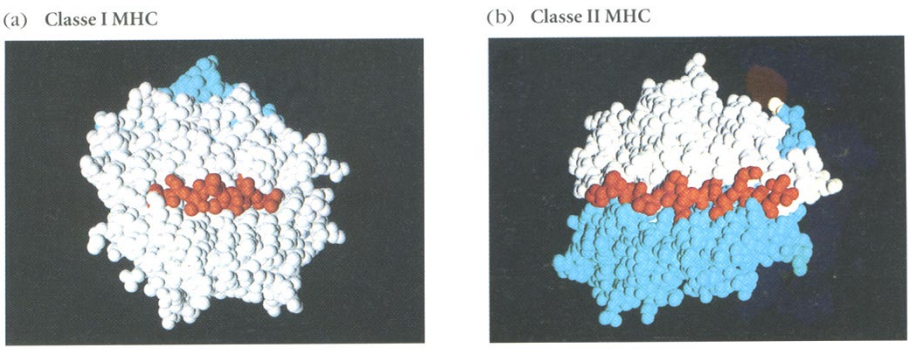


FIGURE 7.10 Molécules de classe I et molécules de classe II du CMH liées à des peptides. (a) Modèle compact d'une molécule de classe I humaine HLA-A2 (blanc) et d'un peptide (brun) venant de la transcriptase inverse de l'HIV (résidus amino acides 309-317) dans la cavité de liaison. La β_2-microglobuline est représentée en bleu, les séquences au-dessus du peptide appartiennent au domaine α1, celles qui sont en-dessous appartiennent au domaine α2. (b) Modèle compact d'une molécule de classe II humaine HLA-DR1 avec la chaîne DRα représentée en blanc et la chaîne DRβ en bleu. Le peptide (brun) dans la cavité de liaison vient de l'hémagglutinine de la grippe (résidus amino acide 306-318). [D'après DA Vignali et J Strominger, 1994, *The Immunologist* 2:112.]

IV- Les gènes du système HLA

1) Organisation génétique de la région HLA

Les gènes du système HLA sont regroupés sur un segment chromosomique de 4000 kb (kilobases) environ appelé région HLA et porté par le bras court du chromosome 6 (figure 4). Seules la β2-microglobuline et la chaîne invariante Ii sont codées en dehors de cette région HLA par des gènes portés respectivement par les chromosomes 15 et 5 chez l'homme. La région chromosomique HLA est subdivisée en 3 sous-régions :

-en position télomérique, la sous-région HLA classe I s'étend sur 2000 kb environ

-en position centromérique,la sous-région HLA classe II s'étend sur 1000 kb ≈

-entre les deux, la sous-région HLA classe III qui s'étend sur 1000 kb environ et comporte, entre autres, les gènes C4A, C4B, BF et C2 du complément, les gènes TNF-A et TNF-B codant pour les TNF αet β, les gènes Cyp-21A et B codant pour la 21-hydroxylase, le gène de la HSP70 (″Heat Shock Protein″).

La sous-région HLA classe I comprend les gènes A, B et C codant pour la chaîne α des molécules HLA classe I-A, B et C.

La sous-région HLA classe II comprend les gènes DRA, DRB, DQA, DQB, DPA et DPB codant pour les chaînes α et β des molécules HLA classe II-

DR, DQ et DP.

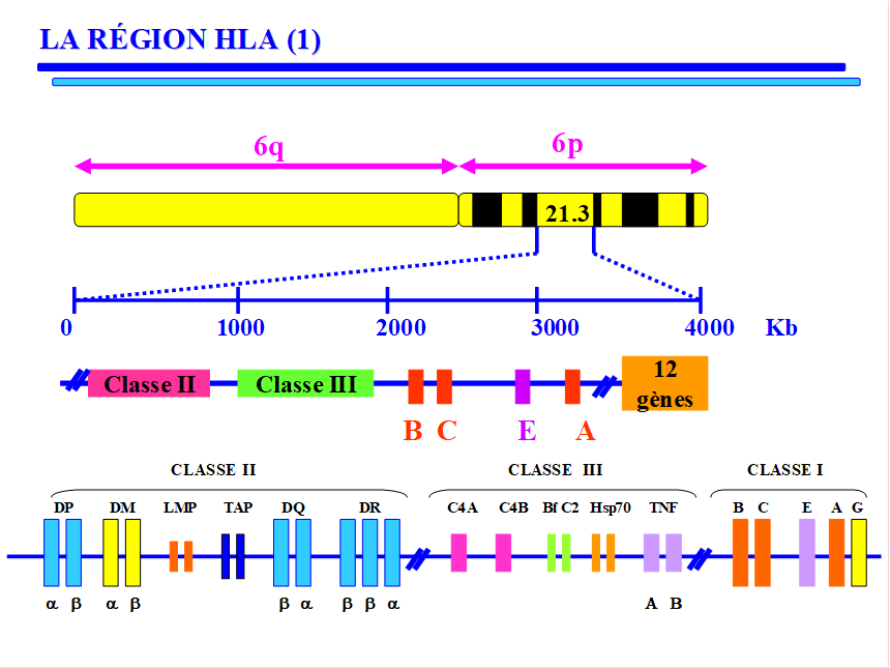


Figure : Représentation schématique de l'organisation génétique de la région HLA

Les gènes HLA classe I et classe II ont une structure en exons (séquences codantes) séparés par des introns (séquences non codantes) qui reflète la structure en domaines des chaînes polypeptidiques.

Les gènes TAP1, TAP2, LMP2 et LMP7 sont inclus dans la sous-région HLA classe II.

A côté des gènes A, B, C, DR, DQ et DP codant pour des molécules HLA classiques, la région HLA comporte d'autres gènes de classe I : E, F, G, H... et de classe II : DN, DO... codant pour des molécules HLA dites non classiques de signification encore mal connue.

De plus, la région HLA est caractérisée par l'existence de très nombreux pseudo-gènes et gènes non transcrits.

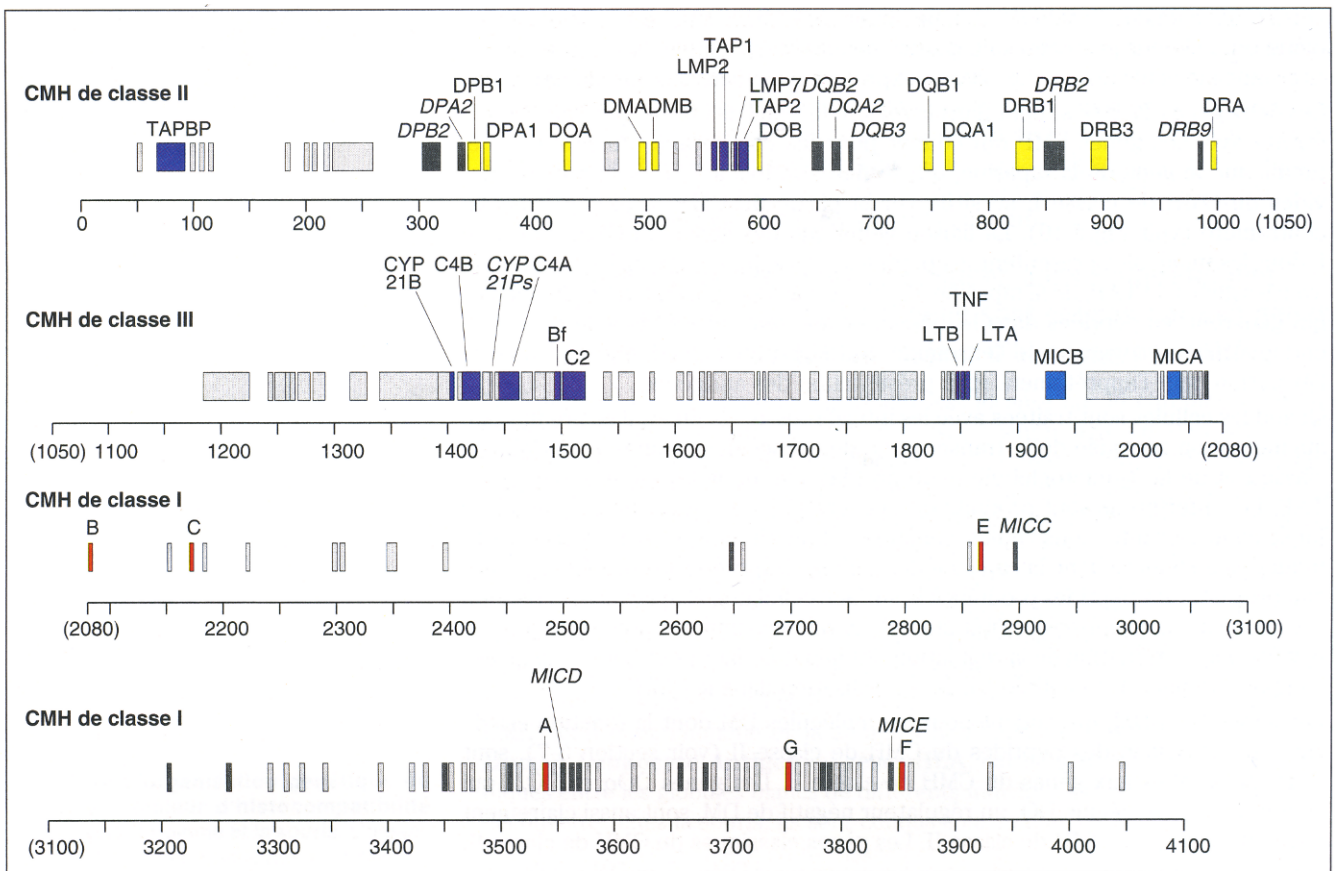


Figure 4 : Carte détaillée du CMH humain. L'organisation des régions du CMH humain de classe I, de classe II et de classe III du CMH humain est illustrée, avec des distances génétiques approximatives données en milliers de paires de base (kb). La plupart des gènes des régions de classe I et de classe II sont mentionnés dans le texte. Les gènes supplémentaires indiqués dans les régions de classe I (par exemple E, F et G) sont des gènes de type classe I, codant pour les molécules de classe IB ; les gènes supplémentaires de classe II sont des pseudogènes. Les gènes représentés dans la région de classe III codent les protéines du complément C4 (deux gènes, notés C4A et C4B), C2 et le facteur B (noté Bf) aussi bien que des gènes qui codent pour le facteur-α de nécrose tumorale (TNF) et les lymphotoxines (LTA, LTB). Le gène codant la 21-hydroxylase (noté CYP 21B), une enzyme impliquée dans la synthèse des stéroïdes, est étroitement lié aux gènes C4. Les gènes notés en italiques et grisés sont des pseudogènes. Les gènes du CMH de classe I sont en rouge, excepté les gènes MIC, colorés en bleu ; ils sont distincts des autres gènes de type classe I et sont soumis à des contrôles transcriptionnels différents. Les gènes du CMH de classe II sont en jaune. Les gènes dans la région du CMH de classe II qui ont des fonctions immunes sans relation avec les gènes du CMH de classe I et de classe II sont colorés en violet.

2) Polymorphisme génétique du système HLA

Une des caractéristiques majeures du système HLA est son extraordinaire polymorphisme génétique. Il est ainsi exceptionnel voire impossible de trouver deux sujets non apparentés qui soient strictement identiques au niveau de tous leurs gènes HLA (figure 4).

Le polymorphisme commence au niveau isotypique (duplication des gènes) puisque les molécules HLA sont codées (au niveau de chaque chromosome 6) par pas moins de 3 gènes (3 loci) pour la classe I et 3 paires de gènes pour la classe II. Mais c'est aussi et surtout au niveau allotypique ou allélique que ce polymorphisme est le plus largement exprimé avec un nombre d'allèles extraordinairement élevé

pour chacun des loci (plus de 5000 allèles pour HLA-A et plus de 7000 allèlespour HLA-B et plus de 2000 pour HLA DR..).

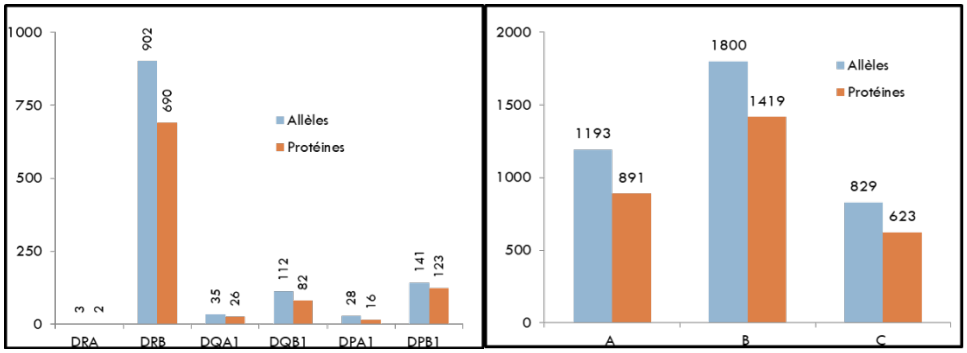


Figure5 : Polymorphisme allélique (gènes HLA) et allotypique (molecules HLA) du système HLA(d'après: IMGT/HLA Database, Juillet 2010)

Ainsi et avec 9 loci (gènes) sur chaque chromos 6 et des dizaines, centaines voire milliers d'allèles pour chacun de ces gènes, le nombre de combinaisonspossibles d'allèles HLAsur chaquechromose 6 (haplotypes différents) devient extraordinairement élevé: de l'ordre de 2,5 x 10^{19} avec le nombre d'allèles identifiés jusqu'à 2010 (figure 5), sachant que chaque année de nombreux nouveaux allèles sont découverts.

Au polymorphisme allélique et isotypique, s'ajoute un polymorphisme haplotypiqueau niveau de la sous-région DR. Cette dernière comporte, en effet, un gène DRA monomorphe codant pour la chaîne DRα et un gène DRB1 codant pour une chaîne DRβ exprimé seul ou associé à un autre gène DRB fonctionnel (DRB-3, 4 ou 5) et/ou à un ou plusieurs pseudo-gènes DRB (DRB-2, 6, 7, 8 et 9). On a ainsi identifié 5 groupes haplotypiques DR.

Ce polymorphisme génétique du système HLA est prolongé au niveau biochimique par les complémentations possibles en cis (ex : chaîne α de DR et chaîne β de DQ produites par le même chromosome) ou en trans (chaîne α produite par un chromosome et chaîne β produite par le chromosome homologue) générant des molécules HLA hybrides.

3) Transmission et expression des gènes HLA

La transmission des gènes HLA de parents à enfants se fait en bloc dans 99 % des cas : le pourcentage de recombinaison est de 1 %.

Leur expression se fait de façon co-dominante : pour chaque locus, les 2 gènes allèles portés par chacun des deux chromosomes 6 homologues s'expriment.

4) Notion de déséquilibre de liaison

Certains allèles d'un locus sont associés préférentiellement et bien plus souvent que ne le voudrait le simple hasard à certains allèles d'un autre locus. La fréquence de l'association des 2 allèles chez un même individu est ainsi supérieure au produit p x q de leurs fréquences géniques respectives.

Ex : A1 - B8, A3 - B7, B8 - DR3, B7 - DR2

Fonctions du système HLA

1) Présentation de l'Ag aux lymphocytes T

Les molécules HLA jouent un rôle fondamental dans la réponse immunitaire spécifique en assurant la présentation de l'Ag au récepteur TCR des lymphocytes T. Les molécules HLA classe I présentent l'Ag aux lymphocytes $TCD8^+$, tandis que les molécules HLA classe II présentent l'Ag aux lymphocytes $TCD4^+$.

Les lymphocytes T ne reconnaissent l'Ag que lorsqu'il est présenté par des cellules exprimant les mêmes molécules HLA (lymphocytes T et cellules présentatrices provenant du même sujet ou de deux sujets ayant le même hapolotype HLA) : c'est la restriction allogénique.

2) Sélection du répertoire des lymphocytes T

Lors de la différenciation intra-thymique des lymphocytes T, les réarrangements aléatoires des gènes du TCR produisent une grande variété de thymocytes exprimant divers types de TCR : des TCR reconnaissant les Ag du soi et des TCR reconnaissant les allo-Ag et autres Ag étranger, des TCR reconnaissant l'Ag dans le contexte de molécules HLA étrangères et des TCR reconnaissant l'Ag dans le contexte de molécules HLA du soi. Seuls les thymocytes exprimant un TCR reconnaissant l'Ag dans le contexte d'une molécule HLA du soi sont sélectionnés

positivement (leur prolifération est favorisée). Non sélectionnées, les autres cellules (thymocytes exprimant un TCR non fonctionnel ou reconnaissant l'Ag en association avec une molécule HLA étrangère) meurent par apoptose. Parmi les cellules sélectionnées positivement, celles dont le TCR réagit avec une forte affinité avec une molécule HLA du soi et/ou un auto-Ag exprimé dans le thymus subissent une sélection négative (elles sont éliminées).

La sélection intra-thymique du répertoire des lymphocytes T permet ainsi l'obtention de lymphocytes T matures pouvant faire la distinction entre le soi et le non-soi (tolérance) et reconnaissant l'Ag dans le contexte de molécules HLA du soi (restriction allogénique). Les molécules HLA jouent un rôle central dans cette sélection (figure 5).

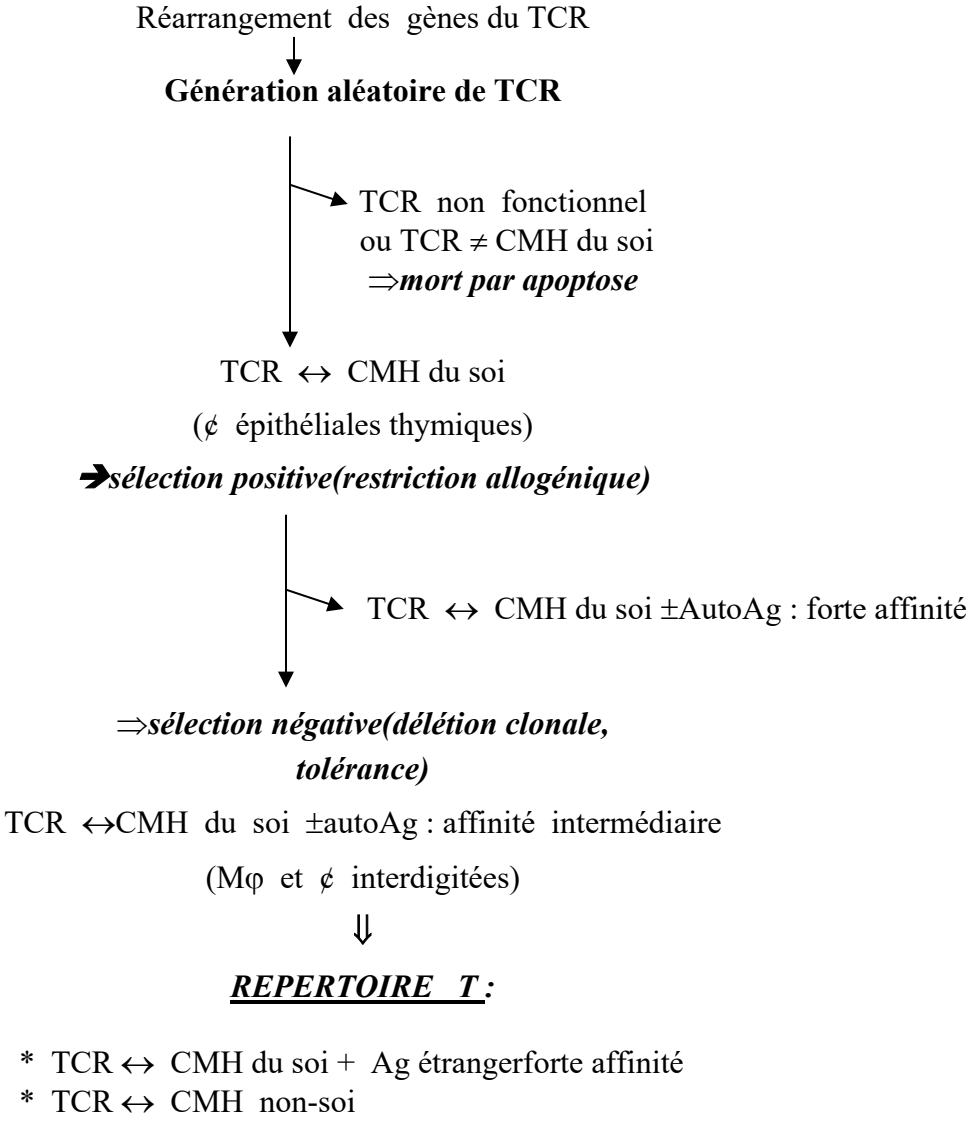


Figure 5 : Sélection intra-thymique du répertoire des lymphocytes T

« Le thymus ignore ce qui est inutile, sélectionne ce qui est utileet détruit ce qui est dangereux » (V. Bohmer).

3) Contrôle génétique de la réponse immunitaire

Il est maintenant bien établi que les gènes Ir (*"Immune response"*) initialement décrits par Benacerraf et Mac Devit chez la souris, correspondent aux gènes classe II du CMH. Pour un peptide antigénique donné, les sujets qui ont dans leurs gènes HLA classe II la combinaison qui permet d'avoir une molécule capable de fixer le peptide antigénique concerné pour le présenter aux lymphocytes Th spécifiques répondront vigoureusement à cet Ag en produisant des Ac et en développant une hypersensibilité retardée. A l'inverse, les sujets qui n'ont pas parmi leurs gènes HLA la combinaison qui permet d'avoir une molécule qui fixe le peptide antigénique concerné, ne peuvent pas répondre à ce peptide même s'ils ont les lymphocytes T avec le TCR adéquat. La conception de vaccins composés de peptides doit tenir compte de ce contrôle par les gènes HLA de la réponse immunitaire. Une des difficultés à surmonter est l'opposition entre le caractère individuel de la réponse immunitaire, dépendant du phénotype HLA, et l'obligation pour le vaccin d'être applicable à toute la population.

V- Applications en médecine et en génétique des populations

1) Transplantation d'organes

La compatibilité HLA entre donneur et receveur d'une transplantation est un élément important de son succès. Le rejet des greffes est contrôlé par le CMH responsable d'un rejet rapide avec production d'Ac, et par de nombreux Ag mineurs qui provoquent un rejet plus lent et sans production d'Ac.

2) Association HLA-maladies

Certaines maladies sont liées au système HLA parce que le gène responsable est hébergé dans la région HLA. C'est le cas de l'hémochromatose idiopathique, de l'insuffisance surrénale congénitale par déficit en 21-hydroxylase (21-OH), et des déficits des fractions C2 et C4 du complément.

De très nombreuses maladies auto-immunes sont associées à un ou plusieurs allèles HLA. L'allèle en question est retrouvé chez les malades avec une fréquence bien plus élevée que dans la population générale. Ainsi, la spondylarthrite ankylosante

est associée à l'allèle HLA B27 avec un risque relatif de 88, la maladie coeliaque est associée à DQ2 avec un risque relatif de 60...

3) Exclusion de paternité

En médecine légale, les études de paternité sont basées principalement sur l'analyse des groupes sanguins et de l'haplotype HLA. Les gènes HLA étant transmis en bloc selon un mode autosomique co-dominant avec un pourcentage de recombinaison de 1 % seulement, le typage HLA du père présumé, de la mère et de l'enfant permet en cas de discordance de rejeter la paternité, sinon, c'est le recours à l'analyse de l'ADN qui permet généralement d'avoir une réponse claire

4) Génétique des populations

Le polymorphisme du système HLA est un outil extrêmement puissant pour l'étude de la génétique des populations humaines.

LES CYTOKINES

Dr Arwa KAMOUN

Dr SawsenFeki

Pr Hafedh MAKNI

Objectifs éducationnels

1. Définir les cytokines et leur fonction générale
2. Connaitre les principales caractéristiques moléculaires et fonctionnelles des cytokines
3. Préciser la classification fonctionnelle des cytokines
4. Expliquer le rôle des cytokines dans l'immunité innée et l'immunité spécifique
5. Déterminer l'intérêt des cytokines en pathologie humaine

I- Introduction

Les réponses immunitaires résultent de la coopération entre des populations cellulaires distinctes (lymphocytes T, lymphocytes B, macrophages...). Ces cellules communiquent entre elles par 2 mécanismes principaux :

- L'interaction spécifique entre des molécules complémentaires des membranes cellulaires (CD2/LFA-3, LFA-1/ICAM-1, B7/CD28, CD40/CD40L).
- La mise en jeu de molécules solubles telles que les hormones, les leucotriènes et prostaglandines, les anaphylatoxines du système du complément, mais aussi et surtout un ensemble de médiateurs solubles appelés cytokines.

Les cytokines sont des protéines, le plus souvent glycosylées, dont la synthèse est souvent inductible (principalement en réponse à un signal activateur). Elles agissent souvent en un très court rayon d'action autour de la cellule qui les sécrète.Elles activent ou modifient le comportement des cellules cibles après interaction avec des récepteurs de surface spécifiques.

Actuellement, plus de 50 cytokines sont décrites.

II- Caractéristiques générales

1- Caractéristiques moléculaires

a. Caractéristiques biochimiques

Les cytokines sont de petites protéines, le plus souvent glycosylées, dontlepoids moléculaire (PM) est compris entre 15 et 50 KDa, à l'exception de la famille des chimiokines dont le PM est de 8KDa seulement.

Généralement, les cytokines agissent sous forme de monomère, quelques rares cytokines présentent une forme active dimérique (IL-5) ou trimérique (TNF).

b. Formes moléculaires

La majorité des cytokines sont sécrétées dès la fin de leur synthèse aboutissant à la libération de la forme soluble ; à l'exception de l'IL-1 et du TNFqui peuvent être stockés dans la cellule sous forme d'un précurseur et être exprimés à la membrane.

2- Sources cellulaires

Les cellules productrices sont extrêmement variées. Les sources cellulaires principales sont les leucocytes, particulièrement les lymphocytes $TCD4^+$ et les monocytes-macrophages.

Chaque type cellulaire peut produire différentes cytokines, et une même cytokine peut être produite par différents types cellulaires.

3- Production

Les cytokines sont produites en réponse à un signal d'activation cellulaire, en petite quantité et de façon transitoire à l'exceptions des cellules stromalesde la moelle osseuse et du thymusqui contrôlent le développement des cellules hématopoïétiques etdes mastocytes qui accumulent le TNFα dans leurs granules cytoplasmiques.

Parmi les signaux inducteurs de la production des cytokines, les cytokines elles-mêmes tiennent une place importante, ainsi, elles sont le plus souvent produites en cascade (figure 1).

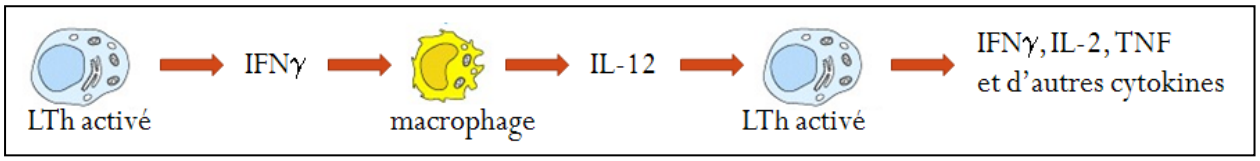


Figure 1 : Cytokines : Production en cascade

Les cytokines fonctionnent donc en réseau et agissent en boucles : il s'agit de boucles d'amplification de leur production ou au contraire de boucles rétroactives d'inhibition de leur synthèse.

Les cytokines agissent sur des cellules pré-activées, ceci permet de préserver la spécificité de la réponse immunitaire à l'Ag stimulant.

La production est faible pour la majorité des cytokines qui agissent à des doses pharmacologiques dans l'environnement immédiat, sur les cellules avoisinantes.

Les cytokines pro-inflammatoires sont produites en abondance sous l'influence de systèmes d'amplification.

4- Modes d'action

On décrit 3 modes d'action des cytokines (figure 2) :

– Activité autocrine : lorsque la cytokine agit sur la cellule productrice elle-même, c'est le cas de l'IL2 produit par les lymphocytes T.

– Activité paracrine : lorsque la cytokine agit localement sur un autre type cellulaire que la cellule productrice (toutes les cytokines).

– Activité endocrine : lorsque la cytokine agit à distance sur sa cellule cible (cytokines inflammatoires).

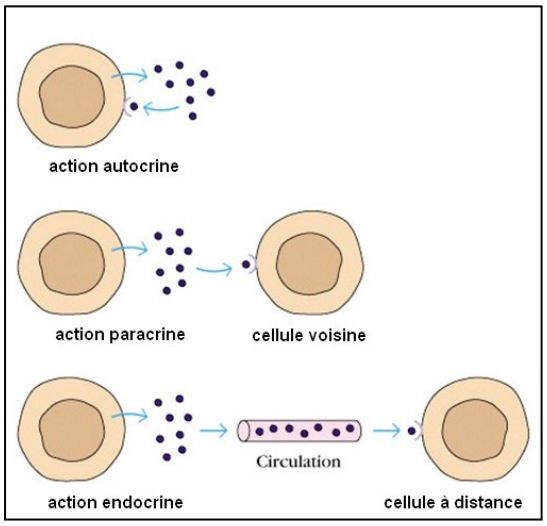


Figure 2 : Cytokines : Modes d'action

5- Pléitropie / Redondance/ Synergie/ Antagonisme

a. Pléitropie

C'est la propriété d'avoir des activités biologiques variées sur plusieurs types de cellules. Elle s'explique par le fait que plusieurs types cellulaires possèdent des récepteurs spécifiques pour une même cytokine (Figure 3).

b. Redondance

C'est le fait qu'une activité biologique donnée peut résulter de l'effet de cytokines distinctes (figure 3).

c. Synergie

Les effets combinés de 2 cytokines sont supérieurs à la somme de leurs effets individuels séparés.

d. Antagonisme

La capacité d'une cytokine d'inhiber un effet biologique (Figure 4).

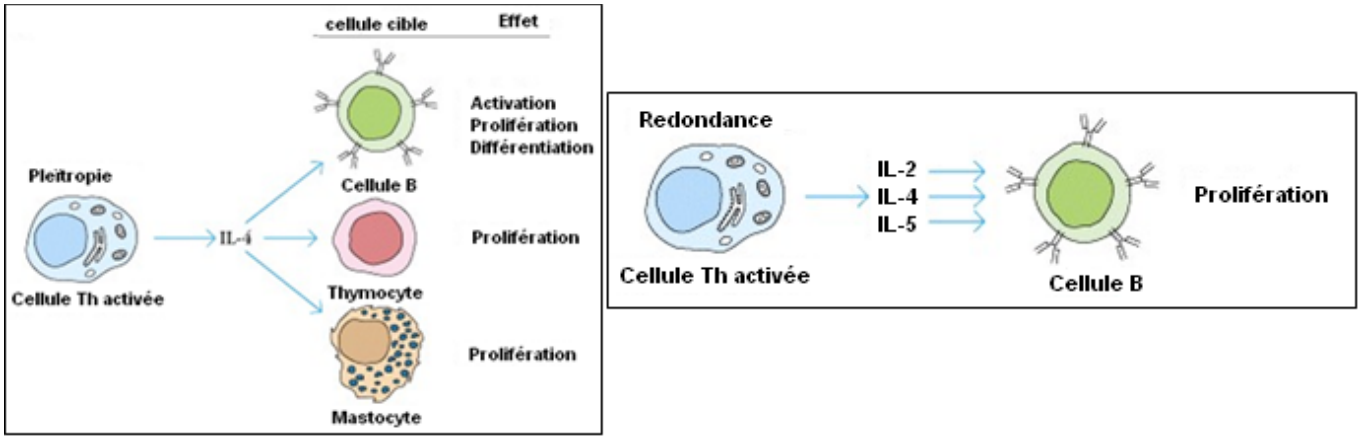


Figure 3 : Pléiotropie et redondance des cytokines

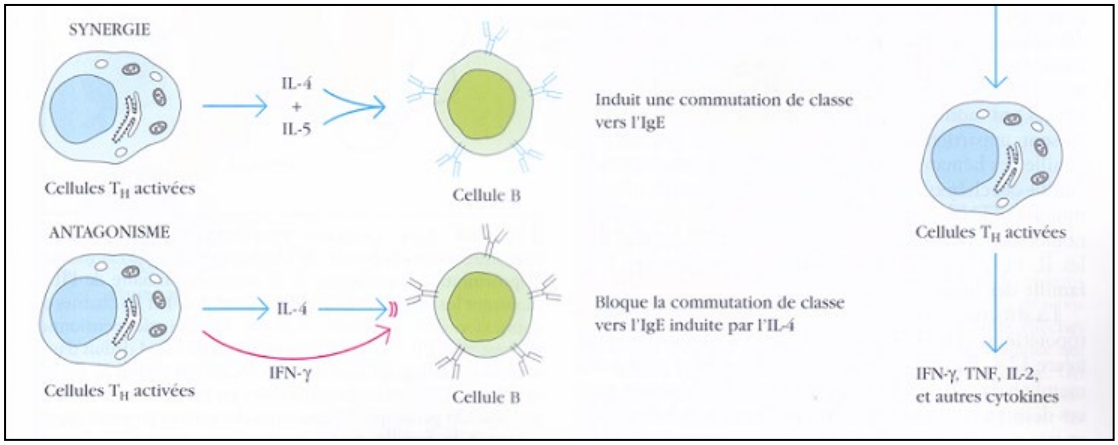


Figure 4 : Synergie et antagonisme des cytokines

III- Classification fonctionnelle des cytokines

Les cytokines sont impliquées dans la régulation des principales fonctions cellulaires.

La liaison d'une cytokine à son récepteur peut entraîner différents types de réponse selon la cellule, son degré d'activation et son degré de différenciation.

Les cytokines peuvent être classées en fonction de la réponse dans laquelle elles sont impliquées :

— Les cytokines de l'immunité innée et de la réaction inflammatoire
— Les cytokines de l'hématopoïèse
— Les cytokines de l'immunité spécifique

1- Cytokines de l'immunité innée et de la réaction inflammatoire

Les cytokines pro-inflammatoires sont : TNFα, IL-1, IL-6.

a. Les TNF oufacteurs de nécrose tumorale

Deux TNF (″Tumor Necrosis Factor″) ont été décrits : le TNFα(ou cachectine) et le TNFβ(ou lymphotoxine).

Les TNF existent sous 2 formes : membranaire et soluble (après clivage enzymatique de la forme membranaire).

Le TNFαest la première cytokine libérée lors d'une réaction inflammatoire.

Les propriétés biologiques du TNFα sont multiples :

— Il augmente l'adhésion des leucocytes aux endothéliums vasculaires
— Il active les neutrophiles et costimule les lymphocytes T et B.
— Il stimule les monocytes/Mφ pour leur faire sécréter d'autres cytokines

A plus fortes doses, et après passage dans le sang :

— Il entraîne la fièvre (par les prostaglandines synthétisées par les cellules hypothalamiques),
— Il augmente la sécrétion de l'IL1 et d'IL6 dans la circulation,

— Il induit la synthèse des protéines de la phase aiguë de l'inflammation dont la CRP (″C Reactive Protein″),

— Il active le système de la coagulation,

— Au cours des maladies inflammatoires chroniques ou néoplasiques, il est responsable de la cachexie. En cas de septicémie à germes gram négatif, il est responsable du choc septique.

— Une activité biologique majeure est celle de provoquer la lyse des cellules tumorales.

b. L'interleukine 1

L'IL-1 joue un rôle essentiel dans la réaction inflammatoire et dans l'induction des réponses immunitaires spécifiques (figure 5). C'est un signal co-activateur des lymphocytes T.

C'est aussi un puissant inducteur de la sécrétion de l'IL-6.

Une molécule antagoniste du récepteur est connue pour l'IL-1 : IL-1ra (″receptor-antagonist). Elle est produite par les monocytes et les cellules endothéliales quelques heures après la sécrétion d'IL-1. Elle se fixe sur le même récepteur que l'IL-1, et bloque ainsi par compétition la fixation de l'IL-1.

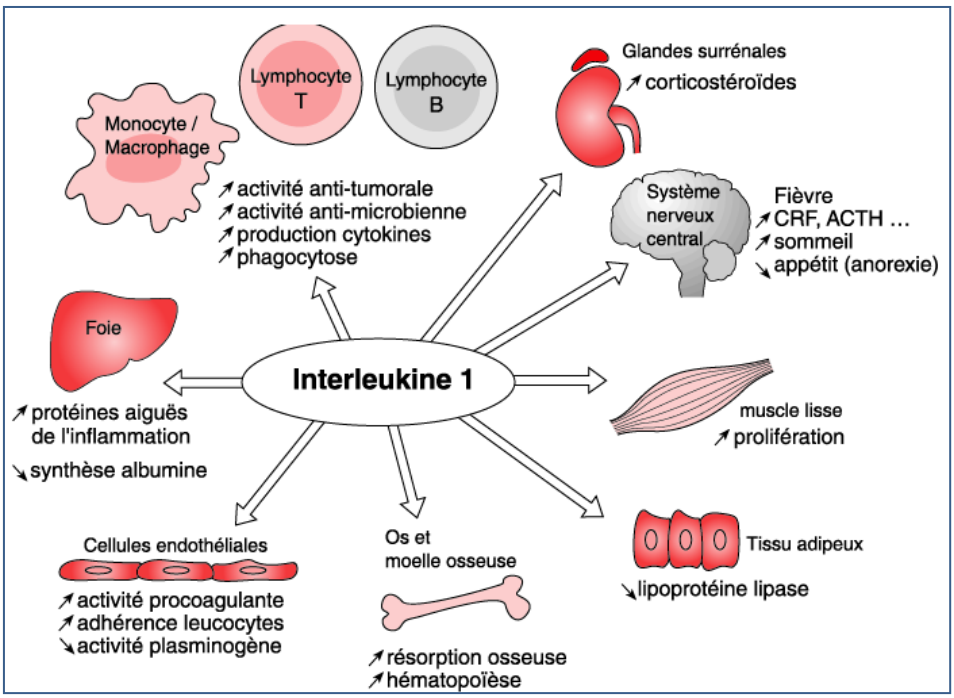


Figure 5 : Activités biologiques de l'interleukine 1

c. L'interleukine 6

IL-1 et TNF sont des inducteurs puissants de la sécrétion d'IL-6.

L'IL-6est le principal inducteur des protéines de la phase aiguë de l'inflammation.

Elle a un rôle pyrogène.

C'est aussi un facteur de différenciation terminale des lymphocytes B.

Elle active les lymphocytes T et intervient dans l'activation des stades précoces de l'hématopoïèse.

d. Les chémokines

C'est un ensemble de cytokines de faible PM (8 à 10 KDa). Elles sont définies par leur capacité à activer les leucocytes et surtout les recruter (c'est à dire à induire leur migration active) vers le site de sécrétion des cytokines : c'est le chimiotactisme.Elles exercent cette fonction par liaison à des récepteurs spécifiques exprimés par les cellules.

La classification des chémokines est basée sur leur séquence d'acides aminés, on distingue ainsi les αchémokines et les β chémokines.

— α chémokines : Le chef de file est l'IL-8 qui est chimiotactique vis-à-vis des neutrophiles. Elle est produite principalement par les monocytes/Mφ.

Lors d'une réaction inflammatoire induite par le LPS (lipopolysaccharide), on observe successivement la production de TNFα, d'IL-1 puis d'IL-6 et d'IL-8. Le TNFαjoue un rôle déterminant dans cette cascade, puisque l'administration d'Ac anti-TNFα entraîne un blocage de la synthèse des autres cytokines (figure 6).

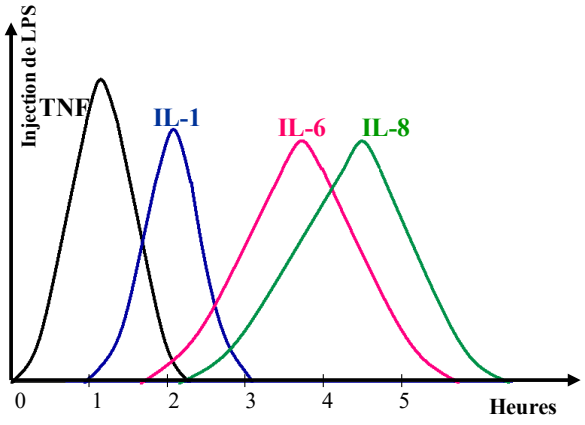


Figure 6 : TNF α et cascade des cytokines de l'inflammation

— βchémokines : les βchémokines exercent leur pouvoir attractif vis-à-vis de nombreuses cellules.

e. Les interférons

Les interférons sont des cytokines qui ont en commun leur action antivirale par blocage de la traduction des ARNm viraux.
Chez l'Homme, deux types d'IFN sont connus.

— Les IFN type I regroupent l'IFNα et l'IFNβ qui partagent le même récepteur.

Les IFN type I possèdent une action antivirale et antiproliférative. De plus, ils augmentent l'expression des molécules HLA classe I, préparant ainsi les cellules à l'action des lymphocytes T cytotoxiques (Tc).
L'IFNαpossède un rôle anti-tumoral (anti-cancéreux), et de ce fait il est utilisé dans le traitement de certains cancers.

— Les IFN type II sont représentés par l'IFNγ,ce dernier est produit par les lymphocytes T et les cellules NK. Le récepteur de l'IFNγ est différent de celui des IFN type I.

L'IFNγ possède une faible activité antivirale. Il augmente l'expression cellulaire des molécules HLA classe I, et induit l'expression des molécules HLA classe II sur certaines cellules. Il augmente les capacités cytotoxiques des macrophages, des lymphocytes T et des cellules NK.

f. L'interleukine 12

L'IL-12 est essentiellement produite par les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques en réponse aux bactéries et parasites intracellulaires et au LPS.
Elle joue un rôle essentiel dans l'induction des réponses Th1 et l'inhibition des réponses Th2. C'est un stimulant global de l'immunité à médiation cellulaire.

g. Facteurs de croissance

Ce groupe renferme de nombreuses molécules telles que le PDGF (facteur de croissance dérivé des plaquettes), l'EC-PDGF (facteur de croissance des cellules endothéliales) et le FGF (facteur de croissance des fibroblastes).

Le TGF β (″transforminggrowth factor β″) est l'exemple type d'une cytokine anti-inflammatoire,il joue un rôle important dans la suppression des réactions immunitaires :

- stimule l'angiogenèse et la synthèse des composants de la matrice extracellulaire,
- inhibe l'activation des lymphocytes T, des macrophages et des cellules NK,
- inhibe l'expression des molécules HLA classe II.

2- Cytokines de l'hématopoïèse

Il s'agit des CSF ou ″colonystimulatingfactors″ qui contrôlent la différentiationet la maturation des cellules souches hématopoïétiques aussi bien dans la moelle osseuse et le thymus qu'en périphérie.

a. Interleukine 3

L'IL-3 ou multi-CSF :intervient dans le développement des lignées érythrocytaire, mégacaryocytaire et myélomonocytaire. Elle stimule également la différenciation des basophiles et des monocytes.

b. Interleukine 7

L'IL-7 est produite par les cellules du stroma médullaire et thymique.

Elle participe à la lymphopoïèse en induisant la prolifération des cellules pré-B et pré-T.

c. Interleukine 5

L'IL-5 est un facteur de croissance des éosinophiles.

d. Interleukine 4

L'IL-4 stimule la croissance et la différenciation des mastocytes et des PNB.

Elle stimule aussi la prolifération des lymphocytes B activés.

e. CSF

Les facteurs stimulant les colonies (CSF) sont au nombre de 3 :

– GM-CSF : stimule la prolifération des précurseurs des monocytes et des granulocytes (PNN) et active les monocytes.

– G-CSF : est le facteur de croissance des PNN (granulocytes)

– M-CSF : est le facteur de croissance des monocytes

f. EPO

L'érythropoïétine est produite par les cellules péri-tubulaires des reins. Elle active l'érythropoïèse. Son absence explique l'anémie des insuffisants rénaux terminaux.

3- Cytokines de l'immunité spécifique

Les cytokines produites par les lymphocytes T auxiliaires ou helper $CD4^+$ jouent un rôle important pour orienter la réponse immune vers l'immunité humorale ou l'immunité à médiation cellulaire.

On distingue différentes sous populations de lymphocytes Thelper (Th) (Figure 7) qui représentent le stade ultime de la différentiation du lymphocyte T $CD4^+$ suite à la stimulation antigénique. Elles dérivent d'une cellule Th0 (Lymphocyte T auxiliaire en cours dedifférentiation) qui dérive à son tour d'une cellule Th naïve, productrice d'IL2. La différence entre ces sous populations de lymphocytes Th repose sur la nature des cytokines sécrétées.

On distingue ainsi classiquement deux principales sous populations de lymphocytes Th:

Les cellules Th1→ sécrétion des cytokines : IL-2, INFγet TNFβ.

Les cellules Th2→ sécrétion des cytokines : IL-4, IL-5, IL-6, IL10 et IL-13.

Cytokines communes aux Th1 et Th2 : IL-3, TNFα et GM-CSF.

Les cellules Th1 et Th2 exercent par le biais des cytokines qu'elles produisent un effet de contre-régulation réciproque.Ainsi, l'IFNγ produit par les cellules Th1 antagonise les cellules Th2, tandis que l'IL-4 et l'IL-10 produites par les cellules Th2 bloquent l'activité des cellules Th1.

Plus récemment, d'autres sous-populations de lymphocytes Th ont été décrites: essentiellement **les lymphocytes Th17** et les lymphocytes T régulateurs (Treg).

La sous-population Th17 est caractérisée par la sécrétion de diverses cytokines : surtout l'IL17 mais aussi l'IL21 et l'IL22.

Les cellules Treg jouent un rôle important dans la régulation des réponses immunitaires via l'immunosuppression induite par les principales cytokines qu'elles sécrètent : l'IL10 et le TGFβ.

La différenciation vers un des profils Th dépend de plusieurs facteurs : l'Ag lui-même, la cellule présentatrice de l'antigène et les cytokines présentes dans l'environnement :

-L'IL-12 est le principal facteur de différenciation des lymphocytes Th dans la voie Th1.

-L'IL-4 est essentielle pour la différentiation Th2. Elle est produite par les lymphocytes Th2 eux-mêmes et les mastocytes.

-Le TGFβ, seul, induit la différenciation vers la voie Treg, et en association avec l'IL6 vers la voie Th17.

a. Interleukine-2

L'IL-2 est produite essentiellement par les lymphocytes Th $CD4^+$ activés, et dans une moindre mesure par les lymphocytes T $CD8^+$, les cellules dendritiques, les lymphocytes NK et NK-T.

Elle stimule la prolifération des lymphocytes T et B, la production d'Ig, cependant, elle n'influence pas la commutation isotypique.

L'IL-2 active les cellules NK en les transformant en LAK (″lymphokine activated killer cells″).

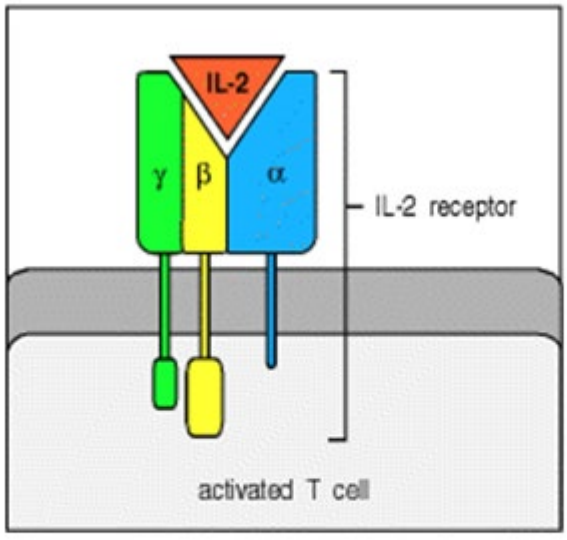


Figure 8.19. High-affinity IL-2 receptors are three-chain structures that are produced only on activated T cells. On resting T cells, the b and g chains are expressed constitutively. They bind IL-2 with moderate affinity. Activation of T cells induces the synthesis of the a chain and the formation of the high-affinity heterotrimeric receptor. The b and g chains show similarities in amino acid sequence to cell-surface receptors for growth hormone and prolactin, both of which also regulate cell growth and differentiation.

Le récepteur de l'IL-2 est une molécule formée de 3 sous-unités :α, βetγ.

Les chaînesβetγ sont exprimées de façon constitutive à la surface des cellules.

L'expression de la chaîneα (CD25) est induite après activation cellulaire, pour donner le récepteur de forte affinité.

L'IL-2 libérée par les lymphocytes T activés agit préférentiellement comme facteur de croissance autocrine sur les cellules productrices.

L'IL-2 a aussi une action paracrine sur les cellules T avoisinantes pré-activées.

b. Interleukine 15

L'IL-15 a des actions voisines de l'IL-2. C'est la cytokine majeure de la différenciation des cellules NK.

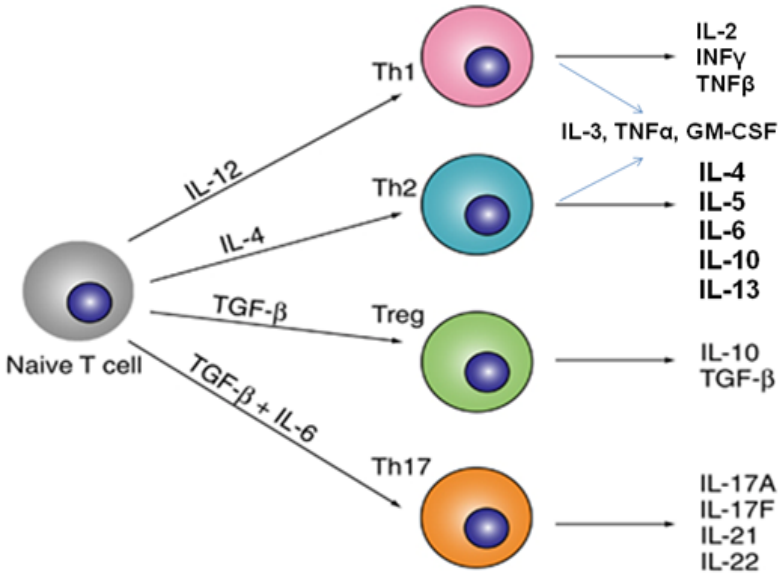


Figure 7 : Différentes sous-populations lymphocytaires productrices de cytokines

c. Les interleukines 4, 5, 10 et 13

Ces cytokines sont produites essentiellement par les lymphocytes Th2.

1. IL-4 : à côté des lymphocytes T auxiliaires, L'IL-4 est également produite par les mastocytes.

Facteur de croissance et de différentiation des lymphocytes Th2 et des lymphocytes B, elle provoque la commutation isotypique des Ig vers la classe IgE.

L'IL4 est aussi un facteur de croissance des basophiles et des mastocytes.

2. L'IL-13 présente une certaine homologie avec l'IL-4. Elle stimule la production d'IgE.

3. L'IL-5 est un facteur de différenciation des polynucléaires éosinophiles (PNE).

4. L'IL-10 inhibe la synthèse d'IFNet des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF)

Elle inhibe l'expression des molécules HLA classe II.

Sur la lignée B, elle induit la différenciation terminale en plasmocytes, et favorise la commutation isotypique vers la production d'IgA.

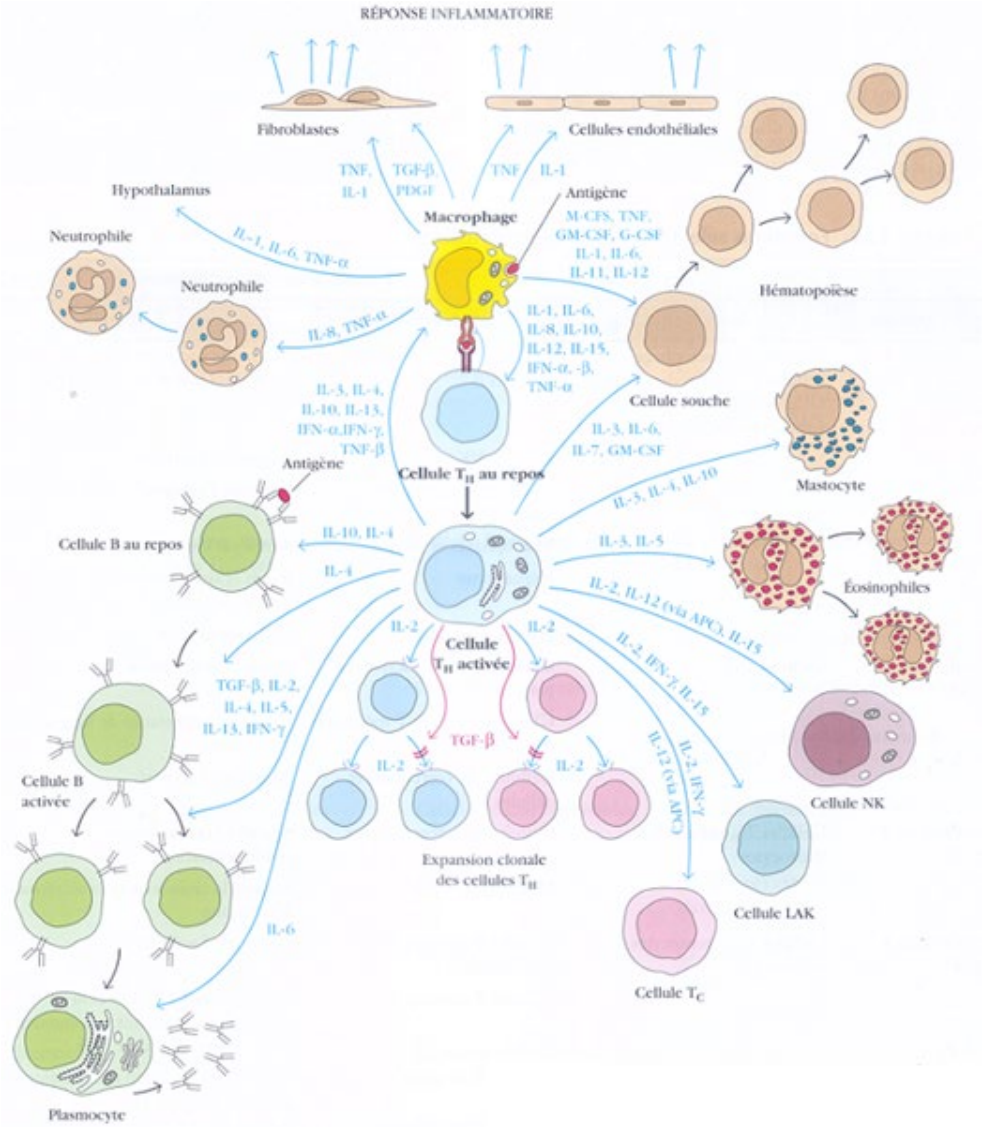


Figure 8 : **Réseau de cytokines produites par les lymphocytes TH et les macrophages**

IV- Intérêt des cytokines en pathologie humaine

L'étude du rôle des cytokines dans les différentes pathologies inflammatoires, auto-immunes, infectieuses et autres ont permis:

- d'une part de participer à la compréhension de la physiopathologie de ces maladies

- d'autre part de cibler ces cytokines pour le traitement de certaines de ces pathologies : exemple le traitement INF pour les hépatites virales B (inhibition de I'ADN du virus et activation des enzymes antivirales, action immunomodulatrice en activant les cellules immunitaires), les anti-TNF pour les maladies rhumatismales (polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante…) et inflammatoires (maladies inflammatoires chroniques de l'intestin…).

V- Conclusion

Les cytokines constituent un grand groupe de protéines qui sont les messagers de l'immunité. Elles sont produites non seulement par les cellules du système immunitaire, mais aussi par de nombreux autres types cellulaires ce qui permet d'intégrer la réponse immunitaire au sein de l'organisme entier et de son homéostasie interne.

Chaque cytokine peut être produite par un grand nombre de cellules différentes et agit en se fixant sur un récepteur à la surface des cellules cibles.

Les cytokines agissent selon le mode paracrine, mais certaines peuvent agir aussi selon le mode autocrine ou endocrine.

Les actions des cytokines sont multiples. On les trouve notamment impliquées dans le développement du système immunitaire, et plus généralement dans le contrôle de son homéostasie, dans les processus inflammatoires et dans la modulation des activations cellulaires.

Les chémokines sont un groupe à part de molécules informatives du système immunitaire qui ont des propriétés chimiotactiques. Elles guident les cellules de l'immunité dans leur déplacement et assurent la présence d'une cellule au bon endroit au bon moment.

MOLECULES D'ADHESION ET MIGRATION LEUCOCYTAIRE

Pr Hafedh MAKNI

Dr Arwa KAMMOUN

Objectifs éducationnels

1. Citer les 4 familles des molécules d'adhésion et en donner des exemples
2. Décrire le phénomène d'extravasation des polynucléaires neutrophiles et des lymphocytes
3. Identifier les changements morphologiques et fonctionnels induits par l'IL-8 sur les polynucléaires neutrophiles

I- Introduction

Les leucocytes se déplacent d'une partie du corps à une autre. C'est particulièrement vrai pour les lymphocytes qui circulent continuellement dans le sang et la lymphe et, de concert avec les autres types de leucocytes, migrent dans les tissus au niveau des sites d'infection ou de lésion tissulaire. Cette recirculation, non seulement augmente la probabilité pour que des lymphocytes spécifiques d'un antigène particulier rencontrent ce dernier, mais aussi elle est essentielle au développement d'une réponse inflammatoire.

Ce chapitre traite des molécules d'adhésions et des molécules solubles (chémokines) qui jouent un rôle important dans la migration des leucocytes.

II- Recirculation des lymphocytes

Les lymphocytes ont une capacité remarquable de recirculation.

Ils passent continuellement du sang ou de la lymphe dans les divers organes lymphoïdes.

Le processus de recirculation continu des lymphocytes permet qu'un nombre maximal de lymphocytes arrive à rencontrer l'antigène spécifique et entrer en interaction avec lui.

La recirculation augmente considérablement les chances pour que les quelques lymphocytes engagés contre un antigène donnéentrent en contact avec cet antigène et poursuivent le processus de leur différenciation terminale pour donner des plasmocytes et des lymphocytes T helper, cytotoxiques ou régulateurs.

III- Molécules d'adhésion cellulaire

L'endothélium vasculaire joue un rôle important de **gardien**, en contrôlant le mouvement vers les tissus des molécules transportées par le sang et les leucocytes. Pour que les leucocytes circulants pénètrent dans un tissu inflammatoire ou dans les organes lymphoïdes périphériques, ils doivent adhérer aux cellules endothéliales qui bordent les parois des vaisseaux sanguins puis passer entre ces cellules endothéliales ; ce processus est appelé extravasation.

Les cellules endothéliales expriment des molécules d'adhésion cellulaire spécifiques des leucocytes ou CAM ("CellAdhesionMolecules"). Certaines de ces protéines membranaires sont exprimées de façon constitutive ; d'autres ne le sont qu'après stimulation par des cytokines produites au cours d'une réponse inflammatoire.

Les lymphocytes re-circulants, les monocytes et les granulocytes portent des récepteurs qui se lient aux CAM de l'endothélium vasculaire, ce qui leur permet de passer dans les tissus.

En plus de leur rôle dans l'adhésion des leucocytes aux cellules endothéliales vasculaires, les CAM des leucocytes servent aussi à augmenter la force des interactions fonctionnelles entre les cellules du système immunitaire. Diverses molécules d'adhésion contribuent ainsi aux interactions entre les cellules Th et les APC, les cellules Th et les cellules B, et les CTL et les cellules cibles.

Les CAM appartiennent à quatre familles de protéines : la famille des sélectines, la famille des mucine-like, la famille des intégrines et la superfamille des immunoglobulines.

1- Famille des sélectines

Ce sont des glycoprotéines membranaires qui ont un domaine distal semblable à une lectine, ce qui permet à ces molécules de se lier à des groupes glucidiques spécifiques.

La famille des sélectines inclut trois molécules : L (pour leucocyte), E (pour endothélium) et P (pour plaquette). La plupart des leucocytes circulant expriment la sélectine-L, tandis que la sélectine-E et la sélectine-P le sont à la surface des cellules endothéliales vasculaires.

Les sélectines sont responsables de l'adhésion initiale des leucocytes à l'endothélium vasculaire.

2- Famille des mucine-like

Les mucines constituent un groupe de protéines riches en sérine et en thréonine qui sont très fortement glycosylées. Elles présentent des ligands osidiques sialylés aux sélectines. Par exemple, la sélectine L des leucocytes reconnaît les oses sialylés de deux molécules mucine-like (CD34 et GlyCAM-1) exprimées à la surface de certaines cellules endothéliales des ganglions lymphatiques.

3- Famille des intégrines

Les intégrines sont des protéines hétérodimériques constituées d'une chaîne α et d'une chaîneβ. Elles sont exprimées par les leucocytes.

Elles facilitent l'adhérence à l'endothélium vasculaire ainsi que d'autres interactions intercellulaires.

Les intégrines se lient aux différentes CAM de la superfamille des immunoglobulines exprimées le long de l'endothélium vasculaire.

Les intégrines jouent un rôle important dans l'extravasation des leucocytes. Ceci est bien démontré par le déficit en adhésion leucocytaire ou LAD ("leucocyte adhesiondeficiency").

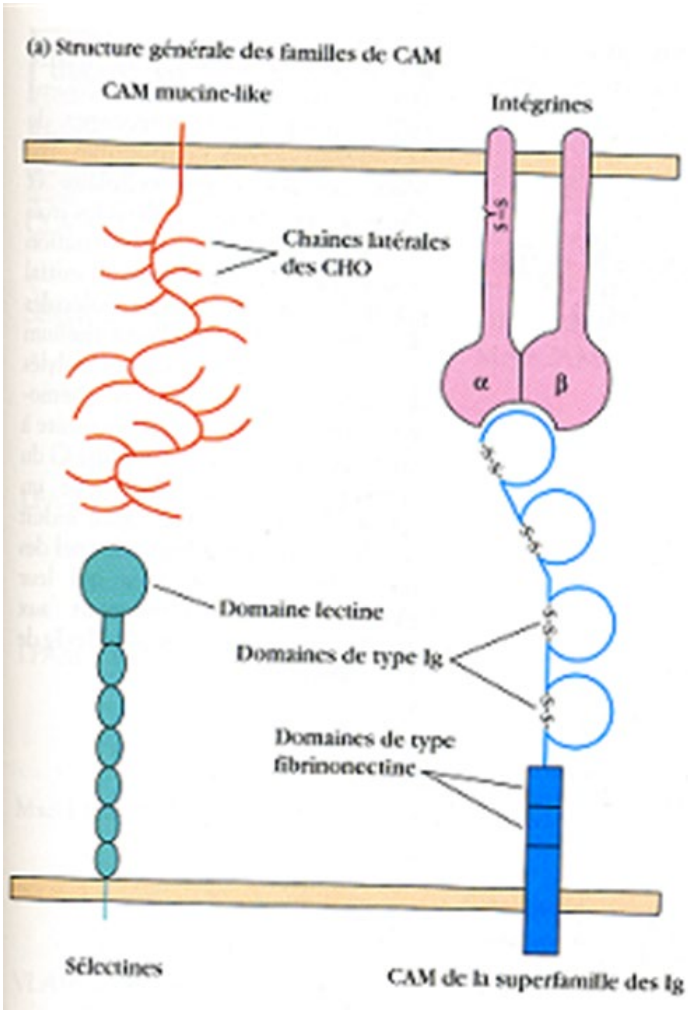
Exemples d'intégrines qui interviennent dans les phénomènes de migration leucocytaire :

- LFA-1 ("lymphocyte functionassociatedantigen" 1) ou CD11a/CD18 (αLβ2), exprimée sur tous les leucocytes, ligands : ICAM-1 (CD54) et ICAM-2 (CD102) = molécules d'ancrage aux endothéliums
- Mac-1 ou CD11b/CD18 (αMβ2) correspond au CR3 (récepteur du facteur C3bi du complément)
- αXβ2 ou CD11c/CD18 :correspond au CR4 (récepteur du facteur C3bi du complément)

– VLA-4 (*α4β1*) *: se lie à VCAM-1* VLA-4 ("verylateantigen" 4) : exprimé sur les lymphocytes, se lie à VCAM-1 ("vascularcelladhesionmolecule") à la surface des cellules endothéliales.

ICAM-1 (CD54) et ICAM-2 (CD102) sont les ligands des 3 *β*2 intégrines : CD11a-CD18, CD11b-CD18 et CD11c-CD18 qui partagent la même chaîne *β* de 95 KDa (CD18) mais expriment, chacune, une chaîne *α*différente (CD 11a, b, et c).

CD11b-CD18 (CR3) et CD11c-CD18 (CR4) sont en même temps des récepteurs pour le C3bi exprimés à la surface des cellules phagocytaires et impliqués dans l'opsonisation.



4- Superfamille des immunoglobulines

Diverses molécules d'adhésion contiennent un nombre variable de domaines de type immunoglobulinique et sont donc classées dans la superfamille des

immunoglobulines. Appartiennent à ce groupe :ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 et VCAM, qui sont exprimés sur les cellules endothéliales vasculaires.
Elles se lient à diverses molécules d'intégrines.

IV- Extravasation des neutrophiles

Lorsqu'une réponse inflammatoire se développe, diverses cytokines, ainsi que d'autres médiateurs de l'inflammation, agissent sur les vaisseaux sanguins locaux, induisant alors une expression accrue des CAM des endothéliums. On dit alors que l'endothélium vasculaire est activé ou inflammatoire.

Les neutrophiles sont généralement le premier type de cellules à se lier à l'endothélium activé et à passer dans les tissus. Les neutrophiles liés doivent ensuite pénétrer à travers la couche endothéliale et migrer dans le tissu sous-jacent, c'est l'extravasation.

Le processus d'extravasation des neutrophiles peut être divisé en quatre étapes successives :

- Roulement
- Activation grâce à un stimulus par des chémoattractants
- Arrêt et adhésion
- Migration transendothéliale

Les lymphocytes, les monocytes et les éosinophiles effectuent leur extravasation par un processus semblable. *(Figure 1)*

1- Roulement ("Rolling")

Dans la première étape, les neutrophiles s'attachent de façon lâche à l'endothélium par une interaction de faible affinité carbohydrate-sélectine. Lors d'une réponse inflammatoire, des cytokines et d'autres médiateurs agissent sur

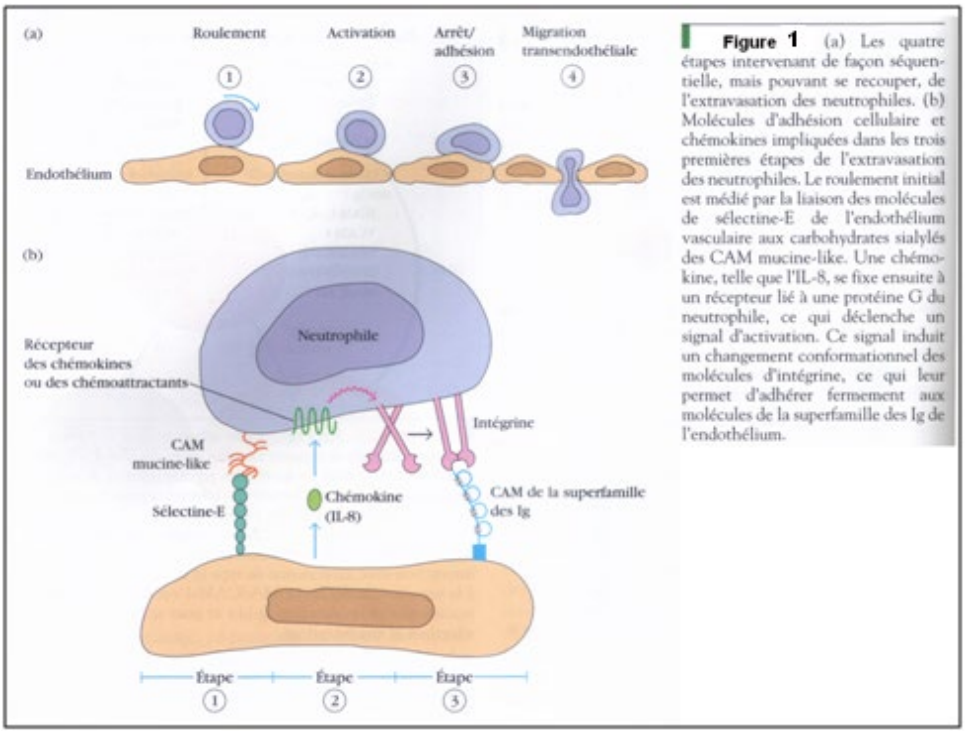


Figure 1 (a) Les quatre étapes intervenant de façon séquentielle, mais pouvant se recouper, de l'extravasation des neutrophiles. (b) Molécules d'adhésion cellulaire et chémokines impliquées dans les trois premières étapes de l'extravasation des neutrophiles. Le roulement initial est médié par la liaison des molécules de sélectine-E de l'endothélium vasculaire aux carbohydrates sialylés des CAM mucine-like. Une chémokine, telle que l'IL-8, se fixe ensuite à un récepteur lié à une protéine G du neutrophile, ce qui déclenche un signal d'activation. Ce signal induit un changement conformationnel des molécules d'intégrine, ce qui leur permet d'adhérer fermement aux molécules de la superfamille des Ig de l'endothélium.

l'endothélium local en induisant l'expression de molécules d'adhésion de la famille des sélectines. Les sélectine-E et P se lient aux molécules d'adhésion cellulaire mucine-like de la membrane des neutrophiles. Cette interaction attache brièvement le neutrophile à la cellule endothéliale, mais le puissant flux sanguin détache rapidement le neutrophile. Ce processus se répète plusieurs fois de telle façon que le neutrophile culbute le long de l'épithélium, ce type de liaison est appelé roulement.

2- Activation

Lorsque le neutrophile roule, il est activé par divers chémoattractants. Ce sont soit des constituants permanents de la surface des cellules endothéliales ou des constituants sécrétés localement par les cellules impliquées dans la réponse inflammatoire.

Parmi les chémoattractants, figurent des cytokines chémoattractives, appelées chémokines. Deux chémokines impliquées dans le processus d'activation sont l'interleukine 8 (IL-8) et la protéine inflammatoire des macrophages (MIP-1β).

D'autres chémoattractants n'appartiennent pas au groupe de chémokines, tels que le facteur d'activation des plaquettes (PAF), les produits de coupure du complément

(C5a, C3a et C5b67) et divers peptides N-formylés produits par la rupture des protéines bactériennes au cours d'une infection.

La liaison de ces chémoattractants aux récepteurs de la membrane des neutrophiles déclenche un signal d'activation. Ce signal induit un changement conformationnel des molécules d'intégrines de la membrane du neutrophile, ce qui augmente leur affinité pour les molécules d'adhésion de la superfamille des Ig à la surface de l'endothélium.

3- Arrêt et adhésion

L'interaction ultérieure entre les intégrines et les CAM de la superfamille des Ig stabilise l'adhésion des neutrophiles à la surface de la cellule endothéliale, ce qui permet aux neutrophiles d'adhérer fermement à la cellule endothéliale.

4- Migration transendothéliale

Par la suite, le neutrophile migre à travers la paroi des vaisseaux vers les tissus où il est guidé par les facteurs chimiotactiques.

V- Extravasation des lymphocytes

Divers sous-groupes de lymphocytes présentent une extravasation dirigée au niveau des sites inflammatoires et des organes lymphoïdes secondaires.

La recirculation des lymphocytes est ainsi soigneusement contrôlée afin d'assurer que des populations appropriées de cellules B et T soient recrutées dans les différents tissus.

Comme pour les neutrophiles, l'extravasation des lymphocytes implique des interactions entre de nombreuses molécules d'adhésion cellulaire. Le processus dans son ensemble est semblable à celui qui se produit lors de l'extravasation des neutrophiles. Il comprend quatre étapes : roulement, activation, arrêt et adhésion, et migration trans-endothéliale. (*Figure 2*)

Le homing des lymphocytes est médié par des récepteurs de la surface des lymphocytes re-circulants. Ces récepteurs reconnaissent les adressinesvasculaires des endothéliums de divers tissus lymphoïdes secondaires, et les adressines des endothéliums des sites d'inflammation.

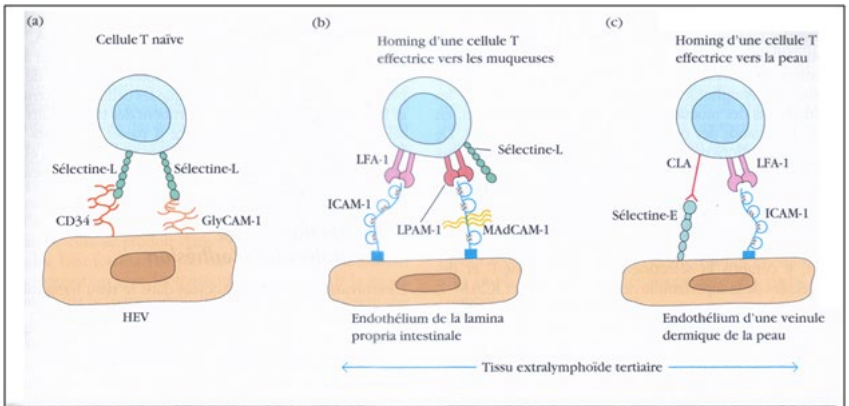


Figure 2 Exemples de récepteurs du homing et d'adressines vasculaires impliqués dans le homing sélectif des cellules T naïves et des cellules T effectrices. (a) Les cellules T naïves tendent à effectuer leur homing vers des tissus lymphoïdes secondaires en passant à travers les HEV de ces derniers. L'interaction initiale implique le récepteur du homing qui est la sélectine-L et des molécules d'adhésion cellulaire mucine-like, telles que le CD34 et le GlyCAM-1, exprimées sur les cellules des HEV. (b, c) Diverses sous-populations de cellules T effectrices expriment des taux élevés de récepteurs du homing particuliers qui leur permettent d'effectuer leur homing vers l'endothélium de tissus extralymphoïdes tertiaires particuliers. Les interactions initiales dans le homing des cellules T effectrices vers des sites des muqueuses et de la peau sont présentées.

Ces récepteurs dirigent la circulation des diverses populations de lymphocytes vers des tissus lymphoïdes ou inflammatoires particuliers, ils sont appelés récepteurs du homing.

1- Lymphocytes naïfs

Ils ne représentent pas de préférence pour un type particulier de tissu lymphoïde secondaire (recirculation constante à travers les différents tissus).(*Figure 3*)

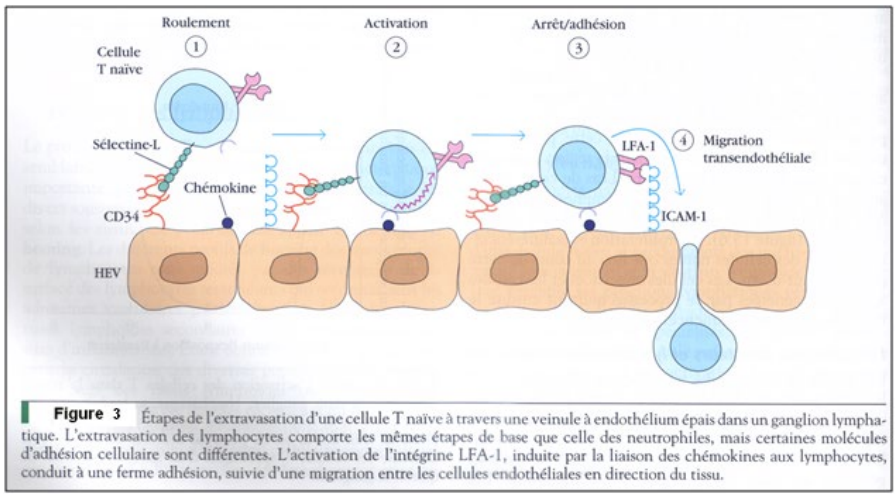


Figure 3 Étapes de l'extravasation d'une cellule T naïve à travers une veinule à endothélium épais dans un ganglion lymphatique. L'extravasation des lymphocytes comporte les mêmes étapes de base que celle des neutrophiles, mais certaines molécules d'adhésion cellulaire sont différentes. L'activation de l'intégrine LFA-1, induite par la liaison des chémokines aux lymphocytes, conduit à une ferme adhésion, suivie d'une migration entre les cellules endothéliales en direction du tissu.

2- Lymphocytes effecteurs et lymphocytes à mémoire

Les profils du homing des lymphocytes effecteurs et des lymphocytes à mémoire diffèrent de ceux des lymphocytes naïfs :

Les cellules effectrices tendent à se localiser dans les régions d'infection en reconnaissant l'endothélium vasculaire activé et les molécules de chémoattractants générées au cours de la réponse inflammatoire.

Les lymphocytes à mémoire se localisent sélectivement dans le type de tissu où ils ont rencontré pour la première fois l'antigène. Ceci assure qu'une cellule à mémoire particulière retournera aux tissus où elle aura le plus de chances de rencontrer à nouveau le même antigène.

VI- Les Chémokines

Les chémokines constituent une superfamille de petits polypeptides constitués de 90 à 130 aa.

Elles contrôlent sélectivement l'adhésion, la chimiotaxie et l'activation de nombreux types de populations et de sous populations de leucocytes.

Par conséquent, elles sont les principaux régulateurs du trafic des leucocytes.

Les chémokines font que les leucocytes se déplacent vers divers sites tissulaires en induisant l'adhérence de ces cellules à l'endothélium vasculaire. Après avoir migré dans les tissus, les leucocytes sont attirés vers les concentrations localement élevées de chémokines.

En quelques secondes, l'addition d'une chémokine appropriée à des leucocytes provoque :

– des changements de leur forme.

– une plus grande adhésivité des leucocytes aux parois endothéliales par activation des intégrines leucocytaires.

– la formation de radicaux oxygénés microbicides dans les phagocytes.

– la libération du contenu des granules : des protéases des neutrophiles et des macrophages, de l'histamine des basophiles, et des protéines cytotoxiques des éosinophiles.

VII- Conclusion

La migration des leucocytes dans les tissus inflammatoires ou dans les organes lymphoïdes nécessite une interaction entre les molécules d'adhésion cellulaire (CAM) de l'endothélium vasculaire et celles des cellules circulantes. La plupart de ces CAM appartiennent à l'une ou l'autre des quatre familles de protéines : les sélectines, la famille des mucine-like, les intégrines et la superfamille des Ig.

Les sélectines et les CAM mucine-like entrent en interaction les unes avec les autres. Les intégrines exprimées sur les leucocytes interagissent avec les CAM de la superfamille des Ig exprimées sur les cellules endothéliales.

Les neutrophiles sont le premier type de cellules à passer de la circulation sanguine dans les sites d'inflammation. L'extravasation des neutrophiles et des lymphocytes implique quatre étapes : roulement, activation, adhésion, puis migration trans-endothéliale. Les chémokines agissent comme chémoattractants et comme molécules activatrices durant l'extravasation des leucocytes.

LA REPONSE IMMUNITAIRE A MEDIATION CELLULAIRE

Pr Hafedh MAKNI
Dr Arwa KAMOUN

Objectifséducationnels

1. Enumérer les différentes sous populations lymphocytaires T effectrices au cours de l'IMC.
2. Enumérer les principales interactions moléculaires impliquées dans la présentation de l'antigène.
3. Déterminer les signaux d'activation des cellules T.
4. Décrire brièvement les différentes étapes de l'IMC.

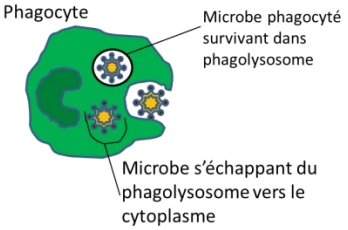
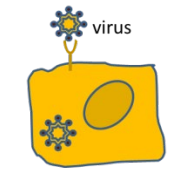
I- Introduction

L'immunité à médiation cellulaire a pour rôle de combattre des infections provoquées par des microbes intracellulaires. Ce type d'immunité est assuré par les lymphocytes T.

Les microbes peuvent être ingérés par les phagocytes et survivre dans les vacuoles (phagolysosomes), ou s'échapper dans le cytoplasme où ils sont insensibles aux mécanismes microbicides des phagocytes.

Les virus peuvent se lier à des récepteurs cellulaires et se répliquer dans le cytoplasme des cellules infectées.

Certains virus provoquent des infections latentes, au cours desquelles des protéines virales sont produites dans les cellules infectées.

Microbes intracellulaires	Exemples
	▪Bactéries intracellulaires ✓Mycobactéries ✓Listéria ✓Légionelle ▪ Champignons ✓Cryptococcus neoformans ▪Protozoaires ✓Leishmania ✓Trypanosoma cruzi
	▪Virus (tous) ▪Rickettsies ▪Protozoaires ✓Plasmodium falciparum ✓Cryptosporidium parvum

II- Différentes phases des réponses des lymphocytes

Les réponses des lymphocytes T contre les antigènes microbiens associés aux cellules se composent d'une série d'étapes consécutives qui entraînent une augmentation du nombre de lymphocytes T spécifiques de l'antigène et la conversion des cellules T naïves en cellules effectrices.

Les lymphocytes T naïfs rencontrent pour la première fois les antigènes protéiques dans les organes lymphoïdes périphériques.

En même temps, les lymphocytes T reçoivent des signaux complémentaires de la part des microbes ou des réactions immunitaires innées dirigées contre ces microbes. En réponse à ces stimuli, les lymphocytes T spécifiques de l'antigène commencent à secréter diverses cytokines (figure 1).

Certaines cytokines stimulent la prolifération des lymphocytes T spécifiques de l'antigène (Ag).

Le résultat de cette prolifération est une augmentation rapide du nombre des lymphocytes spécifiques de l'antigène, un processus portant le nom d'**expansion clonale**.

Une grande partie de ces lymphocytes activés subit un processus de **différenciation** en lymphocytes T effecteurs dont la fonction est d'éliminer les microbes.

Les autres cellules filles des lymphocytes T ayant proliféré en réponse à l'antigène se différencient en lymphocytes T mémoire dont la durée de vie est longue.

I- Reconnaissance de l'antigène et costimulation

L'initiation des réponses par les lymphocytes T (LT) nécessite que demultiples récepteurs situés sur les LT reconnaissent des ligands se trouvant sur les CPA (cellules présentatrices d'antigènes) :

La reconnaissance par le TCR spécifique du peptide antigénique présenté par une molécule CMH est le point de départ de toute réponse immunitaire àmédiation cellulaire, sans cette interaction spécifique TCR-Ag-CMH, il n'y a pas d'activation du LT

La force de cette liaison spécifique TCR-Ag-CMH est relativement faible (en moyenne 100 fois moins que celle de la liaison Ag-Ac voire plus), elle doit donc être

rapidement renforcée et stabilisée par d'autres liaisons non spécifiques entre des molécules d'adhésion cellulaires des LT et leurs ligands exprimés à la surface des CPA(LFA1-ICAM1, CD2-LFA3...) (figure 2).

En plus du signal d'activation représenté par la reconnaissance de l'Ag spécifique, le LT a besoin de recevoir de façon concomitante un deuxième signal dit de co-activation ou costimulation (B7-CD28…) pour être activé….

1- Reconnaissance des peptides associés aux molécules CMH

Le TCR et le corécepteur CD4 ou CD8 reconnaissent ensemble le complexe formé par les Ag peptidiques et les molécules du CMH sur les CPA (figure 2).

Cette reconnaissance constitue le premier signal, ou signal d'initiation, induisant l'activation des lymphocytes T.

Différentes molécules des LT reconnaissent l'Ag et délivrent le signal à l'intérieur de la cellule à la suite de la reconnaissance de cet Ag.

Le TCR et le CD3 forment le complexe du TCR ; la fonction de reconnaissance de l'antigène est assurée par les chaînes variables α et β du TCR, tandis que la fonction de signalisation est effectuée par les portions intracellulaires des chaînes γ (gamma), δ(delta), ε(epsilon) et ζ(zeta) du CD3 (figure 3).

La fixation immédiate du corécepteur CD4 ou CD8 sur la portion monomorphe de la molécule HLA classe II ou classe I contribue à stabiliser la liaison entre le TCR et le complexe HLA-peptide et participe à la transduction du signal d'activation.

Les signaux biochimiques déclenchés dans les LT par la reconnaissance de l'Ag entraînent l'activation de différents facteurs de transcription qui stimulent l'expression de gènes codant pour des cytokines, des récepteurs de cytokines, et d'autres molécules participant aux réponses des LT.

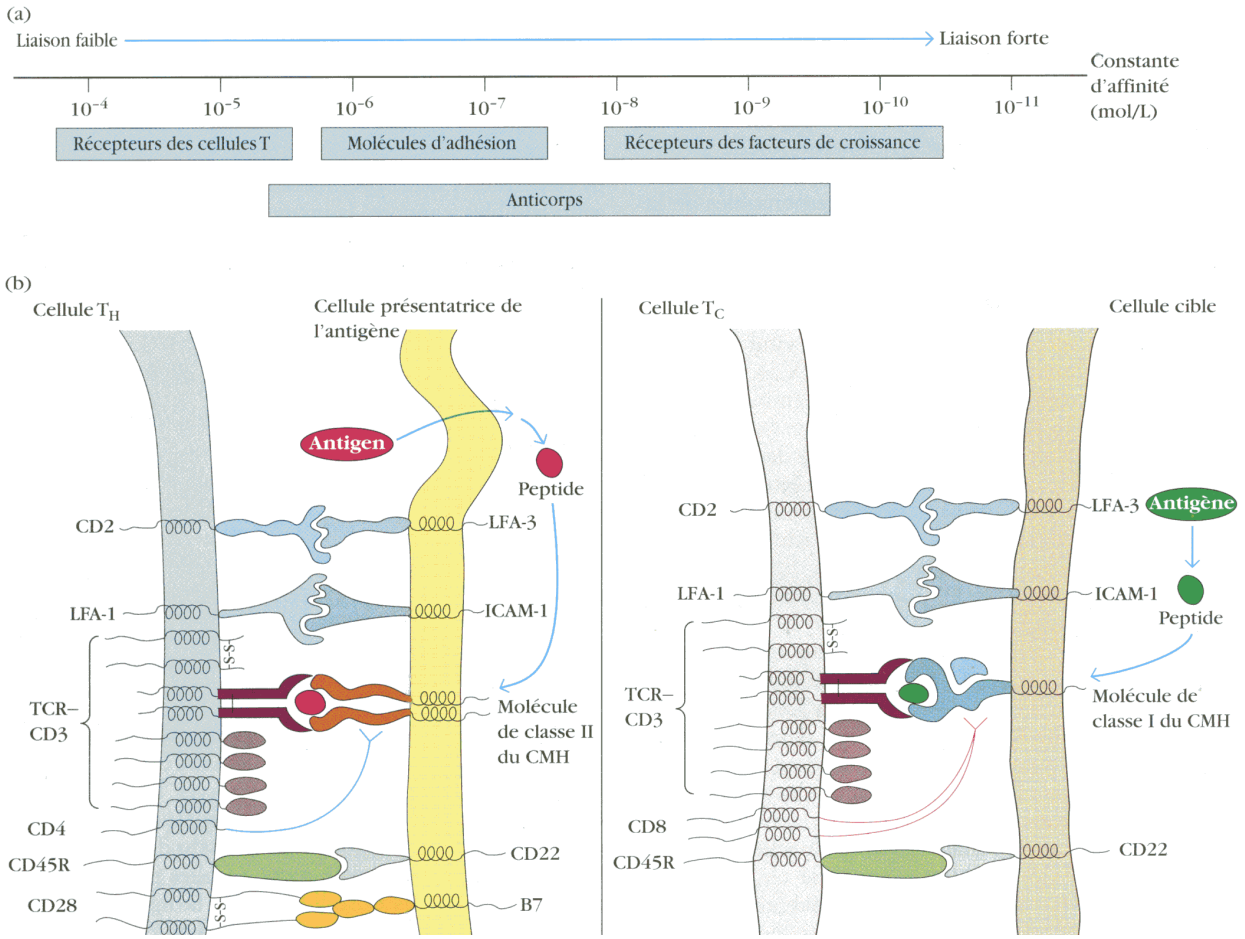


Figure 2 :Rôle des molécules d'adhésion et des corécepteurs dans la stabilisationde la liaison TCR-Ag- HLA

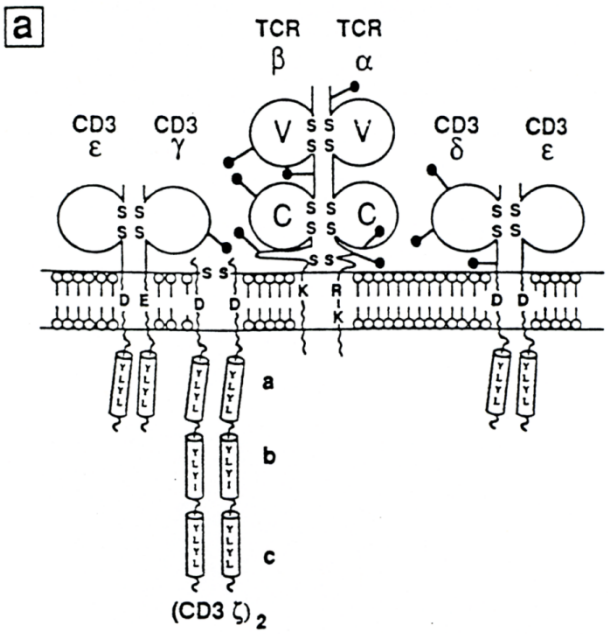


Figure 3 : Complexe TCR-CD3

2- Rôle des molécules d'adhésion dans l'activation des LT

Les molécules d'adhésion présentes sur les LT reconnaissent leurs ligands sur les CPA et stabilisent la liaison des LT aux CPA.

La plus importante de ces molécules d'adhésion appartient à la famille des intégrines et s'appelle LFA-1 ("*leukocytefunctionassociated antigen-1*") dont le ligand sur les CPA porte le nom d'ICAM-1 ("*inter-cellular adhesion molecule-1" ou CD54*).

L'adhésion assurée par les intégrines est essentielle pour la capacité des LT à se lier aux CPA présentant les Ag microbiens.

Les intégrines exercent également un rôle important pour diriger la migration des LT effecteurs de la circulation sanguine vers les sites d'infection.

3- Rôle de la Costimulation dans l'activation des LT

L'activation complète des LT dépend de la reconnaissance des molécules de costimulation se trouvant sur les CPA.

Les protéines CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2) exprimées sur les CPA sont reconnues par un récepteur appelé CD28, qui est exprimé sur les LT.

En l'absence d'interaction entre CD28 et B7, l'engagement du TCR seul n'est pas en mesure d'activer les LT, et peut même conduire à une absence permanente de réponse des LT (état d'anergie).

Une signalisation impliquant le TCR et CD28 induit aussi l'expression de CD40-Ligand (ou CD40-L : CD154) à la surface du LT. La liaison de CD40-L au CD40 exprimé sur les CPA induit une augmentation de l'expression de CD80/CD86, qui à son tour renforce le signal induit par CD28. Une boucle positive d'activation s'établit et induit une forte prolifération des LT spécifiques de l'Ag. Un rétrocontrôle est nécessaire afin d'empêcher une prolifération incontrôlée.

Pour ce faire, la signalisation TCR/CD28 induit également l'expression plus tardive de la molécule CTLA-4 (″Cytotoxic T Lymphocyte Antigen″ 4 : CD152) qui se lie à CD80/CD86 avec une plus forte affinité que CD28 et transmet un signal d'inhibition de la boucle positive d'activation décrite ci-dessus (figure 4).

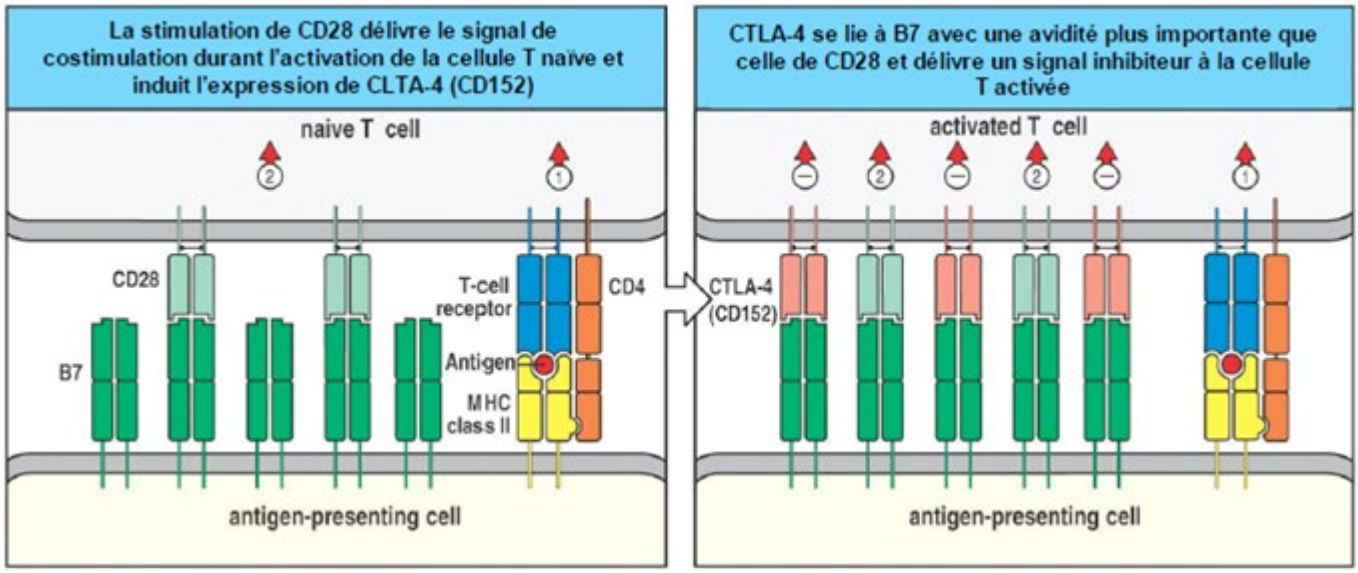


Figure 4 : Contrôle du signal de costimulation par CTLA-4

L'activation des LT cytotoxiques $CD8^+$ est stimulée par la reconnaissance des peptides associés aux molécules de classe I du CMH et nécessite une costimulation pouvant provenir de l'interaction CD28-B7 et/ou des cytokines produites par les LT auxiliaires ou Th.

II- Réponse des lymphocytes T aux antigènes et à la costimulation

1- Sécrétion de cytokines et expression des récepteurs de cytokines

En réponse à l'Ag et aux costimulateurs, les LT, en particulier les T helper $CD4^+$ secrètent rapidement plusieurs types de cytokines qui présentent des activités diverses. La première cytokine produite après une à deux heures est l'IL-2.

Quelques heures après l'activation par les Ag et les molécules de costimulation, les LT produisent la troisième chaîne (chaîne α ou CD25) du récepteur pour l'IL-2 qui devient complet et en mesure de se lier fortement à l'IL-2 (récepteur de haute affinité).

La principale action de l'IL 2 (anciennement appelée ″T Cell Growth Factor″) est de stimuler la prolifération des LT.

2- Expansion clonale

Un à deux jours après l'activation, les LT commencent à proliférer, ce qui entraîne une expansion des clones spécifiques de l'Ag.

L'activation des LT $CD8^+$ peut nécessiter la collaboration des LT $CD4^+$, qui sont activés à proximité, afin de produire l'IL-2dont ils ont besoin pour leur prolifération. Au pic de certaines infections virales, qui peut survenir une semaine après l'infection, jusqu'à 10-20 % de tous les lymphocytes présents dans les organes lymphoïdes secondaires peuvent être spécifiques du virus en cause.

3- Différenciation des lymphocytes T naïfs en lymphocytes effecteurs

Les **Lymphocytes T auxiliaires $CD4^+$** se différencient en lymphocytes effecteurs spécifiques de l'Ag qui expriment des molécules de surface (récepteurs de cytokines) et produisent des cytokines dont la fonction principale est d'activer les macrophages (réactions d'hypersensibilité retardée) et les LB (réponse Ac).

Les lymphocytes T helper $CD4^+$ peuvent se différencier en sous populations de cellules effectrices (TH1 et TH2) qui produisent différents groupes de cytokines assurant des fonctions variées.

Le développement des lymphocytes TH 1 et TH2 n'est pas un processus aléatoire, mais il est régulé par les stimuli que reçoivent les LT $CD4^+$ naïfs lorsqu'ils rencontrent les antigènes microbiens.

Les macrophages et les cellules dendritiques répondent à la présence de nombreuses bactéries et virus en produisant une cytokine appelée IL-12 qui favorise la différenciation des LT en sous population TH1, qui produit ensuite de l'IFN-γ dont le rôle est d'activer les macrophages, mais aussi les LT cytotoxiques (Tc ou CTL) et les cellules NK, afin qu'ils détruisent les microbes.

Si le microbe infectieux ne déclenche pas la production d'IL-12 par les CPA, le cas des helminthes par exemple, les lymphocytes T eux même produisent de l'IL-4, qui induit leur différenciation en sous population TH2.L'IL4 peut provenir aussi des mastocytes et des cellules NK et NKT

Les lymphocytes T $CD8^+$sont activés par l'Ag, les molécules de costimulation et les cytokines produites par les LT $CD4^+$ et les CPA. Ils se différencient en lymphocytes T cytotoxiques (Tc) qui ont la capacité de migrer vers le tissu où se situent les cellules cibles.

Dans les tissus, les lymphocytes Tc ou CTL ("Cytotoxic T Lymphocytes") reconnaissent et détruisent spécifiquement les cellules infectées ou tumorales présentant des peptides antigéniques associés aux molécules HLA classe I. À ce stade, les Tc ne nécessitent plus de costimulation ni de coopération avec les LT $CD4^+$ auxiliaires.

Les lymphocytes Tc exercent leur action cytotoxique par 2 mécanismes (figure 5) :

- Dégranulation : exocytose de molécules toxiques (perforine, granzymes A et B) contenues dans des granules cytoplasmiques du lymphocyte Tc.

  La perforine forme des pores de taille nanométrique dans la membrane de la cellule ciblepermettant l'entrée des granzymes. La mort cellulaire est ensuite déclenchée suite au clivage par les granzymes de diverses molécules effectrices et/ou régulatrices de l'apoptose (*e.g.* caspases), ce qui induit l'activation des voies apoptotiques, aboutissant à la fragmentation de l'ADN de la cellule cible et la mort de celle-ci.
- Le deuxième mécanisme de cytotoxicité passe par l'engagement de récepteurs à domaines de mort tels que Fas ou CD95 (expression de Fas-L ouCD178 par les Tc) ou le TNFα-R (synthèse de TNFα par les Tc), ce qui entraîne la mort des cellules cibles par déclenchement de l'apoptose intra-cellulaire via la voie des caspases.

Une fraction des LT activés par l'Ag se différencie en **lymphocyte T mémoire** à longue durée de vie. Les lymphocytes mémoire survivent même après que l'infection a été éradiquée, et que l'antigène a disparu.

Les lymphocytes mémoire constituent un groupe de lymphocytes qui attend le retour de l'infection.

I- Conclusion

Les lymphocytes T sont les cellules de l'immunité à médiation cellulaire, ils permettent de lutter contre les germes intracellulaires, qui peuvent être des microbes ingérés par les phagocytes et vivant à l'intérieur de ces cellules ou bien des microbes ayant infecté des cellules non phagocytaires.

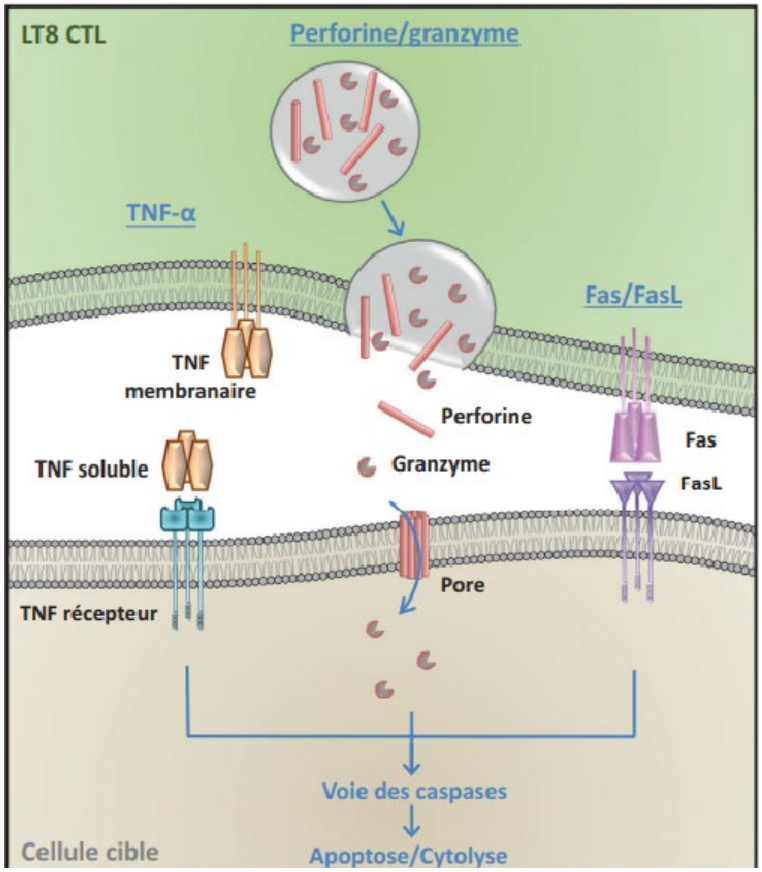


Figure 5 : Mécanismes moléculaires de la cytotoxicité des lymphocytes T cytotoxiques

La reconnaissance de l'antigène par le TCR déclenche des signaux qui sont délivrés à l'intérieur des lymphocytes par des molécules associées au TCR (CD3) et par les corécepteurs CD4 ou CD8 qui reconnaissent respectivement les molécules de classe II ou de classe I du CMH.

En réponse à la reconnaissance de l'antigène et à la costimulation, les lymphocytes T secrètent des cytokines qui, pour certaines, induisent la prolifération des lymphocytes T stimulés par l'antigène et pour d'autres assurent les fonctions effectrices des lymphocytes T.

Les lymphocytes T $CD8^+$ reconnaissent les peptides d'antigènes protéiques intracellulaires (cytoplasmiques) et peuvent nécessiter la collaboration des lymphocytes T $CD4^+$ pour se différencier en lymphocytes T cytotoxiques (Tc). La fonction des Tc est de détruire les cellules transformées : cellules cancéreuses ou produisant des antigènes microbiens cytoplasmiques.

IMMUNITE A MEDIATION HUMORALE

Dr Arwa KAMOUN
Pr Hafedh MAKNI

Objectifs éducationnels

1. Schématiser le récepteur de l'antigène des lymphocytes B
2. Décrire les différentes étapes de la réponse humorale contre les antigènes thymo-dépendants
3. Préciser le rôle des lymphocytes T dans la réponse humorale contre les antigènes thymo-dépendants
4. Distinguer entre réponse primaire et réponse secondaire
5. Citer les caractéristiques de la réponse humorale contre les antigènes thymo-indépendants

I- Introduction

La production d'Ac est la réponse la plus adaptée à la neutralisation de toxines bactériennesou d'agents infectieux durant la phase extracellulaire de leur développement.

Les complexes Ag-Ac activent la voie classique du complément.

De plus, les Ac facilitent la capture des Ag et leur dégradation ultérieure par les cellules phagocytaires exprimant un récepteur pour la région Fc des Ig.

Enfin, les Ac stimulent les cellules ayant un récepteur pour la région Fc, lorsqu'elles interagissent avec les complexes Ag-Ac, les fonctions phagocytaires et cytotoxiques sont activées de même que la mise en place d'une réaction inflammatoire nécessaire au recrutement des effecteurs cellulaires.

La production des Ac est la conséquence de l'activation des lymphocytes B porteur d'une mIg (Ig membranaire) spécifique pour l'Ag.

L'activation des lymphocytes B (LB) et leur différenciation se déroulent en plusieurs étapes (figure 1) :

- La première est la reconnaissance de l'Ag, qui met en jeu le récepteur B et qui initie la phase d'activation
- Phase d'activation des LB

- Expansion de clones spécifiques de l'Ag
- Différenciation en plasmocytes sécréteurs d'Ac et en cellules B mémoire.

Les réponses Ac dirigées contre différents Ag sont classées en Thymo-dépendants et thymo-indépendants, selon qu'elles nécessitent ou non la collaboration des lymphocytes T (LT).

II- Réponse aux Ag thymo-dépendants

Les protéines sont typiquement des Ag T-dépendants.

Les LB reconnaissent sur ces Ag des épitopes superficiels souvent de type conformationnel.

Les LT reconnaissent des peptides, fragments issus de la dégradation de la molécule antigénique, et apprêtés par une cellule qui peut être un LB spécifique du même Ag.

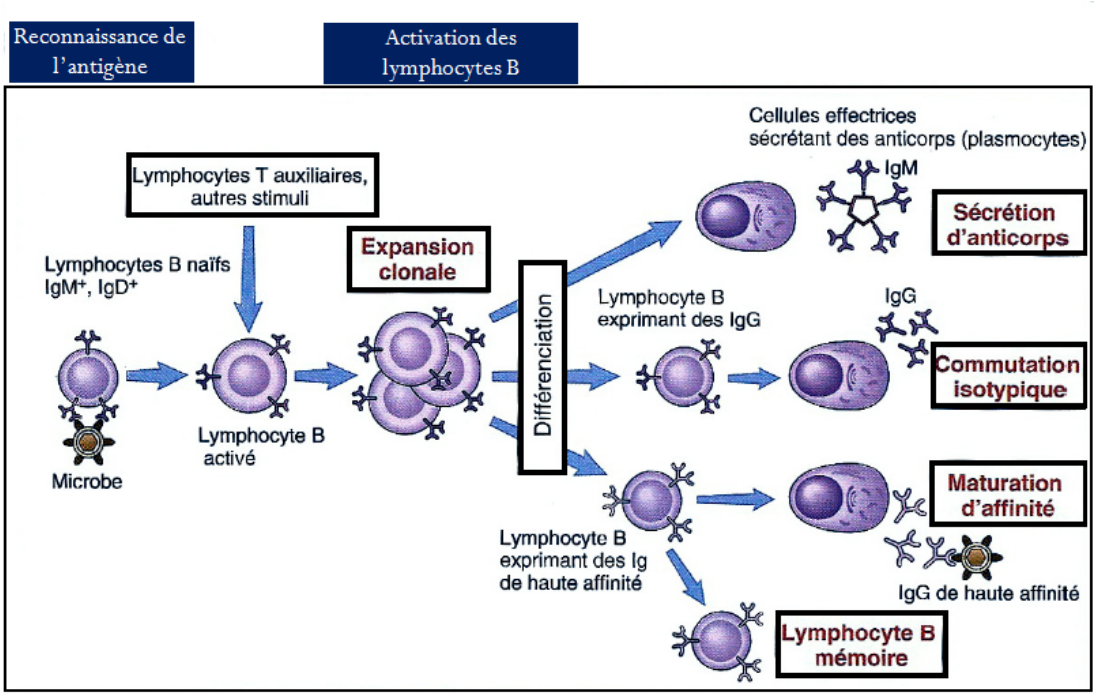


Figure 9 : Phases successives des réponses immunitaires humorales

1- Reconnaissance de l'Ag

Les réponses immunitaires humorales sont initiées lorsque les LB reconnaissent l'Ag spécifique (Ag natif, en suspension ou à la surface d'une cellule ou d'un micro-organisme). Cette reconnaissance a lieu dans les organs lymphoïdessecondaires.

a. Récepteur B

Le récepteur de l'Ag du LB (BCR : ″B Cell Receptor″), consiste en un complexe macromoléculaire incluant :

- Une Ig de membrane (mIg)
- Des molécules de signalisation : les molécules Igα (CD79a) et Igβ (CD79b) associées en un hétérodimère et qui portent des motifs d'activation ITAM (″Immunoreceptor Tyrosine Based Activation Motif″) dans leurs domaines cytoplasmiques.

Après liaison à l'Ag, le BCR des cellules sélectionnées transmet les signaux par plusieurs voies métaboliques qui passent par la phosphorylation sur les motifs ITAM des Igαet β et l'activation en chaînes de kinases, aboutissant à l'expression de plusieurs gènes cellulaires.

La transduction des signaux assurée par le BCR nécessite le pontage (cross-linking) d'au moins deux molécules de récepteur.

b. Corécepteur

Plusieurs molécules présentes à la surface des LB sont impliquées dans leur activation, lors de l'engagement de leur BCR.Trois d'entre elles forment un complexe de transduction, le complexe CD19/CD21/CD81qui constitue le corécepteur des LB (figure 2) :

- CD19 : est le 1er marqueur de différenciation B exprimé à la surface des cellules en développement. Il comporte un domaine cytoplasmique porteur d'un motif ITAM
- CD21 ou CR2: récepteur du composant C3d généré par clivage protéolytique du C3. Le C3d peut se trouver sous forme de dépôts sur la paroi des bactéries, ou associé à l'Ag dans les complexes immuns.
- CD81 ou TAPA-1.

Le complexe CD19/CD21/CD81 joue un rôle important dans l'activation des LB en diminuant le seuil d'affinité de l'Igm pour l'Ag nécessaire pour stimuler les LB naïfs, et ce notamment grâce à la fixation du CR2 sur le C3d déposé sur l'Ag (fixé

par une liaison covalente) qui permet de stabiliser l'interaction Ac-Ag lorsque l'affinité pour l'Ag de l'Igm est faible.

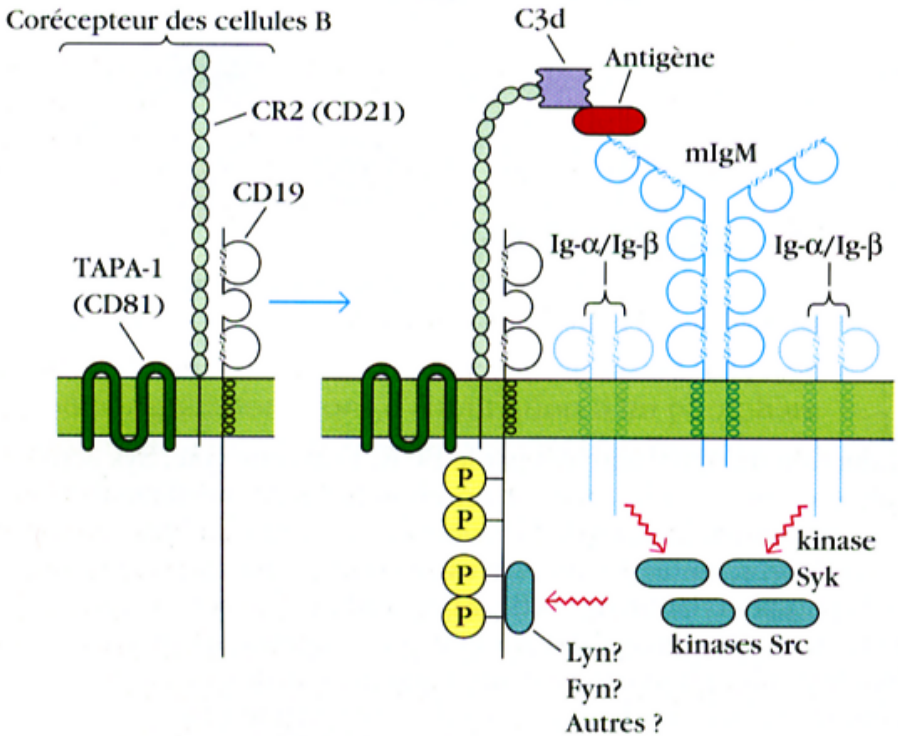


Figure 2 : Corécepteur associé au récepteur de l'antigène du lymphocyte B

2- Stimulation des lymphocytes B par l'Ag

Dans les organes lymphoïdes périphériques, les LB activés :

- entrent dans le cycle de division cellulaire
- et augmentent l'expression de certaines molécules de surface : les molécules de classe II du CMH, les molécules de la famille B7 : B7.1 (CD80) et B7.2 (CD86) et des récepteurs de cytokines (figure 3).

3- Rôle des lymphocytes T auxiliaires dans les réponses humorales

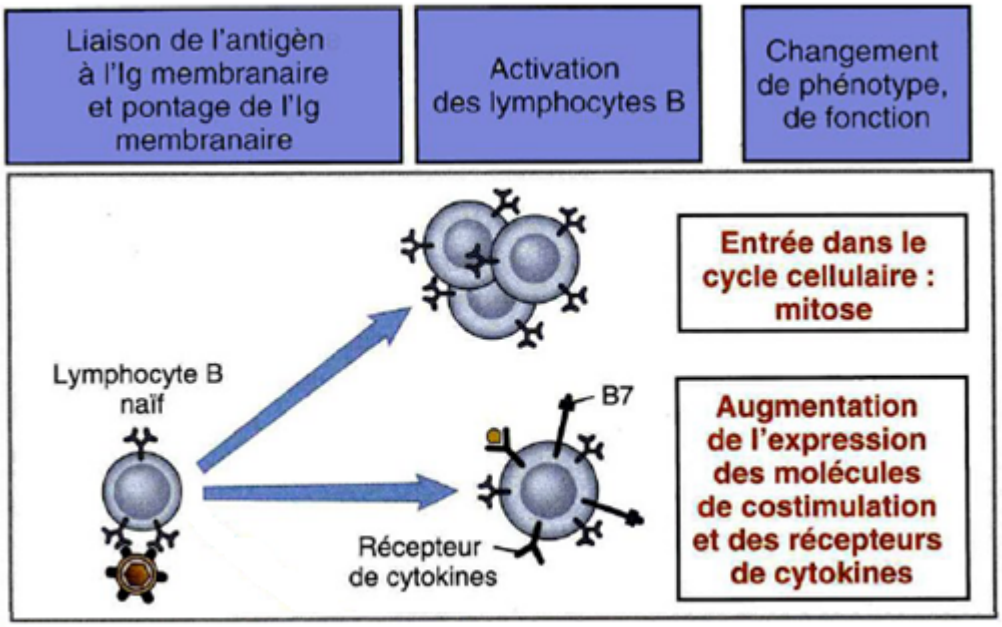
Pour qu'un Ag protéique stimule une réponse Ac, les LB et les LT auxiliaires spécifiques de cet Ag doivent interagir dans les organes lymphoïdes. Cette interaction stimule la prolifération et la différenciation des LB.

a. Activation et migration des lymphocytes T auxiliaires

Les LT naïfs $CD4^+$ sont activés suite à la reconnaissance de l'Ag spécifique présenté par les CPA professionnelles dans les zones riches en LT des tissus lymphoïdes périphériques.

➔Ils prolifèrent➔se différencient en lymphocytes T helper (Th).

Certains LT différenciés migrent vers les bords des follicules lymphoïdes, tandis que les LB stimulés par l'Ag à l'intérieur des follicules commencent à migrer vers l'extérieur (vers les LT).



D'après AK. Abbas et A. Lichtman. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Campus réféence. Elsevier. 2005

Figure 3 : Conséquences fonctionnelles de l'activation des lymphocytes B par l'Ag

b. Présentation des Ag par les lymphocytes B aux lymphocytes T helper

L'interaction T-B s'établit à l'interface entre les aires T et B à la périphérie des follicules lymphoïdes.

✓ **Interactions cognitives**

Les LB qui se lient aux Ag protéiques par l'intermédiaire de leurs Igm spécifiques, ingèrent ces Ag par endocytose, les apprêtent, et présentent les peptides associés aux molécules HLA classe II, afin qu'ils soient reconnus par les lymphocytes Th $CD4^+$ spécifiques.

➔Les LB se comportent en tant que cellules présentatrices d'Ag. Le LT et le LB reconnaissent des épitopes différents du même Ag protéique : épitope conformationnel pour le LB et séquentiel pour le LT.

✓ **Interactions non spécifiques**

En plus des molécules d'adhérence (ICAM-1, LFA-1 et LFA-3), le LB activé exprime des molécules de costimulation de la famille B7, il délivre ainsi au LT des signaux impliqués dans l'activation de gènes de cytokines et la production de facteurs qui conduisent à sa différenciation.

Le LT activé exprime le ligand de CD40 (CD40-L) et délivre en retour des signaux par la voie CD40-L/CD40 vers le LB ce qui aboutit à :

- La prolifération des LB (expansion clonale)
- La différenciation de certains LB en plasmocytes à courte durée de vie, sécréteurs d'Ac (IgM) de faible affinité

Parallèlement, les LT activés prolifèrent et sécrètent des facteurs de croissance à fonction autocrine (IL-2), et des facteurs de croissance et de différenciation des LB (IL-4, IL-5, IL-6…) (figure 4).

4- Formation d'un centre germinatif

Le centre germinatif est le lieu de prolifération des LB activés, de maturation d'affinité du BCR pour l'Ag, de la commutation isotypique des Ig et la différenciation des LB activés en plasmocytes et en cellules mémoires (figure 5).

a. Expansion clonale

Des cellules B et T activés migrent vers les follicules primaires. Ces derniers se développent alors en follicules secondaires.

Les LB subissent une expansion massive (centroblastes) qui aboutit à la formation du centre germinatif.

Les centroblastes se retrouvent au niveau de la zone sombre du centre germinatif.

Leurs descendants, les centrocytes, sont de petites cellules qui ne se divisent pas et qui expriment une Igm : les centrocytes migrent vers la zone claire du centre germinatif.

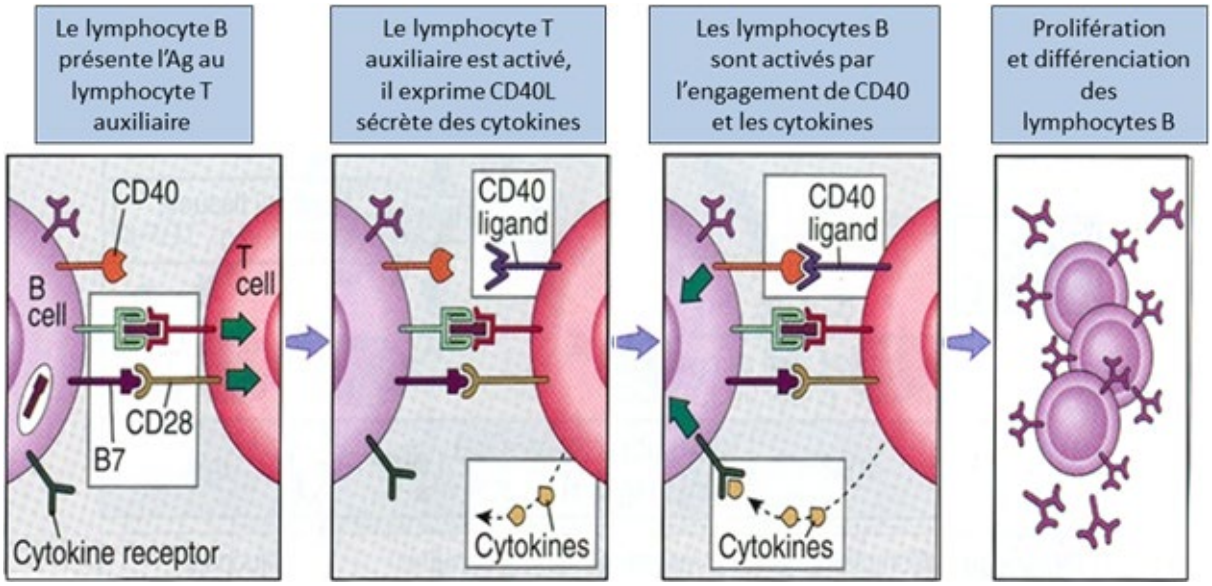


Figure 4 : Mécanismes d'activation des lymphocytes B par les lymphocytes T helper

b. Maturation d'affinité

La maturation d'affinité survient dans les centres germinatifs. Elle résulte d'une hypermutation somatique des gènes codant pour les Ig, suivie par la sélection, par les cellules dendritiques folliculaires, des LB de haute affinité pour l'Ag présenté.

- ✓ **Hypermutation :**

Les mutations somatiques surviennent dans les centroblastes avec une fréquence 1000 fois supérieure au taux normal de mutations. Elles sont limitées aux gènes codant les régions variables des chaînes lourdes et légères (VH et VL) des Ig.

- ✓ **Sélection :**

Au niveau de la zone claire du centre germinatif, les centrocytes peuvent capturer l'Ag présenté à la surface des cellules dendritiques folliculaires. Seuls les centrocytes ayant un récepteur de forte affinité pour l'Ag reçoivent un signal de survie. Les autres (affinité faible ou nulle pour l'Ag) meurent par apoptose. Les centrocytes sélectionnés sont capables d'apprêter l'Ag et de le présenter aux LT helper, l'engagement de CD40 à ce niveau est essentiel pour la commutation isotypique.

Au niveau de la zone claire, les centrocytes subissent une différenciation en deux types de descendants : les plasmoblastes et les cellules B mémoire.

Les plasmoblastes quittent le centre germinatif et migrent vers la médullaire du ganglion lymphatique où ils se différencient en plasmocytes qui sécrètent les Ac.

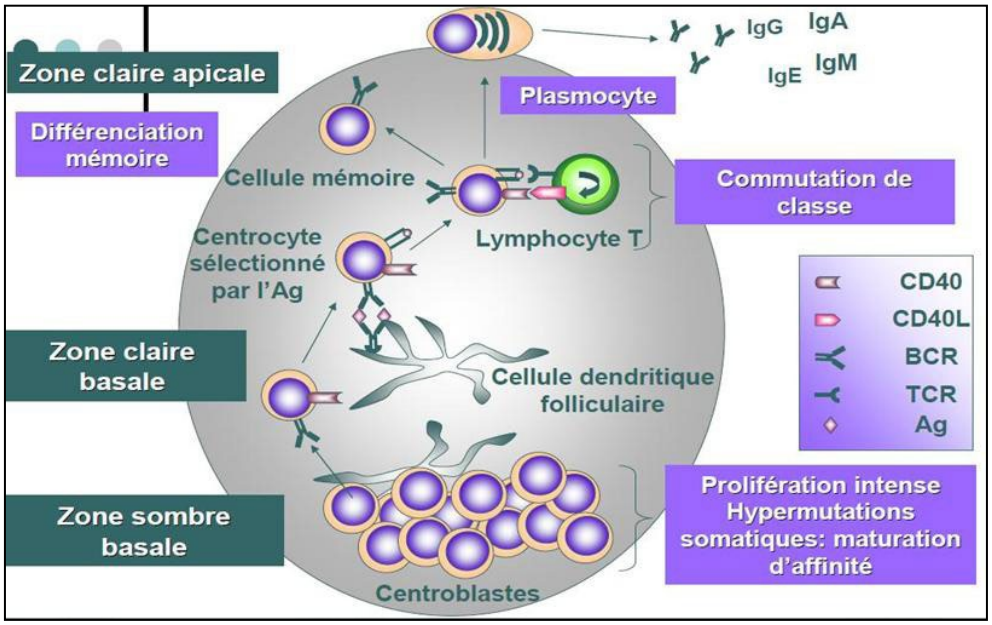


Figure 5 : centre germinatif, prolifération et différenciation des lymphocytes B

5- Différenciation des lymphocytes B

a. Commutation isotypique

La commutation de classe résulte de l'utilisation par une même cellule mais à des temps différents de gènes CH distincts.

Mécanisme : recombinaison avec délétion d'un segment génique (ADN), qui amène le complexe VDJ (voisin du gène Cμ) au contact d'un autre gène constant de chaîne lourde.

Le rôle des LT est double dans la commutation isotypique :

- Par la délivrance du signal activateur via l'interaction CD40/CD40-L avec les centrocytes
- Par la synthèse de cytokines impliquées dans l'orientation vers la production des différentes classes d'Ig (figure 6) :
  - L'IL-4 et l'IL-13 stimulent la différenciation des LB en cellules productrices d'IgE.
  - L'IFNγ inhibe la production d'IL-4 et donc celle des IgE, il favorise le switch vers les IgG

- Le TGFβ abondant au niveau des tissus muqueux, est responsable du switch orienté vers la production d'IgA

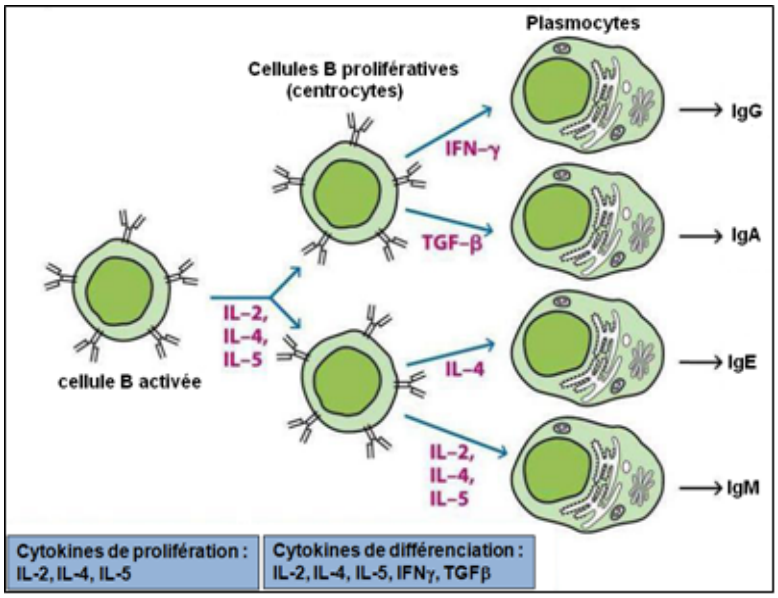


Figure 6 : rôle des cytokines dans la commutation isotypique

b. Différenciation plasmocytaire

La différenciation plasmocytaire s'accompagne de nombreux changements morphologiques qui correspondent à l'engagement du plasmocyte dans la production d'Ac en grande quantité.

La transition de la forme membranaire à la forme sécrétée des Ig correspond à un processus de maturation de l'ARN avec épissage du transcrit primaire et élimination des deux derniers exons codant le segment transmembranaire et les derniers acides aminés cytoplasmiques de la chaîne lourde.

c. Différenciation en lymphocytes B mémoires

Parmi les centrocytes sélectionnés, certains se différencient en LB mémoire à vie **longue**, qui supporteront la réponse immunitaire anamnestique lors d'une rencontre ultérieure avec l'Ag.

Les LB naïfs n'expriment que l'IgM et l'IgD ; tandis que les LB mémoires expriment l'un des autres isotypes (IgG ou IgA).

III- Réponse Ac contre les Ag Thymo-indépendants

Les polysaccharides, les lipides et les autres Ag non protéiques déclenchent des réponses anticorps sans la participation des LT auxiliaires (figure 7).

Les Ag polysacharidiques et lipidiques contiennent souvent des alignements multivalents du même épitope;➔ pontages (Cross-linking) entre plusieurs récepteurs d'Ag sur un LB spécifique ➔activation des LB de façon suffisante pour stimuler leur prolifération et leur différenciation sans nécessiter la collaboration avec les LT. Les Ac produits sont d'isotype IgM.

La réponse humorale à ces Ag se caractérise par l'absence de commutation de classe et l'absence de mémoire immunitaire.

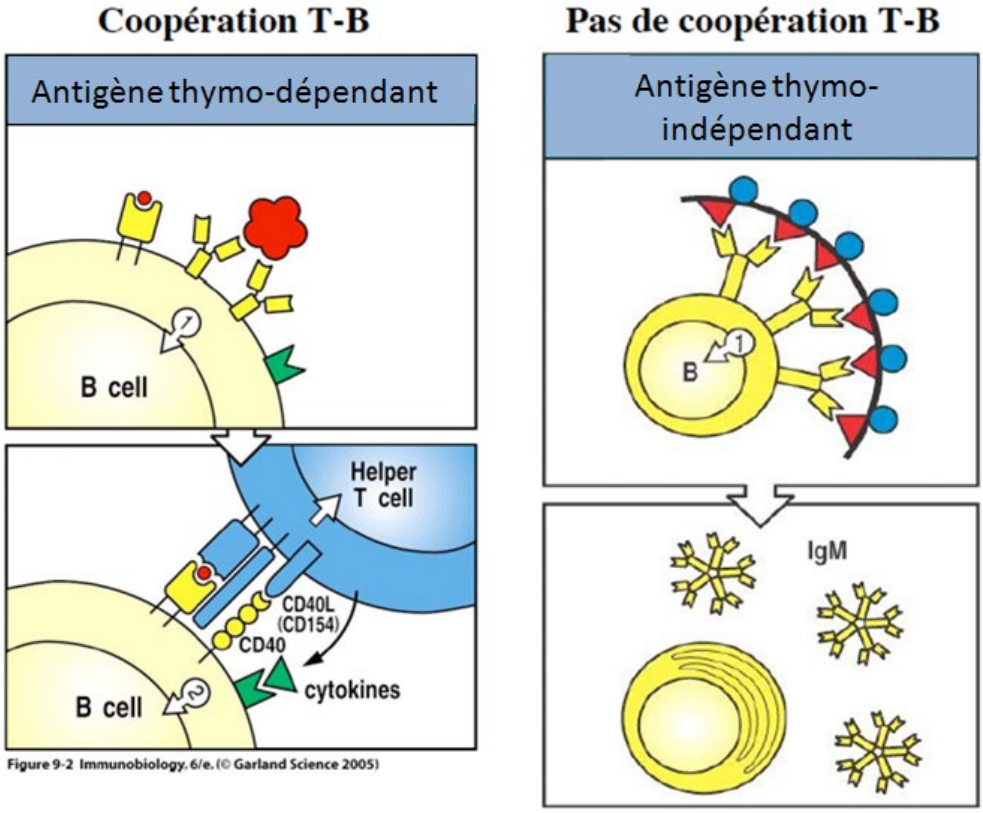


Figure 7 : Réponses Ac contre les Ag Thymo-dépendants et Thymo-indépendants

IV- Réponse humorale primaire et secondaire

1- Réponse humorale primaire

Elle correspond à la 1ère introduction d'un Ag étranger dans un organisme.

Après une phase de latence de durée variable (24 heures à 2 semaines), apparaissent des Ac circulants : d'abord de classe IgM puis de classe IgG (48h après les IgM).

Le taux des IgG croit progressivement aboutissant à un plateau (dépassant la valeur du pic IgM) qui dure plusieurs semaines avant de décroître lentement.

2- Réponse humorale secondaire

Elle survient chez un sujet pré-immunisé, lors d'un nouveau contact avec l'Ag.

Elle est liée au phénomène de mémoire immunitaire

Cette mémoire s'établit lors de la réponse Ac primaire et est spécifique. Ainsi, seule l'introduction du même Ag entraîne une réponse de type secondaire.

Des doses minimes d'Ag suffisent à déclencher la réponse anamnestique qui est :

- plus précoce (phase de latence plus courte)
- plus intense (taux d'Ac plus élevé)
- plus prolongée (le taux élevé d'Ac va persister plus longtemps parfois même indéfiniment)
- Les anticorps produits sont d'emblée des IgG parfois des IgA.

En règle générale, à chaque nouvelle immunisation, on assiste à un accroissement de l'affinité des Ac pour l'Ag immunisant (figure 8).

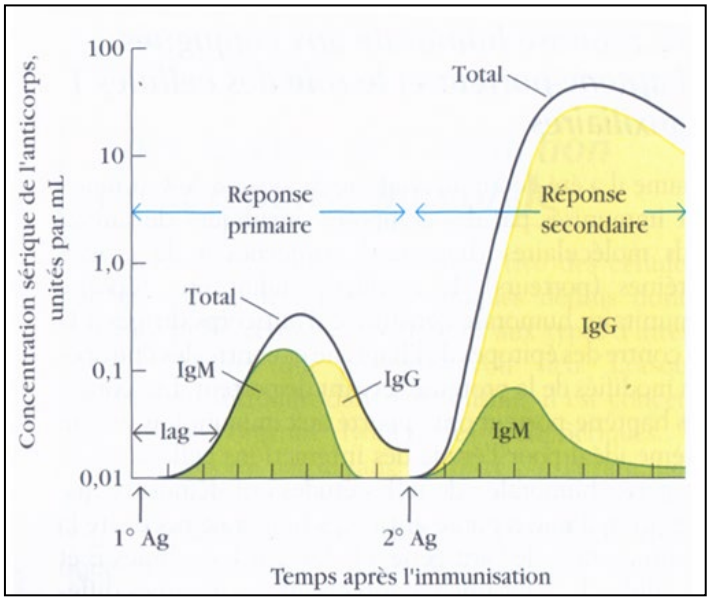


Figure 8 : Réponses Ac primaire et secondaire

V- Conclusion

L'immunité humorale est assurée par les Ac, qui neutralisent les micro-organismes extracellulaires et leurs toxines et contribuent à les éliminer.

Les Ag protéiques activent les lymphocytes T $CD4^+$, qui stimulent les réponses des LB. Les LB spécifiques d'un Ag se lient à celui-ci, l'internalisent et l'apprêtent, puis

présentent les peptides liés aux molécules de classe II du CMH à des LT également spécifiques de cet Ag. Les LT helper expriment CD40-L et sécrètent des cytokines, qui agissent ensemble pour stimuler fortement la prolifération et la différenciation terminale des LB.

La commutation isotypique dépend de l'engagement CD40/CD40-L et des cytokines sécrétées.

La maturation d'affinité est le processus par lequel l'affinité des Ac pour des Ag protéiques augmente avec la durée ou la répétition de l'exposition à l'Ag.

Ce processus se déroule lorsque certains LB activés migrent dans les follicules et constituent les centres germinatifs. A cet endroit, les LB prolifèrent et leurs gènes codant les régions variables des Ig subissent d'importantes mutations somatiques. L'Ag est présenté par les cellules dendritiques folliculaires dans les centres germinatifs. Les LB qui reconnaissent l'Ag avec une forte affinité sont sélectionnés et se différencient en plasmocytes producteurs d'Acet en LB mémoires.

Les polysaccharides, les lipides et les autres Ag non protéiques sont qualifiées d’Ag Thymo-indépendants, car ils induisent des réponses Ac ne nécessitant pas la coopération des LT.

LES REACTIONS D'HYPERSENSIBILITE

Dr Sawsan FEKI

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Définir l'hypersensibilité et préciser la classification de Gell et Coombs des réactions d'hypersensibilité
2. Citer les exemples en pathologie humaine des différents types de réactions d'hypersensibilité
3. Définir l'allergie et préciser les signes cliniques correspondants
4. Expliquer les mécanismes physiopathologiques effecteurs des réactions d'hypersensibilité impliquées dans l'allergie
5. Citer brièvement les modalités d'exploration clinique et paraclinique devant une suspicion d'allergie

I-Définition et classification des réactions d'hypersensibilité

On appelle hypersensibilité une réponse immunitaire exagérée ou inappropriée à un antigène (Ag) donné, responsable de lésions tissulaires et qui se manifeste lors d'une deuxième exposition à cet Ag.

Gell et Coombs, en 1963, ont classé les réactions d'hypersensibilité en 4 types différents par la nature des effecteurs, le type de manifestations observées et le délai de leur apparition :

- type I : hypersensibilité immédiate (HSI)
- type II : hypersensibilité cytotoxique dépendante d'anticorps (Ac)
- type III : hypersensibilité à complexes immuns ou semi-retardée
- type IV : hypersensibilité retardée (HSR) ou à médiation cellulaire.

S'il est vrai que, l'hypersensibilité immédiate ou anaphylactique provoque dans la plupart des cas des désordres physiopathologiques dans l'organisme, il n'en est pas toujours de même pour les 3 autres types d'hypersensibilité qui sont simplement le reflet d'une certaine immunité. Ces différents types d'hypersensibilité participent, isolés ou associés, à la réponse immunitaire générale de l'organisme.

Le terme allergie a été introduit par Von Pirquet en 1906, pour désigner les réactions d'hypersensibilité retardée de type tuberculinique. Mais l'usage de ce

terme a prévalu dans son sens pathologique : l'allergie est actuellement assimilée à la maladie allergique et correspond aux réactions d'hypersensibilité provoquées par des Ag habituellement bien tolérés par la majorité des individus,c'est à dire essentiellement les réactions d'hypersensibilité immédiate.

La place des maladies allergiques en pathologie humaine est de plus en plus importante. D'abord sur le plan numérique, puisque on estime à plus de 20% l'incidence de ces affections dans les pays industrialisés. Ensuite en ce qui concerne la gravité, puisque l'éventail des maladies allergiques comprend des accidents comme le choc anaphylactique susceptible de tuer en quelques minutes et des maladies comme l'asthme dont le retentissement, chez l'enfant, peut compromettre la croissance et qui, à tout âge, peut mener à l'insuffisance respiratoire.

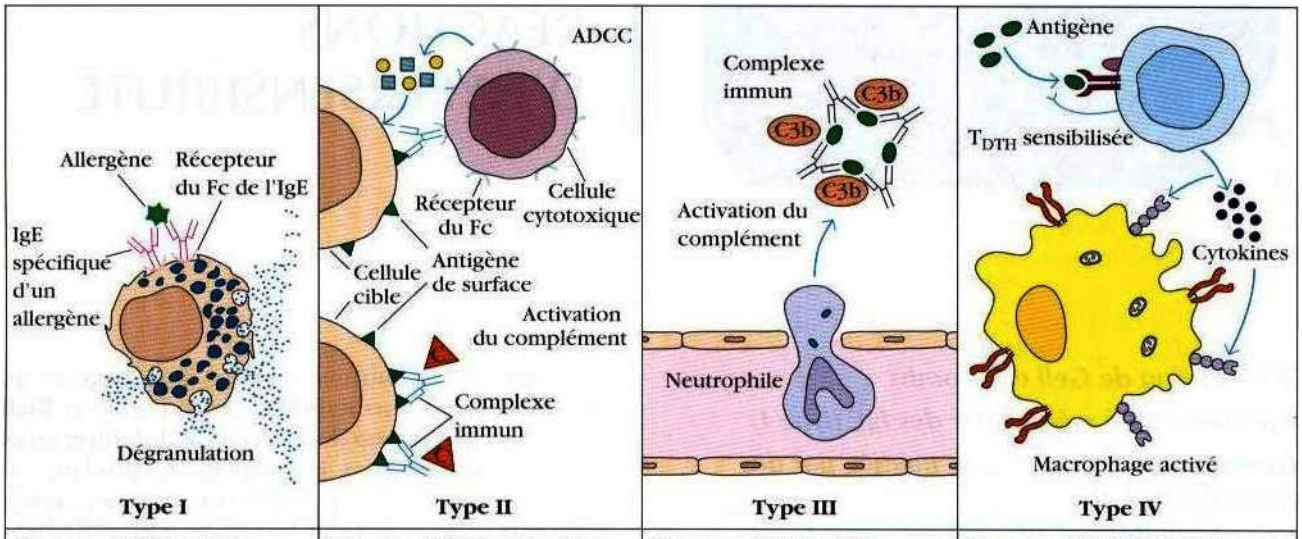
II-Hypersensibilité type 1 ou hypersensibilité immédiate

1) Le choc anaphylactique expérimental

Richet et Portier, en 1902, injectent par voie intraveineuse à un chien, en vue de l'immuniser, des substances toxiques extraites de l'anémone de mer. La première injection est bien tolérée (injection sensibilisante), l'extrait antigénique est administré à très faible dose pour justement éviter les effets toxiques. La 2ème injection, 10 à 21 jours après, déclenche un état de choc immédiat avec chute de la tension artérielle, dyspnée, vomissements et diarrhée… La mort de l'animal survient dans les 30 mn. A l'autopsie, on découvre une intense dilatation des veines notamment dans la région hépatique. Richet et Portier ont introduit le terme d'analphylaxie (par opposition à prophylaxie) pour désigner ce type de réaction inattendue.

2) Mécanisme de l'hypersensibilité immédiate (HSI)

La première injection de l'Ag entraîne la production d'Ac spécifiques de classe IgE. Ces Ac se fixent par leurs fragments Fc aux récepteurs membranaires de forte affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RI) présents en grand nombre sur les mastocytes tissulaires et sur les polynucléaires basophiles du sang circulant.



Type I	Type II	Type III	Type IV
Hypersensibilité médiée par l'IgE	Hypersensibilité cytotoxique médiée par l'IgG	Hypersensibilité médiée par un complexe immun	Hypersensibilité à médiation cellulaire
L'Ag induit la formation de liaisons croisées entre les IgE liées aux mastocytes ou aux basophiles avec libération de médiateurs vasoactifs	L'Ac dirigé contre les antigènes de surface de la cellule médie la destruction des cellules par l'activation du complément ou l'ADCC	Les complexes Ag-Ac déposés dans divers tissus induisent l'activation du complément, puis une réponse inflammatoire médiée par l'infiltration massive de neutrophiles	Les cellules T_{DTH} sensibilisées libèrent des cytokines qui activent les macrophages ou les cellules T_C qui médient une lésion cellulaire directe
Les manifestations typiques incluent celles de l'anaphylaxie systémique et celles de l'anaphylaxie localisée, telles que le rhume des foins, l'asthme, l'urticaire, les allergies alimentaires et l'eczéma	Les manifestations typiques incluent les réactions transfusionnelles, l'érythroblastose fœtale et l'anémie hémolytique auto-immune	Les manifestations typiques incluent la réaction d'Arthus localisée et des réactions généralisées, telles que la maladie sérique, la vascularite nécrosante, la glomérulonéphrite, la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé	Les manifestations typiques incluent la dermatite de contact, les lésions tuberculeuses et le rejet des greffes

IGURE 16.1 Les quatre types de réponses d'hypersensibilité.

L'Ag injecté une deuxième fois va immédiatement réagir avec le fragment Fab de ces Ac IgE adsorbés par leur fragment Fc à la surface des mastocyte et des PNB, ce qui déclenche l'activation de ces cellules.

Ainsi activés, les mastocytes et les polynucléaires basophiles (PNB) libèrent immédiatement les ***médiateurspréformés*** et ***stockés*** dans leurs granules cytoplasmiques (histamine, sérotonine, NCF-A, ECF-A…) et se mettent à en produire d'autres, ***néoformés*** ou néosynthétisés (médiateurs lipidiques : prostaglandines, leucotriènes, PAF ; et cytokines : IL3, IL4, IL5, TNFα…) qu'ils libèrent dans un deuxième temps.

Ces médiateurs pharmacologiquement actifs sont responsables directement et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils recrutent et activent des manifestations liées à la réaction d'hypersensibilité immédiate.

3) L'hypersensibilité type 1 en pathologie humaine

Les manifestations cliniques de l'HSI peuvent prendre une forme généralisée : l'anaphylaxie, ou une forme localisée : l'atopie.

Le choc anaphylactique, expression systémique de l'HSI est heureusement rare chez l'homme. Il survient après injection de sérums xénogéniques (sérothérapie…), de certains médicaments (pénicilline et dérivés, anesthésiques, produits de contraste radiologique…) ou de venins d'insectes hyménoptères (piqûre d'abeille ou de guêpe).

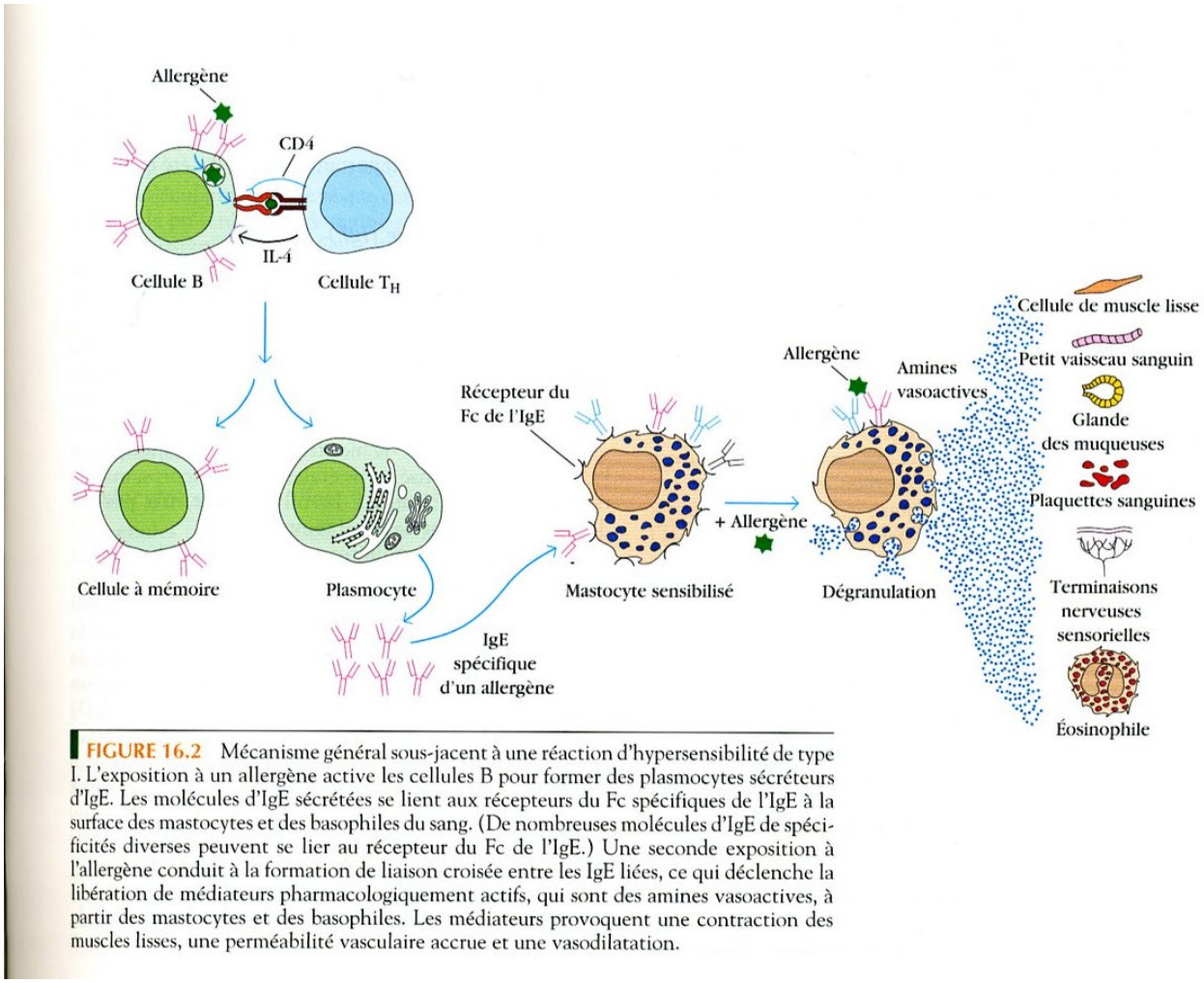


FIGURE 16.2 Mécanisme général sous-jacent à une réaction d'hypersensibilité de type I. L'exposition à un allergène active les cellules B pour former des plasmocytes sécréteurs d'IgE. Les molécules d'IgE sécrétées se lient aux récepteurs du Fc spécifiques de l'IgE à la surface des mastocytes et des basophiles du sang. (De nombreuses molécules d'IgE de spécificités diverses peuvent se lier au récepteur du Fc de l'IgE.) Une seconde exposition à l'allergène conduit à la formation de liaison croisée entre les IgE liées, ce qui déclenche la libération de médiateurs pharmacologiquement actifs, qui sont des amines vasoactives, à partir des mastocytes et des basophiles. Les médiateurs provoquent une contraction des muscles lisses, une perméabilité vasculaire accrue et une vasodilatation.

Les maladies atopiques, par contre, sont très fréquentes chez l'homme. Elles surviennent après exposition naturelle à l'Ag par inhalation, par ingestion ou par contact avec la peau et présentent généralement un caractère familial héréditaire qu'on rattache en grande partie à des particularités de la réponse IgE. Les maladies atopiques regroupent :

- Les rhinites saisonnières ou périodiques,
- L'asthme extrinsèque,
- L'eczéma atopique ou constitutionnel encore appelé dermatite atopique, à distinguer de la dermite de contact qui répond à un mécanisme d'HSR,
- Certains urticaires,
- L'œdème de Quincke…

Le point commun de toutes ces formes d'allergie est l'induction de la production d'Ac de classe IgE par un Ag particulier appelé allergène. Le début rapide et brutal des accidents (10 à 15 mn) est typique des réactions d'HSI quoique, dans certains cas, il peut être décalé par rapport au contact antigénique en raison d'un délai nécessaire pour l'absorption ou pour la transformation métabolique de l'allergène.

4) Les allergènes

Les Ag responsables des manifestations allergiques liées à l'HSI sont appelés allergènes. Ce sont des Ag non parasitaires qui, chez certains sujets donnent une réponse Ac de type IgE, tandis que chez la grande majorité des individus, s'ils induisent une réponse Ac spécifique, celle-ci est de classe IgM, IgG ou IgA.

Les allergènes sont en règle générale des Ag banaux de l'environnement, habituellement inoffensifs. La plupart des allergènes sont des molécules de petite taille, très solubles, portées par des particules desséchées et présentées au système immunitaire à de très faibles concentrations.

En pratique, on distingue les pneumallergènes pour lesquels le contact est respiratoire : pollens, acariens de la poussière de maison, poils de chats et de chiens, plumes, moisissures etc. ; et les trophallergènes qui sont absorbés par voie digestive : œufs, poissons, lait, crustacés, céleri, arachides, fraises, chocolat etc.

Un cas particulier, celui des médicaments (pénicilline, produits anesthésiques et de contraste radiologique..) et du venin d'hyménoptères (guêpe, abeille) pour lesquels le contact se fait par injection ou piqure.

5) Les IgE

a) Particularités des IgE

Comme les autres immunoglobulines (Ig), les IgE sont constituées de 2 chaînes lourdes ε et de 2 chaînes légères κ ou λ reliées par des ponts disulfures et des liaisons de faible énergie. Les chaînes lourdes ε comportent 5 domaines : 1 domaine VH et 4 domaines CH (un domaine CH supplémentaire par rapport aux IgG). Les IgE se distinguent des autres classes d'Ig par :

- Leur très faible concentration dans le sérum normal (100 à 200 ng/ml

soit environ 100.000 fois moins que les IgG)

- Leur faible durée de vie (demie vie moyenne : 3 jours)

- Leur thermolabilité : perte de la cytophilie avec conservation de la fonctionAc après chauffage à 56°C pendant 30 mn, et surtout

- Leur capacité de se lier, par la portion terminale du fragment Fc, à des récepteurs membranaires des mastocytes et des basophiles avec une très haute affinité (1 à 2 x 10^{-9}). La durée de vie des IgE ainsi adsorbés à la surface de ces cellules peut aller jusqu'à 12 semaines.

b) Variation du taux d'IgE sériques

Extrêmement faible chez le sujet sain, le taux sérique des IgE est nettement augmenté chez les sujets allergiques. D'ailleurs, plus le taux d'IgE sériques totales est élevé et plus on a de risque de développer une maladie allergique. Mais cela n'a rien d'absolu puisque, d'une part, le taux d'IgE sériques totales peut être parfaitement normal chez certains sujets allergiques surtout s'ilssont mono-sensibilisés ; d'autre part, on peut avoir un taux d'IgE sériques totales très élevé sans pour autant être allergique (infections parasitaires, syndrome de Buckley…). La quantité d'IgE sériques totales n'a donc qu'une valeur de présomption dans le diagnostic des maladies allergiques.

c) Régulation de la réponse IgE

Le niveau de production des IgE totales semble être un caractère héréditaire. L'étude des familles atopiques a permis d'identifier une région sur le chromosome 11-q et une autre sur le chromosome 5-q qui semblent fortement impliquées dans la

prédisposition à l'atopie. La première région comprend le gène qui code pour la sous-unité β du récepteur de forte affinité pour les IgE, tandis que la 2ème sur le chromosome 5 comprend les gènes qui codent pour l'IL3, l'IL4, l'IL5, l'IL9, l'IL 12, l'IL 13 et le GM-CSF. Ces cytokines sont importantes pour la prolifération/différenciation des lymphocytes B et la commutation isotypique vers les IgE d'une part, et pour la production des mastocytes, des polynucléaires éosinophiles (PNE) et basophiles et leur activation, d'autre part.

A côté de ce contrôle génétique de la production d'IgE, il existe une régulation de la réponse IgE par des lymphokines sécrétées par les lymphocytes T helper et agissant sur les lymphocytes B : l'IL4 et L'IL13 qui stimulent la réponse IgE est l'INF γ responsable de l'effet inverse.

d) Rôle physiologique des IgE

Les IgE jouent un rôle important dans l'immunité anti-parasitaire et plus particulièrement contre les helminthes en faisant intervenir les PNE, les macrophages et les plaquettes. Ces cellules cytotoxiques agissent comme des cellules K ou "killer" par cytotoxicité cellulaire Ac-dépendante (ADCC) grâce à leur récepteur membranaire de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RII ou CD23) qui, contrairement au Fcε-RI, aune large distribution cellulaire : monocytes-Mφ et cellules apparentées, PNE, plaquettes, lymphocytes B activés.

6) Les mastocytes et les polynucléaires basophiles

PNB et mastocytes dérivent d'un précurseur hématopoïétique commun. Comme les autres granulocytes, les PNB quittent la moelle hématopoïétique à l'état mature et gagnent le sang circulant où ils représentent 0,5 % du total des leucocytes. Tandis que les mastocytes quittent la moelle à un stade encore immature ; ils poursuivent leur différenciation (formation des granules intra-cytoplasmiques…) dans les tissus périphériques. Les mastocytes sont largement répandus dans le tissu conjonctif, les muqueuses intestinales et bronchiques et les séreuses.

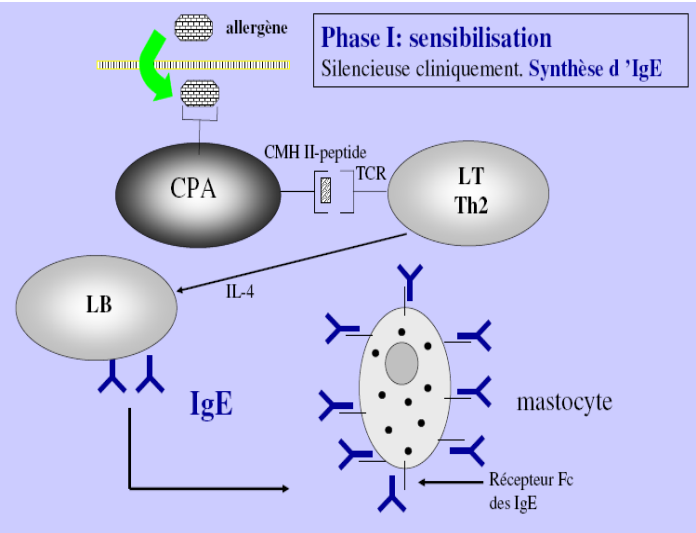
Les mastocytes et les PNB sont les principales cellules effectrices de l'HSI. Ces cellules portent à leur surface des récepteurs membranaires de forte affinité pour

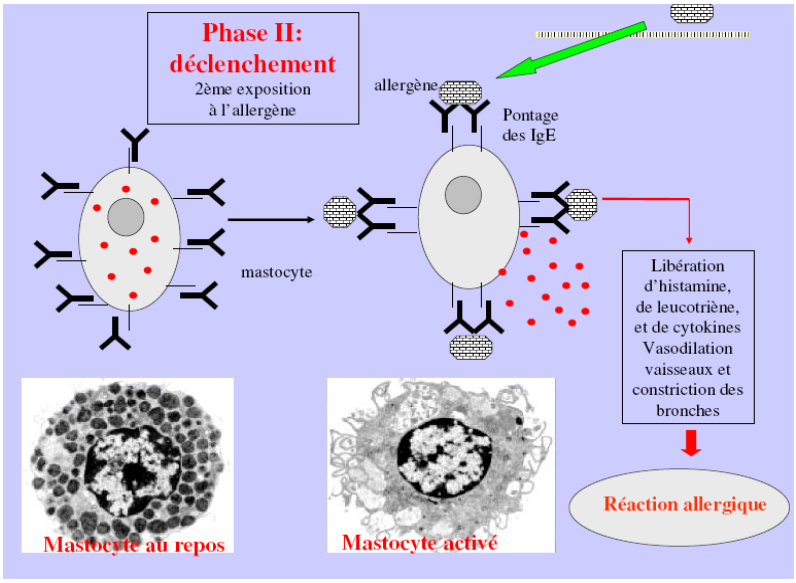
le fragment Fc des IgE et présentent dans leur cytoplasme de nombreux granules où sont stockés des médiateurs préformés notamment l'histamine qui joue le rôle principal dans les manifestations de l'HSI par son action rapide sur les vaisseaux et les fibres musculaires lisses.

La fixation de l'allergène à ses Ac IgE spécifiques adsorbés à la surface du mastocyte ou du PNB entraîne le pontage des IgE et donc celui des Fcε-RI. C'est ce pontage des récepteurs membranaires de haute affinité pour le fragment Fc des IgE qui constitue le signal d'activation du mastocyte et du PNB.

Il déclenche l'activation séquentielle de plusieurs enzymes membranaires et/ou cytoplasmiques, ce qui se traduit par une cascade de réactions de phosphorylation et de méthylation avec accumulation de Ca^{++} responsable (avec la protéine kinase C : PKC) : 1- de la fusion des granules avec la membrane plasmique (dégranulation) et 2- de l'activation de la phospholipase A_2 provoquant le clivage de la phosphatidylcholine (PC) en lyso-PC (précurseur du PAF) et acide arachidonique (précurseur des leukotriènes et des prostaglandines).

L'activation des PNB et des mastocytes peut être déclenchée par d'autres stimuli immunologiques ou non : C3a, C5a, IL1, Ac anti-IgE, morphine, codéine, composé 48/80 etc.…





7) Les médiateurs de l'HSI

a) Les médiateurs préformés (ou primaires)

Ce sont des agents pharmacologiquement actifs stockés dans les granules intra-cytoplasmiques des mastocytes et des PNB qui agissent sur les tissus locaux et sur les cellules effectrices. Il s'agit principalement de l'histamine, l'héparine et d'autres protéoglycanes liés à des protéases. Les enzymes (tryptase, chymase, cathepsine G, carboxypeptidase..) sont les composants les plus abondants des granules des mastocytes et des basophiles. Les granules des mastocytes contiennent, en plus, de la sérotonine, du TNFα et des facteurs chimiotactiques des polynucléaires éosinophiles(ECF-A :"*eosinophilchemotactic factor of anaphylaxis*") et neutrophiles (NCF-A).

L'histamine dérive directement de l'histidine par action de l'histidine-décarboxylase en présence de vitamine B6 (phosphate pyridoxal). Son petit poids moléculaire lui permet, une fois libérée, de diffuser très rapidement dans les tissus où elle induit une contraction des fibres musculaires lisses (vaisseaux, bronches et intestin). Son action brutale et brève se traduit au niveau des vaisseaux par une constriction au niveau des veinules post-capillaires avec vasodilatation en amont et augmentation de la perméabilité capillaire (œdème) et, au niveau des bronches, par une bronchoconstriction avec hypersecrétion de mucus par les cellules caliciformes.

Ces effets de l'histamine résultent essentiellement de son interaction avec ses

récepteurs membranaires de type H1. La liaison avec les récepteurs de type H2 se traduit par une vasodilatation et la stimulation des glandes exocrines ; tandis qu'au niveau des mastocytes et des PNB, elle inhibe la dégranulation et donc l'histaminolibération (rétrocontrôle négatif).

Les protéases libérées lors de la dégranulation endommagent les tissus en détruisant les protéines de la matrice.

Les facteurs chimiotactiques ECFA-A et NCF-A attirent et recrutent un grand nombre de polynucléaires éosinophiles et neutrophiles.

b) Les médiateurs néoformés (ou secondaires)

Ce sont des médiateurs synthétisés "de novo" au sein de la membrane plasmique à partir de la phosphatidylcholine (PC) qui est convertie en acide arachidonique par la phopholipase A_2. L'acide arachidonique est métabolisé selon deux voies :

- La voie de la cyclo-oxygénase qui donne naissance aux prostaglandines (PG)
- La voie de la lipo-oxygénase qui donne naissance aux leucotriènes (LT).

La conversion de la PC en acide arachidonique par la phospholipase A_2 s'accompagne de la libération de lyso-PC qui, après action d'une acétyle-transférase, donne naissance au PAF ("*PlateletAgregating Factor*"). La synthèse de ces médiateurs néoformés débute avec l'activation du mastocyte ou du basophile, mais leur libération se fait avec un certain retard par rapport à l'histamine.

Comme l'histamine, les PG D2 et E2, les LT C4 et D4 induisent une vasodilatation avec augmentation de la perméabilité capillaire et une broncho-constriction avec hypersécrétion de mucus. Ces médiateurs lipidiques viennent prendre le relai de l'histamine ; leur action prolongée est bien plus intense que celle de l'histamine, qui elle est plus rapide mais beaucoup plus brève aussi.

Le PAF est un médiateur rapide à demi-vie très courte et doué de nombreux effets en plus de l'agrégation et de l'activation plaquettaire (libération des médiateurs et des enzymes lysosomiaux stockés respectivement dans les corps denses et les granules α de ces cellules) :

- Vasoconstriction avec augmentation de la perméabilité capillaire

- Bronchoconstriction avec hyper-réactivité bronchique
- Chimiotactisme et activation des PNN et surtout des PNE avec libération d'enzymes protéolytiques, de protéines toxiques, de cytokines et de médiateurslipidiques.

c) Les cytokines

Les mastocytes activés sécrètent une grande variété de cytokines qui contribuent à la modification du microenvironnement local et à l'amplification et l'entretien des réponses inflammatoires.

Ainsi, le TNFα (dont une partie provient de la dégranulation des mastocytes) induit une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales ce qui se traduit par un afflux massif de leucocytes. Des concentrations élevées de TNFαlibéré par les mastocytes pourraient contribuer au choc anaphylactique comme dans le choc septique.

La chimiokine CCL3 recrute plus particulièrement les PNN et les monocytes.

L'IL4 et l'IL13 stimulent la réponse Th2 caractéristique des réactions d'HSI.

L'IL3 et le GM-CSF stimulent la myélopoïèse ; l'IL3 accroit la production de mastocytes, l'IL4 celle des basophiles, tandis que l'IL5 favorise la lignée éosinophile.

8) Autres cellules intervenant dans l'HSI

Il est maintenant évident que si les mastocytes sont avec les PNB les principales cellules effectrices des réactions d'HSI, elles ne sont certainement pas les seules. D'autres cellules interviennent, en particulier les PNE, les macrophages (Mφ) et les plaquettes.

En effet, ces cellules qui portent à leur surface un récepteur de faible affinité pour le fragment Fc des IgE (Fcε-RII ou CD23) sont capables, une fois activées, de libérer leurs enzymes lysosomiales, des cytokines (IL1, IL6, IL8, GM-CSF, TNFα, des médiateurs néosynthétisés (LT, PG et PAF) et, dans le cas des plaquettes, des médiateurs préformés (histamine, sérotonine et héparine).

Les PNE activés expriment aussi le récepteur de forte affinité Fcε-RI. Leur présence

continue et en grand nombre au site de la réaction inflammatoire allergique, la grande variété d'enzymes (collagénase, métalloprotéase..), de protéines toxiques (protéine basique majeure, protéine cationique des éosinophiles..) et de cytokines (IL3, IL5, IL8, TGFβ) qu'ils libèrent et leurs puissants effets sur l'infiltrat cellulaire et les tissus environnants, font des PNE un acteur cellulaire essentiel des réactions d'HSI.

Les 3 types de cellules (PNE, PNN et Mφ) produisent en plus du PAF, la PGE2 responsable d'une vasodilatation avec augmentation de la perméabilité capillaire.

Le thromboxane A2 (TXA2), une prostaglandine produite par les Mφ et les plaquettes, induit une bronchoconstriction et une agrégation plaquettaire.

Le macrophage produit aussi du LTC4 et surtout du LTB4 qui est un puissant facteur chimiotactique des PNN.

Il est intéressant de noter que les cellules épithéliales bronchiques peuvent produire du LTB4 et les cellules endothéliales de la prostacycline (PGX).

En fait, le rôle de tous ces médiateurs préformés et néoformés dépasse largement le champ des réactions d'HSI. Ils constituent, avec les quinines (bradykinine, kallidine..), les anaphylatoxines (C5a et C3a) et certaines cytokines (TNFα, IL1 et IL6), les principaux médiateurs de l'inflammation aiguë.

9)Déroulement des manifestations cliniques au cours des réactions d'HSI

Les médiateurs préformés et néoformés sont, avec les cytokines et chimiokines, directement et/ou par l'intermédiaire des cellules qu'ils ont recrutées, responsables des manifestations cliniques de l'HSI. Celles-ci évoluent en 2 phases : une phase immédiate et une phase tardive.

La <u>phase immédiate</u>, classique, débute très rapidement et culmine 15 à 20 minutes après le contact avec l'allergène. Cette phase immédiate, vite réversible, résulte de l'association de phénomènes de vasodilatation, d'œdème et de contraction des fibres musculaires lisses dus principalement à l'histamine relayée par le PAF, la PGD2 et le LTC4.

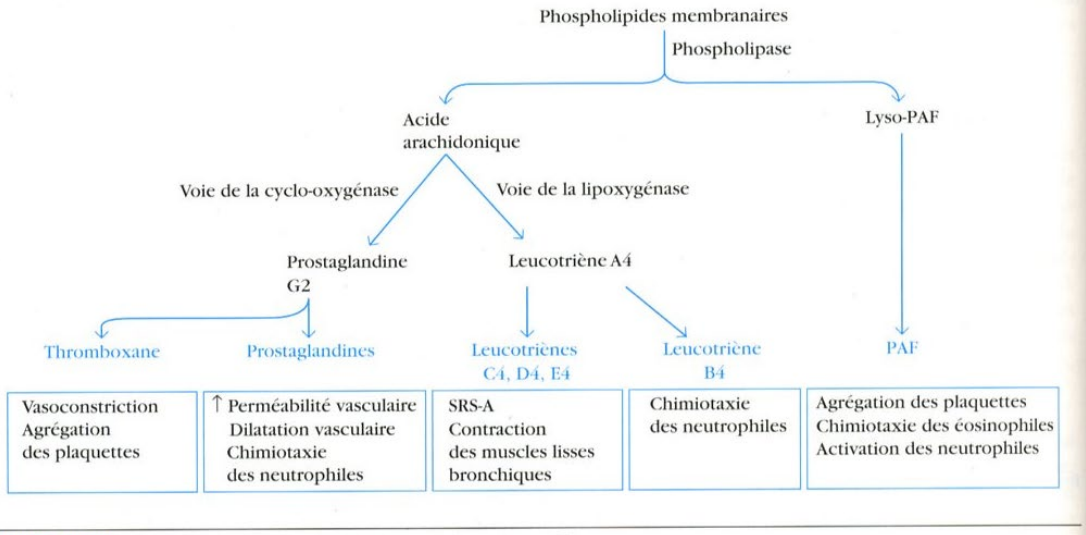


FIGURE 15.11 Le clivage des phospholipides membranaires génère d'importants médiateurs de l'inflammation, y compris le thromboxane, les prostaglandines, les leucotriènes et le facteur d'activation des plaquettes (PAF, de *platelet-activating factor*).

La phase tardive commence 6 à 12 heures après le contact antigénique et dure plusieurs heures. C'est une phase inflammatoire caractérisée par la présence de différents types de cellules : PNE, PNN, Mφ, lymphocytes T …

Ainsi, dans le cas de l'asthme, la phase immédiate marquée par une crise aiguë de dyspnée par broncho-constriction réversible au salbutamol est, dans la moitié des cas, suivie 6 à 12 heures après par une rechute de la dyspnée due pas tellement à la broncho-constriction mais plutôt à un encombrement bronchique inflammatoire (salbutamol inefficace). Avec la répétition des crises, l'œdème, l'hyper-sécrétion de mucus et le remodelage tissulaire (hypertrophie et hyperplasie des fibres musculaires lisses des bronches) s'accentuent de plus en plus, la réaction s'oriente progressivement vers celle d'une hypersensibilité retardée (à médiation cellulaire) et l'épaississement et le rétrécissement des voies aériennes deviennent permanents.

III-Hypersensibilité type II ou hypersensibilité cytotoxique dépendante d'anticorps

1) Mécanisme

Dans cette forme d'hypersensibilité, les Ac dirigés contre des Ag de membrane cellulaire interagissent par l'intermédiaire de leur fragment Fc avec

le complément, avec des cellules “killer” ou avec des cellules phagocytaires pour tuer les cellules cibles et détruire les tissus environnants.

En liant le C1q, les Ac de classe IgG et IgM fixés sur la cellule cible activent le facteur C1 du complément ($C1q\text{-}C1r_2\text{-}C1s_2$) ce qui enclenche la voie classique d’activation du système complémentaire. L’activation du complément aboutit, d’une part, à la formation du complexe lytique C5b-9 ou MAC capable de tuer la cellule cible en s’attaquant à sa membrane plasmique, d’autre part, au dépôt de molécules C3b, provenant du clivage de C3, sur la membrane de la cellule cible. Ces molécules C3b jouent le rôle d’opsonines pour les cellules phagocytaires (polynucléaires neutrophiles et mononcytes-macrophages) qui, grâce à leur récepteur membranaire pour le C3b (C3b-R = CR1 = CD35) vont phagocyter et tuer les cellules cibles.

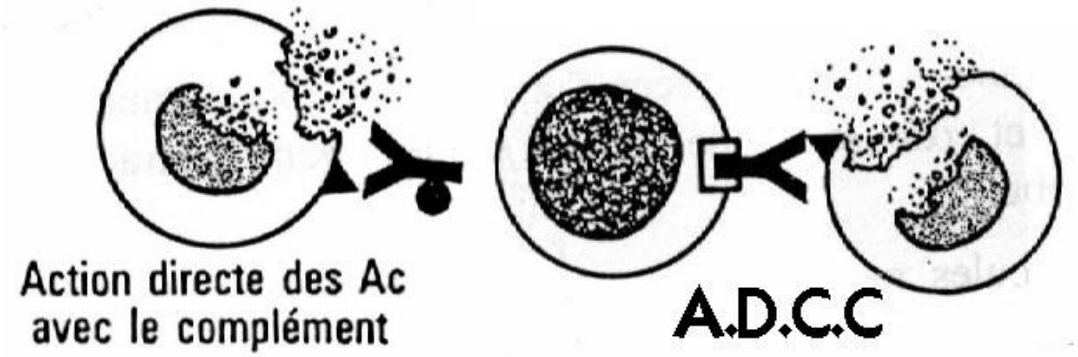
Les Ac fixés à la cellule cible peuvent entraîner sa destruction sans faire appel au complément et ce, soit par phagocytose : les Ac fixés à la surface des cellules cibles jouent le rôle d’opsonines pour les cellules phagocytaires qui, grâce à leurs récepteurs pour le fragment Fc des Ig (Fc-R), peuvent phagocyter et tuer les cellules cibles, soit par un mécanisme de cytotoxicité cellulaire Ac-dépendante ou “ADCC” faisant intervenir une cellule “Killer”. Les cellules K sont définies fonctionnellement comme des cellules cytotoxiques possédant un Fc-R de type Fcγ-R (I, II ou III) ou Fcε-RII. L’activité “Killer” peut être exercée par différents types de cellules : monocytes, macrophages, PNN, PNE, lymphocytes T cytotoxiques, cellules NK (“*Natural Killer*”) et plaquettes. La cellule K se fixe grâce à son Fc-R aux Ac déjà fixés à la cellule cible et tue celle-ci sans la phagocyter.

La cytotoxicité cellulaire peut se faire par l’un ou l’autre de deux mécanismes non mutuellement exclusifs :

- Exocytose granulaire : la cellule cytotoxique envoie en direction de la cellule cible le contenu lytique de ses granulations intracytoplasmiques (perforine,granzymes, lysosyme, radicaux oxygénés toxiques...).

De nombreux canaux transmembranaires se creusent au niveau de la membrane plasmique de la cellule cible ; ce qui aboutit rapidement à la lyse osmotique de celle-ci. Ce mécanisme de lyse directe se traduit par une mort cellulaire par nécrose.

- Apoptose : à la faveur du contact entre les 2 cellules, un médiateur libéré par la cellule cytotoxique (TNFα, Fas-Ligand...) se lie à son récepteur spécifique à la surface de la cellule cible (TNFα-R, Fas...). Cette interaction s'accompagne de la transduction d'un message de mort cellulaire à la cellule cible qui se trouve ainsi engagée dans une cascade d'évènements et de réactions biochimiques conduisant à sa propre mort. Il s'agit donc d'une lyseindirecte où la cellule cytotoxique ne fait que donner le signal de mort qui est exécuté par la cellule cible elle-même. Contrairement à la mort par nécrose caractérisée par une augmentation de volume de la cellule cible, la mort par apoptose est caractérisée par une condensation de la cellule cible et une fragmentation de son ADN.



2) Hypersensibilité de type II en pathologie humaine

En pathologie humaine, les réactions d'HS de type II sont mises en jeu notamment dans les réactions transfusionnelles (allo-immunisation post-transfusionnelle), la maladie hémolytique du nouveau-né (allo-immunisation fœto-maternelle), les anémies hémolytiques auto-immunes et le rejet suraigu de greffe.

IV- Hypersensibilité type III ou à complexes immuns (ou semi-retardée)

1) Le phénomène d'Arthus

En 1903, Arthus décrit, chez le lapin, les effets observés à la suite d'injections de sérum de cheval au même point, tous les 6 jours. Il rapporte qu'àpartir de la 4ème injection apparaissent au bout d'environ 8 heures (d'où le nom ancien d'hypersensibilité semi-retardée) des signes inflammatoires, d'abord résolutifs, puis d'intensité croissante lors des injections ultérieures aboutissant finalement à une nécrose localisée.

L'analyse histologique permet de reconnaître des altérations bien différentes de l'œdème et de la vasodilatation caractéristique de l'HSI. Les lésions consistent en thromboses, dégénérescence des parois vasculaires et infiltration cellulaire au voisinage des capillaires, infiltration où prédominent les polynucléaires.

2) Mécanisme de l'hypersensibilité type III

Le déroulement des faits est maintenant bien établi. Les injections préalables induisent la formation de grandes quantités d'Ac précipitants de classe IgG et IgM. L'injection de l'Ag au voisinage des vaisseaux provoque une pénétration intravasculaire de ce dernier. Dans ces conditions qui réalisent un excès d'Ac, il se forme de gros complexes peu solubles qui vont rester sur place et fixer le C1q ce qui enclenche l'activation du complément par la voie classique.

L'activation du complément aboutit à la libération des anaphylatoxines C3a et C5a qui d'une part, induisent la dégranulation des PNB et des mastocytes avec pour principale conséquence une augmentation de la perméabilité capillaire, d'autre part, entraînent la margination et la diapédèse des polynucléaires (effet chimiotactique) et leur activation. Cet afflux des polynucléaires s'accompagne de la libération par ces cellules de leurs enzymes lysosomiales au niveau des tissus qui se trouvent ainsi fortement endommagés. Il faut noter que, lorsqu'elles sont libérées au niveau du liquide interstitiel, ces enzymes lysosomiales sont rapidement neutralisées par leurs inhibiteurs sérique (α1 anti-trypsine, α2 macroglobuline…).

Les complexes immuns peuvent aussi se fixer sur les Fcγ-R des plaquetteset des mastocytes provoquant l'agrégation des plaquettes avec formation de micro-caillots et la libération d'histamine qui contribue encore à l'augmentation de la perméabilité capillaire.

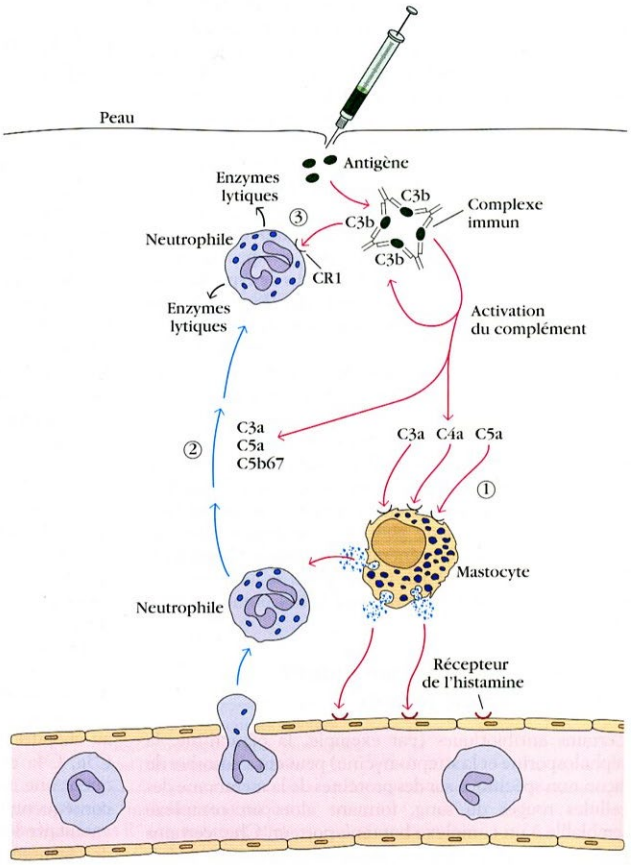
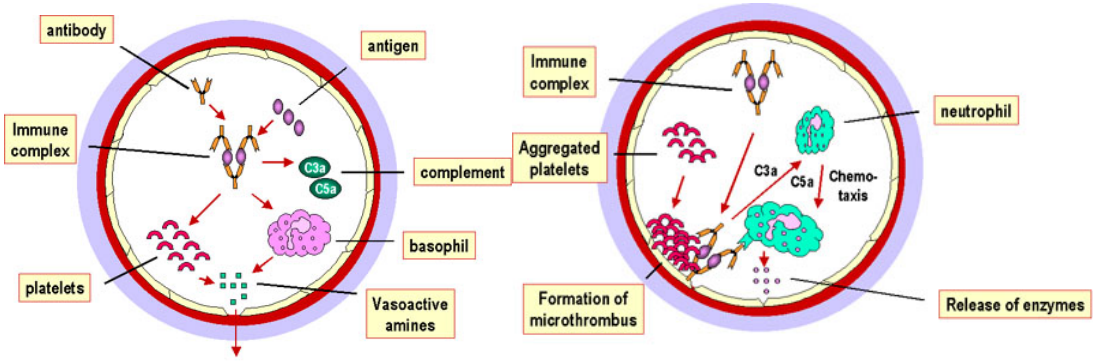


FIGURE 16.15 Développement d'une réaction d'Arthus localisée (réaction d'hypersensibilité de type III). L'activation du complément initiée par les complexes immuns (voie classique) produit des intermédiaires du complément qui (1) médient la dégranulation des mastocytes, (2) attirent par chimiotaxie les neutrophiles et (3) stimulent la libération d'enzymes lytiques des neutrophiles, qui tentent de phagocyter les complexes immuns recouverts de C3b.



3) La maladie sérique expérimentale

Après injection à un lapin d'une forte dose de sérum ou de protéines xénogéniques, les Ag étrangers sont retrouvés sous forme libre dans le sérum du lapin pendant 5 jours. Ensuite, les Ac dirigés contre ces xénoAg apparaissent et forment avec eux des complexes immuns qui vont avoir tendance à se déposer au niveau de la paroi des vaisseaux de certains organes en particulier les reins, les articulations, le cœur et la peau. La formation et le dépôt de ces complexes immuns coïncide avec l'apparition entre le 7ème et le 12ème jour des manifestations cliniques

caractéristiques de la maladie sérique aiguë (ou maladie du 9ème jour) : fièvre, éruption érythémato-papulleuse ou urticaire, arthralgies, glomérulonéphrite avec albuminurie, coronarite. Lorsque le taux d'Ac augmente, les complexes immuns sont éliminés et la maladie évolue vers la guérison complète en 2 à 3 semaines. La maladie peut devenir chronique si l'Ag est administré quotidiennement à faible dose.

Contrairement au phénomène d'Arthus (réaction localisée, complexes immuns en excès d'Ac), la maladie sérique est une réaction généralisée en rapport avec des complexes immuns en excès d'Ag.

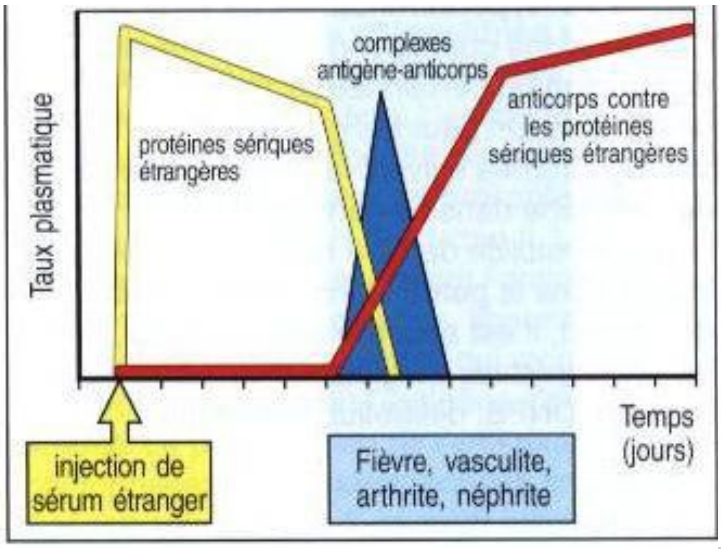


Fig. 13.27 La maladie sérique est un exemple classique de syndrome transitoire lié aux complexes immuns. L'injection d'une ou plusieurs protéines étrangères entraîne la production d'anticorps, qui forment des complexes immuns avec ces protéines circulantes. Les complexes se déposent dans de petits vaisseaux et activent le complément et des phagocytes, ce qui induit de la fièvre et des symptômes de vasculite et d'arthrite. Tous ces effets sont transitoires et disparaissent avec l'élimination de la protéine étrangère.

4) Hypersensibilité type III en pathologie humaine

La maladie sérique due chez l'homme à l'utilisation en thérapeutique de sérums d'origine animale est de plus en plus rare depuis la généralisation de la vaccination, l'introduction de l'antibiothérapie et l'utilisation de sérums d'origine humaine quand la sérothérapie est nécessaire (ex : sérum antitétanique).

Le phénomène d'Arthus a son équivalent en pathologie humaine respiratoire. Il s'agit des pneumopathies à précipitines ou alvéolites allergiques extrinsèques :

- Maladie du poumon de fermier due à l'inhalation des spores d'un actino-mycète (*Thermopolyspora*) présent dans le foin humide et moisi,
- Maladie des éleveurs d'oiseaux (pigeons, perruche…).

La maladie d'Hinson Pepys est une aspergillose broncho-pulmonaire s'accompagnant de dyspnée asthmatiforme et d'infiltrats éosinophiles pulmonaires et où coexistent des Ac précipitants de type IgG et IgM et des Ac de type IgE. Elle

se situe aux frontières de l'HSI et l'HS à complexes immuns.

V- Hypersensibilité type IV ou Hypersensibilité retardée (HSR)

Hypersensibilité ou à médiation cellulaire

1) Définition

Les réactions d'hypersensibilité type IV sont des réactions d'HS retardée (nécessitant plus de 12 heures pour se développer) et à médiation cellulaire (transférables par les lymphocytes, T en l'occurrence, et non par le sérum). Trois principaux types ont été décrits :

- L'HS de contact
- L'HS tuberculinique
- L'HS granulomateuse

Cette classification est compliquée par le fait que ces différents types de réactions peuvent se superposer en partie, ou se succéder à la suite d'une seule stimulation antigénique.

Seule l'HS de contact ou dermite de contact (à distinguer de la dermatite atopique ou eczéma constitutionnel) est retenue dans le cadre général des maladies allergiques.

2) Hypersensibilité de contact ou dermite de contact

Cette forme d'HS est caractérisée par un eczéma qui apparait au site de contact avec l'Ag et atteint son maximum 48 heures après ce contact.

Les Ag responsables sont des proAg (abusivement appelés haptènes par certains auteurs) c-à-d de petites molécules (PM < 1000 daltons) non immunogènes par elles même mais capables d'induire une réponse immunitaire spécifique après fixation à des protéines ou des cellules de la peau.

La sensibilisation peut résulter du contact de la peau avec une plante, un produit cosmétique ou un produit chimique (nickel, acrylique, chrome…). Après que le passage ait été facilité par des blessures superficielles et/ou la nature chimique de la molécule, la cellule de Langerhans de l'épiderme (cellule dendritique d'origine médullaire caractérisée par les granules de Birbeck) va capter cet Ag,

l'appréter et le présenter en association avec une molécule HLA classe II aux lymphocytes T $CD4^+$ au niveau de la peau et/ou du ganglion lymphatique. De façon concomitante à cette présentation de l'Ag, la cellule de Langerhans et le kératinocyte vont secréter l'IL1. Il s'en suit une activation (production d'IL2 et augmentation du nombre de récepteurs membranaires à l'IL2 = IL2-R) avec induction de la prolifération et de l'expansion clonale des lymphocytes T $CD4^+$ spécifiques du proAg couplé à la protéine porteuse. Ces lymphocytes sensibilisés gagnent la circulation sanguine et lymphatique. L'induction de cette sensibilité prend 4 à 6 jours et peut durer plusieurs mois voire plusieurs années.

Lors d'un deuxième contact avec le même proAg, ces lymphocytes sensibilisés sont rapidement activés par la reconnaissance au niveau de l'épiderme, du proAg couplé à la protéine porteuse. Ainsi activées ces cellules T $CD4^+$ vont secréter un certain nombre de lymphokines responsables, d'une part, de leur prolifération ainsi que de celle des lymphocytes T cytotoxiques $CD8^+$ spécifiques du proAg (IL2), d'autre part, du recrutement (MIF ou ″Migratory InhibitingFactor″, IL8) et de l'activation (INFγ, TNFα, GM-CSF) des macrophages. L'INFγ et le TNFα activent aussi les cellules endothéliales et les kératinocytes, stimulent l'expression des molécules d'adhésion et augmentent la perméabilité capillaire ce qui permet au plasma et aux leucocytes de pénétrer dans le site de la réaction contribuant ainsi au gonflement cutané et à l'induration.

Contrairement à l'hypersensibilité de type III où l'infiltrat cellulaire est essentiellement composé de polynucléaires, ici l'infiltrat est fait surtout de cellules mononucléées (lymphocytes T et monocytes) où prédominent les macrophages provenant des monocytes du sang circulant.

Ce sont ces macrophages activés qui sont en grande partie responsables des lésions observées. Les lymphocytes T cytotoxiques contribuent à ces lésions inflammatoires marquées par une éruption érythémateuse avec formation de bulles ou de vésicules.

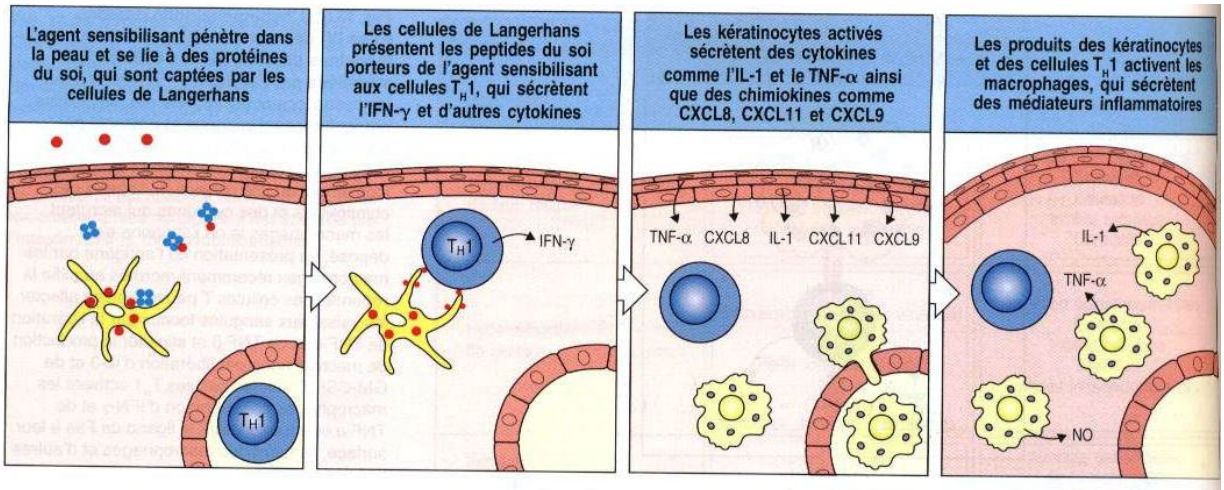


Fig. 13.31 Induction d'une réaction d'hypersensibilité de contact par un agent sensibilisant. L'agent sensibilisant est une petite molécule très réactive qui pénètre facilement dans la peau. En se fixant de manière covalente à de nombreuses protéines endogènes, elle se comporte comme un haptène. Les conjugués sont captés et apprêtés par les cellules de Langerhans, qui sont les principales cellules présentatrices d'antigène dans la peau. Ces cellules présentent les peptides portant les haptènes aux cellules T_H1 effectrices (qui ont déjà été activées dans les ganglions lymphatiques et sont revenues dans la peau). Elles sécrètent des cytokines comme l'IFN-γ qui stimulent la sécrétion de cytokines et de chimiokines par les kératinocytes. Ces molécules vont alors attirer des monocytes et induire leur maturation en macrophages tissulaires activés, responsables des lésions inflammatoires décrites dans la Fig. 13.32. NO, oxyde nitrique.

3) Hypersensibilité tuberculinique

L'HS tuberculinique peut être induite par l'infection tuberculeuse ou la vaccination par le BCG (bacille de Calmette et Guérin). La réaction cutanée peut être provoquée par le BCG (BCG-test) ou par la tuberculine (IDR à la tuberculine).

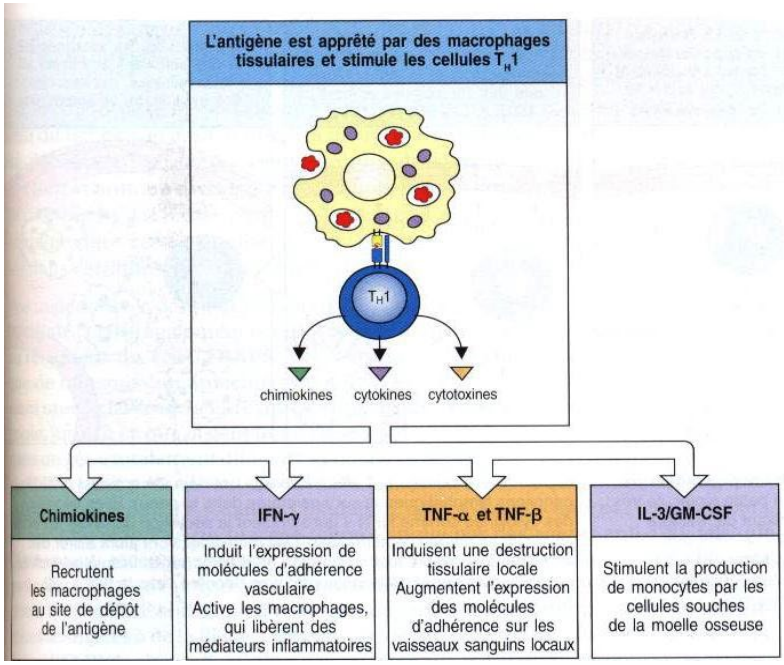


Fig. 13.30 L'hypersensibilité retardée (type IV) dépend des chimiokines et cytokines libérées par les cellules T_H1 stimulées par l'antigène. L'antigène dans les tissus locaux est apprêté par les cellules présentatrices d'antigène et présenté par les molécules du CMH de classe II. Les cellules T_H1, qui reconnaissent l'antigène localement au site d'injection, libèrent des chimiokines et des cytokines qui recrutent les macrophages là où l'antigène s'est déposé. La présentation de l'antigène par les macrophages récemment recrutés amplifie la réponse. Les cellules T peuvent aussi affecter les vaisseaux sanguins locaux par la libération de TNF-α et de TNF-β et stimuler la production de macrophages par libération d'IL-3 et de GM-CSF. Enfin, les cellules T_H1 activent les macrophages par libération d'IFN-γ et de TNF-α et, en exprimant le ligand de Fas à leur surface, ils tuent des macrophages et d'autres cellules sensibles.

De nombreuses bactéries autres que *mycobactériumtuberculosis* induisent une HSR de type tuberculinique en particulier le bacille de Hansen ou *mycobactériumlepreae, Salmonella typhi, Brucella abortus*. Il en est de même pour la plupart des infections virales (variole, rougeole, oreillons, herpès…) et

mycosiques (candidoses, aspergilloses, cryptococcoses) ainsi que pour certaines infections à protozoaires notamment la toxoplasmose et la leishmaniose. A la différence de l'HS de contact, ici l'Ag est immunogène par lui même, la réaction a lieu au niveau du derme, elle est maximale au bout de 48 à 72 heures marquée par une éruption érythémateuse avec induration de la peau et disparait habituellement en quelques jours.

4) Hypersensibilité granulomateuse

Lorsque l'Ag introduit dans la peau ou dans un autre tissu ne peut pas être éliminé et persiste à l'intérieur des macrophages, la réaction d'HS de type tuberculinique évolue en quelques semaines en une réaction d'HS granulomateuse avec formation d'un granulome inflammatoire composé, en plus des macrophages, de cellules épithéloïdes et de cellules géantes accompagnées de lymphocyteset de polynucléaires et entourées d'une fibrose importante due à la prolifération de fibroblastes avec synthèse accrue de collagène. Les cellules épithéloïdeset les cellules géantes correspondraient à une étape terminale de la différenciation des cellules de la lignée monocytaire.

L'HS granulomateuse peut se rencontrer au cours de la tuberculose, de la lèpre (test de Mitsuda), de la sarcoïdose et de la maladie de Crohn. Elle peut aussi être induite par des substances non antigéniques comme le talc, l'amiante ou la silice (le macrophage ne pouvant pas digérer ces substances inorganiques).

LA TOLERANCE IMMUNITAIRE

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Définir la tolérance immunitaire
2. Décrire les mécanismes de la tolérance centrale T et B
3. Expliquer les mécanismes de la tolérance périphérique T et B
4. Citer les conséquences de la rupture de la tolérance immunitaire

I) Introduction, définition et historique :

L'une des caractéristiques les plus remarquables du système immunitaire normal est sa capacité de répondre et de s'attaquer à une variété considérable d'antigènes (Ag) étrangers (microbiens, tumoraux, greffes) tout en préservant les propres Ag de l'individu. Cette absence de réponse aux Ag du soi est désignée tolérance immunitaire.

La tolérance immunitaire est définie comme un état de non-réponse, spécifique et durable du système immunitaire à un Ag, induit par un premier contact avec cet Ag.

La tolérance est bien un phénomène acquis et non inné, un apprentissage continu tout au long de la vie.

La tolérancecentrale est l'ensemble des mécanismes qui interviennent dans la sélection du répertoire des lymphocytes B et T au niveau des organes lymphoïdes centraux (moelle osseuse et thymus)

La distinction entre le soi et le non soi et les mécanismes de mise en place de la tolérance au soi représentent une question fondamentale en Immunologie avec des applications directes en Immunopathologie notamment dans les stratégies de greffes d'organes et le traitement des maladies auto-immunes et allergiques.

II) Mécanismes de la tolérance immunitaire

La redondance est une caractéristique constante et essentielle du fonctionnement du système immunitaire, plusieurs mécanismes concourent ainsi à

la mise en place de la tolérance au soi. La tolérance immunitaire à différents Ag du soi peut être induite lorsque les lymphocytes immatures rencontrent ces Ag au cours de leur développement dans les organes lymphoïdes primaires (tolérance centrale) ou lorsque les lymphocytes matures rencontrent les Ag du soi dans les tissus périphériques (tolérance périphérique).

1) Tolérance centrale des lymphocytes T

Les lymphocytes T (LT) sont produits dans le thymus à partir de cellules souches lymphoïdes provenant de la moelle osseuse. Les thymocytes ayant réussi le réarrangement des gènes du TCR et qui parviennent ainsi à exprimer à leur surface un TCR fonctionnel, subissent dans le thymus 2 mécanismes successifs de sélection du répertoire T :

- la sélection positive qui, parmi tous les thymocytes produits, ne va retenir que ceux dont le TCR interagit d'une façon ou d'une autre avec l'une ou l'autre des diverses molécules HLA classe I et/ou classe II exprimées à la surface des cellules épithéliales thymiques permettant ainsi d'adapter le répertoire de TCR de chaque individu à son propre haplotype HLA et la mise en place de la restriction allogénique ;
- la sélection négative qui, parmi les thymocytes ou lymphocytes T immatures retenus par la sélection positive, va éliminer tous ceux dont le TCR interagit avec une forte affinité avec les Ag du soi et/ou les molécules HLA (classe I ou classe II) qui les présentent à la surface des macrophages et cellules interdigitées du stroma thymique, ainsi lymphocytes T $CD4^+$ et T $CD8^+$ auto-réactifs (vis-à-vis d'auto-Ag exprimés dans le thymus) meurent par apoptose, c'est la délétion clonale qui constitue le principal mécanisme de tolérance centrale des LT *(Figure1).*

Les Ag qui induisent une sélection négative tendent à être présents dans le thymus à des concentrations plus élevées que ceux qui induisent une sélection positive. Ces Ag correspondent à des protéines abondantes dans l'organisme (par exemple des protéines plasmatiques et des protéines cellulaires courantes).

Un grand nombre de protéines du soi qui semblaient être exprimées principalement, voire exclusivement, dans les tissus périphériques sont en fait exprimées aussi dans le thymus. Les lymphocytes T en cours de développement

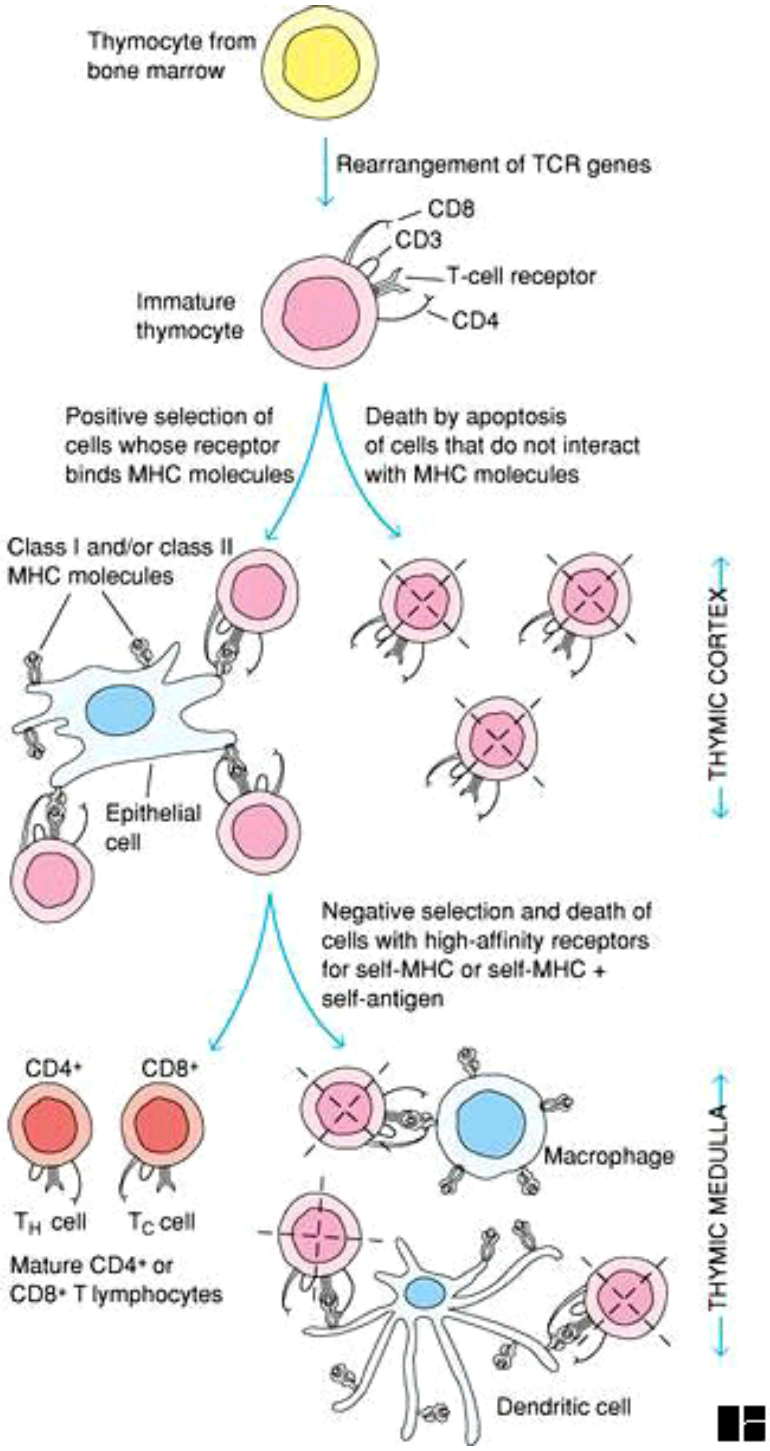


Figure 1 *– La sélection des lymphocytes T dans le thymus*

qui rencontrent ces protéines dans le thymus y sont éliminés, empêchant ainsi les réactions contre ces Ag du soi en périphérie. Le facteur de transcription AIRE ("auto-immune regulator") est responsable de l'expression thymique de ce type de

protéines, le gène AIRE permet ainsi d'élargir l'éventail d'auto-Ag rencontrés par les lymphocytes T immatures dans le thymus. Des mutations du gène AIREsont à l'origine d'un syndrome auto-immun rare portant le nom de polyendocrinopathieautoimmune de type 1 ou syndrome APECED ("Autoimmunepolyendocrinopathywithcandidiasis and ectodermaldysplasia").

2) Tolérance périphérique des lymphocytes T

La tolérance périphérique est induite lorsque des lymphocytes matures reconnaissent des Ag du soi dans les tissus périphériques entraînant leur inactivation fonctionnelle (anergie) ou leur mort, ou lorsque les lymphocytes auto-réactifs sont contrôlés par des lymphocytes T régulateurs (suppresseurs).

a- L'anergie : est définie comme un état d'inactivation fonctionnelle permanente des lymphocytes T auto-réactifs qui survient lorsque ces cellules reconnaissent des Ag du soi en l'absence des molécules de costimulation (seconds signaux) nécessaires à une activation complète des lymphocytes T.

Normalement, les cellules du soi et les cellules présentatrices d'Ag (CPA) présentes dans les tissus ou les ganglions lymphatiques sont dans un état quiescent et expriment très peu ou pas de molécules de costimulation telles que les protéines B7.1 et B7.2 (CD80C et CD86). L'interaction des lymphocytes T auto-réactifs avec les auto-Ag spécifiques exprimés à la surface de ces cellules en l'absence de molécules de costimulation entraîne l'anergie ou la mort de ces lymphocytes T auto-réactifs *(Figure2).*

Dans certains cas, l'anergie survient suite à l'interaction de CPA professionnelles avecdes lymphocytes T auto-réactifs exprimant des molécules inhibitrices telles que CTLA-4 (″Cytotoxic T lymphocyte Associated protein 4″): l'interaction de la molécule B7 sur la CPA avec son ligand inhibiteur CTLA-4 sur le lymphocyte T, entraîne l'anergie du lymphocyte T spécifique de l'Ag du soi.Un lymphocyte T anergique ne va plus répondre à son Ag spécifique même siultérieurement l'Ag est présenté par des CPA exprimant des molécules de costimulation.

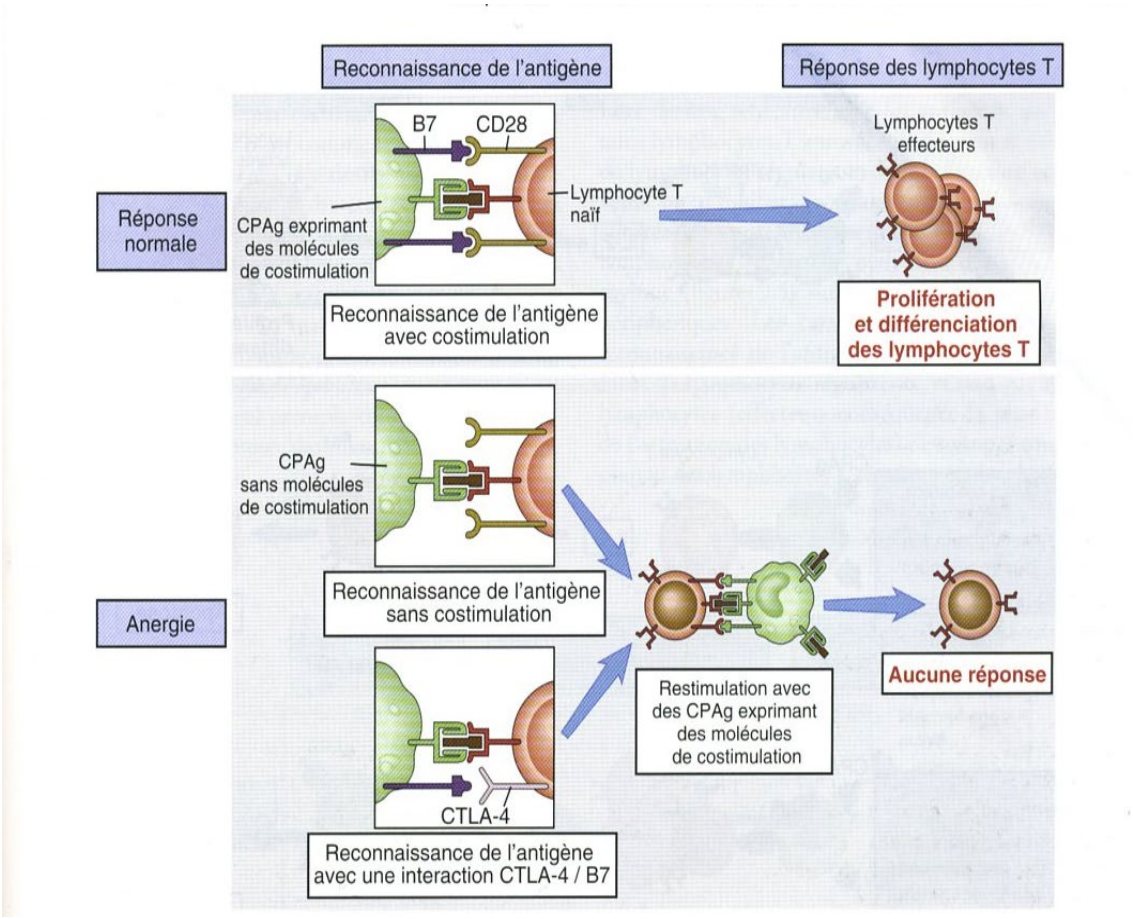


Figure 2 *– Activation versus Tolérance (anergie)*

b- L'élimination ou mort cellulaire induite par l'activation : L'activation répétée des lymphocytes T matures par des Ag du soi, ou la reconnaissance des Ag du soi sans costimulation, déclenche des voies d'apoptose (mort cellulaire programmée) ayant pour conséquence l'élimination des lymphocytes auto-réactifs. Ce processus est appelé mort cellulaire induite par l'activation (AICD : "activation-inducedcelldeath") et met en jeu 2 types de mécanisme *(Figure 3)*:

1-<u>la coexpression de récepteurs à domaine de mort</u> tels que Fas (CD95) et son ligand (Fas-L). Fas-L se lie au récepteur Fas sur la même cellule ou sur une cellule voisine et déclenche des signaux qui culminent avec l'activation des caspases, enzymes cytosoliques induisant l'apoptose. Les souris présentant des mutations des gènes *fas* ou *fas-l* ainsi que les enfants présentant des mutations du gène *fas*développent des

maladies auto-immunes avec accumulation de lymphocytes et regroupées sous le terme de syndrome lymphoprolifératif auto-immun ou ALPS ("auto-immune lymphoproliferative syndrome").

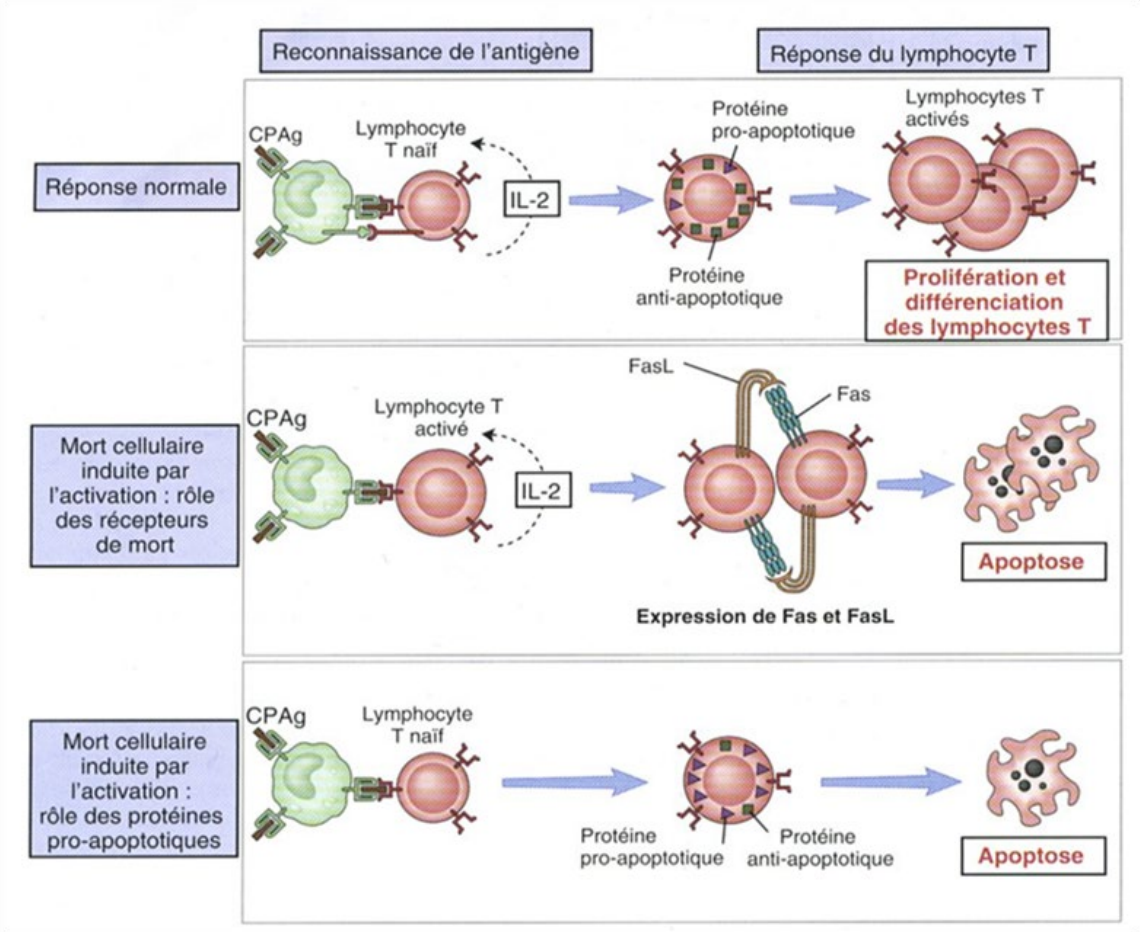


Figure 3 *-La mort cellulaire induite par l'activation (AICD : activation-inducedcelldeath)*

2-<u>l'expression des protéines pro-apoptotiques</u> conduisant à la mort cellulaire suite à l'activation des lymphocytes T en l'absence de molécules de costimulation ou en l'absence de signaux délivrés par l'immunité innée. Dans la réponse immune contre les microbes, l'action de ces protéines pro-apoptotiques est contrecarrée par celle des protéines anti-apoptotiques induites par la costimulation et par d'autres seconds signaux élaborés au cours des réponses immunitaires innées.

L'AICD constitue en fait un des mécanismes physiologiques de régulation des réponses immunitaires : lorsque la réponse immunitaire (activation et prolifération clonales de lymphocytes T et B) se prolonge beaucoup trop inutilement (sans parvenir pas à éliminer l'Ag), la mort cellulaire des cellules activées est enclenchée

et le système revient à son état de repos (stand by). Or, telle est exactement la situation pour les auto-Ag dont la présence est permanente et que les lymphocytes T auto-réactifs ne peuvent éliminer.

c- La suppression immunitaire : Les lymphocytes T suppresseurs qui inhibent et empêchent l'activation, la prolifération et les fonctions effectrices des lymphocytes T et B auto-réactifs sont produits dans le thymus (Treg naturels) ouinduits en périphérie (Treg induits); ce sont généralement des lymphocytes T $CD4^{+}CD25^{+}/FOXP3^{+}$qui peuvent exercer leur effets directement par contact cellulaire, ou indirectement par l'intermédiaire de cytokines suppressives telles que le TGFβ (″TransformingGrowth Factor β″) et l'IL10 (cf : cours régulation des réponses immunitaires) (figure 4).Les hommes et les souris déficients en *Foxp3*, n'ont pas cette population de lymphocytes Treg et développent un syndrome lymphoprolifératif avec polyendocrinopathie nommé IPEX pour"*Immunedysregulationpolyendocrinopathy, enteropathy X linked syndrome*".

Avec l'anergie et l'élimination (AICD), la suppression constitue un verrou supplémentaire en périphérie permettant de contrôler l'action des lymphocytes T auto-réactifs ayant échappé à la délétion clonale dans le thymus.

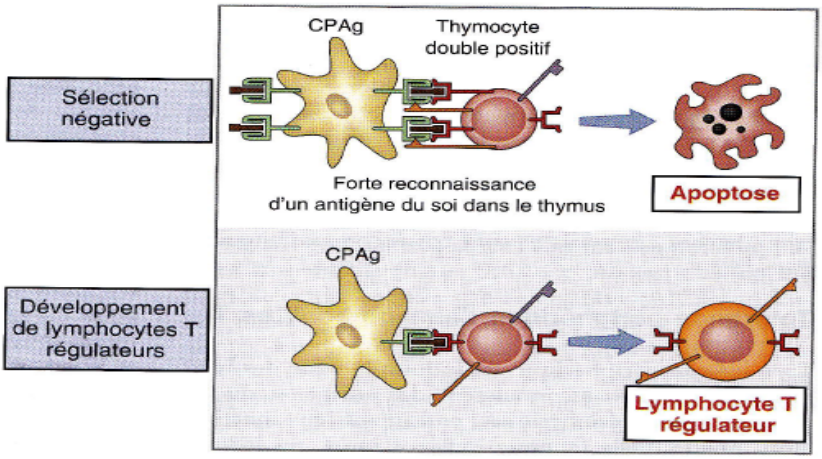


Figure 4 *– Mécanismes de la tolérance centrale des lymphocytes T (apoptose et/ou conversion en lymphocytes T régulateurs des lymphocytes T auto-réctifs)*

3) Tolérance des lymphocytes B

Au cours du développement des cellules B dans la moelle osseuse, le répertoire constitué de manière aléatoire comporte des récepteurs dirigés contre les molécules du soi. Si une molécule du soi s'exprime sous une forme appropriée dans la moelle osseuse, les cellules B auto-réactives spécifiques seront éliminées par délétion clonale ou révision de récepteur : c'est la tolérance centrale des lymphocytes B. Cependant, de nombreuses molécules du soi ne sont présentes qu'en périphérie et exprimées que dans certains organes ; des mécanismes supplémentaires interviennent alors pour contrôler ces lymphocytes B auto-réactifs : c'est la tolérance périphérique des lymphocytes B.

a- Tolérance centrale des lymphocytes B :

Deux mécanismes sont impliqués dans l'acquisition de la tolérance centrale des lymphocytes B : la réédition des récepteurs pour l'antigène, et la délétion clonale.

Le processus d'élimination est très similaire à la sélection négative (déletion clonale) subie par les lymphocytes T immatures dans le thymus. Les lymphocytes B qui présentent des récepteurs (IgM membranaires) de haute affinité pour les molécules du soi (membranaires ou solubles) abondantes et largement exprimées dans la moelle osseuse, seront éliminés par apoptose.

Le 2ème mécanisme de tolérance centrale (particulier aux lymphocytes B) est la correction du récepteur ou "receptorediting" *(Figure 5)* : les lymphocytes B auto-réactifs peuvent échapper à la délétion clonale en réactivant leur machinerie de recombinaison des gènes codant pour les Ig : le lymphocyte B refait un nouveau réarrangement V-J sur les gènes κ ou λet exprime une nouvelle chaîne légère d'Ig (κ ou λ) qui s'associe à la chaîne lourde existante produisant ainsi un nouveau récepteur d'Ag qui ne reconnaît plus l'Ag du soi (le site Ac étant un site partagé, la spécificité dépend de la combinaison des 2 régions variables VH et VL) .

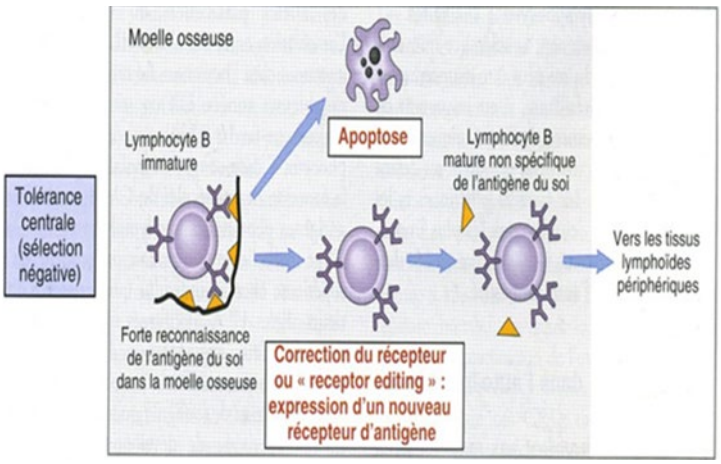


Figure 5 *– Mécanismes de la tolérance centrale des LB (délétionclonale et receptor-editing)*

b- Tolérance périphérique des lymphocytes B :

Il existe 4 mécanismes de tolérance périphérique pour les lymphocytes B.

1- Dans les tissus lymphoïdes périphériques, les lymphocytes B auto-réactifs échouent dans la compétition pour l'entrée dans les follicules lymphoïdes primaires et restent piégés dans la zone T. En l'absence d'interaction avec les cellules T $CD4^+$ auxiliaires (qui n'existent normalement pas dans le cas des Ag du soi), les lymphocytes B auto-réactifs ne migrent pas vers le follicule et entrent en apoptose.

2- Le second mécanisme de tolérance périphérique des lymphocytes B est l'induction de l'anergie qui se caractérise par la diminution de l'expression des IgM de surface et l'inhibition partielle des voies de signalisation correspondantes. L'anergie des lymphocytes B peut être déclenchée lors de leur exposition à l'Ag soluble circulant.

3- Le 3ème mécanisme dépend de la présence de cellules T spécifiques de l'auto-Ag et qui expriment le ligand de Fas (Fas-L). En l'absence des voies normales de costimulation (CD40 − CD40-Ligand…), les lymphocytes B anergisés qui ont été exposés de façon chronique aux auto-Ag sont plus sensibles à l'apoptose induite par l'interaction de Fas avec son ligand sur les lymphocytes T.

4- Enfin, les cellules B activées par l'Ag et devenues auto-réactives suite à l'hyper-mutation somatique qui a lieu dans les centres germinatifs seront éliminées. Le pontage des récepteurs du lymphocyte B par un auto-Ag soluble

déclenche l'apoptose de la cellule B auto-réactive suite à un signal transmis par le récepteur en l'absence de cellules T auxiliaires.

III) Conséquences de la rupture de tolérance

La rupture de tolérance aboutit à 3 grands phénomènes pathologiques en fonction de la nature des Ag devenus immunogènes. La réponse immune contre les Ag du soi aboutit à des maladies auto-immunes. La rupture de tolérance vis-à-vis des antigènes normalement non immunogènes rencontrés dans les aliments, l'air respiré ou les produits en contact avec la peau entraîne des maladies immuno-allergiques tels que l'urticaire, l'asthme et l'eczéma. La rupture de tolérance envers les germes saprophytes entraîne des maladies inflammatoires chroniques telles que la maladie de Crohn.

IV) Conclusion

La tolérance immunitaire est un phénomène actif. Les mécanismes de tolérance périphérique sont multiples et redondants. Ils permettent de rattraper et de contrôler les lymphocytes auto-réactifs ayant échappé à la sélection négative dans les organes lymphoïdes centraux.

La compréhension et la maîtrise des mécanismes de la tolérance et de l'immuno-modulation devraient permettre le traitement et la prévention de la majorité des maladies auto-immunes et immuno-allergiques ainsi qu'une meilleure prise des greffes d'organes.

LA REGULATION DES REPONSES IMMUNITAIRES

Pr Nadia Mahfoudh
Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Citer les différents mécanismes de la régulation de la réponse immunitaire
2. Expliquer le rôle des anticorps dans la régulation immunitaire
3. Décrire le rôle des lymphocytes T dans la régulation immunitaire
4. Définir lesTreg
5. Décrire la régulation par les Cytokines
6. Expliquer la modulation neuroendocrine de la réponse immune

I) Introduction

Le système immunitaire est un système finement régulé, la réponse immunitaire doit être contrôlée et bien adaptée :

- En amplitude : pour augmenter les réponses peu intenses et diminuer les réponses inappropriées.
- En durée : afin de limiter l'emballement excessif des effecteurs de l'immunité.
- En nature : en orientant la réponse immune vers la réponse appropriée, cellulaire ou humorale...

Caractéristique constante et essentielle du fonctionnement normal du système immunitaire, la redondance est retrouvée aussi au niveau de sa régulation. En effet, les mécanismes qui permettent de contrôler et d'adapter l'activité du système immunitaire sont divers et complexes et non encore parfaitement élucidés. Pourtant leur connaissance est fondamentale pour une nouvelle et meilleure approche thérapeutique des divers états pathologiques en rapport avec un emballement incontrôlé du système immunitaire notamment les maladies allergiques (15 à 20% de la population générale) et les maladies auto-immunes (3ème grand processus pathologique après les cancers et les maladies cardio-vasculaires).

L'objectif de ce cours est d'expliquer les principaux mécanismes actuellement connus pour la régulation de l'activité du système immunitaire et, plus particulièrement, ceux concernant la production des anticorps (Ac).

II) Régulation par l'antigène

La nature de l'antigène (Ag), sa dose ainsi que sa voie d'administration sont autant de paramètres qui peuvent influencer la réponse immunitaire. Une réponse immunitaire efficace aboutit à l'élimination de l'Ag, leslymphocytes T et B reviennent alors à un état de repos puisque leur maintien en phase d'expansion clonale nécessite la présence de l'Ag. Certains Ag ne sont pas éliminés de façon aussi efficace et peuvent induire une réponse immunitaire prolongée ayant parfois des conséquences pathologiques.

III) Contrôle génétique de la production des anticorps

On peut schématiquement reconnaître 3 niveaux de régulation génétique de la réponse Ac.

1) Gènes de structure des régions variables et constantes des chaînes légères et des chaînes lourdes des immunoglobulines (Ig)

L'ensemble de toutes les combinaisons VL-JL/VH-D-JH qu'il est théoriquement possible d'obtenir chez un individu à partir des segments génétiques V, D et J inscrits dans son génome constitue son répertoire potentiel.

L'ensemble des combinaisons VL-JL/VH-D-JH exprimées au niveau des lymphocytes B matures d'un individu à un moment donné constitue son répertoire disponible ("*available repertoir*") à ce moment-là. Le répertoire disponible représente moins de 1 % du répertoire potentiel. Il est sujet à une évolution qualitative continue tout au long de la vie.

Cette évolution est déterminée, d'une part par l'expansion ou la rétraction des clones existants et les mutations somatiques qui les affectent, d'autre part, par l'arrivée à partir de la moelle osseuse de lymphocytes B matures nouvellement formés (25 % du pool total de lymphocytes B sont quotidiennement renouvelés). L'expansion et la rétraction des clones existants sont conditionnées par les

stimulations antigéniques extérieures mais aussi par les interconnexions idiotypiques des clones B entre eux et avec les lymphocytes T.

Un sujet qui n'a pas dans son répertoire potentiel la ou les bonnes combinaisons VJ et VDJ correspondant à un Ag donné ne pourra pas produire d'Ac contre cet Ag.

Évolution du répertoire disponible de lymphocytes B

- Expansion ↗
- Rétraction ↘
- Mutations somatiques

} clones existants

- Renouvellement du pool de LB : 25%/j

Stimulations antigéniques Interconnections idiotypiques

Expansion et rétraction des clones ∋^{nt} de LB

D'un autre côté, les gènes codant pour la région constante des chaînes lourdes et légères des Ig sont associés dans certains cas au niveau des réponses Ac qui varient ainsi en fonction de l'allotype.

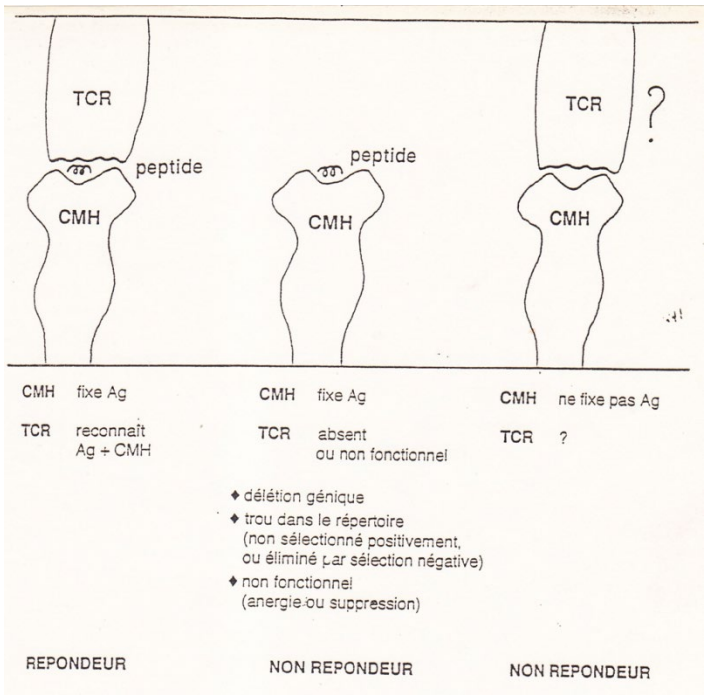
2) Gènes de structure des régions variables du TCR

Exception faite des rares Ag dits thymo-indépendants, la production d'Ac par les lymphocytes B est en règle générale sous la dépendance de l'aide fournie par les lymphocytes T helper. Or, les lymphocytes T ne peuvent coopérer avec les lymphocytes B que s'ils ont été eux aussi activés par le même Ag. Pour cela, les lymphocytes T doivent exprimer le(s) TCR correspondant(s) à l'Ag immunisant ce quisuppose que l'individu dispose, dans son répertoire de TCR, de(s) bonne(s) combinaisons V.J-V.D.J lui permettant de reconnaitre cet Ag.

3) Gènes du système HLA

Les gènes Ir ("I*mmune response*") correspondent en fait aux gènes classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui décident de la réponse ou de la non réponse à un déterminant antigénique donné (loi du tout ou rien).

Les gènes Ir exercent ainsi un contrôle spécifique de l'Ag. Leur action se situe au niveau de la coopération entre macrophage, lymphocyte T et lymphocyte B et plus particulièrement au niveau de la présentation de l'Ag au lymphocyte T par le macrophage et le lymphocyte B.



4) Contrôle multigénique non spécifique (BIOZZI)

Contrairement au contrôle par les gènes des régions variables des Ig et du TCR et surtout par les gènes classe II du système HLA qui est un contrôle qualitatif répondant à la loi du tout ou rien, ici c'est un contrôle quantitatif de l'amplitude de la réponse immunitaire (bon ou un mauvais répondeur).

Ce contrôle est non spécifique de l'Ag. Il est lié au pouvoir de catabolisme plus ou moins élevé de l'Ag par les macrophages et donc à la persistance plus ou moins prolongée de la stimulation antigénique.

Ce contrôle mis en évidence par BIOZZIchez la souris est sous la dépendance d'une dizaine de gènes qui pour la plupart ne sont pas liés aux gènes du CMH.

IV) Régulation par les anticorps

Les anticorps interviennent dans la régulation de leur propre production.

1) Régulation isotypique

Les Ac peuvent inhiber leur propre production. L'administration d'Ac spécifiques juste avant l'immunisation diminue drastiquement l'amplitude de la réponse Ac obtenue (Figure1)

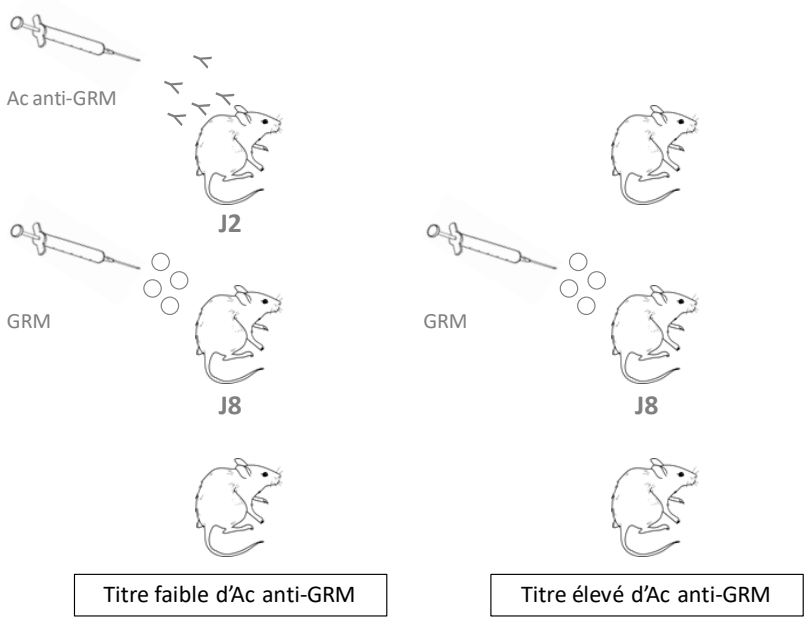


Figure1 : *Exemple de régulation isotypique*

Cet effet rétroactif des Ac peut être expliqué par le rôle des complexes immuns Ag/Ac formés qui vont piéger l'Ag et entrer en compétition avec le BCR("B CellReceptor") empêchant ainsi l'activation des lymphocytes B (LB). Par ailleurs, la coligation du BCR et du récepteur du fragment Fc des Ig (Fc-R) exprimés à la surface du lymphocyteB va délivrer un signal négatif à ce dernier limitant son activation et par conséquent la production d'Ac.

Les Fc-R solubles ou IBF ("Ig Binding Factors") interviennent eux aussi dans la régulation de la production d'Ac du même isotype. Ainsi, les IgG-BF inhibent la production d'IgG. La majorité des IgG-BF du sérum humain proviennent du clivage du Fcγ-RIII ou CD16 des PNN. Tandis que, les IgE-BF stimulent la production d'IgE (rétrocontrôle positif), les IgE-BF proviennent du clivage du CD23 (Fcε-RII) des lymphocytes et des monocytes.

Plusieurs applications cliniques découlent de l'effet rétroactif des Ac :

- L'administration de certains vaccins (rougeole, rubéole) ne se fait pas avant l'âge de 1 an puisque les IgG d'origine maternelle peuvent induire un effet rétroactif sur

la production des Ac vaccinaux chez le nourrisson diminuant ainsi l'intensité de la réponse immune.

- Dans le cas des incompatibilités rhésus, l'administration d'Ac anti-Rh à la mère Rh^- prévient la réponse immune contre les cellules sanguines fœtales Rh^+.

2) Régulation idiotypique

Niels JERNE a proposé en 1974 une théorie,qui sans contredire fondamentalement la théorie de la sélection clonale, permet une nouvelle approche théorique et conceptuelle de l'organisation et de la dynamique fonctionnelle du système immunitaire.

L'idée centrale de cette théorie du réseau idiotypique est qu'à chaque déterminant antigénique ou épitope correspond un déterminant idiotypique ou idiotope qui représente son image interne. En d'autres termes, l'univers des idiotypes constitue, du point de vue conformationnel, la réflexion de l'univers des antigènes.

Pour JERNE, le système immunitaire, même en l'absence de toute stimulation antigénique extérieure, doit entretenir une activité interne résultant essentiellement des interactions paratope-idiotope à l'intérieur du système.

L'introduction d'un Ag étranger portant un épitope E induit la production de différents types d'Ac appelés Ab1 ("antibody"1) et dont le paratope (site Ac) reconnaît spécifiquement l'épitope E. Les anticorps Ab1 portent à leur surface différents idiotopes qui induisent la production de différents Ac anti-idiotypiques appelés Ab2α qui à leur tour induisent la production d'Ac anti-anti-idiotypiques Ab3, etc.

D'un autre côté, ces anticorps Ab1 dirigés contre l'épitope E induisent la production d'un autre type d'Ac anti-idiotypiques appelés Ab2β et caractérisés par un idiotopeimage interne de l'épitope E. Ces anticorps Ab2β induisent à leur tour la production d'un type particulier d'Ac anti-anti-idiotypiques Ab3 exprimant une combinaison VH-VL et un idiotype différents de ceux portés par les Ac spécifiques Ab1 mais capables tout comme eux de reconnaître l'épitope E; d'où leur appellation d'Ab'1. (Figure2)

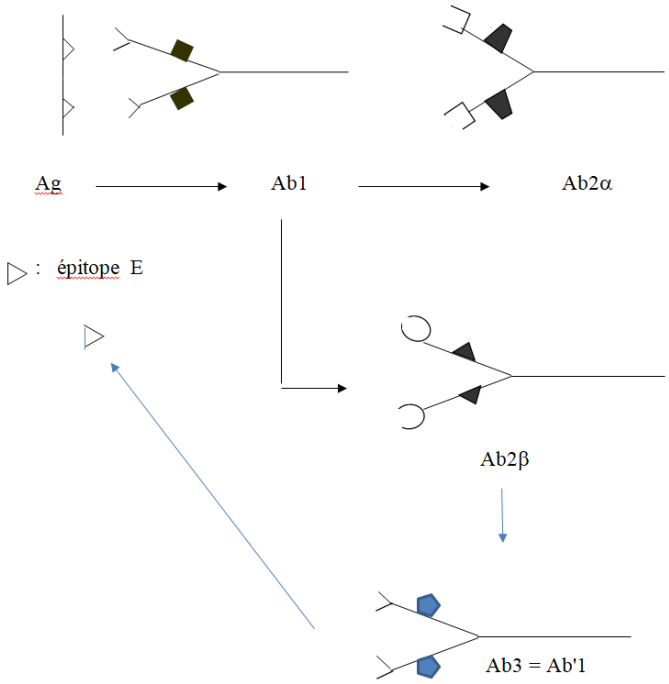
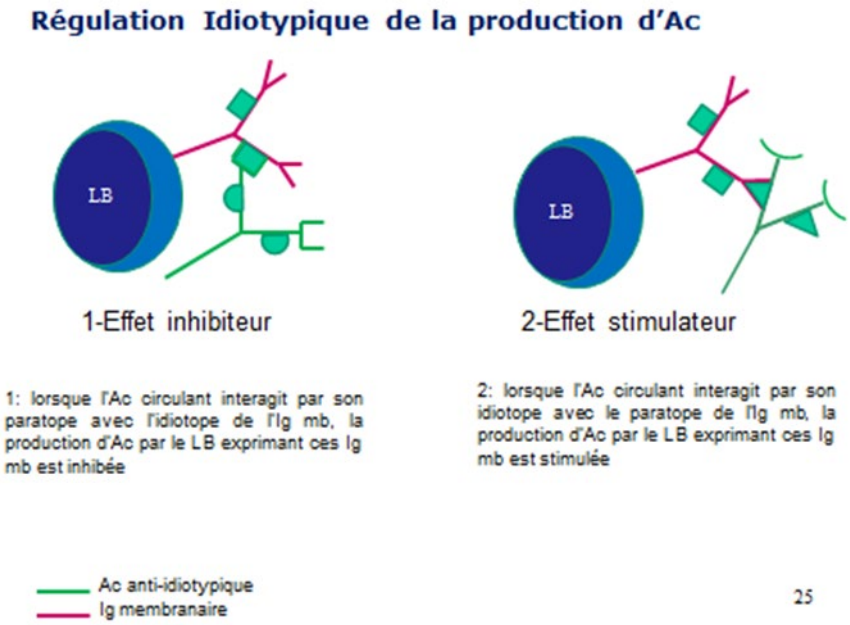


Figure 2 **:** *Régulation idiotypique de la production des anticorps*
(Théorie du réseau idiotypique de Jerne)

Dans ce réseau, du reste valable aussi bien pour les Ac circulants que pour les Ig membranaires à la surface des lymphocytes B (LB), les paratopes jouent un rôle inhibiteur sur la production des Ac dont ils reconnaissent les idiotopes à la surface des LB, tandis que les idiotopes exercent un effet stimulateur.



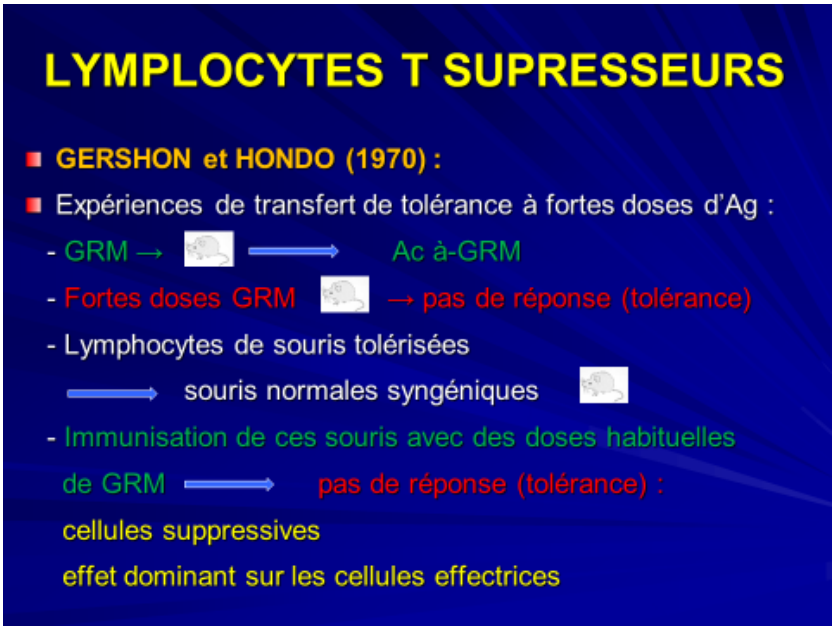
La régulation de la réponse Ac,assurée par les interactions paratope-idiotope (effet inhibiteur) et idiotope-paratope (effet stimulateur) entre les Ac circulants et les

Ig membranaires à la surface des LB, est ainsi le résultat de la balance entre ces 2 effets opposés.

V) Régulation par les lymphocytes T suppresseurs ou T régulateurs (suppression Ag-spécifique) :

1-Rôle des lymphocytes T régulateurs (Treg)

L'existence de cellules T suppressives de la production d'Ac a été démontrée en 1970 avec des expériences de transfert de tolérance à haute dose d'Ag (GERSHONet HONDO). Par la suite, l'implication de lymphocytes T suppresseurs Ag-spécifiques a été confirmée non seulement dans les phénomènes d'induction de tolérance à hautes doses, mais aussi dans l'induction de la tolérance à basses doses d'Ag et dans la non-réponse aux polypeptides synthétiques (TADA, BAKER, BENACERAF).



Cependant et durant plus de 25 ans, toutes les tentatives cherchant à identifier un marqueur membranaire caractéristique des lymphocytes T suppresseurs, isoler ou clonerune sous-population de lymphocytes T spécialisée dans la suppression ont été vaines, et tout laissait à penser que plusieurs sous-populations de lymphocytes T peuvent exercer une fonction suppressive au même titre que d'autres activités.

Une avancée majeure dans l'identification des cellules T suppressives a été l'observation rapportée par Sakagushi et al. en 1995 : la déplétion chez la souris

d'une sous-population minoritaire de lymphocytes T $CD4^+$ exprimant le CD25 (IL2R-α) de façon constitutive favorise le développement de maladies auto-immunes tandis que le co-transfert de ces cellules en prévient le développement. Ces cellules T suppressives ont pu être isolées et sont maintenant bien caractérisées ; pour éviter toute polémique, Sakagushi les a appelées lymphocytes T régulateurs ou Treg.

Pour ce qui est de leur mode d'action, les lymphocytes T régulateurs inhibent *in vivo* l'activation et l'expansion des lymphocytes T $CD4^+$et $CD8^+$effecteurs.

Les Treg sont également capables d'inhiber les lymphocytes B à plusieurs niveaux : prolifération, production d'Ac, commutation isotypique.

L'action suppressive des Treg peut se faire sur des cellules T naïves, effectrices ou mémoires par contact cellulaire (impliquant CTLA-4 ou même Fas-L) ou par la sécrétion de cytokines inhibitrices telles que l'IL10 et le TGFβ.

On distingue actuellement 2 principaux types de lymphocytes T régulateurs :

Les lymphocytes T régulateurs "naturels" ou nTreg

Il s'agit des lymphocytes T régulateurs produits dans le thymus. En effet, un faible contingent de lymphocytes T $CD4^+$auto-réactifs, exprimant un TCR qui reconnait avec une forte affinité un des Ag du soi exprimés dans le thymus, échappent au filtre thymique et à la délétion clonale en se convertissant en lymphocytes T suppresseurs.

Ces lymphocytes T ont la particularité de freiner la réponse immune après avoir reconnu par leurs TCR divers auto-antigènes lors de leur migration dans les ganglions et les tissus périphériques. En induisant la prolifération des Treg dès l'initiation de la réponse immunitaire,l'IL2 favorise la mise en place d'une réponse suppressive effective dans les plus brefs délais (avec pour but de contrôler la réponse effectrice et éviter l'apparition de lésions immunopathologiques).

Ces lymphocytes T régulateurs expriment en grandes quantités la molécule CD25 ($TCD4^+CD25^{+high}$) et le facteur de transcription FOX-P3.

Les lymphocytes T régulateurs inductibles

Il s'agit de sous-populations de lymphocytes Treg éduqués en périphérie (Th3, Tr1) et souvent inductibles par des antigènes exogènes (alimentaires...). Ces cellules agissent surtout par sécrétion de cytokines (TGFβ et IL-10).

2- Régulation par la mort cellulaire programmée

La mort cellulaire programmée encore appelée apoptose est très importante dans la régulation de la réponse immunitaire et l'homéostasie lymphocytaire. En effet, la prolifération lymphocytaire induite par un pathogène lors de la réponse immunitaire adaptative constitue un risque sérieux pour l'organisme hôte à cause d'une part, des mécanismes effecteurs non spécifiques mis en jeu lors de la réponse immune qui pourraient endommager des cellules saines, d'autre part de la cross-réactivité entre les peptides antigéniques des pathogènes et ceux des antigènes du soi et enfin à cause du risque de transformation maligne des lymphocytes activés de façon chronique avec un taux de prolifération très élevé.

Pour toutes ces raisons, les lymphocytes activés ont "une fenêtre étroite de survie" et la réponse immune est, à cet effet, finement contrôlée et ce de deux manières :

-par apoptose passive suite à la clairance de l'antigène et à la diminution des cytokines. Ce mécanisme intervient surtout lors d'une infection aigue.

- par apoptose active lors du phénomène de contraction clonale ou AICD ("Activation-InducedCellDeath"). En effet et lorsque la réponse immunitaire (activation et prolifération clonales de lymphocytes T et B) se prolonge beaucoup trop et inutilement (ne parvient pas à éliminer l'Ag), la mort cellulaire (impliquant la voie Fas-Fas Ligand) des cellules activées est enclenchée et le système revient à son état de repos (stand by).

3- Régulation par les cytokines

En 1986, Mosmann et Coffman ont pu identifier deux sous-populations distinctes de lymphocytes Thelper (Th) caractérisée chacune par la production d'un profil (une combinaison) particulier(e) de cytokines et qui correspondent à deux lignages différents obtenus à partir de lymphocytes T helper $CD4^+$naïfs ou Th0 :

- Les lymphocytes Th1 qui produisent l'INFγ, l'IL2 et le TNFβ,et

- Les lymphocytes Th2 qui produisent l'IL4, l'IL5, l'IL6, l'IL10 et l'IL13.

Certaines cytokines sont secrétées par les 2 types de cellules Th1 et Th2 notamment, l'IL3 et le GM-CSF qui interviennent dans la régulation de l'hématopoïèse dont elles stimulent les premières étapes et le TNFα doté de nombreux effets pro-inflammatoires et qui amorce la cascade cytokinique de la réaction inflammatoire.

En fonction de la nature et de la dose de l'Ag, de la nature de la cellule présentatrice de l'Ag et surtout des cytokines présentes dans leur microenvironnement, les cellules THo se différencient en TH1 ou en TH2.

Dans cette différenciation terminale et spécialisation en TH1 ou TH2, 4 cytokines semblent jouer un rôle primordial : l'INFγ et l'IL12 d'une part et l'IL4 et l'IL10 d'autre part.

L'IL12 produite par les macrophages et l'INFγ produit par les cellules NK induisent la différenciation des THo en TH1, tandis que l'IL4 produite par les mastocytes et les cellules NKT induit la différenciation des TH0 en TH2.

De plus, l'IL4 et l'IL10 produites par les cellules TH2 inhibent la différenciation des TH0 en TH1, alors que l'INFγ produit par les cellules TH1 inhibe la différenciation des TH0 en TH2. (Figure 3)

Les caractères TH1 et TH2 sont stables et ne peuvent être modifiés par les cytokines.

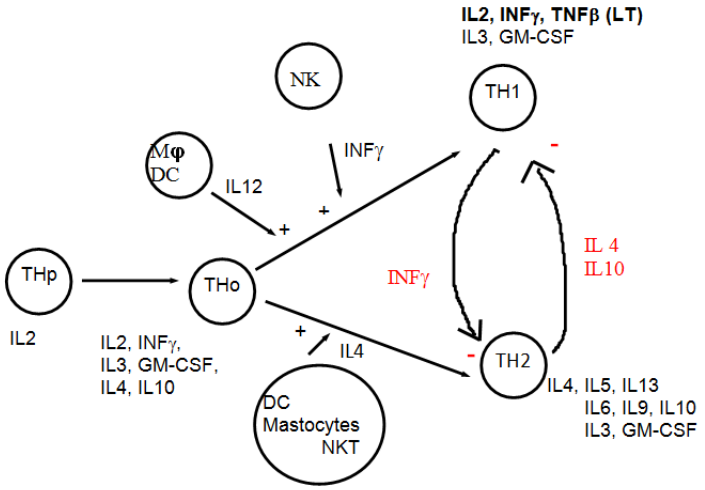


Figure3 :*Régulation par les Cytokines, balance Th1/Th2*

Une troisième sous-population de lymphocytes T helper récemment identifiée est représentée par les cellules dites Th17 induites en présence de TGFβ, d'IL6 et d'IL23 et caractérisées par la production de l'IL17 et de l'IL22 : deux cytokines éminemment pro-inflammatoires (l'IL17 induit la production par lesfibroblastes et les cellules épithéliales et endothéliales de chimiokines et de cytokines qui attirent et activent lesPNN, tandis que l'IL22 induit la production de protéines de la phase aigüe del'inflammation par le foie). Les TH17 sont généralement les premières cellules T effectrices générées au cours d'une infection avant même les TH1 et les TH2 ; les cellules dendritiques produisant des taux élevés de TGFβ, d'IL6 et d'IL23 au début de l'infection.

Il est à noter qu'en absence d'infection, les cellules dendritiques produisent surtout du TGFβ, ce qui induit l'expression de Foxp3parles lymphocytes T $CD4^+$ activés et leur transformation en lymphocytes T régulateurs (Figure 4).

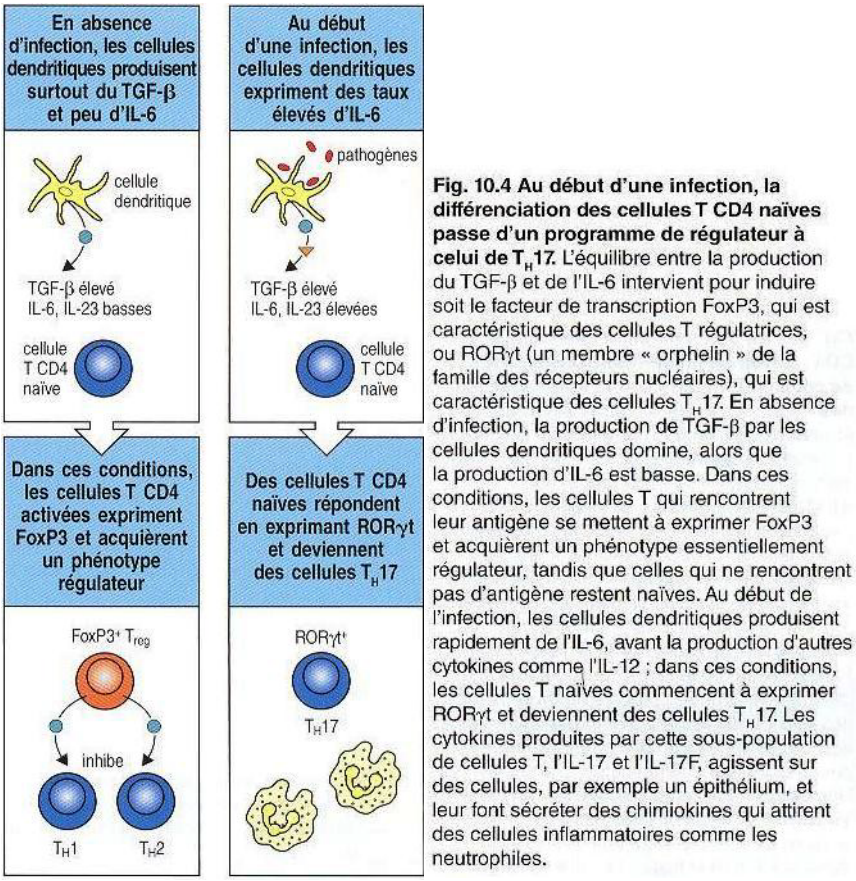


Fig. 10.4 Au début d'une infection, la différenciation des cellules T CD4 naïves passe d'un programme de régulateur à celui de T_H17. L'équilibre entre la production du TGF-β et de l'IL-6 intervient pour induire soit le facteur de transcription FoxP3, qui est caractéristique des cellules T régulatrices, ou RORγt (un membre « orphelin » de la famille des récepteurs nucléaires), qui est caractéristique des cellules T_H17. En absence d'infection, la production de TGF-β par les cellules dendritiques domine, alors que la production d'IL-6 est basse. Dans ces conditions, les cellules T qui rencontrent leur antigène se mettent à exprimer FoxP3 et acquièrent un phénotype essentiellement régulateur, tandis que celles qui ne rencontrent pas d'antigène restent naïves. Au début de l'infection, les cellules dendritiques produisent rapidement de l'IL-6, avant la production d'autres cytokines comme l'IL-12 ; dans ces conditions, les cellules T naïves commencent à exprimer RORγt et deviennent des cellules T_H17. Les cytokines produites par cette sous-population de cellules T, l'IL-17 et l'IL-17F, agissent sur des cellules, par exemple un épithélium, et leur font sécréter des chimiokines qui attirent des cellules inflammatoires comme les neutrophiles.

Figure 4 :*Régulation par la balance Treg-Th17*

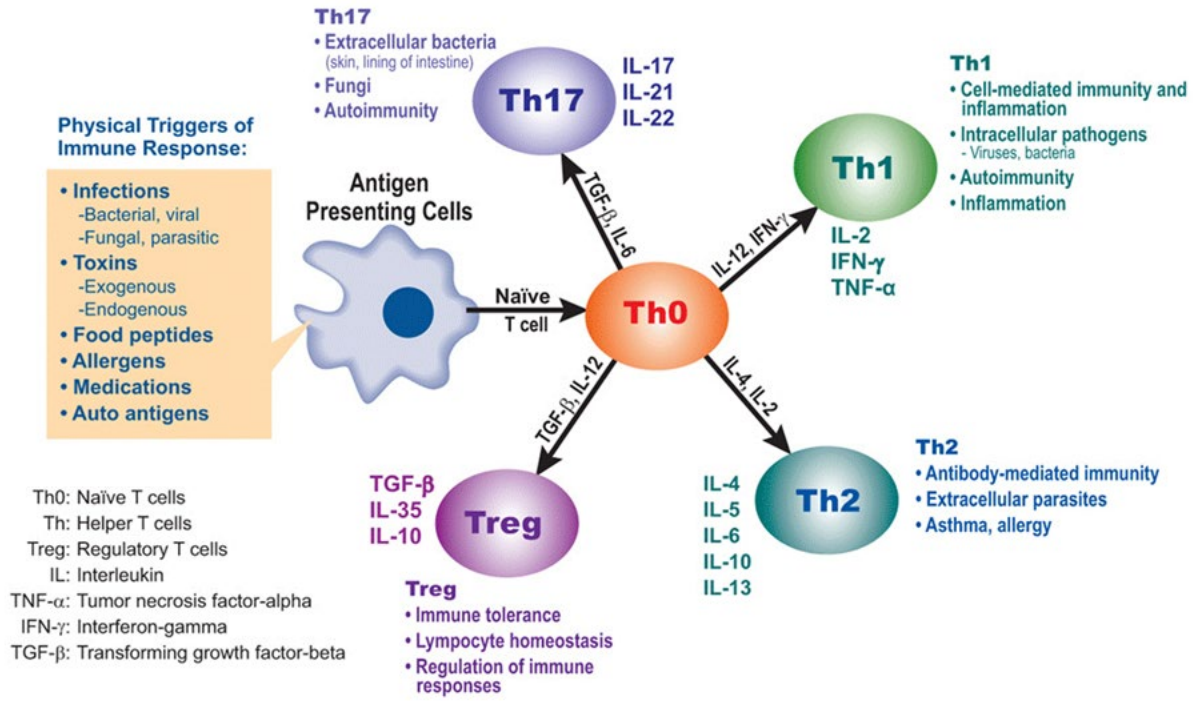


Figure 5:*Principales sous-populations de lymphocytes T CD4⁺,cytokines inductrices de leur différenciation, cytokines produites et effets dans la réponse immune et sa régulation*

Ainsi et lorsqu'ils sont activés, les lymphocytes T CD4⁺ naïfs ou Th0 peuvent se différencier en lymphocytes T helper de type Th1, Th2 ou Th17, ou bien encore en cellules Treg. L'orientation de cette différenciation terminale vers l'une ou l'autre de ces voies est dictée, d'une part, par la nature de l'Ag et de la cellule présentatrice, de l'autre, par le micro-environnement cytokinique local.

V) Modulation neuroendocrine de la réponse immune

Il est de plus en plus évident que le système neuro-endocrine et le système immunitaire sont étroitement intriqués.

Le système nerveux central intervient via 2 voies de modulation de la réponse immune :

*Innervation sympathique des tissus lymphatiques

*Contrôle de la sécrétion d'hormones corticostéroïdes

Le système immunitaire est interconnecté avec les systèmes nerveux et endocrinien. En effet, les lymphocytes possèdent des récepteurs neuro-peptidiques

et des récepteurs d'hormones /corticostéroïdes qui jouent un rôle majeur derétrocontrôle négatif sur la réponse immune.

Les relations interactives entre les trois systèmes sont multiples :

- L'immunité est modulée par des liaisons hypothalamiques
- Des modifications bioélectriques ont été enregistrées lors de la synthèse d'anticorps par les lymphocytes
- Une injection d'adrénaline augmente le taux de cellules NK
- L'anxiété et la dépression affaiblissent les défenses immunitaires suite à la diminution des cellules T, alors que le soutien psycho-comportemental les stimule
- Les substances pyrogènes endogènes (interleukines) induisent l'état fébrile en stimulant l'hypothalamus et ainsi, favorisent le fonctionnement des cellules actives de la réponse immunitaire
- Le stress émotionnel et certaines interleukines stimulent l'axe hypothalamo-hypophyso-cortico surrénalien ;il s'en suit une sécrétion inappropriée de cortisol conduisant à un état dépressif chez certains sujets
- La réduction du stress par un soutien psychologique améliore bel et bien la réponse immunitaire des malades atteints du cancer du sein

VI) Conclusion

Le système immunitaire est un système redondant et finement régulé. Les capacités intégratives et de régulation du système immunitaire peuvent être expliquées par la théorie du réseau idiotypique mais aussi et de plus en plus par l'effet paracrine**.**

IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE

Pr Arwa Kamoun

Objectifs éducationnels

1. Décrire le schéma général de la réponse immune anti-infectieuse
2. Citer les structures antigéniques des micro-organismes responsables de l'activation des effecteurs de l'immunité non spécifique
3. Expliquer les mécanismes effecteurs de l'immunité naturelle et spécifique adaptés à chaque micro-organisme pathogène.

I- Introduction

Une infection est une invasion d'un organisme vivant par des micro-organismes pathogènes.

Quatre grandes catégories de pathogènes: Bactéries, Virus, Parasites, Champignons.

L'immunité anti-infectieuse, pour être efficace, doit utiliser des stratégies assurant l'activation rapide de puissantes réponses adaptées à des pathogènes d'une très grande diversité.

Elle met en jeu un ensemble de mécanismes complexes et coordonnés visant à la destruction du germe par le biais de la réponse immunitaire naturelle et acquise, tandis que se développe en parallèle la réaction inflammatoire tendant à limiter la dissémination du micro-organisme.

Le système immunitaire inné joue un rôle essentiel dans l'induction d'une réponse contre les micro-organismes, puis secondairement dans l'orientation de la réponse immunitaire spécifique.

II- Effecteurs immunitaires impliqués dans la défense anti-infectieuse

L'immunité innée, immédiate, est la première ligne de protection contre les agents pathogènes. Elle inclut:

- Les barrières anatomiques (ou naturelles) : les revêtements cutanéo-muqueux,
- Les effecteurs cellulaires,
- Les effecteurs humoraux,

- La réaction inflammatoire aigue.

Les effecteurs de l'immunité adaptative correspondent aux:

- Les lymphocytes T $CD4^+$ qui se différencient en T helper (Th) sécréteurs de cytokines
- Les lymphocytes T $CD8^+$ qui se différencient en Lymphocytes T cytotoxiques ou CTL
- Les lymphocytes B qui se différencient en plasmocytes sécréteurs d'Ac.

Les réponses immunitaires innées et adaptatives agissent en interaction étroite dans la protection contre les agents pathogènes.

III- Les composants de la réponse immunitaire innée

1- Première ligne de défense anti-infectieuse

Les barrières anatomiques assurent une protection mécanique, chimique et biologique.

Rôle: empêcher l'entrée de micro-organismes pathogènes.

Barrièresmécaniques

- Le péristaltisme intestinal.
- La turbulence de flux d'air dans les cornets du nez.
- L'escalator mucociliaire des bronches.
- La toux.
- L'écoulement des liquides biologiques du tractus urinaire ou biliaire, les larmes, la sueur entrainent un drainage permanent des germes.
- La desquamation permanente des couches superficielles de tous les épithéliums de revêtements.

Barrières chimiques

Certaines substances chimiques naturelles présentes dans les liquides biologiques ont des effets bactériostatiques ou bactéricides vis-à-vis de plusieurs micro-organismes:

- Le pH acide de la sueur et les acides gras du sébum inhibent la croissance bactérienne au niveau de la peau.

- L’acide gastrique et les sels biliaires protègent le tractus gastroduodénal.
- Le mucus contient certaines substances comme le lysosyme, la lactoferrine, la lactoperoxydase et les défensines qui ont des effets antibactériens ainsi que des antifongiques.
- Production par la cellule épithéliale de substances inhibitrices comme le lysozyme et la phospholipase A déversés dans les larmes et la salive.
- Les enzymes digestives.
- Les peptides antimicrobiens (défensines) produits par certaines cellules épithéliales.

Barrières biologiques

La flore commensale tapissant les épithéliums cutanés et muqueux évite une prolifération indésirable de micro-organismes pathogènes par deux mécanismes:

- Compétition avec les agents pathogènes pour les substances nutritives et pour les sites d’adhésion à l’épithélium.
- Production de produits chimiques antimicrobiens comme l’acide lactique.

Une antibiothérapie à large spectre peut entraîner un déséquilibre de la flore bactérienne.

2- Deuxième ligne de défense

Rôle: empêcher la propagation de micro-organismes pathogènes

Elle est représentée par:

Des cellules de l’immunité innée, la réaction inflammatoire et les protéines antimicrobiennes

a. **Cellules de l’immunité innée**

- Les PNN, les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques phagocytent et détruisent les éléments étrangers. Ils reconnaissent des molécules représentatives des grandes familles d’agents microbiens : les PAMPs ("Pathogen Associated Molecular Patterns"), ceci grâce à leurs immunorécepteursPRRs ("Pathogen Recognition Receptors", ex TLR).

Les PAMPs sont des constituants de pathogènes exprimés exclusivement par eux et jamais par les cellules de l'hôte. Ils définissent des groupes car ils sont communs à de nombreuses espèces de pathogènes et sont hautement conservés.
ex : le LPS (Lipopolysaccharide) des bactéries Gram négatif, le peptidoglycane des bactéries Gram positif, les lipoarabinomannanes des Mycobactéries, la flagelline des pathogènes flagellés, l'ADN bactérien riche en motif CpG, l'ARN double brin des virus…

- Les cellules NK reconnaissent et détruisent les cellules infectées. EIles secrètent également des cytokines (IFNγ +++)

b. **La réaction inflammatoire**

Impliquée dans l'immunité naturelle en réponse à un signal de danger (traumatisme, infection).

Peut être locale (vasodilatation locale, exsudation plasmatique, et afflux local de cellules de l'immunité innée)

Ou générale: associée à des signes généraux comme la fièvre.

La fièvre: induite par des médiateurs lipidiques (PGE2) et surtout les cytokines pro-inflammatoires qui agissent sur l'hypothalamus. Rôle de la fièvre:

→ inhibe la croissance microbienne

→ fonctions immunitaires plus efficaces (PNN, macrophages, lymphocytes)

c. **Les protéines anti-microbiennes**

Système du complément et Interférons

IV- Immunité adaptative

L'immunité adaptative reconnaît des structures antigéniques spécifiques.

1- Immunité humorale

Le premier contact avec un agent pathogène donné, aboutit à la production essentiellement d'anticorps IgM spécifique mais de faible affinité. Ces anticorps sont capables d'assurer une bonne protection.

En cas de réinfection par le même pathogène, la réponse humorale est plus rapide (réactivation des lymphocytes B mémoires) et plus efficace avec la production d'anticorps spécifiques d'isotypes variés et de forte affinité.

2- L'immunité cellulaire spécifique

Rôle des lymphocytes T (Figure 1) :

- Rôle direct dans l'élimination des pathogènes en tuant les cellules infectées.
- Induction de l'acquisition de fonctions par d'autres cellules du système immunitaire soit par interaction directe avec ces cellules ou par le biais de la sécrétion de cytokines.
- Les lymphocytes T régulateurs interviennent pour limiter les dommages tissulaires secondaires aux réactions inflammatoires consécutives à l'infection.

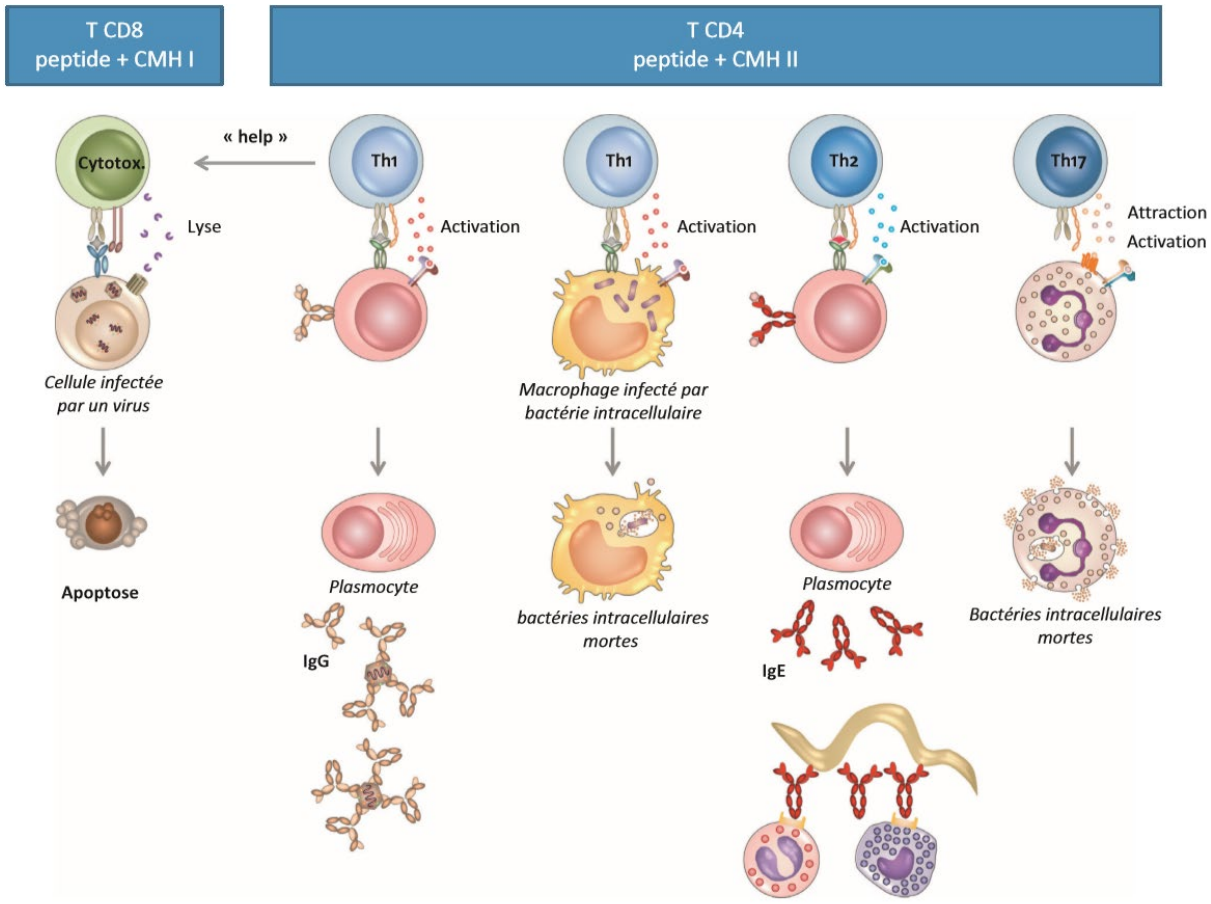


Figure 10 : Rôle des réponses T dans les différents types de réponses immunes contre les micro-organismes.

V- Primo-infection et réponse secondaire

1- La première pénétration d'un agent infectieux (primo-infection)

Dans ce cas, le système immunitaire ne connaît pas encore l'agent infectieux

➔pas de mémoire spécifique.

Cette primo-infection se déroule en 2 étapes.

- Dès les premières heures, la réponse immunitaire repose sur l'immunité innée. L'Immunité Innée contrôle la quasi-totalité des infections (figure 2)
- Ce premier contrôle de la multiplication de l'agent infectieux va laisser le temps à l'immunité adaptative (= acquise), spécifique de l'antigène, de se développer. Cette immunité spécifique est très efficace.

Une fraction seulement d'individus infectés par divers pathogènes développe des signes cliniques d'infection, sous l'influence de facteurs génétiques de susceptibilité ou de résistance (figure 2).

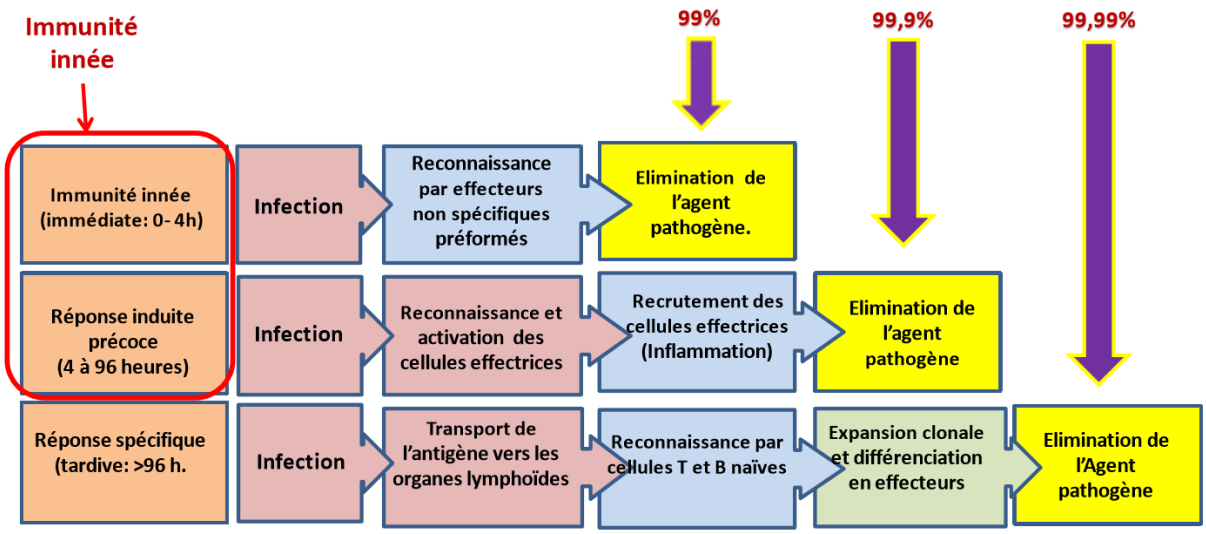


Figure 2 : L'immunité innée contrôle la quasi-totalité des infections

2- La réponse secondaire

Lors d'une réinfection, le système immunitaire sera le plus souvent capable d'éliminer l'agent pathogène avant qu'il ne puisse induire des symptômes

➔Protection acquise après la primo-infection: due à la mémoire immunitaire T et B.

Les cellules « mémoires » seront capables de mieux réagir lors d'un nouveau contact antigénique (figure 3).

En outre, il persiste souvent au décours de la primo-infection des anticorps circulants spécifiques de l'agent infectieux. Cesanticorpssontimmédiatementefficaces.

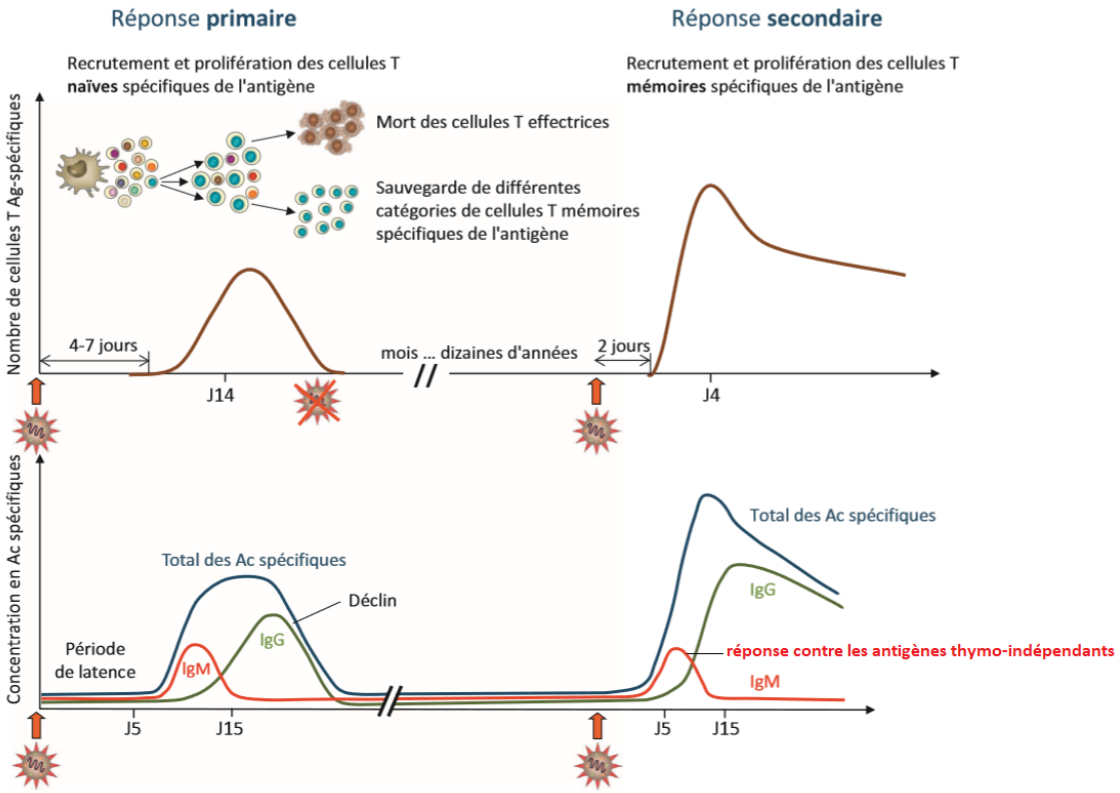


Figure 3 : Réponses primaire et secondaire

Ce schéma illustre la dynamique des cellules T spécifiques de l'antigène (schéma supérieur) et des anticorps spécifiques IgM et IgG (schéma inférieur) au cours du premier contact avec un antigène (réponse primaire) et d'un contact ultérieur (réponse secondaire). L'intensité et la rapidité de mise en œuvre de la réponse secondaire traduisent l'activation des cellules mémoires générées au décours de la réponse primaire.

VI- Réponses immunes dirigées contre les bactéries à multiplication extra-cellulaire

Les mécanismes de défenses appropriés contre une infection bactérienne dépendent de:

- La capacité d'invasion : bactérie intra ou extra cellulaire.
- La structure de la bactérie :
  - Structure de la paroi : $Gram^+$ ou $Gram^-$, mycobactéries…
  - Présence ou non d'une capsule (perturbe les fonctions des phagocytes et du complément).
- La nature des facteurs de virulences de la bactérie : Production de toxines et/ou d'enzymes

1- Effecteurs de l'immunité innée : système du complément, PNN et Macrophages

a. Complément

L'activation de la voie alterne et celle des lectines du complément sont déclenchées par le contact avec une surface bactérienne:

Le peptidoglycane de la paroi des bactéries gram positif et le LPS de la paroi des bactéries gram négatif activent la voie alterne du complément.

Les bactéries qui expriment le mannose à leur surface peuvent se lier à la "mannane binding lectine" (MBL) qui est homologue au C1q ➔ activation du complément par la voie des lectines.

Parmi les résultats de l'activation du complément:

- Lyse des bactéries Gram$^-$ par le complexe d'attaque membranaire (MAC)
- Opsonisation et activation de la phagocytose de la bactérie (C3b, C3bi)
- Participation des anaphylatoxines (C3a et surtout C5a) à la réponse inflammatoire par le recrutement et l'activation des PNN et des monocytes/macrophages.

b. Les PNN et les Macrophages

Les polynucléaires neutrophiles

- Sont les premières cellules à migrer du sang circulant vers le site infecté : en réponse aux différents **chimioattractants** induits par l'agression bactérienne, de façon **orientée** vers leur cible.
- Reconnaissent leur cible par l'intermédiaire des PRR ➔ La reconnaissance des bactéries ➔ phagocytose.

Les monocytes/macrophages

- Interviennent dans un deuxième temps
- Rôle : élimination des polynucléaires apoptotiques, et des débris cellulaires ou bactériens.

2- Effecteurs de l'immunité spécifique :

La réponse immunitaire humorale est la principale réponse immunitaire adaptative protectrice contre les bactéries à multiplication extracellulaire.

Les anticorps agissent de différentes manières.

- Lyse médiée par le complément : essentiellement bactéries Gram$^-$
- Neutralisation des toxines bactériennes : ex toxine diphtérique, toxine tétanique
- Inhibition de la liaison des bactéries à l'épithélium des muqueuses
- Opsonisation et stimulation de la phagocytose : l'opsonisation est essentielle pour la phagocytose des bactéries qui possèdent des capsules polysaccharidiques (pneumocoque, hemophilus influenzae, méningocoque).

La réponse des lymphocytes T CD4$^+$ de type Th17: Dans un environnement où il y a de fortes concentrations de TGF-β et d'IL-6, un lymphocyte T CD4$^+$ naïf va se différencier en lymphocyte Th17→ l'IL-17 → recrutement activation des PNN.

VII- Les réponses immunes dirigées contre les bactéries à développement intra-cellulaire

Les bactéries à multiplication intracellulaire sont phagocytées par les macrophages où ils peuvent survivre. Elles peuvent même s'y multiplier en inhibant les mécanismes tueurs du macrophage.

Exemple: Mycobacterium tuberculosis, Lysteria, Salmonella, Brucella, Yersinia, Rickettsia...

Le principal mécanisme de défense repose sur l'immunité spécifique à médiation cellulaire et notamment la réaction d'hypersensibilité retardée (HSR).

La réaction d'HSR dépend de l'activation de lymphocytes T CD4$^+$ de type Th1 et de la production de cytokines (IFNγ et TNFα et β).

IL-12 produite par les cellules présentatrices d'antigènes ➔ la différenciation des Th naïfs en Th1 qui sécrètent de l'IL-2, de l'IFNγ et du TNF α et β.

Les Th1 spécifiques quittent l'organe lymphoïde dans lequel ils se sont différenciés et seront guidés vers le site de l'infection grâce aux chimiokines produites in-situ.

Une fois arrivés sur place, ils continuent à produire ces cytokines et chimiokines qui vont :

- Activer les macrophages et augmenter leur pouvoir bactéricide.
- Recruter des monocytes qui se transforment en macrophages, des lymphocytes NK et des lymphocytes Th1 ➔ boucle de réponse Th1➔ apparition d'un granulome caractérisé par l'accumulation de macrophages et de lymphocytes T $CD4^+$. Ce système auto-amplificateur est contrôlé négativement, par les cytokines de type Th2 (IL-4 et l'IL-10).

Les lymphocytes T cytotoxiques ($CD8^+$) jouent un rôle important dans l'éradication de certains pathogènes à multiplication intracellulaire tels que Listeria monocytogenes.

Les lymphocytes Tγ/δ jouent un rôle important dans l'éradication de certaines bactéries à multiplication intracellulaire telles que les mycobactéries.

Parfoisréponse Th2 (< Th1)

- Elle diminue les manifestations inflammatoires potentiellement délétères liées aux sécrétions des Th1.
- Elle diminue en contrepartie la protection conférée par les Th1.

L'immunité humorale: rôle modeste dans l'élimination des bactéries à développement intracellulaire.

Ex: Dans les infections à salmonelles, les anticorps pourraient prévenir la transmission de cette bactérie de cellule à cellule après l'apoptose des macrophages infectés.

NB: Les Ac sériques spécifiques de bactéries à multiplication intracellulaire constituent un marqueur facile du contact avec ces agents pathogènes.

L'immunité innée est peu efficace. Les cellules **NK** jouent néanmoins un rôle important

VIII- Réponses immunitaires antivirales

Les virus se développent dans les cellules de l'hôte qu'ils infectent et dont ils détournent le métabolisme à leur profit.

Les virus se caractérisent par une vitesse de multiplication souvent exceptionnelle.

⇒ Le rôle de l'immunité innée est donc fondamental lors de la primo-infection.

L'immunité innée

Elle repose principalement sur les interférons type I (α et β) et les cellules NK.

Les interférons type I sont produits par les cellules infectées par des virus.

Ils induisent une résistance à la réplication virale des cellules avoisinantesen se liant à leurs récepteurs spécifiques (figure 4).

Les IFN type I stimulent la réponse immune anti-virale en activant les cellules NK.

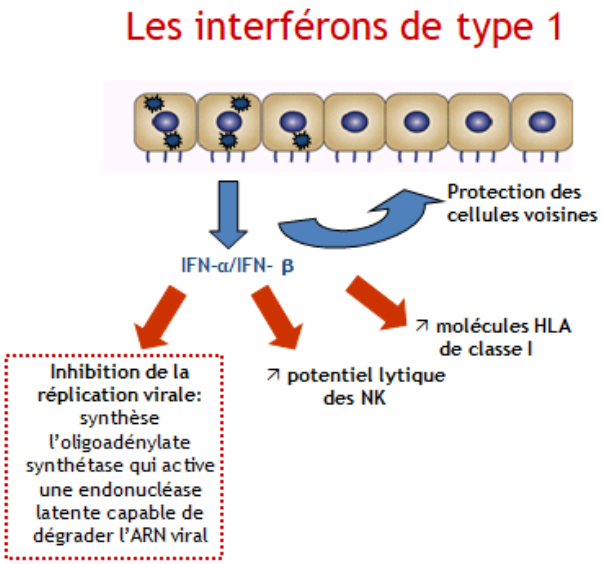


Figure 4 : Rôle des interférons de type I dans l'immunité anti-virale

Les cellules NK sont capables de reconnaître des cellules infectées par un virus, parce que cette infection s'accompagne souvent d'une perte d'expression des molécules d'histocompatibilité de classe I. Cette reconnaissance permet donc la destruction des cellules entrain de répliquer le virus.

L'immunité spécifique

Elle repose essentiellement sur les CTL (lyse des cellules infectées). (Figure 5)

Parallèlement au développement de cette réponse lymphocytaire T $CD8^+$, se développe une réponse lymphocytaire B spécifique d'antigène, qui aboutit avec un certain retard à la production d'IgM, puis d'IgG/IgA spécifiques du virus. Ces anticorps jouent un rôle minime dans la résolution de la primo-infection. Les Ac exercent un rôle protecteur essentiellement au cours des réponses secondaires.

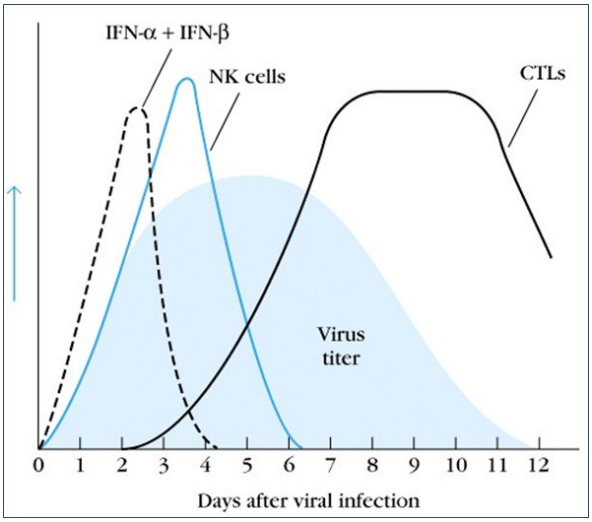


Figure 5 : Cinétique de la réponse immune au cours de la primo-infection virale

IX- Immunité antiparasitaire :

Les parasitoses sont un problème mondial de santé publique.

Les réponses immunitaires dirigées contre les parasites sont extrêmement diverses. Elles dépendent:

- du type de parasite: protozoaire (ex Plasmodium Falciparum responsable du paludisme ou toxoplasma gondii responsable de la toxoplasmose) ou helminthes (oxyures, anguillules, bilharzies); et
- de son stade de développement.

1- La réponse immune dirigée contre les helminthes

Il s'agit d'une réponse locale dans la muqueuse intestinale.

Les acteurs de l'immunité innée entrent rapidement en action.

Dans un second temps, dans les plaques de Peyer, la cellule dendritique présente des antigènes du parasite et, par son orientation de la réponse T vers une réponse Th2 (production d'IL-4 et d'IL-13), elle induit une sécrétion d'IgE par les lymphocytes B. Les IgE reconnaissent par leurs fragments Fab le parasite tandis que leur fragment Fc se fixe sur les récepteurs Fcε-R1 des mastocytes et des éosinophiles ➔**dégranulation** et libération par les éosinophiles de facteurs toxiques pour le parasite et par les mastocytes d'histamine et de facteurs chimiotactiques des éosinophiles.

2- La réponse immune dirigée contre les protozoaires

Inhibition de la pénétration des parasites dans leur cellule cible:Ac neutralisant

Cytotoxicité vis-à-vis des cellules infectées:

- Cytotoxicité restreinte par le CMH
- Cytotoxicité cellulaire dépendante des Ac (ADCC) : cellules Killer.

X- L'immunité antifongique

La paroi des cellules fongiques contient de nombreux glycolipides et protéines qui ne sont pas exprimés dans les cellules de l'hôte: PAMPs.

Ces PAMPs sont reconnus par les PRRs à la surface des cellules phagocytaires (PNN et macrophages) ➔phagocytose.

Les lymphocytes Th1 produisent l'IFNγ➔ qui augmente l'activité antifongique des macrophages.

L'activation des PNN par l'IL-17 produite joue un rôle majeur pour amplifier la réponse des PNN dans l'immunité antifongique.

NB: susceptibilité aux infections fongiques en cas de :

- Neutropénie
- Déficit Th17

XI- Conclusion

Les réponses immunes mises en place sont adaptées à la nature du pathogène, et en particulier à son développement intracellulaire ou extracellulaire, à son nombre et à sa virulence.

Les défenses contre les bactéries extracellulaires sont caractérisées par la mise en place de nombreuses réponses innées et d'une réponse humorale si nécessaire.

Les réponses antivirales majeures sont les lymphocytes cytotoxiques, NK et T $CD8^+$.

La réaction d'hypersensibilité retardée est typiquement mise en place lors d'une réponse contre les bactéries intracellulaires.

Les réponses T CD4 Th17 sont importantes dans les défenses antibactériennes et antifongiques.

LA REACTION ANTIGENE-ANTICORPS

Pr Hatem MASMOUDI

Objectifs éducationnels

1. Citer les caractères généraux de la réaction antigène – anticorps
2. Définir l'affinité et l'avidité de l'anticorps pour l'antigène
3. Citer les forces qui interviennent dans la liaison de l'anticorps à l'antigène correspondant
4. Décrire les paramètres dont dépend la réaction antigène - anticorps

I) Introduction

La réaction antigène-anticorps (Ag-Ac) correspond à la combinaison spécifique et réversible des Ac aux Ag qui leur correspondent.

L'étude qualitative et quantitative de la réaction Ag-Ac constitue le fondement de l'immunochimie, discipline d'une grande précision analytique et d'une importance capitale en Immunologie.

L'étude de la réaction Ag-Ac est compliquée par le fait que la plupart des Ag sont des macromolécules et même quand leur structure est connue, il est toujours difficile de déterminer la nature, le nombre et la localisation des différents groupes fonctionnels présents sur chaque molécule. Cette complexité justifie l'utilisation d'haptènes qui présentent des déterminants antigéniques en nombre limité par l'étude de la réaction Ag-Ac. L'extrapolation à des molécules plus compliquées peut ensuite être tentée.

II) Caractères généraux de la réaction Ag-Ac

1) Exothermie

La réaction Ag-Ac est une réaction exothermique qui libère une énergie de 2 à 40 kcal/mol.

2) Spécificité

La réaction Ag-Ac est une réaction spécifique. Chaque Ac est dirigé contre un déterminant Ag donné ou épitope.

Cette spécificité n'est tout de même pas absolue et doit être nuancée compte tenu de l'existence de réactions croisées.

* *Spécificité d'un Ac :* capacité à discriminer entre des déterminants antigéniques de structures semblables mais différentes.

* *Réaction croisée* : réaction d'un Ac avec un Ag différent de celui ayant servi pour l'immunisation (cf : cours les antigènes).

3) <u>Réversibilité</u>

La réaction Ag-Ac est une réaction réversible :

$$Ag + Ac \rightleftarrows Ag - Ac + chaleur$$

Le complexe Ag-Ac peut être dissocié par la chaleur, la baisse du pH ou l'augmentation de la force ionique du milieu.

III) Affinité et avidité

***1) <u>Affinité</u>* :** stabilité du complexe Ag-Ac déterminée par l'intensité des forces de liaison.

$$Ag + Ac \underset{k'}{\overset{k}{\rightleftarrows}} Ag - Ac$$

k : *constante de vitesse d'association*

k' : *constante de vitesse de dissociation*

Compte tenu de l'identité et de l'indépendance fonctionnelle des sites et d'après la loi d'action des masses, on aura <u>à l'équilibre</u> :

$$(Ag) \cdot (Ac) \cdot k = (Ag - Ac) \cdot k'$$

$$\Leftrightarrow \frac{(Ag - Ac)}{(Ag) \cdot (Ac)} = \frac{k}{k'} = K$$

K : *constante d'association intrinsèque de la réaction ou constante d'affinité de l'Ac*

<u>Mesure de la constante d'affinité</u> :

Plusieurs techniques peuvent être utilisées notamment la dialyse à l'équilibre qui

utilise une membrane de dialyse ne laissant passer que les petites molécules telles que les haptènes.

La détermination de l'affinité d'un Ac est réalisée par dialyse à l'équilibre. La chanmbre de dialyse contient 2 compartiments (I et O) séparés par une membrane semi-perméable. L'Ac est ajouté à un compartiment et un ligand radiomarqué à l'autre. A l'équilibre, la concentration de la radioactivité dans les 2 compartiments est mesurée. La différence de concentration du ligand dans les 2 compartiments représente la concentration du complexe Ag-Ac

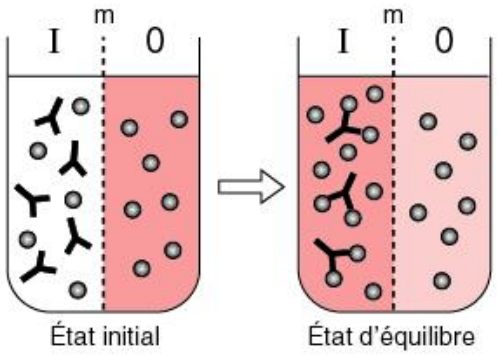


Figure 1 : Principe de la méthode de dialyse à l'équilibre pour mesurer la constante d'affinité d'une réaction Ag-Ac

Les quantités totales d'Ac (compartiment I) et d'haptène (compartiment II) étant connues (état initial), il suffit de mesurer la quantité d'haptène libre (H) dans compartiment II à l'équilibre pour en déduire la quantité d'haptène lié (A-H) et par la même la quantité d'Ac libre (A) puisqu'on connait la quantité totale d'Ac. Ce qui permet de déterminer la constante d'affinité K :

$$K = \frac{(A\text{-}H)}{(A).(H)}$$

2) Avidité

L'avidité d'un Ac pour un Agcorrespond à la rapidité d'apparition d'une précipitation, d'une agglutination ou d'une autre réaction Ag-Ac observable.

Elle dépend de la constante d'association, de la valence de l'Ac et de l'Ag, de la température, du pH et de la force ionique du milieu. C'estune notion expérimentale.

IV) Bases physico-chimiques de la réaction Ag-Ac

Les forces qui unissent les Ac aux Ag ne sont pas fondamentalement différentes des forces régissant les diverses interactions entre protéines (enzymes

substrat, hormone-récepteur...). Il s'agit uniquement de forces non covalentes donc relativement faibles et très dépendantes de la complémentarité stérique entre les sites Ac ou paratopes et les déterminants antigéniques ou épitopes.

Les études en cristallographie de complexes Ag-Ac ont remis en cause le modèle de la clé et de la serrure qui était généralement accepté. La combinaison de l'Ac avec l'Ag se fait par le contact intime en plusieurs points de 2 surfaces plus ou moins planes. 4 types de forces intermoléculaires de faible énergie interviennent dans la liaison de l'Ac à l'Ag :

* forces de Van Der Waals : liées au mouvement des électrons dans les molécules qui entrainent la formation de champs électriques instantanés.

* forces électrostatiques ou ioniques : liées à l'attraction qui s'exerce entre 2 groupements ioniques de charges opposées (ex : $NH3^+$ et COO^-)

* liaisons hydrogène : entre atomes électropositifs (ex : H) et atomes électronégatifs (ex : O, N) ; ↑ quand θ°C ↓

* liaisons hydrophobes : interactions stabilisantes entre groupements non polaires dans l'eau ; ↑ quand θ°C ↑

Paramètres de la réaction Ag-Ac

La réaction Ag-Ac dépend de ces paramètres :

1) Valence et structure physique et chimique de l'Ag

La plupart des Ag sont multivalents c-à-d qu'une molécule d'Ag peut fixer plusieurs molécules d'Ac ; 1 molécule d'Ag comprend plusieurs épitopes.

La structure physique de l'Ag détermine les caractéristiques de la réaction Ag-Ac :

- Ag libre en solution : Ag + Ac→ complexes immuns solubles et/ou insolubles selon la valence de l'Ag, des Ac, les concentrations respectives des Ag et des Ac
si complexes insolubles →précipitation
- Ag insoluble : fixé sur des hématies →hémagglutination
fixé sur des particules de latex ou autres →agglutination
- Ag constitutif de cils, de flagelles ou de pili à la surface de cellules ou de microorganismes→ immobilisation de ces μorganismes et leur rassemblement en

amas visibles à l'œil nu.

2) Multiplicité et hétérogénéité structurale et fonctionnelle des Ac

La réponse immunitaire humorale à l'Ag donne naissance, sauf rares exceptions, à une multiplicité d'Ac différents → intérêt de l'utilisation d'Ac monoclonaux.

3) Etat physique du système réactionnel : la réaction Ag-Ac peut se dérouler :

- en phase homogène : milieu liquide ou gélifié ; le contenant (tube, micro-puits…) n'intervient pas dans la réaction Ag-Ac ;
- en phase hétérogène : milieu liquide et solide ; l'Ag ou l'Ac est adsorbé sur une phase solide (tube, micro-puits, billes…), nécessité de lavages répétés après chaque étape pour éliminer les molécules d'Ag et d'Ac non fixées sur la surface de plastique...

Références

1- Immunology IV : Clinical Applications in Health and Diseases. Joseph A. Bellanti. I Care Press, 2012.

2- Immunobiologie. Charles A. *Janeway, Kenneth Murphy, Paul Travers, Marc Walport, 3ème édition française, traduction de la 7ème édition anglaise par Pierre L. Masson.* De Boeck, 2009.

3- Fondements de l'Immunologie. Peter J. *Delves, Seamus J. Martin, Dennis R. Burton, Ivan M. Roitt, traduction de la 7ème édition anglaise par Pierre Masson*. De Boeck, 2008.

4- Atlas de Poche d'Immunologie. *G. Burmester, A. Pezzutto*. Traduction française par P. V. Endert, 2ème édition. Médecine-Sciences Flammarion, 2005.

5- Immunologie. Collection de la biologie à la clinique. Jean François Bach et L. Chatenoud, 4ème édition. Flammarion Médecine Sciences, 2005.

6- Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. *Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman*. Traduction de la 2ème édition anglaise. Elsevier, 2005.

7- Immunologie. Aide-mémoire illustré. David Male. Traduction de la 4ème édition anglaise par *Paul Fonteneau*. De Boeck, 2002.

8- Immunologie. Jean Pierre *Revillard avec la collaboration de l'Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue Française (ASSIM).* De Boeck, 2001.

9- Immunologie. Le cours de Janis Kuby. Avec questions de révision. *Richard A. Goldsby, Thomas J. Kindt, Barbara A. Osborne. Traduction de la 4ème édition anglaise par Serge Weinman.* Dunod, 2001.

10- Immunologie Fondamentale. *Hatem Masmoudi et Amel Ben Ammar El-Gaaied.* Centre de Publication Universitaire, Tunis. 2000.

11- Immunologie. *I.M Roitt, J. Brostoff, D.K Male*. De Boek Université, 1994.

10- Immunologie clinique. J. *Brostoff, G.K Scadding, D. Male, I.M Roitt*. De Boek Université, 1993.

11- Les cytokines. *Jean Marc Cavaillon*. Masson, 1996.

12- HLA, Fonctions immunitaires et applications médicales. *Jacques Colombani*. John Libbey Eurotext, 1993.

13- Traité d'Immunologie. *Jean François Bach*. Flammarion Médecine Sciences, 1993.

14- Cours annuel de la Société Française d'Immunologie (SFI) 1991-1996, 2003.

15- Immunologie clinique ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990.

16- Immunologie générale ASSIM. *Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990.
17- Méthodes en Immunologie. ASSIM.*Medsi/Mc Graw-Hill*, 1990
18- Cours d'Immunologie générale de l'Institut Pasteur de Paris. 1989, 1993.
19- Cours d'Immunopathologie de l'Institut Pasteur de Paris. 1988, 1992.
20- Immunologie fondamentale et immunopathologie. Collège des Enseignants d'Immunologie, ASSIM,2ème édition.Elsevier Masson, 2018. |

3-BACTÉRIOLOGIE GENERALE

LE MONDE MICROBIEN

Objectifs éducationnels

1- Définir les différents types d'organismes vivants
2- Distinguer sur le plan structural une cellule de type eucaryote d'une cellule de type procaryote
3- Décrire les principes de classification des organismes vivants

1. INTRODUCTION :

Le monde microbien se caractérise par son ancienneté, son hétérogénéité et sa grande diversité. Depuis plus de 3 milliards d'années, les microbes ont envahi la terre. Ils représentent à peu près 60% de la matière organique sur terre. Ils regroupent des espèces appartenant aux règnes des vivants : bactéries, archées et eucaryotes.

La microbiologie (micro : petit, bio : vivant, logos : étude) est l'étude des organismes vivants dont la taille est de l'ordre du micromètre et de leurs relations avec l'environnement.

Les microorganismes, appelés aussi microbes ou germes, sont des termes imprécis désignant un groupe très varié et hétérogène d'organismes microscopiques sans distinction de leur origine animale, végétale, bactérienne, virale ou autre.

2. HISTOIRE DE LA MICROBIOLOGIE

« Les régions palustres sont dangereuses parce qu'il se dégage des marais, à la saison chaude, de petits animaux qu'il est impossible de distinguer avec les yeux et qui pénètrent dans le corps par la bouche et les narines pour y provoquer des troubles graves » *Marcus TerentiusVarro (116-27 av JC).*

- Le principal évènement ayant contribué à la naissance de la microbiologie est la découverte du microscope en 1676 par Anton Van Leeuwenhock (Hollandais

1632-1723). Il a montré la richesse et la diversité morphologique des microorganismes, qu'il appela « animacules », dans l'environnement et les flores.

- Deux éminents microbiologistes ont marqué la discipline et l'humanité :

  * ***Louis Pasteur*** (1822-1895) : Il démontra que la fermentation lactique est un phénomène bactériologique. Il mettra en cause la théorie de la génération spontanée et il contribuera à la découverte de plusieurs espèces bactériennes.

  ****Robert Koch*** (1843-1910) : Il met au point les techniques d'isolement et d'identification bactérienne, découvre l'agent de la tuberculose (Bacille de Koch ou BK) et il établit les postulats de Koch (relation bactérie – maladie)

  Postulats de Koch :

  - Le microbe doit être présent chez les malades et absent des organismes sains
  - Il faut que le microbe puisse être cultivé en culture pure à partir des malades.
  - Un animal sain inoculé avec cette culture pure doit développer la même maladie.
  - Le même microbe peut être ré-isolé en culture pure de l'animal malade.

- En 1884 Hans Christian **Gram** met en évidence la coloration fondamentale en bactériologie, valable et utilisable jusqu'à aujourd'hui dans les laboratoires de microbiologie : la coloration de Gram.
- En 1929, Sir Alexander Fleming découvre la pénicilline.
- La génétique bactérienne a connu son développement par la découverte de la conjugaison bactérienne (Griffith en 1928), de la transduction généralisée (Zinder et Lederberg en 1952)
- La découverte de la double hélice de la molécule d'ADN par Watson et Crick en 1953 (prix Nobel de médecine en 1962)
- La découverte des techniques moléculaires d'amplification génique (Polymerase Chain Reaction ou PCR) en 1984 par Katy Mullis (prix Nobel de chimie en 1993)
- Parmi les découvertes qui ont marqué l'histoire de la microbiologie médicale figurent l'identification des principales bactéries pathogènes spécifiques /l'agent du choléra (*Vibrio cholerae*), de la fièvre typhoïde (Salmonella Typhi), de la syphilis(*Treponema pallidum*), de la diphtérie (*Corynebacterium diphteriae*) ….

- La naissance de l'immunologie grâce aux travaux de Metchnicoff (Immunité cellulaire) et de Boehring et Kitasato (immunité humorale) a permis une meilleure compréhension de la pathogénie, du diagnostic et de la prévention des maladies infectieuses (vaccination).

3. LA CLASSIFICATION

L'utilisation du microscope et la découverte de nouvelles formes vivantes ont imposé la révision de la classification des vivants, autrefois répartis en deux règnes, le règne animal et le règne végétal.

Le terme de **protistes** a été introduit pour désigner, entre le monde animal et le monde végétal, les êtres unicellulaires et les êtres pluricellulaires sans tissus différenciés. Les protistes sont classés en deux catégories :

• Les protistes supérieurs ou **eucaryotes** qui possèdent un noyau entouré d'une membrane, des *chromosomes*, un *appareil de mitose* et une *structure cellulaire complexe* (mitochondries notamment).

Les eucaryotes possédant un vrai (eu) noyau (Karyon) peuvent être multicellulaires ou unicellulaires. Ils sont répartis dans trois règnes :

- Les champignons (Fungi)
- Les plantes (Plantae)
- Les animaux (Animalia)

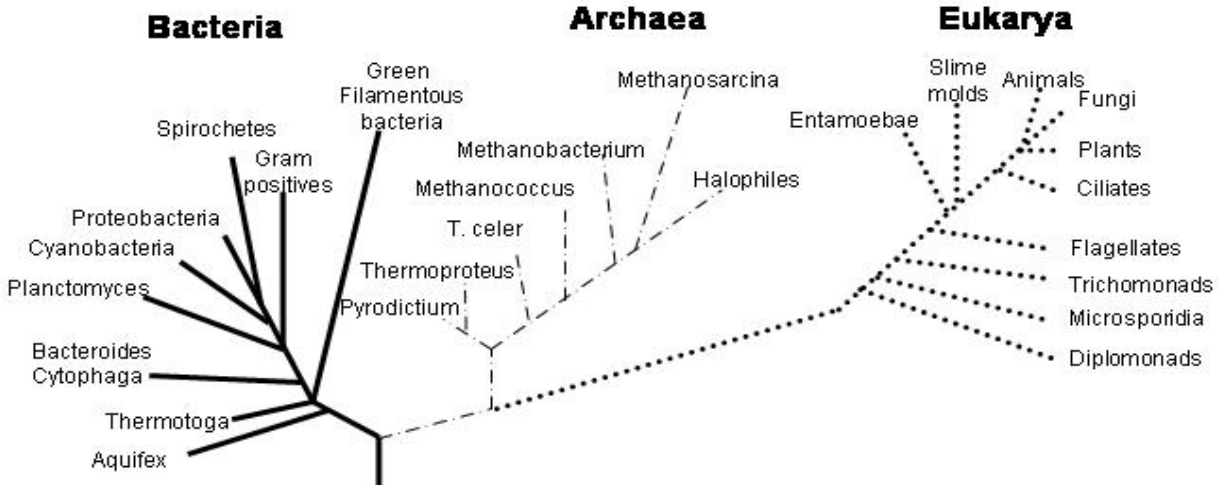
• Les protistes inférieurs ou **procaryotes** (pro : avant et Karyon : noyau) qui ont un chromosome unique sans membrane nucléaire et sans appareil de mitose, et une structure cellulaire élémentaire (pas de mitochondries).

Les procaryotes sont unicellulaires, plus petits et les plus nombreux sur terre, ils sont séparés en deux groupes différents, les eubactéries et les archeabactéries.

Classification génétique :

L'avènement de la biologie moléculaire et le développement des techniques génotypiques ont permis de caractériser les gènes qui codent pour les ARN ribosomaux (ARNr). L'étude et la comparaison de plusieurs séquences d'ARNr 16s de divers organismes vivants ont permis d'individualiser trois domaines :

Bacteria ou Eubacteria, Archea et Eucarya(animaux, végétaux, mycètes et protistes)



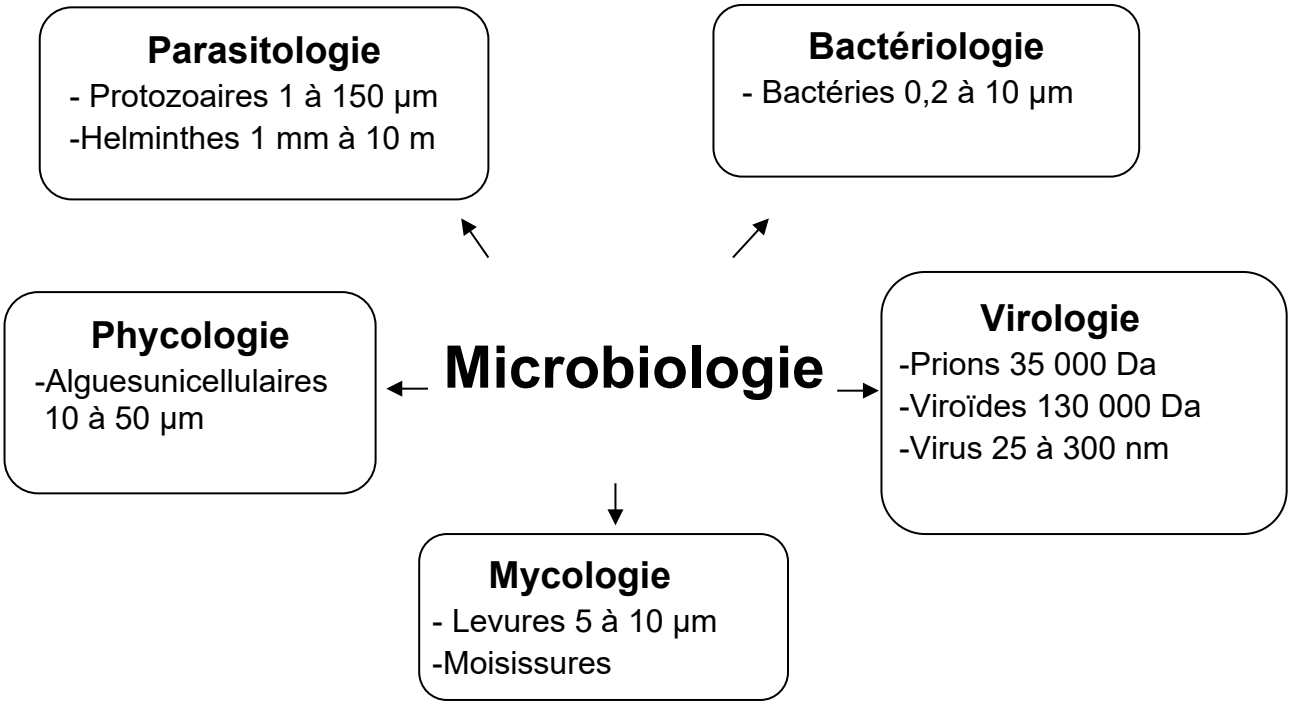
PhylogeneticTree of Life

L'arbre évolutif des trois règnes du vivant

Au centre, Luca « Lastuniversalcommonancestor » ou le dernier ancêtre commun des trois règnes du vivant (image sous licence creativecommon)

4. DOMAINES D'APPLICATION DE LA MICROBIOLOGIE

La microbiologie est subdivisée en plusieurs domaines en fonction du type de « microbe » abordé :



Quatre domaines d'application de la bactériologie peuvent être individualisés :

- Bactériologie médicale : bactéries commensales
  bactéries pathogènes spécifiques
  bactéries pathogènes opportunistes

- Bactériologie alimentaire : conservation des aliments
  processus de fermentation

- Bactériologie industrielle : Industrie agro-alimentaire
  Industrie pharmaceutique
  Génie génétique

- Bactériologie de l'environnement : Fertilisation des sols
  Décomposition organique
  Dépollution des sols

Tableau comparatif des caractéristiques morphologiques et métaboliques d'une cellule eucaryote et d'une cellule procaryote

Caractéristiques	Bactéries (cellule procaryote)	Cellules eucaryotes
Taille habituelle	0,3 à 2,5	2 à 20 µm
Noyau entouré par une membrane	**Non**	**Oui**
Nombre de chromosomes par noyau	1	> 1
Réplication par mitose	**Non**	**Oui**
Position de l'ADN	Dans le nucléoïde ou les plasmides	Dans le noyau et certains organites intracellulaires
Recombinaison génétique	Processus variable	Fusion des gamètes et mélose
Présence d'organites intracellulaires (mitochondries, réticules endoplasmiques, appareil de Golgi)	**Aucun**	**Habituellement présent**
Coefficient de sédimentation du ribosome	70 S	80 S (cytoplasme) 70 S (mitochondries)
Membranes contenant des stérols	Aucune	Souvent présentes
Enveloppes cellulaires	**Hétéropolymèreglucidopeptidique**	**Cellulose et autres polysaccharides, seulement dans les plantes**
Flagelles et cils	Pas de cils, les flagelles sont des hélices protéiques	Agencement typique des flagelles et des cils associant plusieurs constituants
Phagocytose, pinocytose, mouvement cellulaire	Absent	Souvent

LA CELLULE BACTERIENNE

Etude anatomique et structurale

Objectifs éducationnels

1. Définirune cellule bactérienne
2. Décrire les moyens d'étude de la bactérie
3. Préciser les différents constituants d'une cellule bactérienne
4. Préciser pour chaque constituant, sa structure, son rôle et ses propriétés

---

1- DEFINITION

✓ Les bactéries sont les plus petits microorganismes connus doués de métabolisme propre et capables de croître et de se diviser aux dépens de substances nutritives. Elles ne peuvent être visualisées qu'au microscope. Elles ont une taille de l'ordre de 1 à 10 µm. Ce sont des organismes unicellulaires constitués d'une cellule de type procaryote,

✓ **Cellule de type procaryote :** sans noyau différencié, un seul chromosome, pas de mitochondries, paroi rigide.

2- MOYENS D'ETUDE

2-1- Observations microscopiques +++

2-1-1-Microscope optique ordinaire : permet un grossissement final maximum de l'ordre de 1000. L'observation microscopique des bactéries peut se faire par :

✓**Examen à l'état frais** : les bactéries sont observées en milieu liquide entre une lame et une lamelle. Il permet d'observer des bactéries vivantes, leurs formes et en particulier d'apprécier leur mobilité.

✓**Examen après colorations** :

Les bactéries peuvent être colorées préalablement à leur observation microscopique. Les préparations, à partir d'un produit pathologique ou d'une suspension bactérienne, doivent être étalées, séchées et fixées sur une lame en verre, puis colorées par l'une des méthodes suivantes :

-**Coloration de Gram** **++** c'est la coloration fondamentale en microbiologie, différentielle, permettant de distinguer les bactéries à Gram positif (coloration violette) des bactéries à Gram négatif (coloration rose).

- Coloration au bleu de méthylène : consiste à faire agir un seul colorant qui imprègne uniformément toutes les bactéries en respectant la morphologie cellulaire. Par cette coloration, les bactéries paraissent en bleu foncé, les cellules en bleu clair.

- **Autres méthodes de coloration spécifiques/**

***coloration de Ziehl Neelsen** spécifique des Mycobactéries permettant de mettre en évidence leur acido-alcoolo-résistance (BAAR).

***coloration des structures particulières de la cellule bactérienne** (flagelles, capsule, spore…).

2-1-2- Microscope électronique : permet d'obtenir des grossissements finaux de l'ordre de 100 000. Il est surtout utilisé en bactériologie dans le domaine de la recherche pour observer les détails de structure des cellules bactériennes.

2-2- Séparation des constituants cellulaires

Analyse fine ultrastructurale

2-3- Biologie moléculaire

Etude du génome bactérien

3- MORPHOLOGIE BACTERIENNE

- Taille (µm) : 1 à 2 µm (extrêmes allant de 0,3 µm à 20 µm)

- Forme : les cellules bactériennes peuvent se présenter sous différentes formes :

* arrondie (sphère) : **cocci** ou coques

* cylindrique (bâtonnet) : **bacille**

* cocco-bacille

* spirale : spirochete.

- Mode de groupement :

* en amas/ cocci à Gram positif groupés en amas (staphylocoque)

***** en chaînette/ cocci à Gram positif groupés en chaînettes (streptocoques)

* en diplocoque (paire):

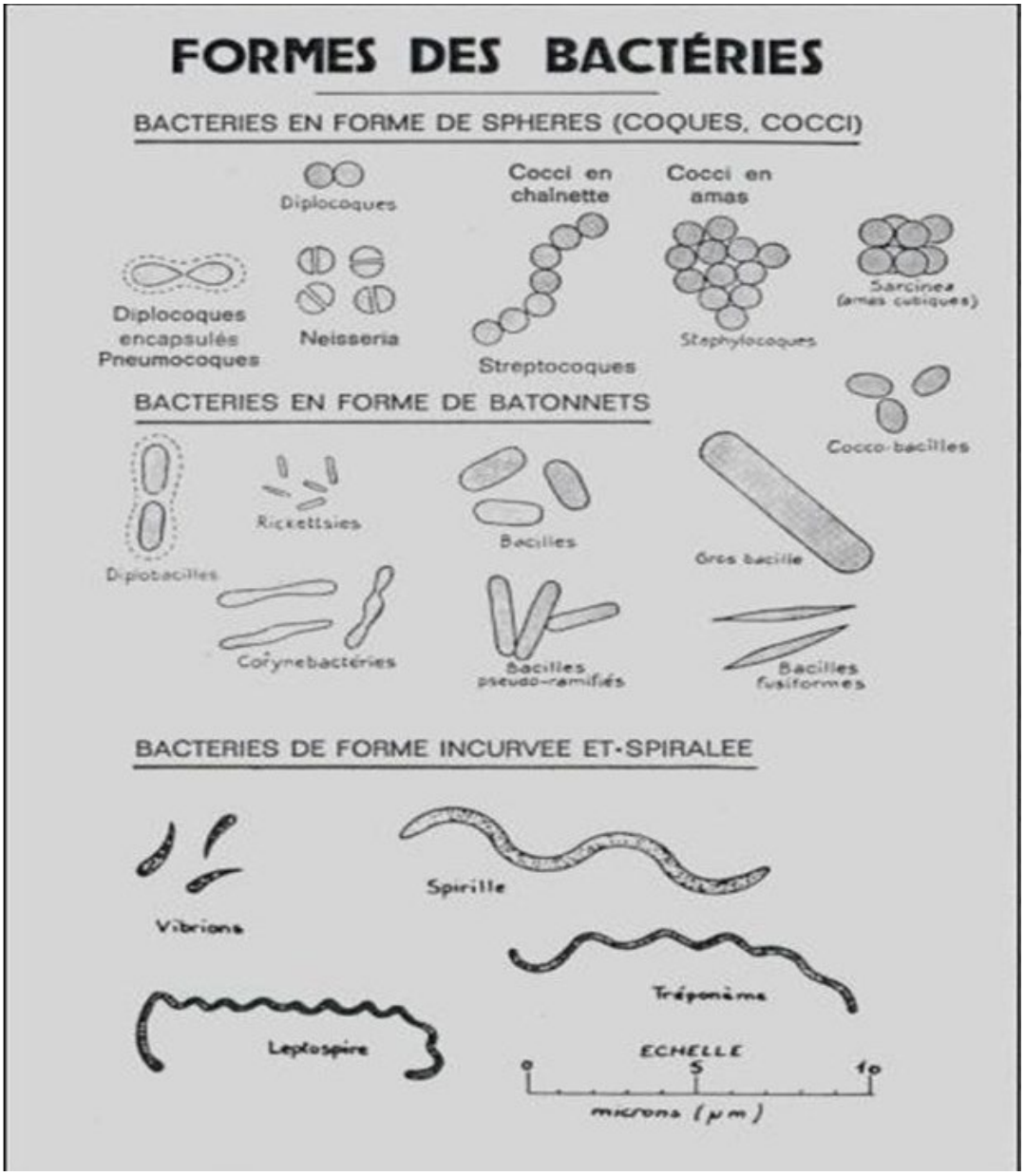
Diplocoque à Gram négatif en grain de café (*Neisseria*),

Diplocoque à Gram positif lancéolé en flamme de bougie (Pneumocoque)

* en palissade/ bacille à Gram positif (Corynébactéries).

Les formes et les types de groupement, qui reflètent surtout le mode de division cellulaire, sont des critères très utilisées pour identifier les bactéries.

Ces caractères morphologiques sont en général observés sur des bactéries colorées par la coloration de Gram et observées à fort grossissement. L'affinité tinctoriale (Gram positif ou négatif) vient en général compléter la description des bactéries étudiées.



4- STRUCTURE ANATOMIQUE DE LA BACTERIE

4-1- Les structures constantes et vitales de la bactérie

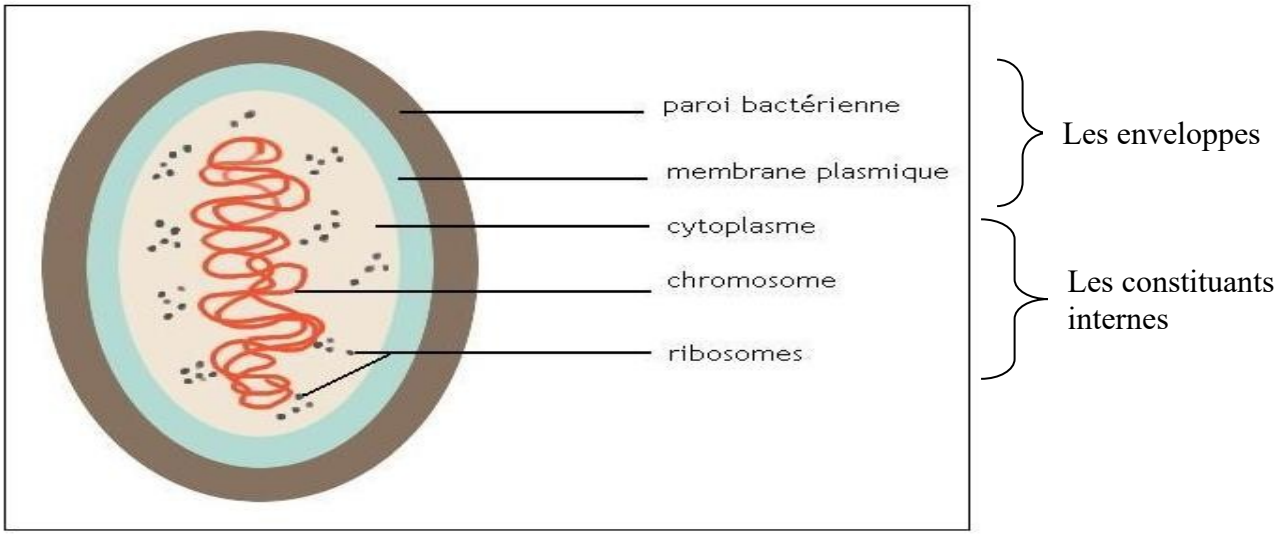


Schéma simple d'une cellule bactérienne

4-1-1- La paroi bactérienne

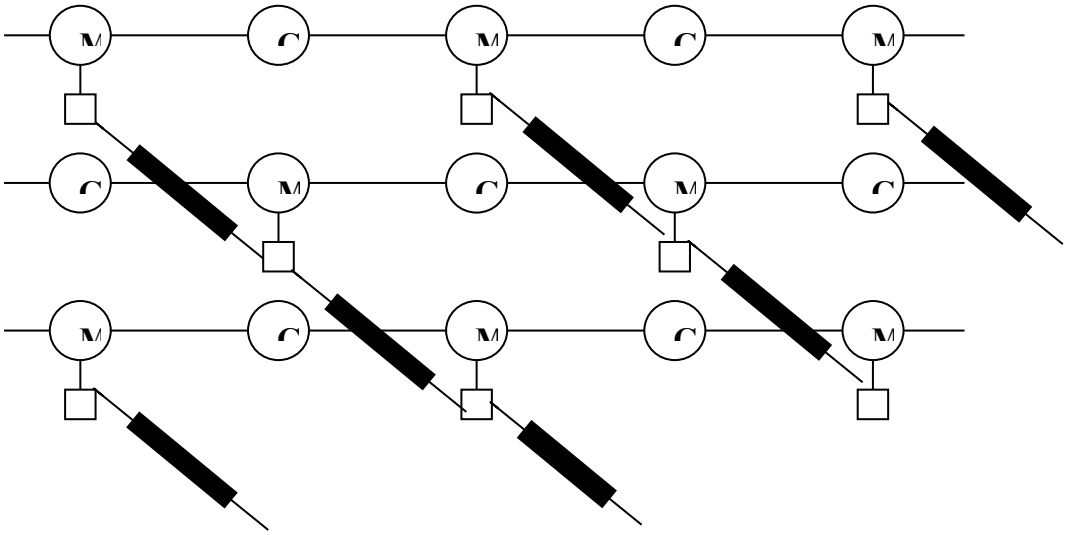
- c'est une structure constante chez les bactéries. Elle est située à l'extérieur de la membrane cytoplasmique
- Elément fondamental ≈ 20 % du poids sec de la bactérie
- elle constitue une structure rigide (squelette externe) qui maintient la forme de la bactérie et la protège de l'extérieur
- elle est responsable de la forme des cellules bactériennes : Cocci – Bacilles - Coccobacilles - spiralée
- Le **Peptitoglycane : glycopeptide : Muréine est**leconstituant constant et commun pour toutes les bactéries. C'est la molécule de base des parois bactériennes.

Le peptidoglycane est un hétéropolymère composé de chaînes polysaccharidiques reliées les unes aux autres par des chaînons peptidiques (pentapeptide).

La chaîne polysaccharidique est formée d'une alternance de molécules de N-Acétyl Glucosamine (G) et d'Acide N-AcétylMuramique (M). Les chaînes

peptidiques, formées de quatre acides aminés (par exemple L-Alanine - D-Glycine - L-Lysine - D-Alanine) : tetrapeptide, sont toujours fixées sur l'acide muramique. Ces tétrapeptides sont reliés directement entre eux par une courte chaîne peptidique (pont interpeptidique).

Structure du peptidoglycane



: M : N-AcetylMuramique:N-Acetyl G osamine :Tetrape P

[L-ALA-D.GLY- L.LYS-D.ALA] (L. LYS ou DAP : acide diaminopimélique)

Pont interpeptidique
(L-GLY x 5)

La structure et la composition chimique de la paroi diffèrent selon qu'il s'agit d'une bactérie à Gram positif ou d'une bactérie à Gram négatif.

La paroi des Gram positif :

Elle est homogène et épaisse. Le constituant principal est le peptidoglycane (90% des constituants de la paroi) qui est traversé par des chaines d'acides téichoïques et lipotechoiques. Ces derniers assurent la fixation à la membrane cytoplasmique grâce à des liaisons hydrophobes.

La paroi des Gram négatif :

Elle est plus fine, peu dense et plus complexe. On distingue 3 couches :

- couche mince de peptidoglycane

- la **membrane externe** (à l'extérieur de la couche de peptidoglycane) est caractéristique de la paroi des Gram négatif. C'est une bicouche moléculaire, la couche interne est composée de phospholipides, alors que, la couche externe est composée de **lipopolysaccharide** (**LPS**) nommé encore endotoxine bactérienne, composant caractéristique des Gram négatif. Le LPS, est une molécule très toxique composée de**lipide A** (support de la toxicité) et de polysaccharide (responsable de la spécificité antigénique). Libéré dans la circulation au cours des infections à Gram négatif, le LPS est responsable d'un état de choc (choc septique).

Des protéines variées sont insérées dans la membrane externe : les protéines de transport (porines) ou les adhésines.

L'espace sous la membrane externe dans lequel se trouve le peptidoglycane est l'espace périplasmique.

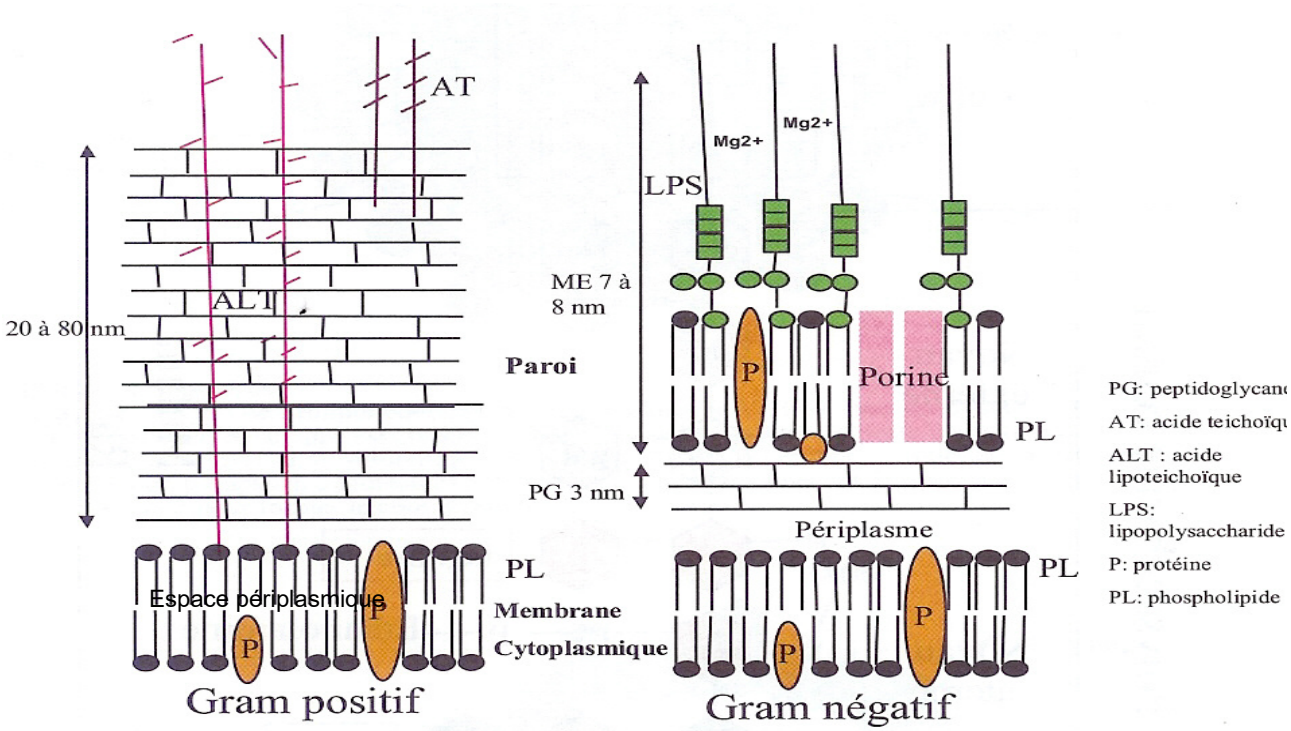


Schéma des parois bactériennes des bactéries Gram + et Gram –

→ Rôle de la paroi :

-la paroi confère la morphologie à la cellule (exosquelette)

- Protection de la cellule

- Barrière osmotique : la paroi protège la cellule des variations de pressions osmotiques

-interface avec le milieu extérieur : la paroi est un lieu d'échange nutritionnel

- lieu d'action de certains antibiotiques / β- lactamines

- point d'impact du lysozyme

- récepteur de bactériophages

-antigénique/ antigène O des Gram négatif : polysaccharide de la membrane externe)

-perméable : coloration de Gram (perméabilité plus grande à l'alcool des Gram négatif)

→ Cas particuliers :

- Bactéries dépourvues de paroi :

* Naturellement : Mycoplasmes

* Accidentellement :

Protoplastes : issu de bactérie à Gram positif

Sphéroplastes : Forme L → (issu de bactérie à Gram négatif, réversible)

Bactéries altérées chez des malades traités par les β-lactamines

- Paroi des Mycobactéries : très riche en lipide de haut PM et ramifiés, acidemycolique et cires.

4-1-2- La membrane cytoplasmique

C'est l'enveloppe la plus interne de la cellule bactérienne. Elle est située sous la paroi.

Structure :

C'est une double couche de phospholipides dont les pôles hydrophobes sont face à face. Des protéines sont associées à cette structure (extrinsèques ou périphériques, associées à la partie externe hydrophile et intrinsèques ou intégrales insérées à la partie hydrophobe).

Rôle

- siège de nombreuses enzymes → respiration et métabolisme énergétique

- Elle intervient dans les échanges nutritifs entre le cytoplasme et l'extérieur

- site d'action de certains antibiotiques / polypeptides

- rôle dans la régulation de la division bactérienne.

4-1-3- Cytoplasme :

C'est un gel plus ou moins homogène dans lequel sont dispersés des ribosomes et des granulations et substances de réserve.

4-1-4- Ribosomes :

Constitués d'ARN et de protéines.

Ils sont formés de 2 sous unités : 50 S et 30 S. La sous unité 50 S est composé d'ARNr 23 S, d'ARNr 5 S et des polypeptides. La sous unité 30 S est composé d'ARNr 16 S et des polypeptides. Les séquences nucléotidiques des ARNr et les séquences en acides aminés des polypeptides ribosomaux présentent des parties conservées pour toutes les bactéries et des parties variables dont la structure est un critère taxonomique important.

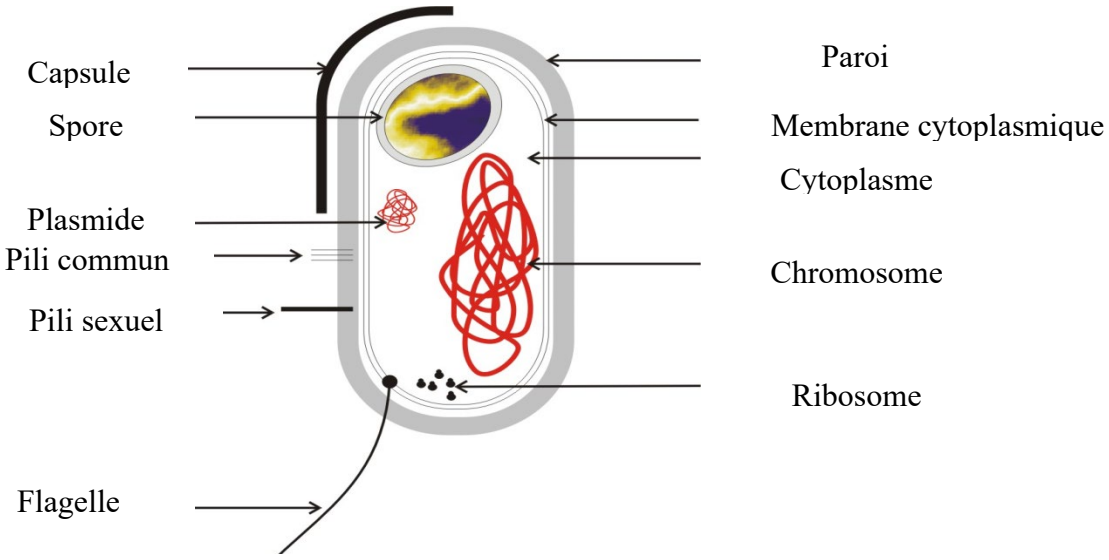
Ribosomes : Site d'action de certains antibiotiques (aminosides).

4-1-5- Chromosome :

- Chromosome bactérien unique, bicaténaire, circulaire, n'est pas entouré d'une membrane nucléaire (voir cours génétique bactérienne).

Il est le site d'action de nombreux antibiotiques (quinolones).

4-2- Les structures inconstantes



Les structures inconstantes **Les structures constantes**

4-2-1- La capsule :

- facultative,

Structure : généralement polysaccharidique (comme chez *Streptococcuspneumoniae*)

Rôle : * Facteur de virulence +++ (résistance à la phacocytose)

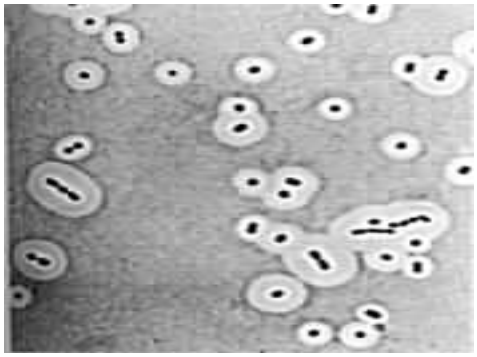
* est antigénique (antigènes capsulairesavec des spécificités variables

→ Existence de types capsulaires différents (notion de sérotype)

Elaboration d'anticorps protecteurs : opsonines

Mise en évidence :

-Technique à l'encre de chine : les capsules peuvent être observées en microscope optique à l'état frais en présence d'encre de chine. La capsule apparait comme un halo clair entourant une cellule bactérienne sombre.



- Recherche d'Ag soluble dans les liquides biologiques / LCR, sérum, urines. En effet, la capsule peut se trouver à l'état soluble dans les liquides de l'organisme (emploi dans le diagnostic).

4-2-2- Glycocalix

C'est un feutrage polysaccharidique ayant une structure lâche. Il est difficile à visualiser, sauf en microscopie électronique. Le feutrage des fibres de glycocalix est constant dans le cas des bactéries vivant en biofilm dans les conditions naturelles. Il est aussi appelé Slime / *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermidis*

Rôle :

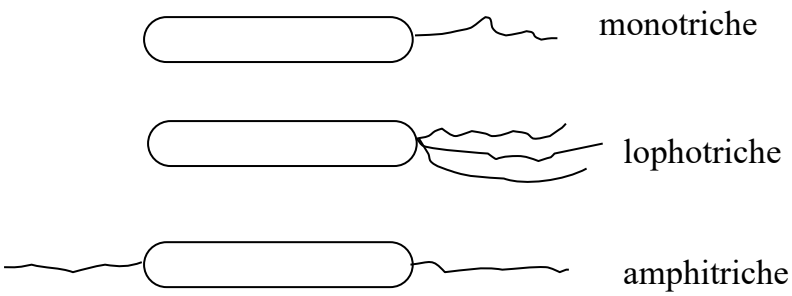
- l'attachement des bactéries aux muqueuses (buccales, respiratoires...) ou à des supports inertes (plaque dentaire sur l'émail dentaire, biofilm sur les cathéters, les prothèses)

- protège les bactéries du biofilm de la dessiccation et rend les bactéries résistantes.

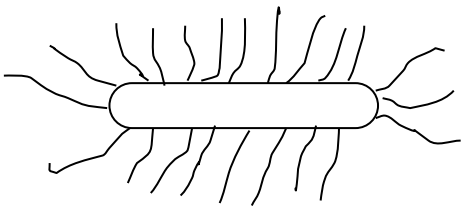
4-2-3- Les flagelles

- Organites inconstants. Il s'agit de longs filaments très fins
- Nature chimique : formé d'un filament constitué par une Protéine(Flagelline)
- ils sont ancrés dans le cytoplasme
- Ce sont les organes locomoteurs des bactéries → Mobilité +++
-Le nombre et la position sont variables selon les espèces :

* Polaire



* Péritriche



- Rôles :

Antigénique : Antigène H (flagellaire)

Mobilité : les bactéries flagellées se déplacent dans les milieux liquides ou à la surface des géloses molles qu'elles recouvrent en formant un véritable film/ les *Proteus* ou les *Pseudomonas.*

4-2-4- Les pili

Chez les bactéries à Gram négatif++

Ce sont des structures fibrillaires de nature protéique

On distingue 2 catégories de fonction distincte :

- Pili communs ou fimbriae : adhésines, déposés en grand nombre à la surface des bactéries à Gram négatif ayant des propriétés hémagglutinantes et adhésives,

L’adhésion bactérienne aux surfaces cellulaires ou inertes constitue la première étape dans la genèse du foyer infectieux.

- Pili sexuel ou conjugatifs (plasmide F ou fertilité) : plus longs, nombre faible (1-4)nécessaires au transfert génétique par conjugaison.

4-2-5- Plasmide

- ADN extra chromosomique capable d’autoreproduction

-Molécule d’ADN double brin de petite taille (1/100 environ de celle du chromosome) (voir cours génétique bactérienne).

4-2-6- La spore

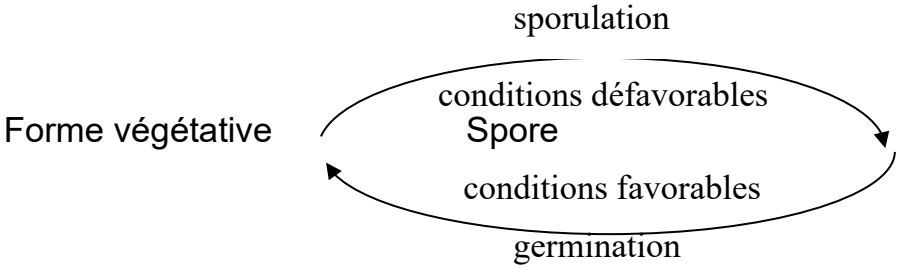
Élément inconstant, forme de résistance de la bactérie aux conditions défavorables de la vie.

La sporulation est un processus de différenciation adaptative de la cellule bactérienne. Deux genres bactériens rencontrés en médecine sont capables de sporuler : les *Bacillus* et les *Clostridium*. Dans les tissus et sur les muqueuses de l’homme, ces bactéries se présentent sous **formes végétatives métaboliquement très actives**. Chaque fois que les conditions environnementales s’éloignent de celles qui règnent dans les tissus, et notamment en cas de carences nutritionnelles ou dans un environnement dont la température, le pH ou la pression osmotique ne sont pas régulés, cette forme végétative subit le processus de sporulation.

La bactérie voit son métabolisme se ralentir et acquiert des structures spécifiques qui lui confèrent des propriétés de résistance exceptionnelles à la chaleur (plusieurs minutes à 120°C), aux antiseptiques, aux radiations ionisantes, aux variations de pH.

La spore intra-bactérienne est libérée dans le milieu extérieur et y survit des années.

Quand les conditions environnementales redeviennent favorables, le processus inverse s’effectue, c’est la germination.



Deux propriétés :

→**THERMORESISTANCE** : 10mn à 70 à 80°

Les méthodes de stérilisation doivent tenir compte de cette propriété → Une bonne stérilisation doit supprimer les spores.

Attention lors de la stérilisation par la chaleur

- Stérilisation par la chaleur humide : (autoclave) 120°C pendant 15 à 20 mn
- Stérilisation par la chaleur sèche : (poupinel) 170°C pendant 1 heure

→**Résistances aux agents physiques et chimiques**

UV, antiseptique, antibiotiques

Sur la bactérie vivante, la spore apparaît comme un espace clair, réfringent, ovoïde limité par un contour régulier. Elle peut déformer ou non le corps microbien

Position dans la cellule:

centrale (*Bacillus*) | Subterminale Clostridium | Terminale Plectridium

NOMENCLATURE et CLASSIFICATION des BACTERIES

Objectifs éducationnels

1. Préciser les bases de la classification bactérienne et de la nomenclature
2. Définir les différents éléments du règne bactérien.

1- CLASSIFICATION BACTERIENNE OU TAXONOMIE

La classification bactérienne vise à réunir les bactéries en groupes apparentés ou taxons en se basant sur des critères définis.

Elle est basée sur :

* des caractères phénotypiques : morphologiques, biochimiques, culturaux…
* et surtout des caractères génotypiques : l'hybridation ADN/ADN, le séquençage de l'ADN codant l'ARNr 16S et le GC %.

Les bactéries, comme êtres vivants, sont classées selon une classification hiérarchique : règne, domaine, phylum, classe, ordre, famille, genre et espèce.

L'élément de base dans cette classification est **l'espèce bactérienne**.

On regroupe dans la **même espèce** les bactéries ayant une homologie moléculaire au niveau de leurs génomes $\Rightarrow$:

➔Hybridation ADN/ADN $\geq$ 70 % et ΔTm $\leq$ 5°C

Technique d'hybridation :

- Dénaturation de l'ADN (chauffage $\Rightarrow$ 2 brins monocaténaires)
- Renaturation (refroidissement) (renaturation est basée sur l'homologie des séquences des 2 brins : complémentarité des bases)

Tm : Température de demi-dénaturation : température à laquelle la moitié de l'ADN est sous forme simple brin.

ΔTm : la différence de Tm de l'homoduplex (A/A) et l'hétéroduplex (A/B)

Plusieurs espèces proches (% de similitude des séquences nucléotidiques de l'ADN au moins de 30 %) constituent un genre, plusieurs genres une famille et plusieurs familles un ordre.

➔Séquençage de l'ADNr 16S

Si séquences d'ADNr 16S ont moins de 97 % de similitude ⇒espèces différentes

La réciproque n'est pas valable

➔GC % = $\frac{G + C}{A + T + C + G}$

G = guanine
C = cytosine
A = adénine
T = tyrosine

A l'intérieur d'une même espèce la différence de GC % ne dépasse pas 5 mol %.

Mais 2 souches présentant le même GC % n'appartiennent pas obligatoirement à la même espèce

Le GC % sert surtout de caractère d'exclusion et n'est réellement plus utilisé que pour la définition d'un nouveau genre : quand différence > 10 mol %

Division infraspécifique

A l'intérieur de l'espèce, on reconnaît les souches qui peuvent être divisées en

- biotypes oubiovars(marqueurs biochimiques)
- sérotypes ou sérovars (marqueurs antigéniques)
- lysotypes ou phagovars (sensibilité aux phages)
- pathotypes ou pathovars (différence dans le pouvoir pathogène / ECEP, ETEC…)
- génotypes (différence au niveau de fragments de gènes)

2- NOMENCLATURE

C'est l'ensemble des règles qui permettent de définir et de choisir les noms aux groupes taxonomiques.

La nomenclature internationale officielle est définie par le « Comité International de Nomenclature bactérienne ».

Les noms scientifiques sont donnés sous forme latine.

En pratique courante, genre et espèce suffisent pour caractériser uns souche bactérienne. L'initiale du nom du genre s'écrit en caractère majuscule, le reste de ce nom s'écrit en minuscules comme le nom de l'espèce. Ces 2 noms doivent être imprimés en caractères italiques.

Le nom d'une bactérie comprend 2 termes :

Le 1er terme : nom du genre (1ère lettre en majuscule)

Le 2ème terme : nom de l'espèce (1ère lettre en minuscule)

Exp : *Staphylococcus aureus*

EVALUATION FORMATIVE

1 /- L'élément de base dans la classification des bactéries est :

A. le genre
B. la famille
C. l'espèce
D. le biotype
E. le sérotype

NUTRITION ET CROISSANCE BACTERIENNE

Objectifs éducationnels

1. Préciser les besoins nutritifs des bactéries
2. Définir les types trophiques des bactéries
3. Définir la croissance bactérienne et décrire sa cinétique
4. Décrire les moyens permettant la mesure de la croissance bactérienne
5. Décrire les facteurs influençant la croissance bactérienne et les corréler avec des applications pratiques
6. Définir les différents types de milieux de culture

1- NUTRITION

Les bactéries, pour se maintenir, croître et se reproduire, doivent trouver dans leur environnement des nutriments.

Au repos, la bactérie consomme de l'énergie et des nutriments pour réparer ses structures. Cette consommation est très faible, mais peut être accrue en présence de toxiques, comme les antibiotiques.

La quantité d'énergie et de nutriments nécessaires à la croissance est plus grande

Les besoins nutritionnels sont essentiellement de 2 types : besoins énergétiques et besoins constitutifs.

1.1. Besoins énergétiques

Les bactéries peuvent se procurer de l'énergie de deux manières :

* à partir de la lumière : bactérie **phototrophe**
* à partir de réactions d'oxydo-réduction : bactérie **chimiotrophe**

Les bactéries d'intérêt médicalsont chimiotrophes et utilisent le plus souvent le **glucose** commesubstrat énergétique.

1.2. Besoins constitutifs élémentaires

Ce sont les matériaux élémentaires nécessaires pour la synthèse des molécules et macromolélcules devant constituer les nouvelles bactéries.

a) **<u>Les composés organiques</u>** (C, O, H, N) constituent la majorité des éléments de structure de la bactérie et sont nécessaires en quantité importante.

* Eau : 80 % du poids bactérien elle fournit l'hydrogène et l'oxygène ;
Il y'a arrêt de croissance bactérienne si la teneur en eau libre est faible.

* Source de carbone : elle peut être :

. Minérale : $C0_2$ de l'air $\rightarrow$ bactéries **autotrophes**
. Organique : ++ $\rightarrow$ bactéries **hétérotrophes**

Il s'agit dans la plupart des cas d'un sucre comme le glucose, parfois un acide gras, alcool... Les bactéries d'intérêt médical appartiennent à ce groupe (bactéries **hétérotrophes)**.

* Source d'azote : constituée par des composés inorganiques (ammoniac, nitrates) ou par des sources organiques (groupements aminés des composés organiques).

b) **<u>Ions minéraux</u>** : sont nécessaires en quantité moins importante que les composés organiques. Il s'agit le plus souvent du soufre et phosphore mais aussi du fer, Calcium, Magnésium...D'autres métaux à l'état de traces (oligoéléments) sont indispensables (Co, Cuivre, Zinc, Mn, Mo).

1.3. Besoins constitutifs spécifiques

En complément de ces éléments de base (aliments constitutifs élémentaires et besoins énergétiques), certaines bactéries exigent un ou plusieurs composés organiques indispensables à la vie et à la croissance de la bactérie et qu'elles sont incapables de synthétiser : facteurs de croissance. Ces facteurs de croissance varient selon les bactéries : acides aminés (*Salmonella Typhi* vis à vis du tryptophane), bases nucléiques, vitamines...

L'exigence en facteurs de croissance permet de définir 2 types de bactéries :

* Bactéries **prototrophes** : capables de synthétiser leurs constituants et de croître avec des aliments constitutifs élémentaires et avec une seule source de carbone et d'énergie. Ex : *Escherichia coli*

* Bactéries **auxotrophes** : exigent, en plus des besoins élémentaires, un ou plusieurs facteurs de croissance qu'elles sont incapables de synthétiser.

Ex : *Haemophilus influenzae* (exigeant en facteur V ou NAD et facteur X ou hémine)

2. CROISSANCE

2.1. Définition

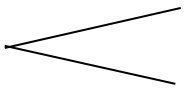
C'est l'accroissement ordonné et coordonné de tous les constituants de la bactérie jusqu'à une dimension limite, qui normalement conduit à la division cellulaire par scission binaire. Une bactérie donne deux cellules filles. Il en résulte l'augmentation de la masse bactérienne et une augmentation du nombre de cellules.

La croissance bactérienne se manifeste en :

. Milieu liquide par l'apparition d'un trouble

. Milieu solide par l'apparition d'une colonie (amas visible : 10^3 à 10^6 bactéries)

2.2. Mesure de la croissance bactérienne

2 techniques  mesure du nombre des bactéries

mesure de la masse bactérienne

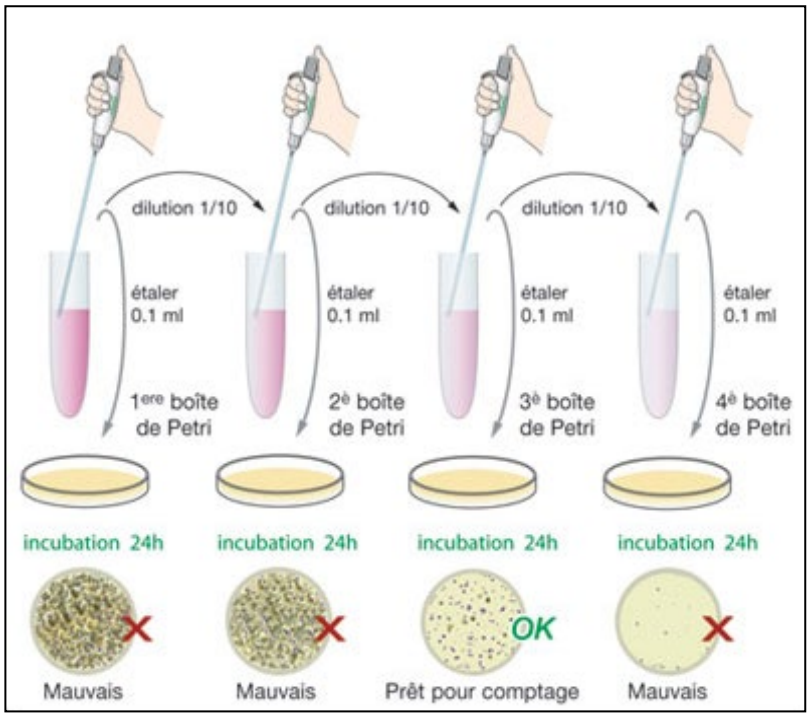
- **Numération des bactéries**

Elle peut se pratiquer par :

a)<u>microscope optique</u> ou compteur de particules : Numération des cellules mortes et vivantes

b)<u>Numération des bactéries vivantes après culture</u> (Méthode des dilutions)

Le résultat est exprimé en nombre de bactéries par ml. On suppose dans ce cas que chaque colonie est issue d'une bactérie, mais en réalité, chaquecolonie provient de plusieurs bactéries en chainettes ou en amas et on parle d'unité formant colonie (UFC).



Application : dénombrement bactérien en unité formant colonie (UFC) pour le diagnostic de certaines maladies infectieuses. Exp : examen cytobactériologique des urines (ECBU) pour le diagnostic des infections urinaires.

➢ Mesure de la masse bactérienne

a) Détermination du poids sec : centrifuger la suspension bactérienne puis faire sécher puis peser. C'est une technique lourde. Pas de distinction entre cellules mortes ou vivantes.

b) Mesure de la densité optique (DO) : mesurer le trouble qui apparaît dans un milieu liquide. La technique consiste à envoyer un faisceau lumineux d'intensité I_0 à travers une solution et à mesurer l'intensité de la lumière transmise I et en déduire l'intensité de la lumière absorbée ou densité optique.

D.O = K x m (m : la masse)

Cette méthode indirecte est la méthode la plus utilisée car elle est rapide et simple, mais elle est incapable de mesurer des concentrations < 10^6 bactéries/ml. Pas de distinction entre cellules mortes ou vivantes.

c) Mesure des constituants cellulaires tels que l'azote bactérien ou mieux l'ATP.

d) Mesure de l'activité cellulaire : elle peut se faire par :

* la mesure d'une variation physicochimique du milieu tel que la mesure du pH :

Au cours de la croissance, il se produit une acidification du milieu.

La mesure de l'acidité totale est classiquement utilisée en industrie laitière pour apprécier la qualité bactériologique du lait. L'acidité est d'autant plus grande que la concentration bactérienne est élevée.

Elle permet aussi de suivre la cinétique de fermentation du lait par des bactéries acidifiantes (*Lactobacillus*, *Streptococcus*) utilisées en fabrication du yaourt

* la mesure de la consommation d'un substrat présent dans le milieu tel que consommation d'O2

* la mesure de la production d'une molécule excrétée par la cellule telle que la production de CO2.

Application à certains automates d'hémocultures.

2.3. Paramètres de la croissance

2.3.1- Temps de génération θ

C'est le temps mis par une bactérie pour se diviser. C'est aussi le temps que met une population bactérienne pour doubler (temps de doublement). Le temps de génération est spécifique à chaque espèce et il dépend des conditions environnementales. Il conditionne le temps d'incubation nécessaire pour avoir des colonies.

θ = 20 mn pour *Escherichia coli*

θ = 24 h pour *Mycobacterium tuberculosis*

In vivo, la croissance bactérienne n'est pas similaire à celle observée in vitro. Elle est beaucoup plus ralentie.

Sous l'action des antibiotiques, la croissance peut se ralentir (θ élevée : bactériostase partielle) ou s'arrêter totalement (bactériostase)

2.3.2- Taux de croissance : μ

C'est le nombre de divisions par unité de temps : l'heure

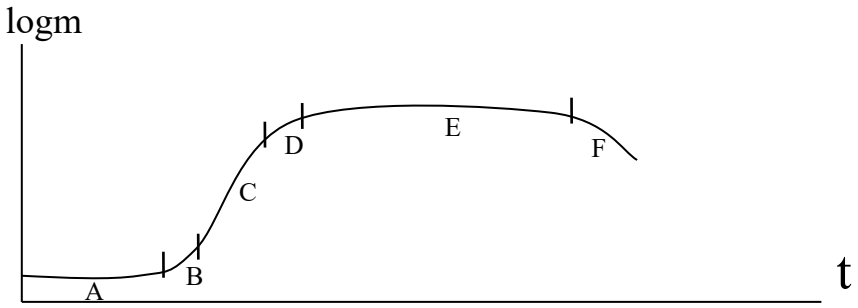
$\mu = 1/\theta$

μ = 3 pour *E. coli*

μ = 0,04 pour *M. tuberculosis*

2.4. Courbe de croissance dans un milieu liquide non renouvelé

Elle décrit les variations de la masse bactérienne en fonction du temps



A : **phase de latence** : c'est la phase d'adaptation des cellules à leur nouvel environnement par exemple synthèse de nouvelles enzymes permettant de consommer de nouveaux composés nutritifs. Le taux de croissance est nul ($\mu = 0$).

B : **phase d'accélération** : augmentation de la vitesse de croissance.

C : **phase de croissance exponentielle** ++ (18 h)

Les bactéries ont produit les enzymes. Elles sont toutes dans le même état physiologique. Le taux de croissance atteint un maximum (μ = valeur constante et maximale).

D : **phase de ralentissement** : il se produit un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. La vitesse de croissance régresse.

E : **phase stationnaire** : les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent. Le nombre de cellules ne varie plus. Le taux de croissance devient nul ($\mu = 0$).

F : **phase de déclin** : toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il ya accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une lyse bactérienne.

2.5. Facteurs physicochimiques influençant la croissance bactérienne

Les nutriments constitutifs ou énergétiques nécessaires à la bactérie pour son développement doivent être fournis dans certaines conditions d'environnement. Ces facteurs physicochimiques peuvent empêcher, inhiber ou favoriser la croissance bactérienne.

1- Température

Le taux de croissance bactérienne est nul en dessous d'une température seuil (température minimale de croissance). Au dessus d'une température seuil

(température maximale de croissance) il devient nul puis décroît (mortalité ou bactéricidie). Le taux de croissance est maximal à l'optimum thermique de la bactérie.

On peut diviser les bactéries en plusieurs types, selon les températures minimales et maximales de croissance :

* Bactéries **mésophiles** 20° <θ° < 40°(θ° optimale : 37°)

La majorité des bactéries d'intérêt médical appartiennent à ce groupe

* Bactéries **thermophiles** 45° <θ° < 60°

Exp : certaines espèces du genre *Clostridium* se multiplient à 55°C

* Bactéries **psychrophiles**θ° < 20°

Yersinia enterocolitica :multiplication à 4°C

Listeria monocytogenes : multiplication en dessous de 4°

2- pH

Les bactéries pathogènes pour l'homme : pH optima 7 - 7,5 (les bactéries sont sensibles à l'acidité. Celle ci est un moyen de défense de l'organisme).

Mais il y'a des exceptions :

Vibrions : multiplication à pH alcalin (pH = 9)

Lactobacillus : multiplication à pH acide (pH = 6)

3- Pression osmotique

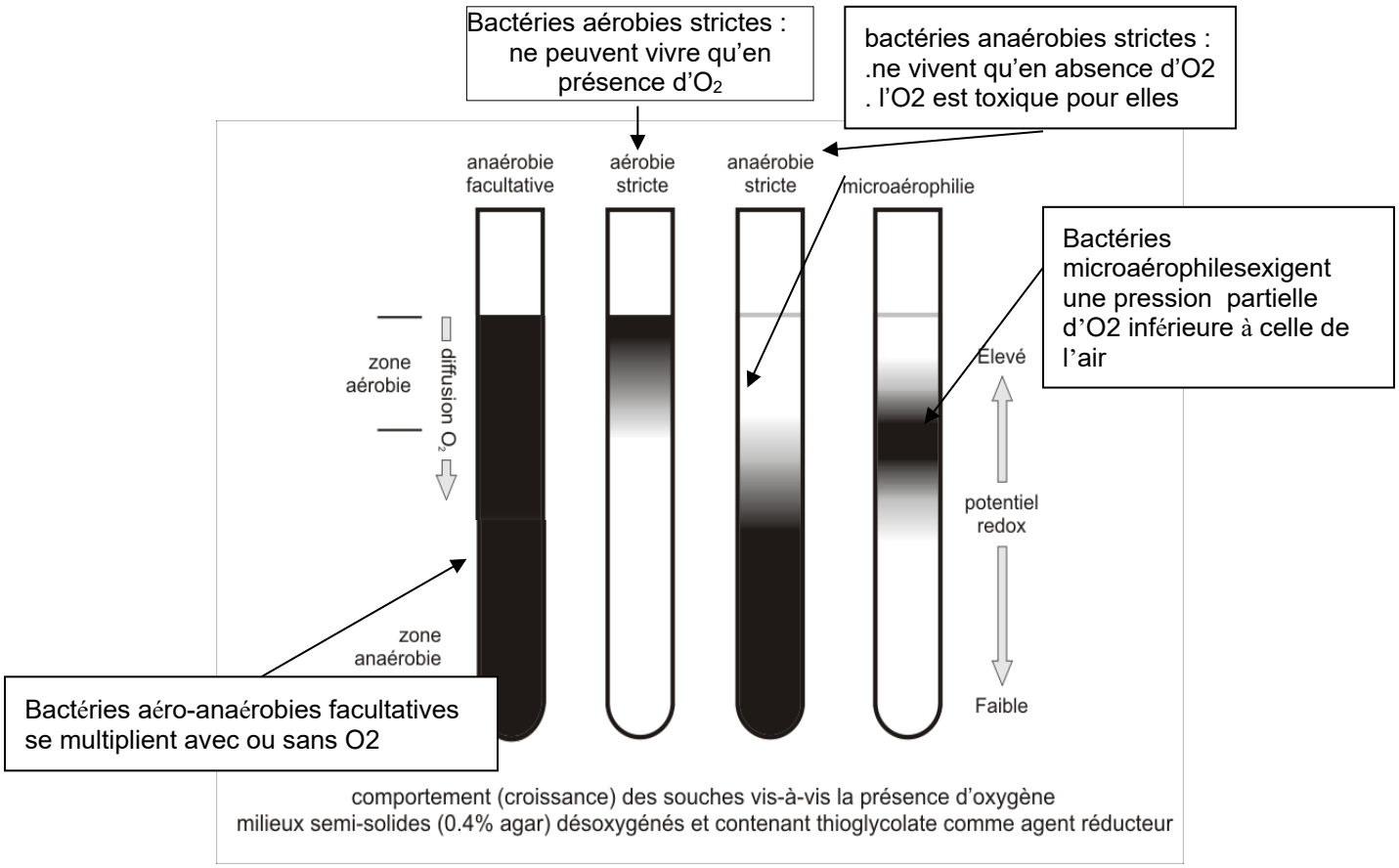
Les bactéries sont tolérantes vis à vis des variations des concentrations ioniques, mais l'augmentation du[Nacl] peut inhiber la croissance des bactéries à l'exception desstaphylocoques } halotolérants

Vibrions

Donc, le milieu sélectif pour les staphylocoques : milieu de Chapman (milieu hypersalé)

Certaines bactéries sont halophiles : exigent une [Nacl]> 2 % (bactéries de la flore marine).

4- Pression partielle d'oxygène



2.6. Aspects particuliers de la croissance dans les biofilms

Dans leur habitat naturel, les bactéries vivent le plus souvent attachées à des supports : mode de vie sessile. Ces bactéries tendent à s'associer en formant des microcolonies et à se recouvrir des polymères organiques. Elles forment un biofilm par exemple dans le lit d'une rivière, sur les muqueuses (intestinale, buccale), sur les dents (plaque dentaire), sur des prothèses ou matériels (valve cardiaque, cathéter). Dans ces biofilms, les bactéries sont souvent plus protégées vis à vis des moyens de défense de l'organisme et des antibiotiques.

3. MILIEUX DE CULTURE

La culture des bactéries se fait sur des milieux qui contiennent les substances nutritives indispensables à leur croissance. Un milieu de culture est constitué d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, bases nucléïques, sucres…) de sels minéraux et de vitamines. Ces milieux de culture doivent être stérilisés : autoclavage (120°C pendant 20 mn). Les caractérisations des milieux de culture varient et on peut les classer selon différents critères :

1- Selon l'aspect

→ Milieu liquide : bouillon

→Milieu solide : milieu gélosé : il contient de l'agar-agar qui a la particularité de se solidifier à 40

2- Selon l'utilisation

a) <u>Milieux de base</u> (gélose nutritive) : ne poussent sur ces milieux que les bactéries n'ayant aucune exigence nutritive.

b) <u>Milieux enrichis</u> : milieux enrichis de produits biologiques (gélose au sang, gélose ascite) ou de facteurs polyvitaminés (gélose chocolat additionnée d'isovitalex)

c) <u>Milieux sélectifs</u>: ce sont des milieux qui permettent la croissance d'une ou certaines espèce(s) bactérienne(s) en inhibant le développement des autres espèces.

Les agents sélectifs peuvent être :

** **un antibiotique** :

- Acide nalidixique sélectif pour les streptocoques

-Le mélange VCN (vancomycine-colimycine-nystatine) utilisé comme inhibiteur sélectif dans un milieu proposé pour la culture des gonocoques.

** **une substance organique :** bile, thiosulfate

** quelque fois c'est la **concentration d'une substance** qui donne l'effet inhibiteur : tel est le cas des milieux hypertoniques (Nacl) comme le milieu de Chapman utilisé pour les staphylocoques

** **pH alcalin :** le milieu alcalin est sélectif pour le vibrion cholérique.

EVALUATION FORMATIVE

1 /- Donner l'intervalle du pH optimum pour la croissance des bactéries d'intérêt médical. Citer deux espèces bactériennes faisant exception

2/- Un milieu de culture sélectif peut être préparé par l'adjonction :

A. d'un antibiotique
B. du sang
C. d'une substance organique telle que la bile
D. d'une quantité élevée de NaCl
E. de facteurs polyvitaminés

BACTERIOPHAGES

Objectifséducationnels

1. Définir les bactériophages et décrire leur structure
2. Décrire les différents types de relation bactérie-bactériophage et préciser leurs applications en pratique

---

I- Définition

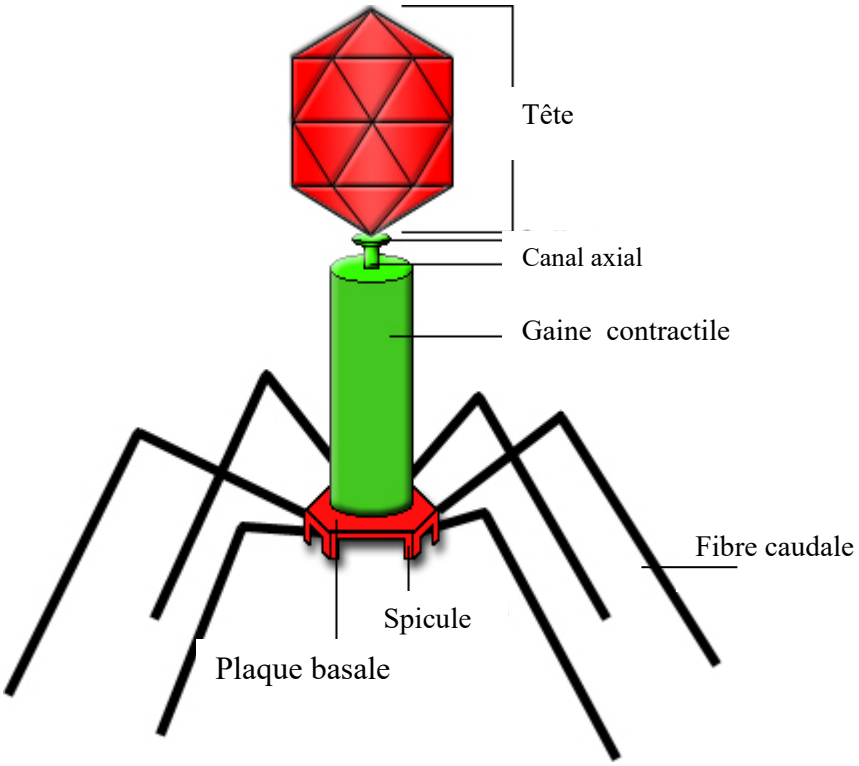
Virus des bactéries

⇓

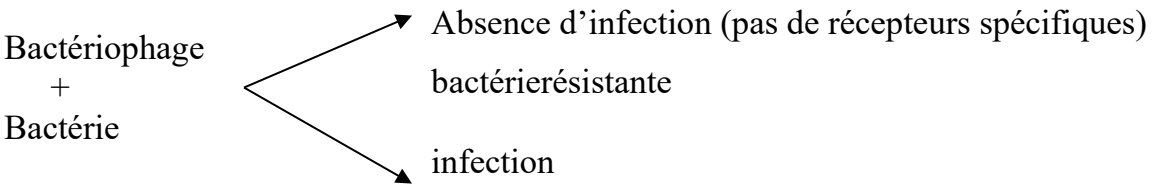
caractères d'un virus

II- Morphologie

- une tête polyédrique : capside + acide nucléique
- une queue : - canal axial rigide
  - gaine contractile
- une plaque basale



III- Physiologie



Etapes de l'infection

- ✓ Adsorption
- ✓ Injection du génome phagique à l'intérieur de la bactérie

Infection lytique — Infection non lytique ou lysogénie

➔**<u>Infection lytique</u>** : (bactériophages virulents)

Acide nucléique phagique

Réplication — Transcription et traduction en protéines

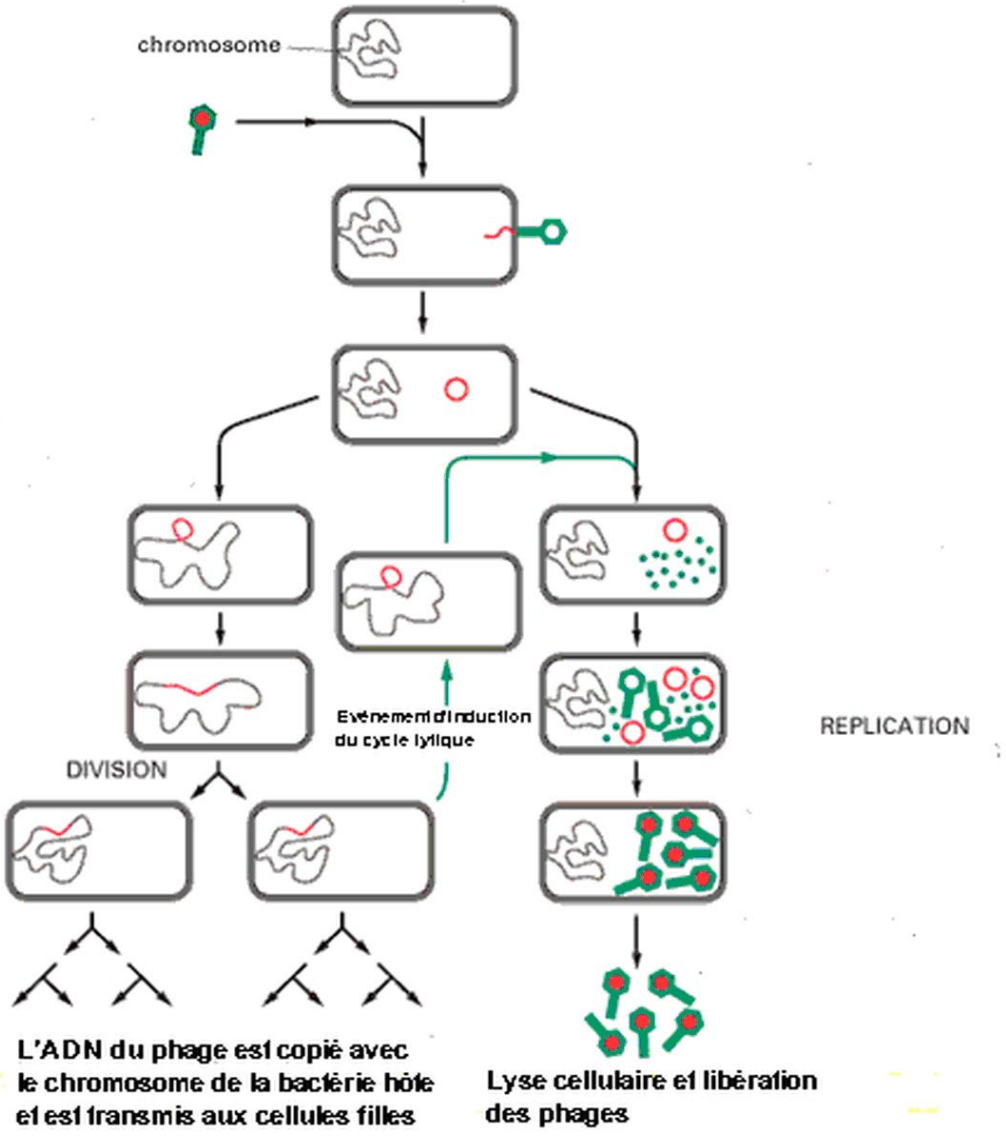
⇓

nouvelles particules phagiques et lyse de la bactérie

➔**<u>Infection non lytique</u> <u>= lysogénie</u>** (bactériophages tempérés)

- ➢Intégration du génome phagique dans le chromosome bactérien (**prophage**) ⇒ bactérie **lysogène**
- ➢ Certains facteurs physico-chimiques induisent le cycle de multiplication phagique

Modalités d'interaction phage-bactérie



lysogénie **Cycle lytique**

IV- Conversion lysogénique

Acquisition par une bactérie lysogène d'un caractère particulier déterminé par le génome du prophage

Exp : ➢ production de la toxine diphtérique par *Corynebacterium diphtériae* lysogénisé

➢production de la toxine erythrogène par le Streptocoque du groupe A lysogénisé⇒ Scarlatine

V- Applications médicales pratiques

1- Traitement des maladies infectieuses (phagothérapie)

Résultats décevants

Regain d'interêt

2- Lysotypie

une espèce bactérienne

plusieurslysotypes
récepteurs spécifiques sur la paroi)

3- Transfert de matériel génétique

Transduction

GENETIQUE BACTERIENNE

Objectifs éducationnels

1. Préciser les différents supports de l'information génétique chez les bactéries
2. Définir les différents types de variations génétiques
3. Reconnaître les applications des variations génétiques bactériennes en clinique.
4. Expliquer le support génétique de la diffusion de la résistance aux antibiotiques

C'est l'étude des gènes bactériens et leurs variations. La génétique bactérienne est la science de la variation. Elle a été d'un apport considérable dans le domaine de la biologie et dans la compréhension des phénomènes de l'hérédité.

1. Les supports de l'information génétique chez les bactéries

1.1. Le chromosome

Le matériel génétique des Procaryotes est généralement constitué que d'une seule molécule d'ADN double-brin et circulaire : le chromosome bactérien. Sa longueur est de l'ordre du mm (1,3 mm chez *E. coli*, 1000 fois plus long que la bactérie) : le chromosome bactérien est donc fortement compacté à l'intérieur de la cellule.

Les bactéries possèdent un génome dont la taille est comprise entre $7{,}0.10^5$ paires de bases chez *Mycoplasma* et 10^9 paires de bases chez les mycobactéries(4,6.106 pb chez *E. coli*), soit entre 3000 et 4000 gènes. L'information codante est continue (les gènes sont transcrits d'un seul tenant : il n'y a pas d'introns, les ARN messagers ne sont pas épissés comme chez les Eucaryotes).

Avant de se diviser, une bactérie doit répliquer son chromosome bactérien afin d'en transmettre une copie à chacune de ses cellules filles.

Le chromosome bactérien peut comporter de l'ADN « étranger » :

- des **transposons** (éléments génétiques mobiles) ;

-des**prophages** (ADN provenant de virus bactériens appelés «bactériophages»).

1.2. Les plasmides

Ce sont de petites molécules d'ADN double-brin circulaireextrachromosomiques de quelques µm (103 à 105 pb environ). Leur réplication est autonome et indépendante du chromosome : ils possèdent leur propre origine de réplication (« ORI-R»). Il en existe une grande variété et une bactérie peut en héberger plusieurs sortes.

Les plasmides portent un nombre réduit de gènes (<30) qui confèrent aux bactéries hôtes des propriétés non essentielles à leur survie :

- gènes codant pour les pili sexuels et autres facteurs de conjugaison (facteur F de fertilité);
- gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds ;
- gènes de virulence (toxines [exp:*Escherichia coli* responsable de diarrhée], sidérophores…) ;
- gènes codant pour des bactériocines.
- gènes codant pour un caractère métabolique

Les plasmides sont transmis verticalement dans le clone bactérien, au fur et à mesure des divisions. Ils peuvent aussi être transmis horizontalement, même entre bactéries d'espèces différentes, au cours du processus de conjugaison.

2. Variabilité génétique des bactéries

La variabilité génétique des bactéries apportée par les **mutations** ou le **transfert de matériel génétique** est complètement différente de la variabilité phénotypique, laquelle est une adaptation rapide de l'ensemble de la population bactérienne ayant le même génotype à diverses conditions extérieures. Ces variations phénotypiques sont induites, réversibles, non transmissibles à la descendance.

2.1. La mutation

2.1.1-Définition

C'est un changement spontané ou provoqué, héréditaire (stable), brusque (discontinu), rare et indépendant dans les caractères d'une bactérie et qui est lié à une modification du génome bactérien.

Les mutations spontanées apparaissent occasionnellement dans n'importe quelle

cellule : elles résultent d'erreurs dans la réplication de l'ADN ou de lésions de l'ADN. Ces mutations peuvent s'accompagner ou non de modifications phénotypiques.

Les erreurs commises lors de la réplication sont souvent corrigées par différents mécanismes (réparation par excision-resynthèse, réparation par recombinaison…). Le taux de mutation peut être nettement augmenté en utilisant des agents mutagènes (substances ou rayonnements qui altèrent directement l'ADN ou interfèrent avec ses mécanismes de réparation).

2.1.2. Conséquences phénotypiques des mutations

Les mutations sont soit silencieuses, soit elles modifient le phénotype du micro-organisme mutant.

- **Les mutations morphologiques** changent la forme ou la couleur de la colonie issued'une cellule mutante (exemple : variation type « S » type « R » due à une mutationaffectant un gène de synthèse du LPS). Ces mutations peuvent également affecter les flagelles (bactérie devient immobile), la spore (chez *B. anthracis*, il existe des mutants asporogènes), perte de la capsule
- Certains mutants peuvent acquérir une **résistance à un antibiotique** (exemple :mutation au niveau de l'ADN gyrase cible d'action des quinolones entraine une résistance à ces derniers antibiotiques)
- Les **mutations biochimiques** inactivent fréquemment les voies de biosynthèse et engendrent des **mutants auxotrophes**, incapables de se développer sur un milieu. Il existe également des mutations réverses, restaurant le type sauvage prototrophe (application : test de Ames oumutatest).

2.1.3. Caractères de la mutation

2.1.3.1. Rareté

✓**Taux de mutation** : C'est la probabilité pour une bactérie de muter pour un caractère défini pendant une unité de temps donnée, généralement le temps de génération (10^{-5} – 10^{-10}).

Il peut être augmenté par l'action de certains agents physiques ou chimiques : agents mutagènes.

Bien que rares, les mutants peuvent être sélectionnés au sein d'une population bactérienne, soit **spontanément** (sélection relative) parce qu'ils possèdent un avantage physiologique (ex : vitesse de croissance, taux de létalité, pathogénicité...), soit **artificiellement** (sélection absolue) parce qu'ils sont par exemple résistants à un antibiotique qui « révèle » la mutation (agent sélecteur).

A l'échelle des populations bactériennes : phénomène plus fréquent.

2.1.3.2. Spontanéité

Non induite par l'agent sélecteur.

Lederberg a mis en évidence le caractère spontané de la mutation en cultivant par réplique velours les bactéries sur un milieu contenant un antibiotique (un moyen sélectif), où il avait démontré que la mutation précède la sélection (Figure 1).

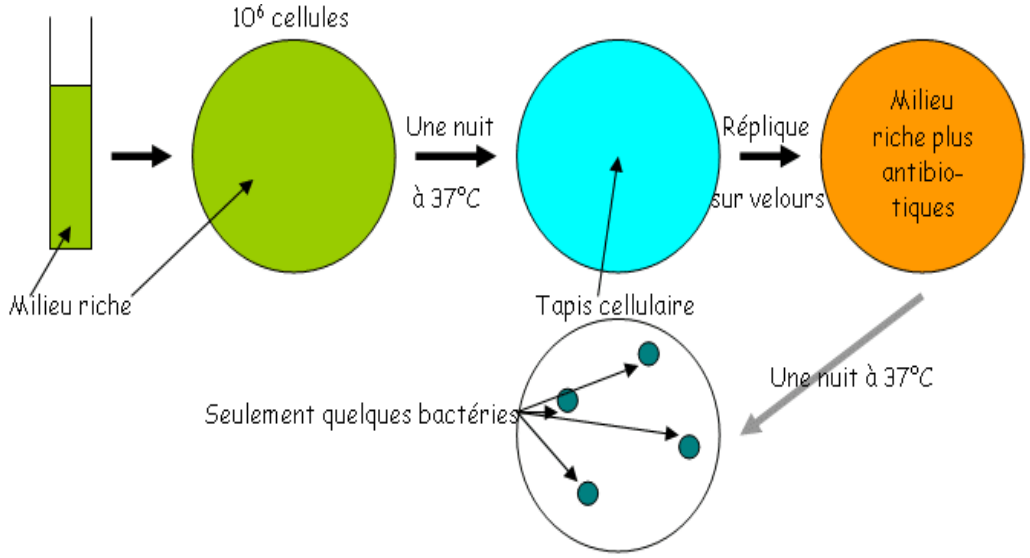


Figure 1 : test de Lederberg

2.1.3.3. Discontinuité

Caractère brusque : en une seule étape (loi du tout ou rien).

2.1.3.4. Indépendance

La mutation affecte un seul caractère et ne modifie pas la probabilité de mutation d'un autre caractère.

2.1.3.5. Stabilité

La mutation est stable et transmise à la descendance.

2.1.4. Applications

2.1.4.1.Association d'antibiotiques pour éviter la sélection de mutants résistants.

Les mutations sont indépendantes. Il en résulte que la probabilité qu'une bactérie mute pour 2 caractères en même temps est égale au produit des 2 probabilités individuelles.

Ex : tuberculose, Infection pulmonaire à bacille de Koch : 10^8BK : si la probabilité de mutation de *Mycobacteriumtuberculosis* à la streptomycine :10^{-5} et à l'isoniazide : 10^{-7}, la probabilité de la mutation double aux 2 anti-tuberculeux à la fois (= résistance double) sera = 10^{-12}.

2.1.4.2. Mutatest

Détection de substances mutagènes dans les médicaments et les contrôles alimentaires.

Le test de Ames (Mutatest) est un test de mutagenèse proprement dit. Il consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de Salmonella typhimuriumHis$^-$.Le test d'Ames permet de quantifier l'induction de mutations réverses His$^+$ par les substances testées.

2.1.4.3. Mutants déréprimés$\Rightarrow$ produits en quantité abondante

2.1.4.4. Vaccination : Mutants avirulents (délétion d'un gène de virulence)

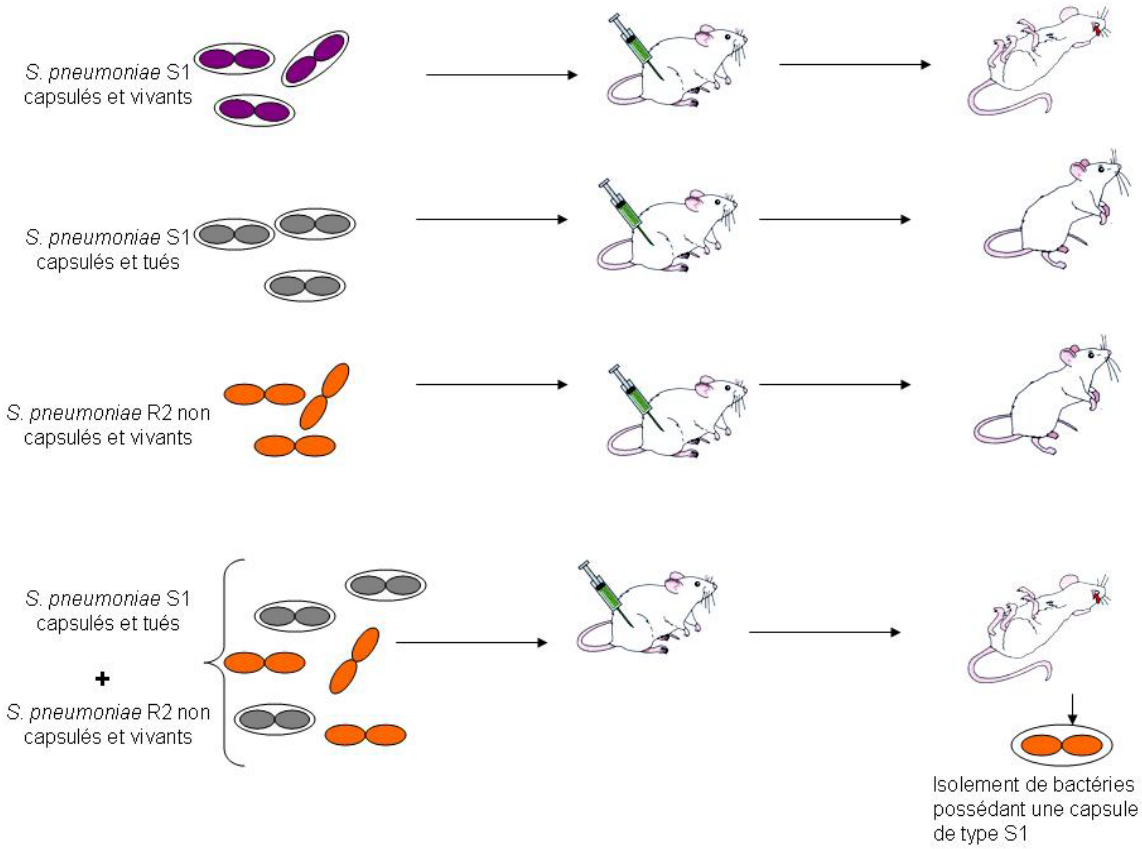
2.2. Transferts de matériel génétique

2.2.1. Transformation

2.2.1.1. Définition

C'est le transfert de fragment **d'ADN libre** d'une bactérie donatrice suivi de son intégration par recombinaison homologue dans le génome d'une bactérie réceptrice dite en **état de compétence** ou compétente.

2.2.1.2. Historique : description en 1928 par Griffith



Exprérience de Griffith

2.2.1.3. Types

➢ **Transformation Naturelle** : Certaines espèces bactériennes, comme le **pneumocoque**, ***Neisseria***, et ***Haemophilus***, sont naturellement compétentes. L'état de compétence est un phénomène transitoire, qui intervient chez certaines bactéries pendant 15 à 30 minutes à la fin de la phase exponentielle de croissance. Les pneumocoques, par exemple, sécrètent une protéine appelée facteur de compétence qui active la production d'autres protéines requises pour la transformation. Pour que la recombinaison homologue ait lieu entre l'ADN exogène introduit et l'ADN endogène de la bactérie compétente, il devrait y avoir une homologie entre les séquences des ADN. C'est pourquoi l'ADN exogène libre introduit doit provenir de bactéries de la même espèce ou d'une espèce bactérienne très proche libérant leur ADN après leur **mort**.

➢ **Transformation Artificielle** : La transformation artificielle en laboratoire fait appel à des agents chimiques rendant la membrane bactérienne perméable à l'ADN (chlorure de calcium) ou à des traitements thermiques ou électriques

(électroporation). Elle peut intéresser plusieurs espèces bactériennes.

2.2.1.4. Applications

- Résistance du pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*) à la pénicilline G

Le pneumocoque est une bactérie qui est très sensible aux pénicillines. 30 à 60% ont des résistances acquises aux pénicillines et aux bêta-lactamines grâce au phénomène de transformation. Dans la flore oro-pharyngée, le pneumocoque reçoit notamment de l'ADN du*Streptococcusmitis* mort. Cela crée un nouveau gène que l'on appelle gène mosaïque qui est en partie constitué du fragment d'ADN initial sauvage et du fragment d'ADN provenant de la cellule morte. Ce nouveau gène va coder pour une nouvelle protéine : quand il s'agit des PLP, on obtient des PLP hybrides qui ont pour caractéristique de moins bien lier les pénicillines. La bactérie sera donc moins sensible à l'action des antibiotiques (mécanisme de résistance).

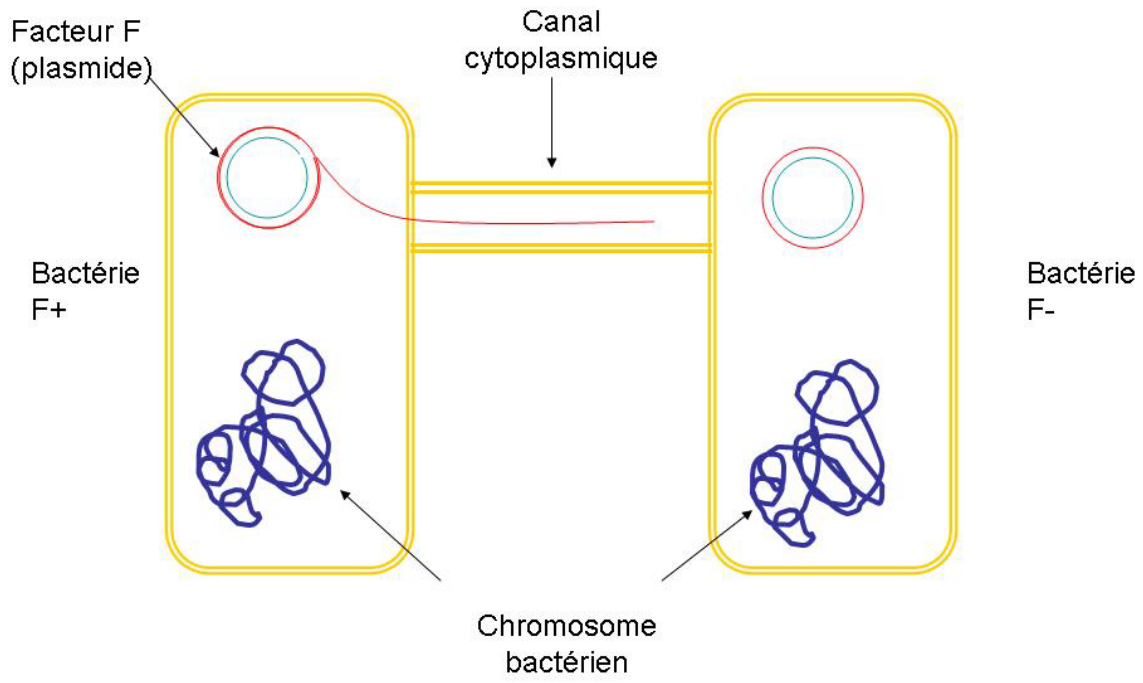
- Génie génétique : faire pénétrer artificiellement des gènes d'origine humaine ou animale dans une bactérie $\Rightarrow$ protéine en grande quantité.

2.2.2. Conjugaison

2.2.2.1. Définition :

Processus qui implique un **transfert réplicatif unidirectionnel** d'ADN (plasmide) d'une cellule donatrice (mâle) à une cellule réceptrice (femelle), par un mécanisme requérant un contact spécifique étroit par un pont cytoplasmique.

Le facteur F, ou facteur de fertilité, est un plasmide conjugatif portant les gènes nécessaires à l'attachement cellulaire et au transfert de matériel génétique. Certains de ces gènes sont impliqués dans la formation des pili sexuels, responsables de la première étape de la conjugaison, rapprochement des 2 cellules et établissement du pont cytoplasmique, suivie de la 2ème étape, transfert réplicatif de l'ADN plasmidique. La souche donneuse est dite « F + » car elle possède ce facteur F. La souche receveuse est dite « F – » car elle ne le possède pas (et ne produitdonc pas de pili sexuels).



Conjugaison bactérienne

http://www.ac-creteil.fr/biotechnologies/doc_microbio bacterialconjugation.htm

2.2.2.2. Intérêt : c'est le mode habituel de transfert des plasmides surtout chez les bactéries à Gram négatif

Auto-transfert plasmide conjugatif

Coexistence d'un autre plasmide conjugatif

Plasmides et conjugaison : principal moyen de la diffusion des gènes de résistance au antibiotiques

2.2.3. Transfert par des bactériophages

2.2.3.1. La transduction

➢**Définition** : C'est le transfert d'un fragment d'ADN par l'intermédiaire d'un **bactériophage**

Deux types : transduction localisée

transduction généralisée

➢**Transduction localisée :**

- Elle concerne les **bactériophages tempérés** intégrés dans l'ADN d'une bactérie.
- Après Induction et passage à un cycle lytique → un fragment de l'ADN bactérien est libéré avec le génome phagique.
- Lors de l'infection d'une nouvelle bactérie, il y a intégration de l'ADN phagique avec le fragment d'ADN de la bactérie donatrice.

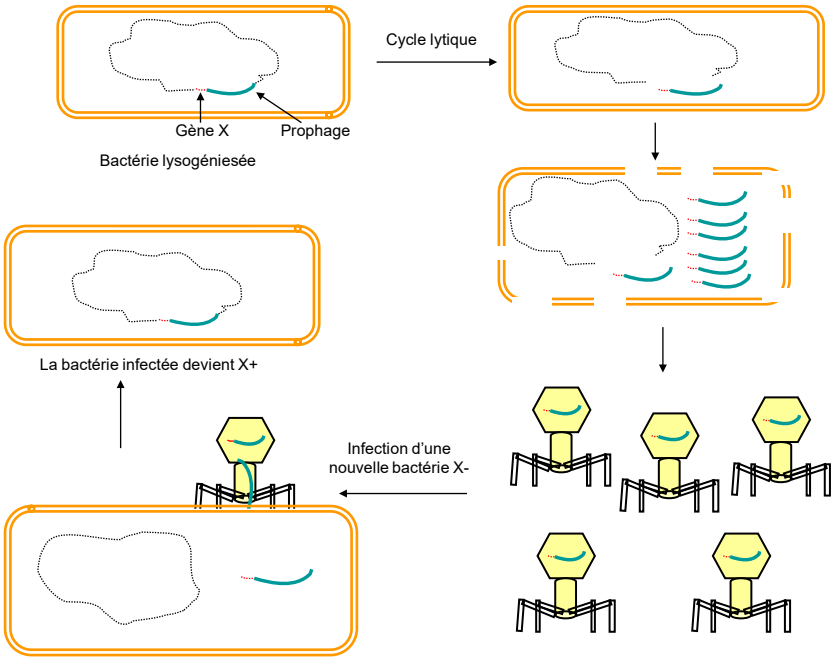


Schéma de la transduction localisée

➢**Transduction généralisée** :

- Elle concerne les **bactériophages virulents**
- Au cours d'une infection lytique et lors de l'encapsidation, il y a incorporation d'un fragment d'ADN bactérien (donatrice) au lieu de l'ADN phagique

- Lors de l'infection d'une autre bactérie (bactérie réceptrice) par ce phage portant de l'ADN de la bactérie donatrice, on peut avoir soit :

Transduction complète
intégration de l'ADN par recombinaison

Transduction abortive
pas d'intégration et le fragment est perdu

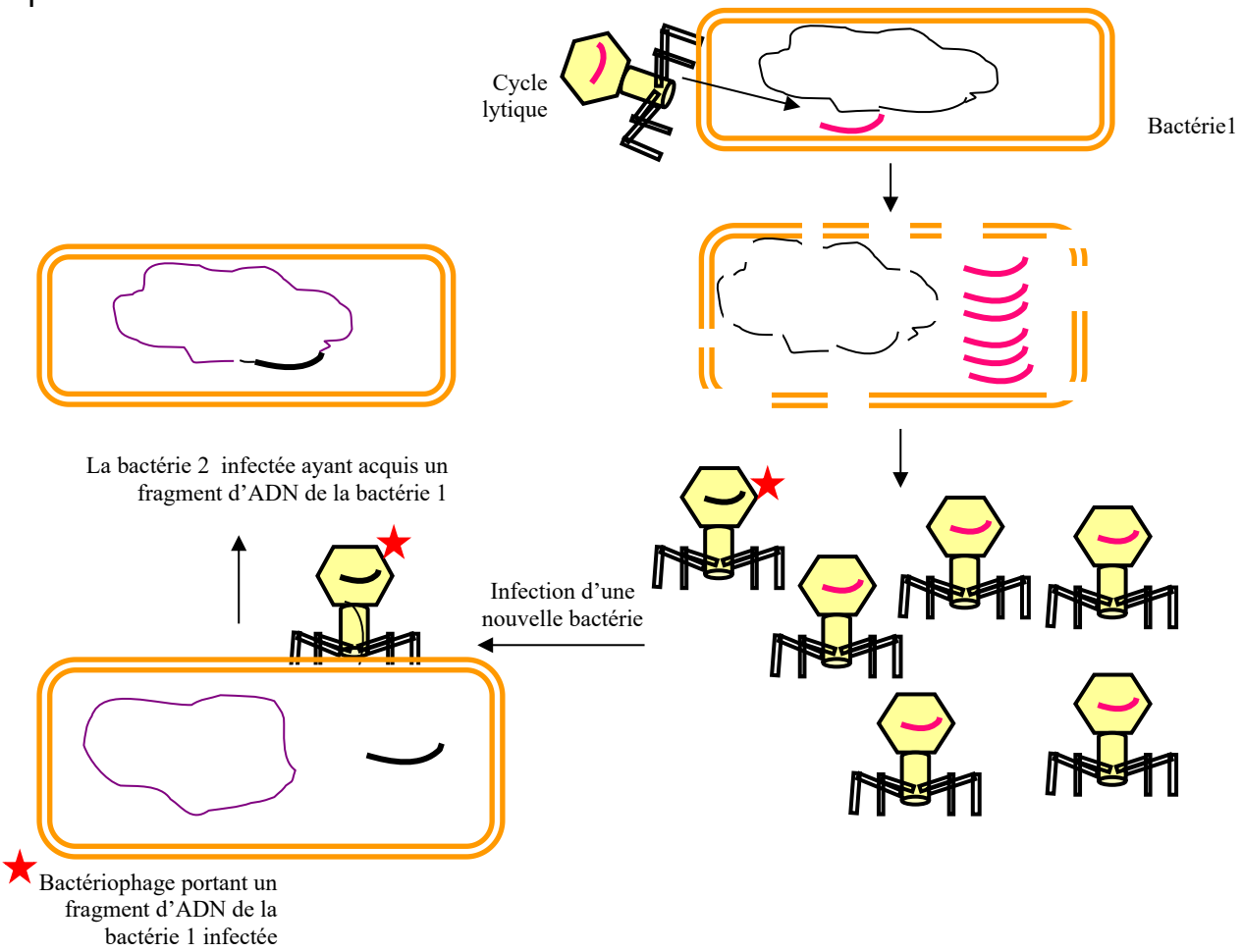


Schéma de la transduction généralisée complète

➢**Applications**

Rôle dans le transfert de certains gènes de résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus.*

2.2.4. Transposition

C'est un mécanisme permettant la **mobilisation de fragments d'ADN** au sein d'un même génome ou entre deux supports génétiques différents (ex : entre un plasmide et un chromosome) caractérisé par des structures génétiques

particulières : les **transposons**. Les transposons (ou éléments transposables) n'ont pas d'origine de réplication. Les plus simples sont de courtes séquences de 750 à 1600 pb, contenant uniquement le gène de la transposase encadré par des **séquences d'insertion** (séquences « répétées inversées »). La **transposase** est l'enzyme nécessaire à la transposition : elle permet l'insertion du transposon dans l'ADN cible. Les transposons composites contiennent **des gènes supplémentaires** (gènes de résistance, codant pour des toxines…). Ces transposons sont des éléments **très mobiles**et jouent un rôle très important dans la diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques.

INTERACTION HOTE BACTERIE

Objectifs éducationnels

1.Définir les principaux types de relation hôte-bactérie
2.Comprendre les mécanismes de la pathogénicité bactérienne
3.Connaitre les principaux facteurs de la virulence bactérienne
4.Décrire les étapes du déroulement de la maladie infectieuse

---

La plupart des organismes vivants sur terre sont des microbes, en particulier des bactéries. Parmi les plusieurs millions d'espèces, la fraction de bactéries nuisibles pour l'homme est minime (seuls quelques milliers).

La majorité des bactéries vivent en milieu aquatique ou terrestre, où elles assurent principalement la décomposition des substances organiques mortes.

Dans la nature et avec la diversité des êtres vivants, il est à noter qu'aucun organisme ne vit isolé. Il y a toujours des interactions entres les différents organismes.

1-RELATION HOTE-BACTERIE

Dès sa naissance, l'homme est en contact étroit et permanent avec les bactéries.

- Différents types de relation s'établissent entre l'homme et les bactéries

  Saprophytisme
  Commensalisme
  } = Relations paisibles

  Pathogénicité : =relation conflictuelle

1.1. Commensalisme (latin : compagnon de table)

Le commensalisme : type d'association non obligatoire entre 2 organismes, l'un bénéficiant et l'autre n'étant pas gêné.

Alors que les tissus internes (cerveau, sang, LCR, …) sont stériles, les êtres humains, comme tous les animaux, hébergent un grand nombre de bactéries à la surface de la peau et de toutes les muqueuses qui sont en contact avec le monde extérieur (bouche, tube digestif, nez…).

On dénombre 10^{14} bactéries par être humain alors qu'il n'est composé que de 10^{13} cellules.

La présence de ces bactéries est totalement physiologique et elles n'entrainent généralement pas de maladie. Ces bactéries constituent ce qu'on appelle : ***Flore bactérienne commensale***.

Les bactéries de la flore commensale étant les constituants majeurs du microbiote, flore bactérienne commensale et microbiote sont souvent confondus.

Le microbiote intestinal est le plus étudié. On a démontré qu'il varie selon les individus et dans le temps.

Le microbiote intestinal joue un rôle important chez l'homme :

- digestion de certaines molécules
- contribution dans la synthèse de la vitamine K qui est importante pour la coagulation
- effet de barrière à l'infection

Le microbiote constitue un moyen de défense biologique contre l'infection par :

- Compétition nutritive
- Compétition au niveau des récepteurs cellulaires de l'hôte
- Synthèse de bactériocines
- Synthèse d'anticorps naturels

Une antibiothérapie à large spectre peut entrainer un déséquilibre du microbiote.

Le microbiote intestinal serait impliqué dans : obésité, diabète, allergie et maladies inflammatoires.

1.2. Saprophytisme

C'est une relation de totale indépendance entre bactérie et hôte.

Ce sont des bactéries se développant dans la nature au dépens des végétaux et déchets organiques (en Grec : se nourrit de matière en décomposition).

Ces bactéries sont retrouvées transitoirement chez l'homme ou les animaux. Elles n'entraînent pas de trouble (sauf exceptions). Leur présence dans un organisme humain est le plus souvent transitoire sauf si présence d'une immunodépression ou déstabilisation du microbiote par une antibiothérapie,etc.

1.3. Pathogénicité

La pathogénicité ou pouvoir pathogène d'une bactérie est sa capacité à provoquer une maladie.

On distingue 2 types de bactéries pathogènes :

- Bactérie pathogène spécifique ou stricte (BPS)
- Bactérie pathogène opportuniste

➢ Bactérie pathogène spécifique (BPS)

Bactérie dont la présence chez l'homme **sain** réceptif provoque une maladie **spécifique** cliniquement définie (apparente ou silencieuse)

Exp : *Salmonella typhi* → fièvre typhoïde

Mycobacterium tuberculosis→ tuberculose

➢ Bactérie pathogène opportuniste (BPO)

Dans un organisme sain, elle n'entraine pas de maladie. Elle est pathogène si :

* modification de son environnement : antibiothérapie, existence dans un site normalement stérile à la suite d'une blessure cutanée ou perforation intestinale

* Diminution des défenses de l'hôte

Les bactéries pathogènes opportunistes appartiennent aux flores commensales et aux bactéries saprophytes en transit.

Exp : Staphylocoque

Pseudomonas

Actuellement, l'épidémiologie est caractérisée par une diminution de la fréquence des bactéries pathogènes spécifiques et une augmentation de la fréquence des bactéries pathogènes opportunistes.

2- PATHOGENICITE BACTERIENNE

L'aboutissement de la relation hôte-bactérie pathogène dépend de 3 facteurs :

- Le nombre de bactéries infectantes
- La virulence de la bactérie
- Les défenses de l'hôte

La virulence (du Latin poison) fait référence au degré ou à l'intensité de la pathogénicité.

La pathogénicité est le reflet chez l'hôte de la virulence. Elle dépend non seulement de la virulence mais aussi de l'état de défense de l'hôte.

La pathogénicité est une notion qualitative.

La virulence est une notion quantitative. Elle se mesure expérimentalement en déterminant la DI50 dose infectieuse 50 et la DL50 dose létale 50 : quantité des bactéries qui infecte ou tue 50 % des animaux.

La virulence d'une bactérie diminue par des passages successifs sur milieu artificiel. C'est le principe de certains vaccins.

La virulence augmente par des passages répétés d'animal à animal. C'est le cas des épidémies.

La conservation dans les laboratoires de la virulence des bactéries se fait par congélation à -70°C, ou dans l'azote liquide ou par lyophilisation.

2.1. Facteurs bactériens de virulence

Ce sont des propriétés qui participent à la virulence d'une souche pathogène et qui sont absentes des souches non pathogènes de la même espèce.

Ces facteurs de virulence sont codés par des gènes plasmidiques ou chromosomiques.

Ces gènes de virulence sont parfois de grands segments d'ADN appelés « ilots de pathogénicité »

Selon les facteurs de virulence, on peut diviser les bactéries en :

- Bactéries non invasives : bactéries qui restent localisées à la surface des muqueuses.

  La maladie est généralement due à la sécrétion d'une toxine.
- Bactéries invasives : bactéries capables d'envahir les tissus.

2.1.1. Facteurs d'envahissement

L'envahissement d'un organisme par une bactérie se déroule en plusieurs étapes :

- Nécessité de contact étroit avec l'hôte : adhésion

- Invasion des muqueuses
- Echappement aux défenses de l'hôte
- Agression de l'hôte

a) Colonisation de la peau ou d'une muqueuse :

La 1ère étape du processus infectieux est l'attachement de la bactérie au niveau de la peau ou d'une muqueuse, ce qui lui permet de résister aux mécanismes naturels de défense.

Les adhésines sont des structures superficielles bactériennes qui vont **spécifiquement** reconnaitre des récepteurs chez l'hôte.

Exemple d'adhésines : les fimbriae ou pili communs qui reconnaissent des glycoprotéines présentes à la surface des cellules.

Les récepteurs chez l'hôte sont, soit des récepteurs cellulaires, soit des éléments du tissu conjonctif ou de la matrice extracellulaire, par exemple la fibronectine.

Cas particulier : la colonisation des biomatériaux : cathéter, sonde, prothèse avec formation d'un biofilm ce qui peut entrainer des infections difficiles à traiter nécessitant l'ablation du matériel.

b) Invasion

Certaines bactéries peuvent s'introduire activement dans les muqueuses et l'épithélium de l'hôte par un processus d'internalisation ou par la sécrétion d'enzymes qui altèrent les tissus : collagénase, hyaluronidase ce qui facilite la propagation des bactéries.

c) Résistance aux défenses de l'hôte

Les agents pathogènes ont acquis des mécanismes qui leur permettent d'éviter les moyens de défense naturels et les moyens de défense spécifiques.

***Résistance au système du complément**

- La capsule bactérienne joue un rôle protecteur contre l'activation du complément
- Modification du LPS : Prévention de la formation du complexe d'attaque membranaire (Bactéries à Gram négatif dites « sérum résistantes»)

***Résistance à la phagocytose**

- Eviter l'ingestion : grâce à la capsule c'est le cas des bactéries dites à multiplication extra cellulaire. Exp pneumocoque

- Synthèse de toxine lysant les phagocytes comme la leucocidine de *Staphylococcus aureus*

- Survie et multiplication à l'intérieur des cellules phagocytaires (bactéries à multiplication intra cellulaire facultative) :

. Survie dans le phagosome et inhibition de la fusion avec le lysosome

Exp : *Mycobacterium tuberculosis*

. Lyse de la vacuole phagocytaire et libération dans le cytoplasme

Exp : *Listeria*

***Résistance à la réponse anticorps :**

-Variation des antigènes de surface : exp : antigène flagellaire chez *Salmonella* , pili chez le gonocoque

-Variabilité antigénique **:**

La protéine M du streptocoque A a plus de 70 variants. Les anticorps anti M sont protecteurs mais spécifiques de type.

Le pneumocoque : plus de 90 sérotypes capsulaires

- Destruction des IgA protégeant les muqueuses grâce à des IgA protéases.
- Phénomène de camouflage : certaines capsules sont composées de molécules qui miment des antigènes de l'hôte entrainant une certaine tolérance par le système immunitaire

  Exp : Acide sialique de la capsule du méningocoque du groupe B qui mime l'acide sialiqueprésent sur certaines cellules humaines.

d) Agression de l'hôte

Lésions chez hôte variables suivant différentes maladies infectieuses

– Causées par bactérie elle-même et/ou liées à réaction inflammatoire :

Sepsis +++

– Lésions au site d'entrée ou à distance

– Gravité fonction du tissu infecté: +++ si organes vitaux touchés

– Lésions liées à lyse cellulaire ou à des modifications du fonctionnement cellulaire (Ex: Action de toxines bactériennes)

2.1.2. Toxinogenèse

Toxines sont des substances chimiques macromoléculaires antigéniques d'origine microbienne et toxiques.

On distingue 2 types : les exotoxines et les endotoxines

2.1.2.1. Les exotoxines

Elles sont libérées dans le milieu extérieur pendant la croissance bactérienne.
Ce sont des protéines produites le plus souvent par des bactéries à Gram (+) et parfois par des bactéries à Gram (-).

Exp : Toxine tétanique
Toxine diphtérique
Toxine cholérique

Les bactéries produisant ce type de toxine restent localisées au niveau de la porte d'entrée sans envahissement de l'organisme. Leur pouvoir pathogène est lié à la sécrétion de la toxine.
La toxine produite par la bactérie dans l'organisme peut diffuser par voie sanguine ou par voie nerveuse et donner des lésions à distance de la porte d'entrée.
EXp : le tétanos et la diphtérie
Parfois, la toxine est produite par la bactérie hors l'organisme par exemple dans un aliment. L'ingestion de l'aliment contenant la toxine (sans la bactérie) entraine la maladie. C'est ce qu'on appelle intoxication. C'est le cas du botulisme.
Les gènes codant les toxines protéiques sont parfois portés par des plasmides ou des prophages. La perte de ces gènes entraine la perte du pouvoir pathogène de la bactérie. Exp : *Corynebacteriumdiphteriae* qui ne donne la diphtérie que s'il est toxinogène donc lysogénisé par un phage.

Propriétés des exotoxines protéiques

* Thermolabiles (détruites à 60°)
* Toxicité très élevée (actives à faibles concentrations)
* Spécificité d'action : toxines neurotropes, entérotoxines, hémolysine
* Détoxification par le formol : sous l'action du formol, l'exotoxine perd son pouvoir toxique avec conservation du pouvoir antigénique. C'est l'anatoxine.

L'anatoxine est utilisée dans la vaccination.

* Pouvoir antigénique : l'exotoxine est antigénique et entraine la synthèse d'anticorps antitoxine. Ces anticorps sont utilisés dans l'immunisation passive appelée encore sérothérapie (ces notions seront développées ultérieurement dans « moyens de prévention des maladies infectieuses »).

2.1.2.2. Les endotoxines

Les endotoxines sont des composants de la paroi bactérienne qui peuvent être libérés en cas de lyse bactérienne ou lors de la multiplication. L'endotoxine type est le lipopolysaccharide (LPS) de la paroi des bactéries à Gram (-).

Propriétés des LPS

* Thermostabilité
* Résistance à l'action du formol
* Pas de spécificité d'action
  - Leucopénie
  - Action pyrogène
  - Troubles vasculaires allant de l'hypotension artérielle à l'état de choc. Le choc endotoxinique est une complication sévère des septicémies à BGN.

  Ces propriétés toxiques sont portées par la fraction lipidique appelée lipide A.
* Pouvoir antigénique : faible

  La fraction polysaccharidique est responsable de la spécificité antigénique : Ag somatique O.

2.2. Rôle de l'hôte

La virulence d'une bactérie est influencée par :

- L'espèce animale : certains animaux sont sensibles et d'autres sont réfractaires à une bactérie donnée
- Les individus à l'intérieur d'une même espèce. La vulnérabilité de l'individu à l'infection bactérienne dépend de plusieurs facteurs dont l'âge, l'état nutritionnel, les tares et l'état immunitaire…D'où la notion de Terrain
- Des facteurs liés à l'environnement (froid, chaleur).

3. DEVELOPPEMENT DE LA MALADIE INFECTIEUSE

3.1. Physiopathologie

1- Contamination → porte d'entrée

a) Peau : Brèche : infection à *Staphylococcus aureus*

Aiguilles : Tétanos

Insectes : peste

b) Muqueuse respiratoire : Poussières, Gouttelettes de Pflüge :Tuberculose

c) Muqueuse digestive : fièvre thyphoïde

d) Muqueuse urogénitale : IST/ syphilis

e) Porte d'entrée iatrogène

Chirurgie

Matériel étranger

f) Transplancentaire : listeriose materno-fœtale

2- Phase de prolifération

a) Infection localisée

b) Infection généralisée

Septicémie

Métastases septiques

3- Terminaison

* Mort

* Guérison :* Totale (disparition de la bactérie

*** Apparente, partielle** (persistance bactérienne silencieuse)

3.2. Clinique

1-Incubation : asymptomatique

Durée dépend de : *Quantité de bactéries

*Vitesse de multiplication de la bactérie

2-phase d'invasion: apparition des premiers signes cliniques (signes généraux)

3- phase d'état:signes cliniques à leurs maximum (signes spécifiques)

4- Terminaison

3.3. Les grands types d'infection

➢**Infections dues à des germes invasifs**

Pathogénicité liée au pouvoir de multiplication bactérienne

Exp : Infection à pneumocoque

➢**Infections dues à des bactéries produisant une toxine protéique**

* Toxi-infection : la bactérie se multiplie au niveau de la porte d'entrée et la toxine diffuse

Exp : Tétanos, Diphtérie

* Intoxication : Ingestion de toxine

Exp : botulisme

➢**Infections par invasion et pouvoir toxique combinés**

Les plus fréquentes

Exp : staphylocoques, BGN

EVALUATION FORMATIVE

1 /- Les bactéries pathogènes opportunistes sont :

A. Des bactéries saprophytes
B. Des bactéries commensales
C. Responsables de maladie chez le sujet immunodéprimé
D. Responsables d'une maladie spécifique cliniquement définie
E. Exemple : *Salmonella Typhi*

2 /- Le lipopolysaccharide est :

A. une endotoxine
B. Produit uniquement par les bactéries à Gram négatif
C. Utilisé pour la préparation de certains vaccins
D. Responsable du choc toxique lors d'une septicémie à bacilles à Gram négatif
E. Fortement antigénique

Caractères différentiels entre les exotoxines et les endotoxines

	TOXINES	
	Exotoxines (Protéiques)	Endotoxines (LPS)
Bactéries surtout en cause	Gram (+)	Gram (-)
Présence dans milieu de culture	Oui (en général)	Non
Degré de toxicité	Très élevé	Moindre
Thermolabilité	Oui	Non
Syndrome clinique	Propre à chaque toxine	Unique
Pouvoir antigénique	Très élevé	Faible
Détoxification par formol	Oui (ANATOXINE)	Non
Obtention de sérum antitoxine	Oui	Non

Principales exotoxines protéiques et leurs caractéristiques

Bactérie	Maladie	Caractéristiques
C. diphteriae	diphtérie	Nécrosante, bloque la synthèse protéique
C. botulinum	botulisme	Neurotoxique ; empêche la production d'acéthylcholine
C. tetani	tétanos	Neurotoxique
Cl. perfringens	Gangrène gazeuse	Cytolytique, lécithinase
B. anthracis	charbon	Nécrosante et léthale, produit un choc
St. aureus (certaines souches)	Intoxication alimentaire	Neurotrope, entérotoxique ; provoque diarrhée la respiration, vomissement
Y. pestis	peste	Inhibe la respiration cellulaire
Sh. dysenteriae	dysenterie	Neurotoxique

Toxicité comparée de quelques substances (d'après Van Heymingen)

Substances toxiques	Indice de toxicité
Strychnine	1
Arsenic	0.03
Crotactine (venin de serpent)	10
Ricine (poison végétal)	20
Endotoxines bactériennes	0.1
Exotoxine diphtérique	2000
Exotoxine dysentérique	700 000
Exotoxine tétanique	700 000
Exotoxine botulinique	700 000

Toxicité de quelques toxines chez la souris

Substances toxiques	Indice de toxicité
Botulinique A	0,6 à 2,4 . 10-5
Botulinique B	3,3 à 2,5 . 10-5
Botulinique E	8 . 10-4
Diphtérique	6,25. 10-2
S. dysenteriae	8,7 . 10-4
Toxine alpha de *Cl. Perfringens*	3,3 .10-2
Toxine alpha du staphylocoque	1
Streptolysine O	0,5
Tétanique	5 à 2,2 .10-5

4-VIROLOGIE GENERALE

STRUCTURE, NOMENCLATURE et CLASSIFICATION des VIRUS

Objectifs éducationnels

1. Enumérer et expliquer les caractères généraux des virus.
2. Nommer et décrire les différents éléments structuraux des virus ainsi que leurs rôles respectifs.
3. Expliquer l'importance, dans la transmission et le pouvoir infectieux des virus, de la présence ou l'absence d'une enveloppe.
4. Citer les critères pris en compte dans la classification des virus et comprendre leur nomenclature.

---

1. HISTORIQUE

Les maladies virales sont connues depuis des milliers d'années. Mais ce n'est qu'à la fin du 19ème siècle que le premier pas vers la découverte des virus a été franchi et ceci grâce au développement du **filtre de Chamberland**. Charles Chamberland est un assistant de Louis Pasteur qui cherchait à améliorer la qualité bactériologique de l'eau distribuée à Paris. Il inventa en 1884 un filtre de porcelaine = filtre de Chamberland qui retient toutes les bactéries et permet de les éliminer d'une solution liquide.

En 1892, Ivanovski utilisa ce filtre et découvrit qu'une maladie touchant les feuilles de tabac (la mosaïque du tabac) pouvait être transmise à partir de filtrats de plantes malades et inoculés à une plante saine. Pour lui, l'effet est imputable à une spore ou à une toxine bactérienne.

Ce n'est que 6 ans plus tard que l'on comprendra les conséquences de cette expérience. En effet, en 1898, Beijerinck répéta l'expérimentation en inoculant un troisième filtrat à partir du second et ainsi de suite. Il démontra ainsi que l'agent causal n'est pas une toxine mais un **nouveau type d'agent infectieux ultrafiltrable** qu'il désigna par "*contagium vivum fluidum*". Rapidement, de nombreux agents ultrafiltrables seront découverts chez les animaux puis les humains et même chez les bactéries (bactériophages).

Ce n'est qu'en 1939 qu'on visualisera pour la première fois des virus avec l'invention du microscope électronique.

Après 1948, l'isolement et la caractérisation de nouveaux virus a été possible grâce à la mise au point des techniques de culture cellulaire et à partir de 1985, grâce à la mise au point de la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction). Depuis, de nouveaux virus sont découverts régulièrement.

2. CARACTERES GENERAUX DES VIRUS

Les virus ont les 5 caractères généraux suivants :

1) ce sont des **agents infectieux très petits**, de 10 à 350 nm de taille d'où sont :

* *invisibles au microscope optique*, observables uniquement en microscopie électronique.
* *ultrafiltrables*: capables de traverser les filtres imperméables aux bactéries.

2) chaque virus ne possède qu'un seul type d'acide nucléique qui peut être soit de l'ADN soit de l'ARN. Les deux molécules ne coexistent pas dans la même particule virale.

3) les virus sont doués d'un **parasitisme intracellulaire obligatoire** : les virus n'ont pas de ribosomes ni système enzymatique ou énergétique pour assurer leur propre réplication. Ils ne peuvent donc se reproduire qu'au sein d'une cellule vivante pour utiliser la machinerie cellulaire qu'ils détournent à leur profit. Ces cellules peuvent être une bactérie, des cellules d'algues, de plantes, d'animaux ou humaines. Ceci implique que les virus sont incapables de se reproduire sur des milieux inertes comme un milieu de culture bactériologique et leur isolement passe forcément par leur inoculation à un système biologique ***vivant***.

4) les virus **se reproduisent à partir de leur matériel génétique** par **réplication** de leur génome dans la cellule qu'ils infectent. Ils n'augmentent pas de taille et ne se divisent pas.

5) Les virus ont une **structure acellulaire** qui les oppose aux autres êtres vivants à structure cellulaire, procaryote (bactéries) ou eucaryote. On parle de **particule virale**.

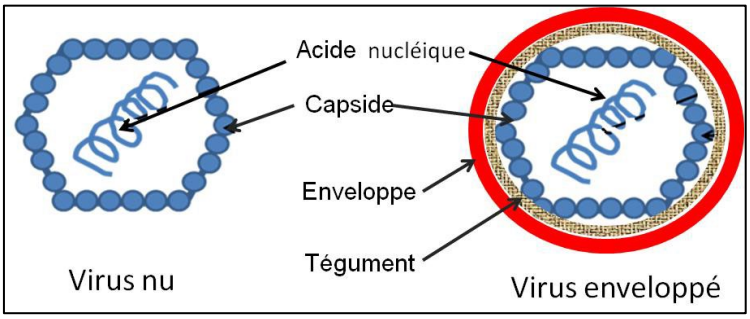
3. STRUCTURE DE LA PARTICULE VIRALE

La particule virale mature ou virion a une structure très simple qui se limite à deux ou trois éléments.

En effet, toute particule virale est constituée de deux éléments constants : un **acide nucléique (**ou **génome)** et une **capside**. L'ensemble forme la **Nucléocapside**. Les virus dont la structure est limitée à ces deux éléments sont dits des ***virus nus***.

Chez d'autres virus, la nucléocapside est entourée d'une structure périphérique supplémentaire appelée **enveloppe** et ces virus sont dits alors ***enveloppés***.

Chez certains virus, une structure intermédiaire appelée **tégument** peut venir s'interposer entre la nucléocapside et l'enveloppe renforçant la structure de la particule virale.



3-1-Génome viral

- Il contient la totalité de l'information génétique du virus.
- Cette information sert de support à la réplication du virus et à la production de nouvelles particules virales. Mais, ce génome ne contient **aucun gène viral codant pour les protéines du métabolisme intermédiaire** (sauf quelques exceptions) d'où la nécessité pour les virus d'utiliser, pour leur réplication, la machinerie cellulaire de la cellule infectée. En effet, la taille du génome viral est réduite variant de 2,6 Kilobases (Kb) pour les plus petits virus à 375 Kb pour les plus gros d'entre eux. Il en découle des capacités de codage limitées de cette information génétique.
- Le génome viral est constitué soit d'**ADN** soit d'**ARN**.

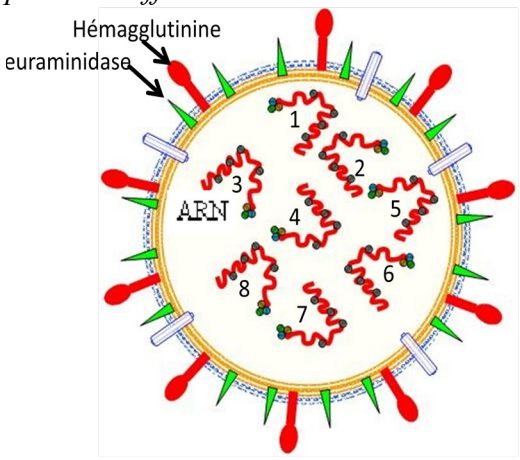
*Chez les virus à ADN, l'ADN est le plus souvent <u>bicaténaire et linéaire</u> et présente la structure classique en double hélice (double chaine complémentaire et anti-parallèle) à quelques exceptions comme :

L'ADN du virus de l'hépatite B qui est partiellement bicaténaire et circulaire

L'ADN du Parvovirus qui est monocaténaire et linéaire

*Chez les virus à ARN, l'ARN est généralement <u>monocaténaire et linéaire</u>, à quelques exceptions comme :

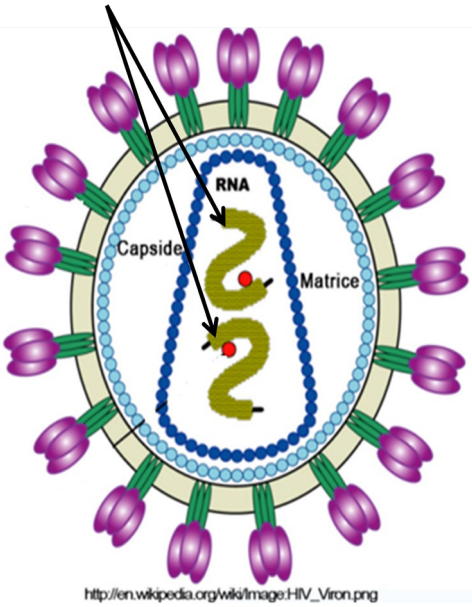
*Le virus de la grippe dont l'ARN est **segmenté**, constitué de 7 à 8 segments monocaténaires codant chacun pour une protéine différente.*



Segments d'ARN et protéines correspondantes :

Segment 1: PB2	Segment 2 : PB1
Segment 3 : PA	Segment 4 : hémagglutinine
Segment 5 : NP	Segment 6 : neuraminidase
Segment 7 : matrice	Segment 8 : NS1/2

*L'ARN du VIH est constitué de deux molécules d'ARN **monocaténaires linéaires identiques** et non complémentaires.*



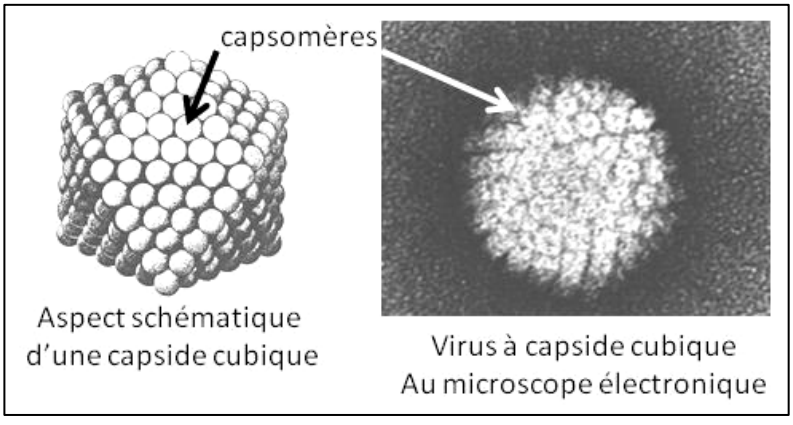
Le génome des virus à ADN est en général très stable, subit peu de variations génétiques.

Au contraire, **les virus à ARN sont génétiquement instables** et sont donc l'objet de variations génétiques leur permettant de s'adapter aux modifications de leur environnement (voir module : « variations génétiques des virus »).

3-2- Capside *(capsa= mot grec signifiant boîte)*

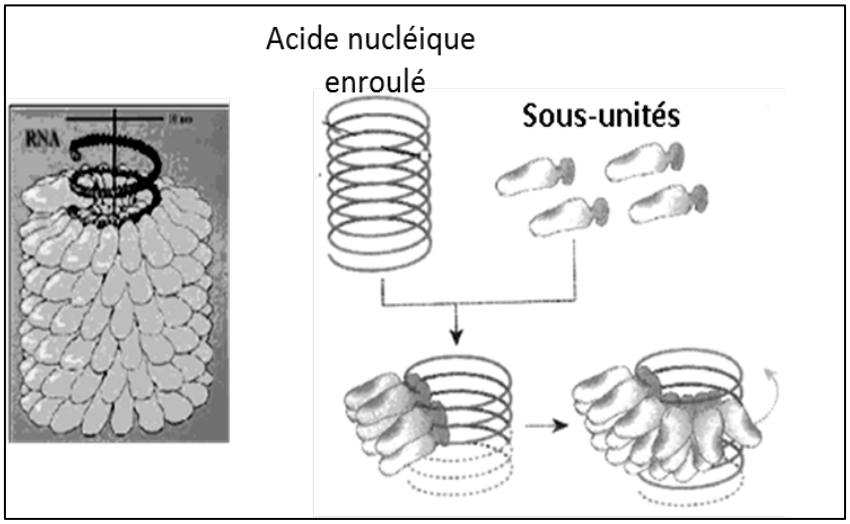
La capside est constituée de **protéines** et forme ainsi une structure compacte et très stable qui entoure et protège le génome viral dans le milieu extracellulaire.
Du fait de la taille réduite de leur génome, les virus n'ont pas la capacité de coder un grand nombre de protéines et doivent trouver le moyen de se répliquer et de former des particules infectieuses avec un minimum de gènes.
Dans ce cas, comment font-ils pour produire une capside de nature complexe, composée de plusieurs centaines de protéines ?
Pour cela, les virus utilisent une stratégie qui est celle de synthétiser une ou plusieurs sous-unités protéiques identiques répétées en grande quantité. Ces protéines **s'autoassemblent** ensuite de façon symétrique pour former des structures polymérisées de conformation géométrique. Selon la symétrie de l'assemblage, on distingue 2 principales catégories de capside chez les virus d'intérêt médical :

-Capside à symétrie icosaédrique : la capside a la forme d'un icosaèdre où les sous-unités protéiques s'assemblent en unités morphologiques appelées **capsomères**, visibles en microscopie électronique.



- Capside à symétrie hélicoïdale : la capside se présente comme un tube enroulé en hélice donnant une forme allongée tubulaire à la particule virale. Dans

ce type de symétrie, l'acide nucléique enroulé en hélice sert de charpente sur laquelle les sous-unités protéiques s'assemblent.



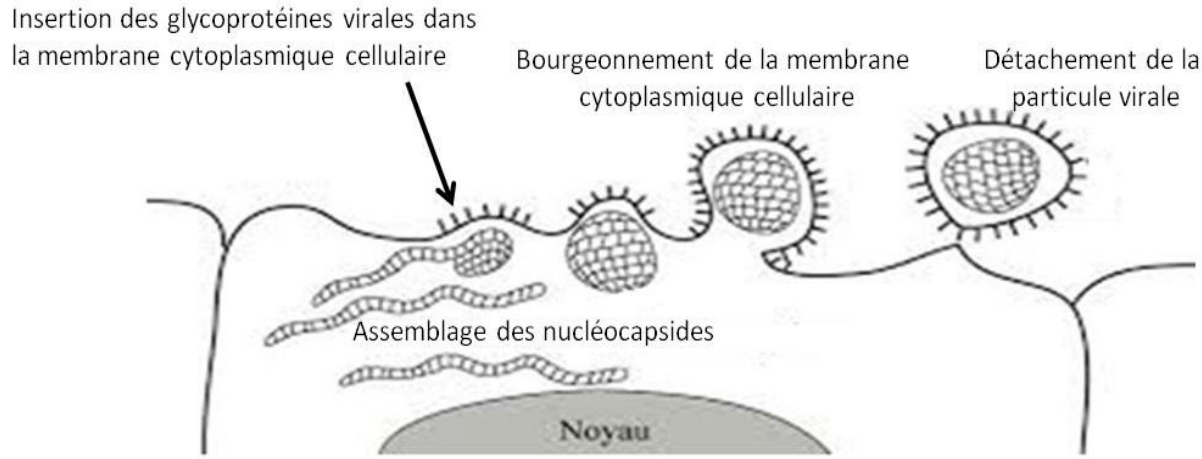
3-3-Enveloppe ou péplos (peplos= *mot grec signifiant* manteau)

L'enveloppe virale entoure la nucléocapside. C'est donc l'élément le plus externe de la particule virale chez les virus enveloppés.

Elle a une composition **lipidoglucidoprotéique**. En effet, elle a une double origine et est composée :

- ***d'une bicouche lipidique d'origine cellulaire*** : qui dérive des membranes soit cytoplasmique, nucléaire ou intracytoplasmique (réticulum endoplasmique ou appareil de Golgi) de la cellule infectée. Ceci s'explique par le fait que le virus acquiert cette partie de son enveloppe par bourgeonnement à travers l'une de ces membranes cellulaires.
- et ***de glycoprotéines codées par le virus lui-même*** au cours de sa multiplication et qui sont insérées ensuite à la face externe de l'enveloppe formant ainsi des spicules à la surface de la particule virale.

Exemple, le virus de la grippe termine sa multiplication dans la cellule qu'il infecte par bourgeonnement à travers la membrane cytoplasmique : après insertion de glycoprotéines virales dans la bicouche lipidique, la nucléocapside néoformée vient au contact de cette partie de la membrane cytoplasmique et entraine son évagination. Cette évagination de la membrane va ensuite se détacher pour former un virion entier qui se retrouve libre en dehors de la cellule.

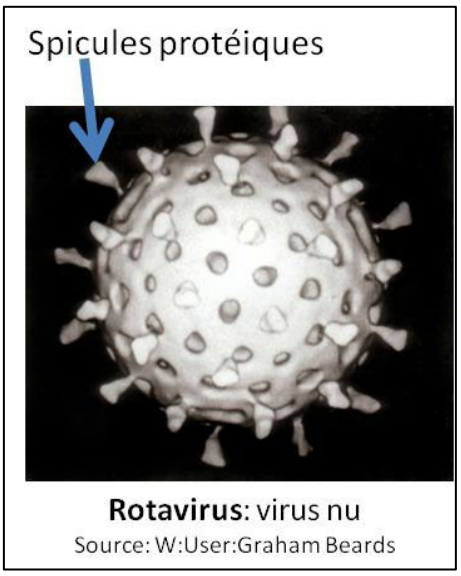


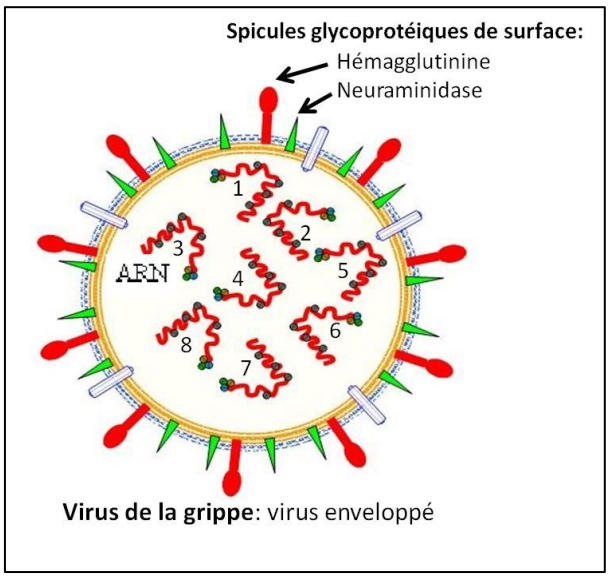
Etapes d'acquisition de l'enveloppe du virus de la grippe à la surface de la cellule infectée et sa libération

4- ROLES DE LA CAPSIDE ET DE L'ENVELOPPE VIRALE

-Initiation de l'infection: pour pouvoir infecter une cellule, un virus doit d'abord se fixer à la surface de sa cellule-cible. Cet attachement se fait par les spicules protéiques de la capside pour les virus nus et par les spicules glycoprotéiques de l'enveloppe pour les virus enveloppés.

-Induction d'anticorps neutralisants : ces spicules de surface, que ce soit des virus nus ou des virus enveloppés, portent également les principaux déterminants antigéniques qui sont reconnus par le système immunitaire et qui induisent la production d'anticorps neutralisants par le sujet infecté. Ces anticorps, en se fixant sur les spicules de surface du virus, neutralisent son pouvoir infectieux en l'empêchant de se fixer sur la cellule-cible.





5- IMPLICATION DE LA PRESENCE D'UNE ENVELOPPE CHEZ UN VIRUS

La présence d'une enveloppe a plusieurs conséquences notamment sur le pouvoir infectieux du virus et son mode de transmission:

- **sur le pouvoir infectieux** : contrairement aux virus nus, **les virus enveloppés sont fragiles** du fait de la constitution en partie **lipidique** de leur enveloppe. En effet, un virus doit être entier pour être infectieux. Or, la dégradation de l'enveloppe entraine une perte des spicules de surface ce qui empêche le virus de s'attacher sur sa cellule-cible et *perd ainsi son infectiosité*.

Il y a deux endroits particuliers où l'enveloppe est rapidement dégradée : le milieu extérieur et le tube digestif. Les virus enveloppés sont inactivés par la température (même ordinaire) et la dessiccation dans le milieu extérieur et par le pH acide et les enzymes du tube digestif *(il en résulte que les virus enveloppés ne passent pas la barrière digestive et ne sont ainsi jamais retrouvés dans les matières fécales. A l'inverse, les virus nus comme le virus de l'hépatite A sont retrouvés dans les matières fécales et contaminent ainsi l'environnement pendant des semaines et des mois)*. Ils sont aussi inactivés par les solvants des lipides (détergents, savon, alcool).

- **sur le mode de transmission** : du fait de leur fragilité, les virus enveloppés survivent peu de temps dans le milieu extérieur et dans le tube digestif et ne sont donc *transmissibles que par contacts rapprochés* entre 2 individus (exemple : voie aérienne pour le virus de la grippe, voie sexuelle ou sanguine pour le VIH).

6 – CLASSIFICATION ET NOMENCLATURE DES VIRUS

6-1- Classification des virus

Cette classification tient compte de la structure des virus et repose essentiellement sur quatre caractères:

1-Nature de l'acide nucléique viral: permettant de distinguer des virus à ADN ou à ARN.

2- Symétrie de la nucléocapside: on distingue ainsi des virus à capside cubique ou hélicoïdale ou complexe (capside qui n'est ni hélicoïdale ni vraiment icosaédrique).

3- Présence ou non d'enveloppe : virus enveloppés ou virus nus.

4-Nombre de capsomères pour les virus à symétrie cubique et **Diamètre de la nucléocapside** pour les virus à symétrie hélicoïdale.

6-2- Nomenclature

Les critères de classification permettent de regrouper les virus en :

(1) **Familles →(2) Sous-familles →(3) Genres →(4) Espèces** dont les noms se terminent respectivement par les suffixes (…*viridae*), (…*virinae*), (...*virus*), (*virus..*).

Au sein d'un genre ou d'une espèce, on peut également distinguer des ***sérotypes*** qui sont désignés par des chiffres : 1, 2, 3… Cette distinction est basée sur les propriétés antigéniques des virus : un sérotype correspond à tous les virus réagissant aux mêmes anticorps. Donc, les virus d'un même sérotype sont ceux qui possèdent les mêmes antigènes de surface.

Quelques exemples de familles de virus

Famille	**Sous-famille**	**Genre**	**Espèce**	**Sérotypes**	**Structure**
Herpesviridae	*Alphaherpes-virinae*	*Varicellovirus*	*Varicella zoster virus* (Virus de la varicelle et du zona) [VZV]		Virus à ADN enveloppé capside cubique 162 capsomères
Picornaviridae		*Enterovirus C*	*Poliovirus*	1 ,2 et 3	Virus à ARN nu capside cubique 60 capsomères
Orthomyxoviridae		*Influenzavirus*	Virus de la grippe		Virus à ARN segmenté enveloppé capside hélicoïdale diamètre de 100 nm

EVALUATION FORMATIVE

1- Citer les caractères généraux des virus.

2- Parmi les caractères généraux des virus, expliquer pourquoi les virus sont dits parasites intracellulaires obligatoires et préciser son implication sur le diagnostic.

3-Le génome viral :

A- est de type ADN ou ARN.
B- l'ADN viral est toujours bicaténaire et linéaire chez les virus.
C- l'ARN du virus de la grippe est segmenté.
D- c'est le support de la réplication virale.
E- est protégé par l'enveloppe virale.

4- La capside virale :

A- est un élément constant dans la structure d'un virus.
B- est de composition glucidolipidoprotéique.
C- protège le génome viral dans le milieu extérieur.
D- est constituée de capsomères dans sa forme à symétrie hélicoïdale.
E- est sensible aux solvants des lipides.

INTERACTIONS VIRUS-HOTE

Objectifs éducationnels

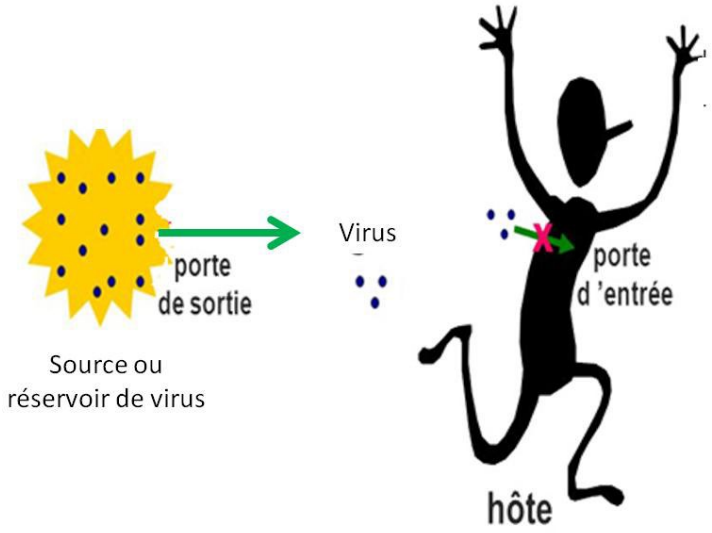
1. Enumérer les différents maillons de l'infection virale.
2. Comprendre les stratégies de multiplication des virus à l'échelle cellulaire et de l'organisme.
3. Connaitre les facteurs influençant l'infection virale à l'échelle cellulaire et de l'organisme.
4. Décrire brièvement les différentes issues et évolutions de l'infection virale, à l'échelle cellulaire et à l'échelle d'un organisme.
5. Comprendre les mécanismes d'échappement des virus aux défenses immunitaires de l'hôte.

1-DESCRIPTION GENERALE DE L'INFECTION VIRALE (maillons de la chaine)

- Comme vu précédemment, les virus sont incapables de se reproduire en dehors d'une cellule hôte. En effet, la particule virale existe sous une forme statique lorsqu'elle est en dehors d'une cellule. Ce n'est qu'en rencontrant une cellule sensible qu'elle entre dans un phénomène dynamique : c'est la **multiplication virale**. Celle-ci permet au virus de produire de nouvelles particules virales qui seront libérées en dehors de la cellule pour infecter, de proche en proche, d'autres cellules et permettre ainsi la diffusion de l'infection au niveau de l'organisme. L'infection virale se situe ainsi à deux niveaux : **la cellule cible et l'organisme** atteints.

Par ailleurs, la cellule et l'organisme peuvent réagir contre cette infection en activant des **processus de défense antivirale** bloquant rapidement la réplication virale. Cependant, certains virus possèdent des **mécanismes d'échappement** aux défenses immunitaires de l'hôte leur permettant de persister au niveau de l'organisme.

- L'initiation de l'infection nécessite l'entrée du virus chez un hôte sensible.

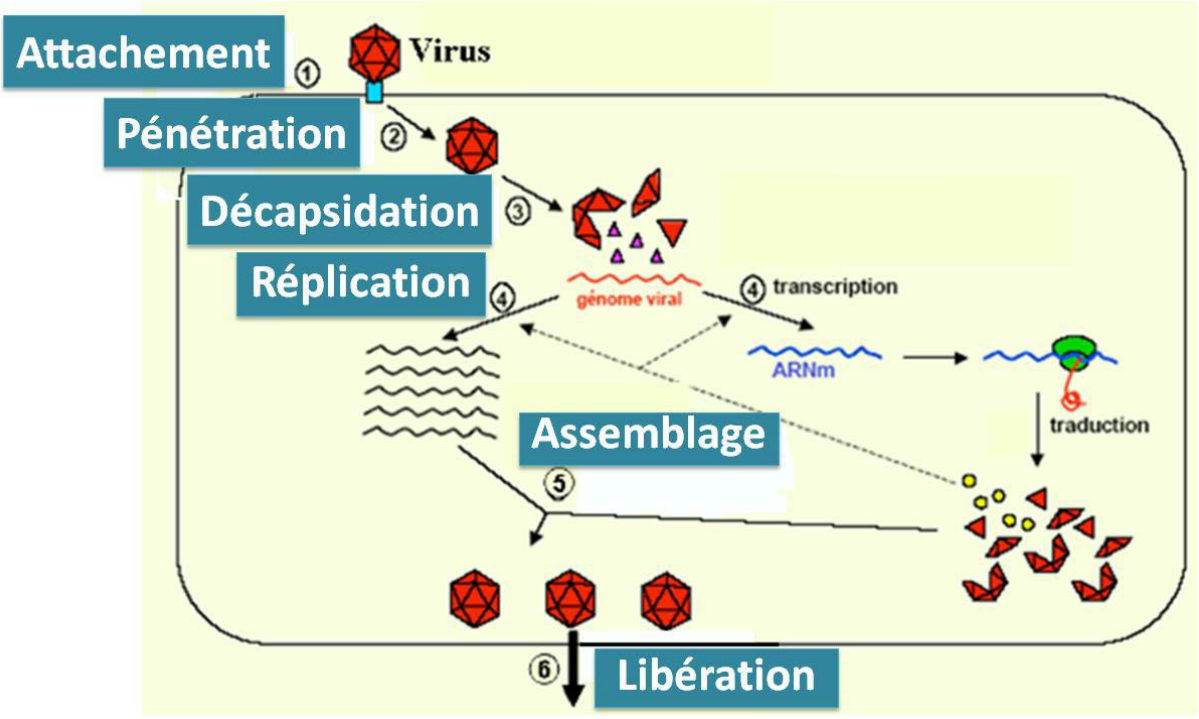


2- DEROULEMENT DE L'INFECTION A PARTIR DE LA PORTE D'ENTREE

2-1- Infection virale à l'échelle cellulaire

2-1-1- Cycle de multiplication virale

Une fois à l'intérieur de l'organisme, le virus doit trouver sa ou ses cellule(s) cible(s) pour pouvoir se multiplier. Cette multiplication se fait en plusieurs étapes regroupées sous le terme de cycle de multiplication virale. C'est un phénomène complexe au cours duquel le virus va entrer dans la cellule cible, se multiplier puis être libéré en dehors de la cellule.



Chaque virus a ses particularités mais le schéma général est le même. Le cycle viral comprend 6 étapes successives:

1) **Attachement** **2**) **Pénétration** **3**) **Décapsidation**

Ces 3 étapes conduisent à l'internalisation du génome viral dans la cellule cible.

4) **l'expression des gènes viraux** qui vont assurer la synthèse des protéines codées par le génome et la **réplication** qui va permettre la multiplication de ce génome

5) **Assemblage** des composants viraux synthétisés

6) **Libération** des particules virales infectieuses produites.

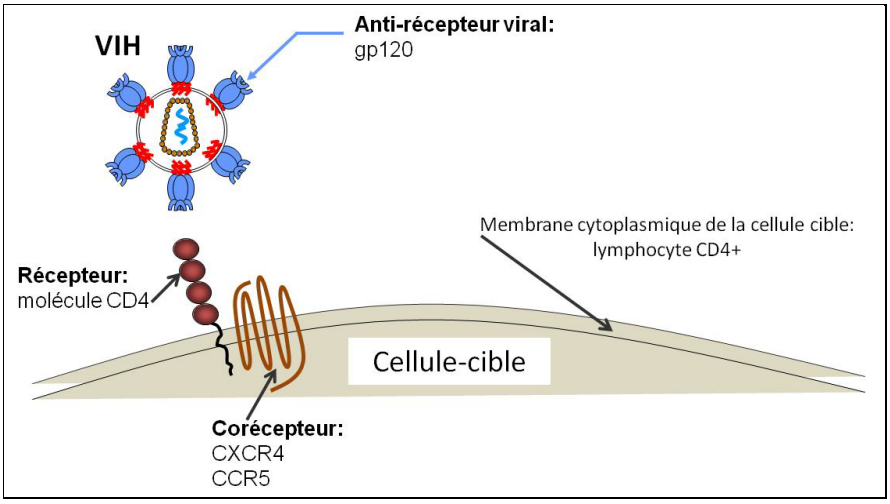
2-1-1-1-Attachement

Le cycle viral commence par la rencontre du virus avec la cellule cible. Cette étape détermine toute la suite des évènements.

Elle consiste en une **<u>interaction physique très spécifique</u>** entre :

- d'une part, une structure de la surface virale =***anti-récepteur*** : il s'agit des protéines de la capside pour les virus nus et des glycoprotéines de l'enveloppe pour les virus enveloppés,

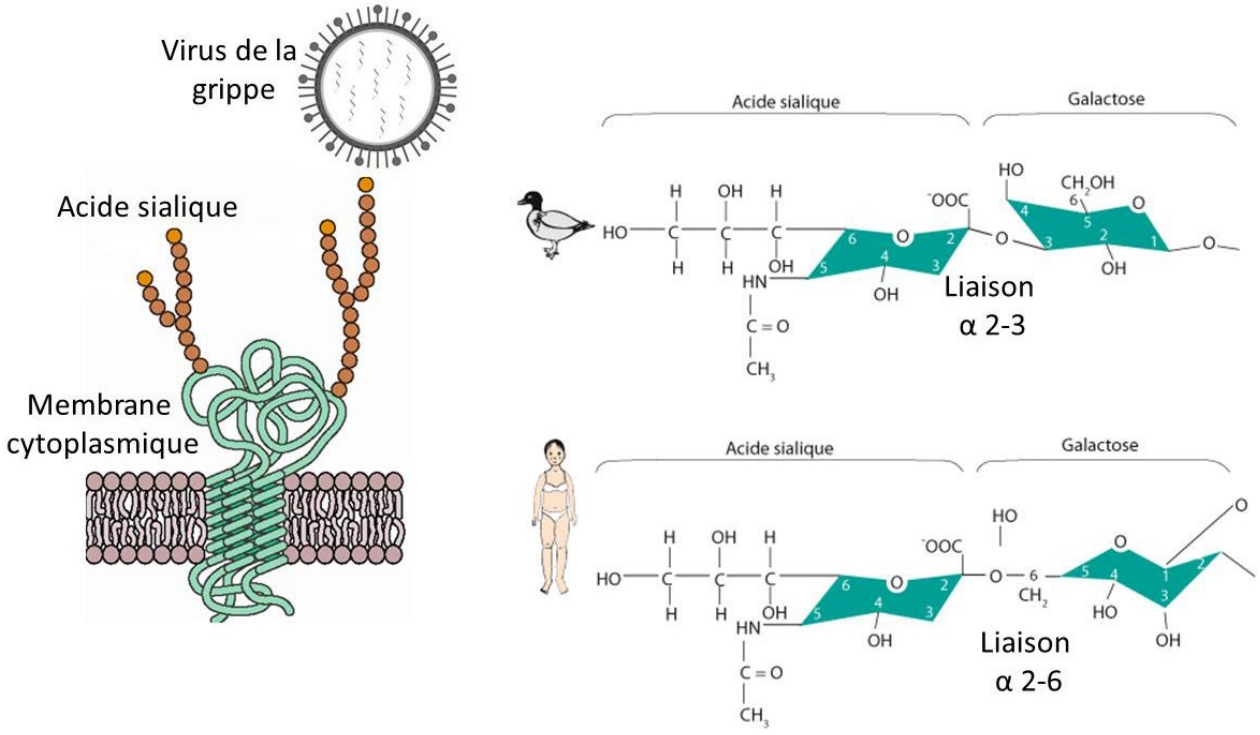
- et d'autre part, une structure de la membrane cytoplasmique cellulaire =***récepteur cellulaire spécifique*** pour le virus. Ces récepteurs sont souvent des protéines de surface qui ont leurs fonctions propres *(récepteurs immunitaires, transporteurs membranaires, perméases, molécules d'adhésion, récepteurs aux hormones, etc)*.



Pour certains virus, le récepteur n'est pas suffisant et l'infection d'une cellule nécessite en plus un ***co-récepteur*** comme les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) qui ne peuvent infecter une cellule que si elle possède, en plus de la molécule CD4 qui est leur récepteur, une autre molécule qui est le CXCR4 ou le CCR5 jouant le rôle de corécepteur.

Ce besoin pour les virus de récepteurs (+/- corécepteur) cellulaires explique qu'un virus donné ne peut infecter qu'un nombre restreint d'espèces (**tropisme d'hôte**) et que certains tissus ou cellules chez ces espèces (**tropisme tissulaire et cellulaire**). Exemple :

- *les poliovirus infectent uniquement l'homme in vivo et expérimentalement les singes supérieurs, mais pas les rongeurs parce que les récepteurs des poliovirus se trouvent uniquement sur les cellules de primates.*
- *les virus de la grippe A sont spécifiques d'un type cellulaire pour une espèce donnée : ces virus peuvent infecter l'Homme mais aussi de nombreuses espèces animales comme les poulets, les oiseaux, les chevaux… Cependant, la nature des cellules infectées par ces virus est différente selon l'espèce. C'est l'acide sialique qui constitue le récepteur de ces virus en se liant à l'hémagglutinine virale. L'acide sialique est lié au galactose en position 2-3 ou 2-6 selon les cellules.*



Représentation des récepteurs du virus de la grippe humaine et animale

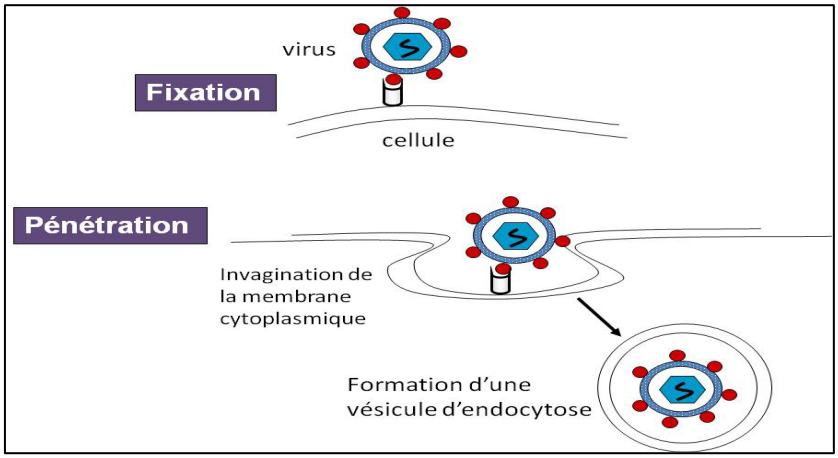
L'hémagglutinine des virus de la grippe A humains reconnaît l'acide sialique lié au galactose en position 2-6 (récepteur humain) présent en abondance au niveau des voies respiratoires de l'Homme d'où le tropisme respiratoire de ces virus alors que l'hémagglutinine des virus aviaires reconnaît l'acide sialique en position 2-3 (récepteur aviaire) présent au niveau du tube digestif d'où le tropisme pour les cellules digestives des espèces aviaires.

Le porc, lui, possède les deux types de récepteur au niveau de ses voies respiratoires ce qui explique qu'il peut être infecté à la fois par les virus humains et aviaires.

2-1-1-2- Pénétration intracellulaire

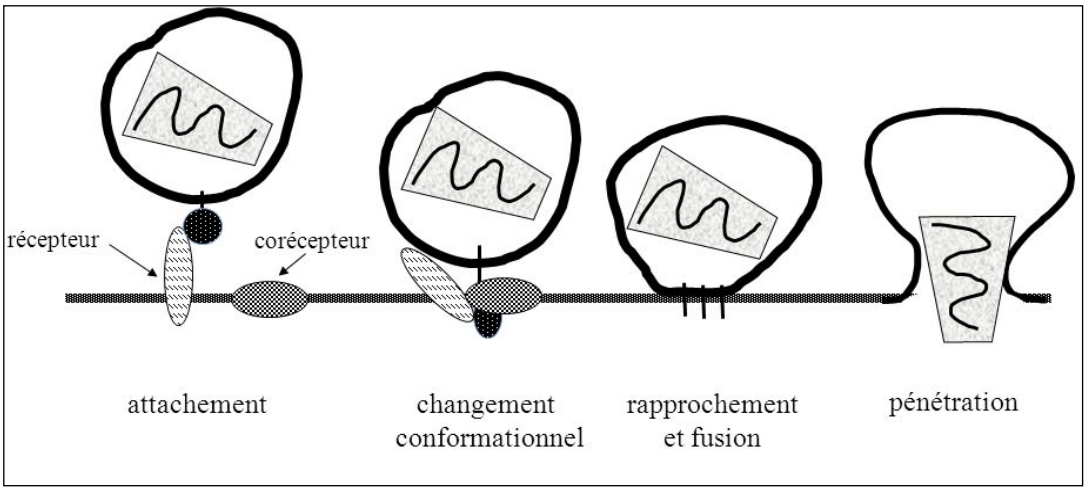
Elle se fait selon 2 modes principaux en fonction des virus :

*** l'endocytose** concerne de nombreux virus enveloppés ou nus : après fixation du virus sur ses récepteurs, il est internalisé par invagination de la membrane cytoplasmique puis formation d'une vésicule à l'intérieur de laquelle le virus pénètre dans la cellule.



*** La fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cytoplasmique cellulaire,** concerne uniquement les virus enveloppés car elle fait intervenir, en plus de la protéine d'attachement (l'anti-récepteur), une autre protéine appelée de fusion et qui est présente à la surface de l'enveloppe virale. Après fixation de la protéine d'attachement sur le récepteur cellulaire, la protéine de fusion s'insère dans la membrane cellulaire et entraîne une fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cytoplasmique cellulaire. Cette fusion conduit à la formation d'un trou

qui permet le passage de la nucléocapside à l'intérieur du cytoplasme cellulaire. L'enveloppe reste à l'extérieur de la cellule infectée.



Quel que soit le mode de pénétration, le virus se retrouve à l'intérieur de la cellule sous forme de nucléocapside.

2-1-1-3-Décapsidation du virus

C'est la dégradation de la capside virale. Elle a pour but la libération de l'acide nucléique viral pour qu'il puisse commencer sa réplication.

2-1-1-4-Expression et réplication du génome viral

Cette phase permet au virus de réaliser 2 objectifs:

►La transcription de son génome en ARNm viral pour être traduit en protéines qui sont de deux types:

- d'une part, des ***protéines de structure*=** protéines et glycoprotéines permettant de synthétiser de nouvelles capsides +/- des enveloppes s'il s'agit de virus enveloppés.
- d'autre part, des ***protéines non structurales*** = enzymes nécessaires à la réplication de certains virus (polymérases, protéases, protéines régulatrices…) mais qui n'existent pas dans les cellules de mammifères et doivent donc être codées par le virus lui-même. Ces protéines ont également pour rôle de modifier le fonctionnement de la cellule au profit du virus.

►Synthétiser de nouvelles copies de son acide nucléique :

- le génome des virus à ADN est répliqué dans le noyau grâce à l'ADN polymérase ADN dépendante.
- les virus à ARN : du fait que la cellule ne possède pas d'ARN polymérase ARN dépendante, ces virus ont des stratégies de réplication particulière: certains virus copient leur génome en ARN et codent pour cela leur propre ARN polymérase ARN dépendante (comme les Entérovirus) et d'autres passent par une étape ADN (rétro-transcription) grâce à une transcriptase inverse d'origine virale pour rétrotranscrire leur ARN en ADN complémentaire (comme les VIH).

Pour réaliser ces deux objectifs, le virus détourne la machinerie cellulaire de synthèse d'acides nucléiques ou de protéines à son profit. La cellule infectée est ainsi « piégée ».

2-1-1-5–Assemblage

Cette étape comprend l'auto assemblage des protéines synthétisées par le virus en capside et l'incorporation d'un nouveau génome dans chaque capside pour former de nouvelles nucléocapsides.

2-1-1-6–Libération

Les mécanismes de sorties diffèrent entre les types de virus.

- Pour les virus nus : l'accumulation des nouvelles nucléocapsides dans le cytoplasme aboutit à la ***lyse*** de la cellule avec libération des virions néoformés. Cette lyse survient suite à la désorganisation structurale et métabolique de la cellule infectée causée par la production massive des éléments de structure du virus au détriment des protéines cellulaires.

- Pour les virus enveloppés : les nucléocapsides doivent d'abord s'envelopper avant d'être libérées. Cet enveloppement peut se faire par ***bourgeonnement*** de la nucléocapside :

-soit à travers la membrane nucléaire ou celle de l'appareil de Golgi avec addition de glycoprotéines virales dans la double couche lipidique ensuite libération par ***lyse*** cellulaire comme les virus nus.

-soit à travers la membrane cytoplasmique avec insertion des glycoprotéines virales dans la double couche lipidique puis libération du virion par bourgeonnement cytoplasmique. Le nouveau virion sortira par exocytose emportant avec lui un morceau de membrane plasmique mais SANS LYSE CELLULAIRE (voir figure « Etapes d'acquisition de l'enveloppe du virus de la grippe à la surface de la cellule infectée et sa libération » page 333). Bien que ce processus ne soit pas directement lytique, l'infection par un virus enveloppé peut néanmoins conduire à la mort de la cellule infectée, due à l'épuisement de certaines ressources.

Ainsi, les conséquences pour la cellule sont variables : certains virus enveloppés sont très cytolytiques alors que d'autres le sont peu ou pas.

La libération des nouveaux virions par la cellule hôte est un évènement important car elle leur permet de ***se propager*** à d'autres cellules ou à d'autres organismes. Une même cellule infectée peut relarguer de quelques virions infectieux seulement jusqu'à plus de 100 000. Ceux-ci sortent complets de la cellule et ne se modifient plus avant d'infecter une autre cellule.

La durée d'un cycle de multiplication productif varie beaucoup selon les virus, de quelques heures à quelques jours. *Par exemple, le virus herpes simplex peut effectuer un cycle de réplication complet en 8 heures. A l'inverse, le cytomégalovirus nécessite 96 heures (3 jours) pour effectuer un cycle viral complet $\Rightarrow$ l'infection est plus lente.*

2-1-2- Facteurs influençants et conséquences de l'infection virale d'une cellule:

Les virus sont capables d'infecter tous les organismes vivants *(allant des plus rudimentaires tels que les bactéries jusqu'aux êtres les plus évolués du règne végétal ou du règne animal)* mais ont une **spécificité d'hôte** limitant le nombre des espèces auxquelles ils sont sensibles. Sauf exceptions, ils n'infectent qu'une seule espèce animale, végétale ou humaine… et normalement, il existe une

« barrière d'espèce ». Le franchissement de cette barrière est un phénomène rare dans l'évolution des virus.

► Cette spécificité d'hôte dépend de **deux facteurs** en relation avec la cellule infectée :

- **la sensibilité de la cellule au virus** :
  - pour être infectée et donc pour être ***sensible***, une cellule doit posséder les récepteurs spécifiquespour fixer le virus à sa surface et permettre sa pénétration.
  - Au contraire, une cellule qui ne possède pas le récepteur spécifique du virus en cause est ***naturellement résistante*** à une infection virale.
- **la permissivité de la cellule**, c'est-à-dire sa capacité à permettre la réplication du virus : elle dépend de la présence ou non de facteurs intracellulaires indispensables à la réplication virale et permettant un cycle viral complet et la production par la cellule de nouvelles particules virales (cycle productif).

Une notion importante est à connaitre : *toute cellule sensible n'est pas forcément permissive, et toute cellule permissive n'est pas obligatoirement sensible.*

► **Conséquences** : après pénétration du virus dans la cellule hôte, l'infection peut aboutir soit à une:

- ***infection abortive*** : au cours de laquelle le génome viral est introduit dans la cellule mais ne peut pas s'y répliquer vu l'absence d'un facteur cellulaire spécifique. L'infection s'arrête donc prématurément. C'est le cas d'une cellule sensible mais non permissive.

- ***infection productive*** : car aboutit à la production de virus infectieux. C'est lorsque la cellule est à la fois sensible et permissive. Cette infection productive peut être soit :

- **lytique :** lorsque la conséquence est la destruction de la cellule infectée. La lyse cellulaire assure le relargage des virions dans le milieu extracellulaire, permettant alors l'infection des cellules voisines.

Ce type d'infection est utilisé à profit pour le diagnostic virologique : l'inoculation d'un virus lytique et sa multiplication en culture de cellules permissives entraine l'apparition de lésions morphologiques qui sont caractéristiques d'un virus donné = *c'est l'**effet cytopathique ou ECP permettant de déduire le virus en cause***

- **non lytique :** qui n'engendre pas la mort cellulaire. Elle concerne les virus enveloppés dont la libération se fait par bourgeonnement et implique donc l'intégrité des membranes cellulaires.

2-2- Infection virale à l'échelle de l'organisme

2-2-1-Diffusion de l'infection

- Le virus se multiplie d'abord localement au niveau des cellules de la **porte d'entrée :** c'est le **site de réplication primaire**. Selon le cas, le virus peut rester cantonné à ce site (infection localisée) ou se disséminer à l'ensemble de l'organisme (infection généralisée).

→**Infections localisées :** le virus se multiplie exclusivement au niveau des cellules épithéliales de la porte d'entrée sans les traverser. Dans ce cas, porte d'entrée et organe cible (organe dont l'infection donne les signes cliniques de la maladie) sont confondus, d'où une période d'incubation courte de l'infection (quelques jours). C'est par exemple le cas des infections respiratoires causées par les virus de la grippe.

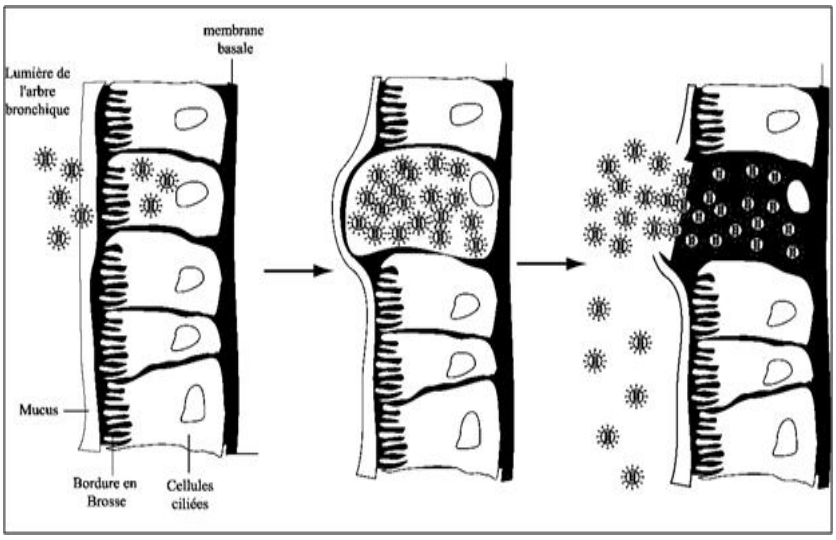
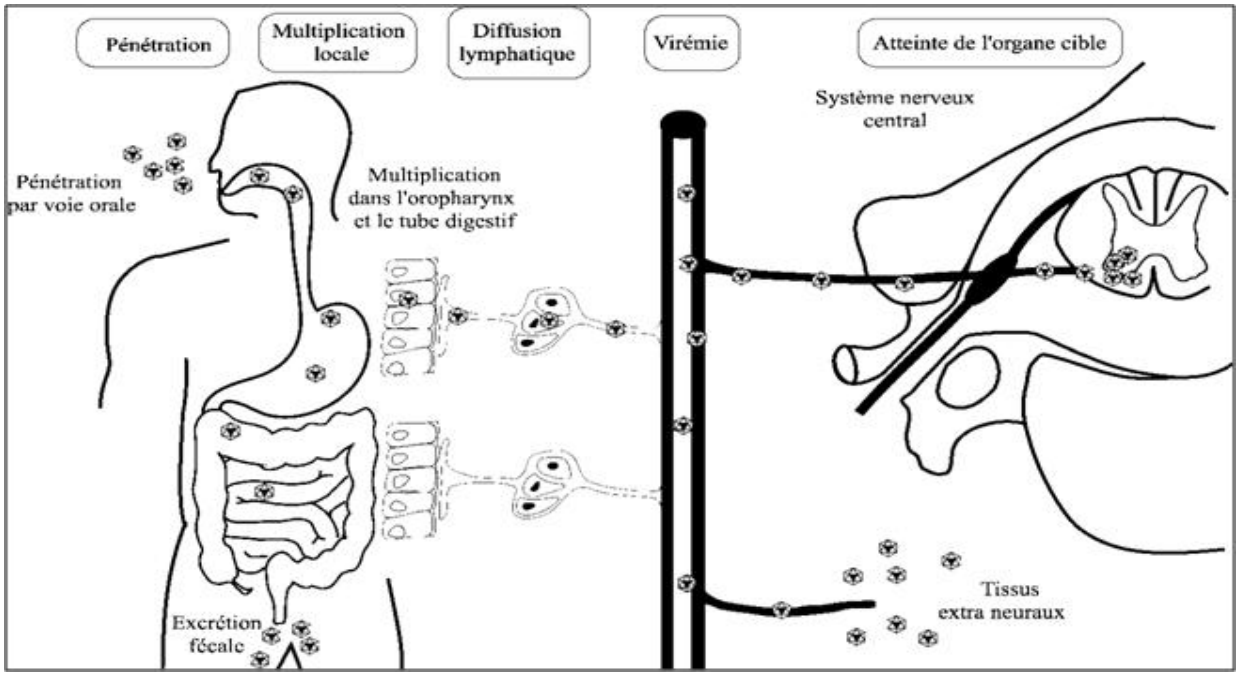


Illustration de la multiplication localisée des virus de la grippe dans les cellules de l'épithélium respiratoire

→**Infections généralisées** : pour d'autres virus, la multiplication se poursuit dans des organes cibles distants de la porte d'entrée et peuvent donc passer au travers des cellules épithéliales et être ensuite drainés :

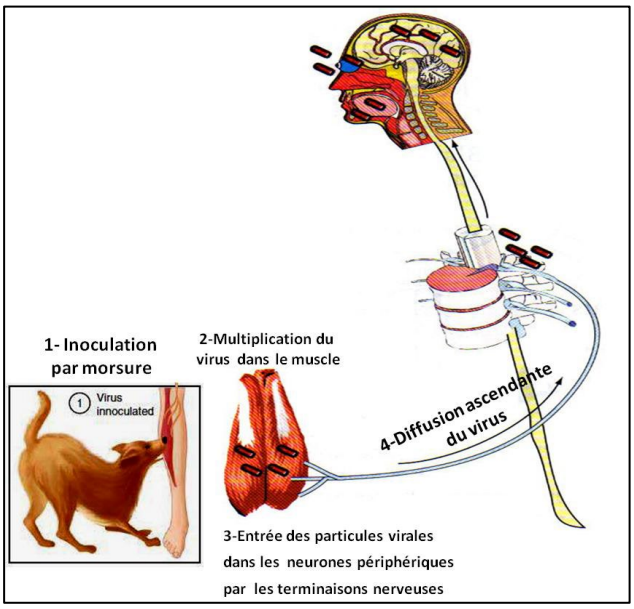
* dans le ***système lymphatique puis*** dans ***la circulation sanguine*** où ils entraînent une **virémie**. En effet, la diffusion des virus dans l'organisme se fait initialement par voie lymphatique par le biais des macrophages qui véhiculent les virus jusqu'aux tissus, organes lymphoïdes périphériques proches de la porte d'entrée (ganglions, amygdales, plaques de Peyer…). La diffusion aux ganglions est essentielle puisqu'ils vont être le site d'une réplication virale permettant une amplification du nombre de virus qui vont pouvoir diffuser ensuite par voie sanguine.



Infection généralisée provoquée par les Entérovirus

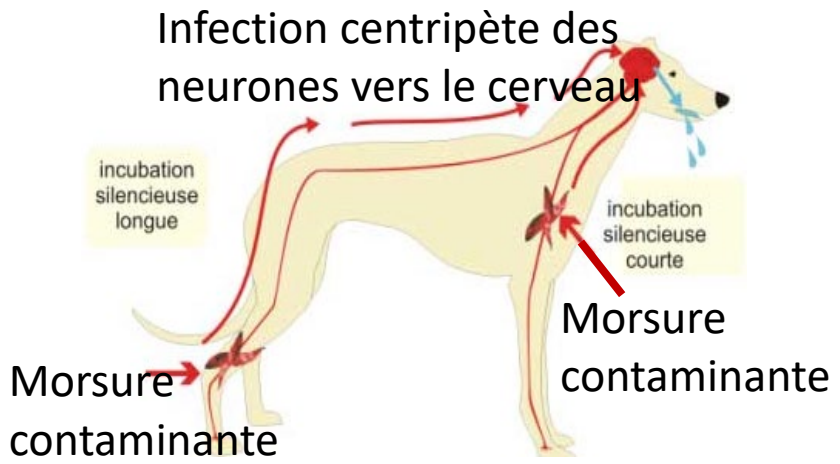
*soit par ***voie neuronale*** à travers les nerfs périphériques : concerne de rares

virus (Ex : virus de la rage).



Infection généralisée provoquée par le virus de la rage

- Cette phase de diffusion correspond à la **période d'incubation** asymptomatique (période qui sépare le moment où a lieu la contamination de l'apparition des premiers signes cliniques) puis à la **phase d'invasion** qui se traduit cliniquement par l'apparition de symptômes généraux. La période d'incubation est de durée variable, de plusieurs jours à plusieurs semaines selon qu'il s'agisse d'une infection localisée ou généralisée et selon la voie d'inoculation du virus, la quantité de virus inoculé…



Durée de la période d'incubation de la rage selon la localisation de la morsure (porte d'entrée du virus)

Cette phase de dissémination permet également au virus d'atteindre un ou plusieurs organes-cible, de s'y multiplier et de provoquer la maladie : c'est la **phase d'état** au cours de laquelle apparaissent les signes cliniques spécifiques de la

maladie virale. *Cependant, cette phase d'état peut rester asymptomatique malgré la multiplication virale dans l'organe cible.*

- La diffusion du virus dans l'organisme, qu'elle soit localisée ou généralisée, s'accompagne d'une **excrétion virale** dans différents liquides biologiques du sujet infecté (sang, salive, sécrétions nasales, selles, urines, larmes, sécrétions génitales…) qui constitue à son tour un réservoir de virus pour d'autres hôtes réceptifs. En effet, cette excrétion de virus constitue la dernière étape du cheminement des virus dans l'organisme dont les objectifs sont la ***contamination d'autres sujets*** afin d'assurer le ***maintien de la survie des virus dans la population*** (maintien de la chaîne épidémiologique).

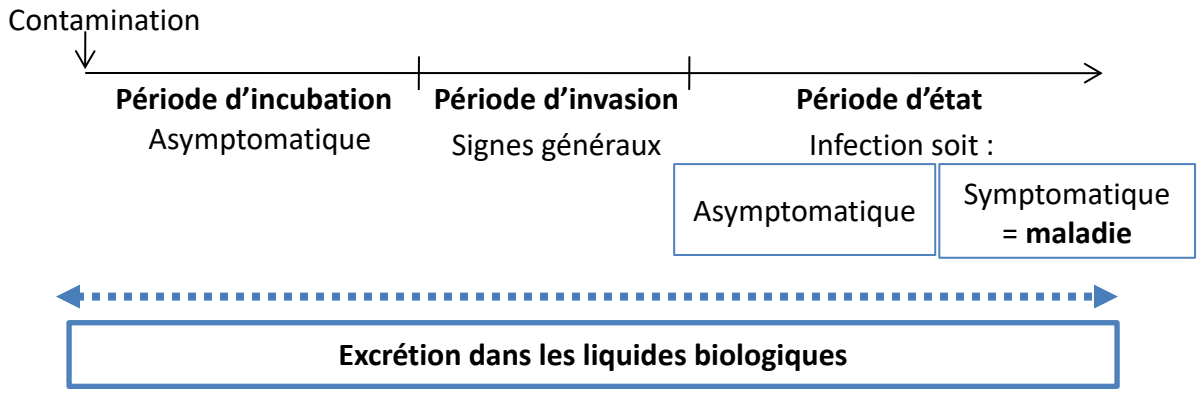


Schéma résumant les phases de l'infection

2-2-2-Issues de l'infection à l'échelle de l'organisme et facteurs influençants:

2-2-2-1- Issues de l'infection :

Le premier contact de l'organisme avec le virus = **primo-infection** donne lieu à une infection virale **aigue qui** peut être soit:

- asymptomatique
- symptomatique donnant une **maladie**.

Notez donc qu'une infection ne donne pas toujours une maladie

Cette maladie aiguë peut ensuite évoluer de différentes manières : soit,

a- vers l'élimination du virus de l'organisme qui se traduit par la **guérison clinique** (disparition des signes cliniques) avec apparition d'une immunité. L'immunité qui apparait peut être :

► soit *définitive :* protège l'individu contre une nouvelle infection par ce virus. Dans ce cas, les réinfections sont possibles mais restent asymptomatiques (hépatite A, rubéole).

► soit *insuffisante* : dans ce cas les réinfections peuvent être symptomatiques (grippe).

b- vers la guérison clinique mais avec persistance du virus au niveau d'un site de l'organisme. Cette persistance du virus est due au fait que la ***réponse immunitaire est insuffisante*** pour bloquer définitivement la réplication virale et éliminer le virus de l'organisme (la balance avec la réponse immunitaire est en faveur du virus).

Il existe deux modes de persistance virale : infection latente et chronique.

► *infection latente* où le virus persiste sous une forme ***inactive***. Il « se cache » dans un site de latence à l'état de génome, soit intégré aux chromosomes cellulaires et on parle de **provirus** (VIH) soit libre extrachromosomique ou **épisome** (Herpesvirus). Plusieurs mécanismes de réactivation des génomes viraux permettent au virus de se répliquer de nouveau donnant des infections ***récurrentes***.

► *infection chronique productive* où le virus persiste sous une forme ***active*** et la réplication virale se poursuit. Le génome viral et le génome cellulaire se partagent donc la machinerie de synthèse de la cellule et coexistent selon un "***compromis***" acceptable : on parle de ***tolérance de l'infection***. La réplication du virus s'accompagne d'une production virale continue au niveau d'un organe donné d'où destruction progressive de l'organe. Cependant, même après plusieurs années, le phénomène peut basculer et la réplication virale s'arrêter. Exemple : l'infection chronique par les virus de l'hépatite B ou C.

Que ce soit l'infection latente ou chronique, elles peuvent évoluer après un certain temps vers une infection transformante avec apparition de cancers.

c- vers l'apparition de cancers : certains virus ont un pouvoir oncogène et sont capables d'induire, chez l'homme et chez l'animal, la formation de tumeurs. L'infection transformante est due à plusieurs mécanismes dont:

-l'intégration du génome viral latent dans les chromosomes cellulaires qui peut entraîner une prolifération incontrôlée des cellules.

Exemple : le virus d'Epstein-Barr (EBV) associé au lymphome de Burkitt, au carcinome nasopharyngé et aux lymphomes de l'immunodéprimé.

-le virus exprime une ou plusieurs protéines perturbant la division cellulaire.

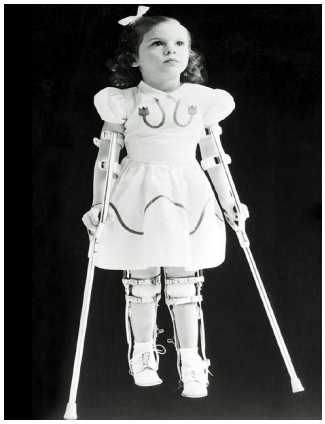
Exemple : certains génotypes des papillomavirus humains (HPV) sont associés notamment au cancer du col utérin.

-la régénération chronique et continue des cellules entraîne une accumulation de mutations de laquelle peut émerger un clone de cellules cancéreuses.

Exemple : par ce mécanisme, l'infection chronique du foie par les virus de l'hépatite B ou C peut aboutir après plusieurs années d'évolution à un cancer primitif du foie.

d-l'infection aigue peut guérir mais le **malade garde des séquelles**.

Exemple : la poliomyélite où le malade garde une paralysie des membres



e-dans le pire des cas, l'infection aigue peut évoluer **vers la mort**.

2-2-2-2- Facteurs influençant la pathogenèse :

La pathogenèse ou le processus par lequel le virus induit une maladie fait intervenir :

- **des facteurs liés au virus lui-même** :
  - quantité de virus inoculé: plus la quantité de virus est importante, plus la probabilité de développer l'infection sera élevée.
  - la voie d'inoculation: exemple, l'inoculation du virus de la rage par léchage d'une peau lésée au niveau du membre inferieur est moins grave que par morsure au niveau de la face.
  - le degré de pathogénicité du virus: certains virus entrainent une destruction rapide de la cellule infectée d'où une nécrose qui compromet le fonctionnement de l'organe. Exemple : le poliovirus détruit les neurones des cornes antérieures de la moelle épinière provoquant une paralysie irréversible.
- **des facteurs liés à l'hôte :**
  - l'âge : gravité de certaines infections chez le nouveau-né ou le nourrisson, ou au contraire, davantage de formes symptomatiques chez l'adulte que chez l'enfant.
  - qualité des réponses immunitaires : les moyens de défense de l'organisme sont ambivalents, tantôt favorables et tantôt défavorables. Normalement, la réponse immune est mise en œuvre pour contrôler l'infection : elle est dirigée non seulement vers les particules virales (pour les éliminer) mais aussi vers les cellules infectées, particulièrement vers les cellules productrices exprimant des antigènes viraux sur leur membrane externe (pour les tuer). Les réponses immunitaires peuvent être donc :

    *<u>*adaptées*</u> d'où guérison.

    **pathologiques par défaut* : l'immunodépression notamment la dépression de l'immunité cellulaire aggrave les infections virales.

    *<u>*pathologiques par excès*</u> : dans certaines situations, la réponse immune peut être défavorable pour l'organisme entrainant l'apparition de manifestations pathologiques. Exemples:

    - ✓ L'hépatite fulminante causée par le virus de l'hépatite B résulte d'une **réponse immune exagérée** entrainant une destruction massive des

hépatocytes infectés par les lymphocytes T cytotoxiques dans le but de neutraliser le virus. Cette réponse immune va ainsi limiter la production des virus, mais va créer de graves lésions dans le foie.

- ✓ Dans certains cas, des **complexes immuns** sont formés par les antigènes viraux et les anticorps spécifiques. Le dépôt de ces complexes au niveau des articulations ou de la peau est impliqué dans les signes cliniques de certaines infections virales comme l'éruption cutanée au cours de la rougeole ou de la rubéole, les douleurs articulaires au cours de la rubéole.
- ✓ L'infection virale pourrait, dans certaines situations, déclencher une **pathologie auto-immune**, ceci le plus souvent par mimétisme moléculaire : certains épitopes de protéines virales seraient très semblables à des épitopes du soi. Dès lors, la réponse immunitaire déclenchée contre le virus serait aussi partiellement dirigée vers des protéines du soi, (exemple : encéphalite post-infectieuse).

De l'équilibre entre ces facteurs résultent les différents modes d'expression de l'infection virale.

2-2-3- Stratégies d'échappement des virus aux défenses immunitaires

Au cours de leur évolution, de nombreux virus ont élaboré des mécanismes très diversifiés d'échappement aux défenses immunitaires leur permettant de se répliquer et de se propager en présence des mécanismes de défense de l'hôte. Ce sont principalement **le camouflage** et **le sabotage.**

2-2-3-1- Le camouflage

Le camouflage des virus consiste en deux mécanismes :

* La variabilité génétique de certains virus (voir cours « variabilité génétique) qui entraine une modification des épitopes antigéniques de surface de ces virus leur permettant d'échapper aux anticorps et aux lymphocytes T. Cette variabilité concerne surtout les virus à ARN, comme les virus de la grippe.

* L’infection latente : au cours de laquelle le virus, persistant à l’état de génome, ne produit pas d'antigène et échappe donc aux défenses immunitaires. C'est le cas, notamment, des *Herpesvirus* et du virus de l'hépatite B.

2-2-3-2- Le sabotage

Le sabotage des mécanismes de défense de l’hôte repose sur la production de protéines virales altérant ou bloquant les différents mécanismes de défense. Il s’agit de protéines capables d’antagoniser les interférons et les autres cytokines antivirales ou le complément, de perturber la présentation des antigènes viraux etc.…Cela concerne surtout les virus à ADN (Herpesvirus, Adénovirus), qui sont suffisamment riches en gènes.

Au total :

Face à la pénétration d'un virus, l'organisme tente de l'éliminer mais, ce faisant, suscite des réactions qui génèrent les dégradations et dysfonctionnements responsables de la maladie. L'expression clinique d'une infection virale dépend donc autant de l'hôte que de l'agent pathogène.

EVALUATION FORMATIVE

1-Citer dans l’ordre les étapes du cycle de multiplication virale.

2- Définir le tropisme d’hôte d’un virus et expliquer l’exemple des virus de la grippe A.

3- Au cours des interactions entre un virus et une cellule :

A- Une cellule peut résister à l’infection virale parce qu’elle ne possède pas le récepteur spécifique du virus.

B- Les cellules permissives à un virus permettent le déroulement d’un cycle de multiplication complet de ce virus.

C- L’effet cytopathique provoqué par un virus en culture cellulaire est lié à une infection virale abortive.

D- L’infection virale latente conduit à la production de nouveaux virions.

E- L’infection virale persistante peut conduire à un cancer.

VARIABILITE GENETIQUE DES VIRUS

Objectifs éducationnels

1. Définir les mécanismes à la base de la variabilité génétique des virus.
2. Déduire les conséquences de la variabilité génétique des virus.

Comme tous les êtres vivants, les virus peuvent être sujets à des variations génétiques. Ces variations résultent d'erreurs lors de la réplication des virus et d'altérations de leur matériel génétique. Elles permettent aux virus de s'adapter aux modifications de leur environnement. Les **variants** qui émergent peuvent être à l'origine d'échecs de vaccins ou de traitements antiviraux voire à l'émergence de graves maladies humaines dues à des virus d'origine animale comme le SIDA, le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) ou les pandémies de grippe.

1- MECANISMES DE LA VARIABILITE GENETIQUE DES VIRUS

La variabilité génétique concerne surtout les virus à ARN.

Les principaux mécanismes de variations génétiques chez les virus sont : les mutations et les recombinaisons/réassortiments.

1-1- Mutations

Les virus à ADN sont en général génétiquement très stables car les ADN polymérases virales ont une capacité de relecture et de correction des erreurs de réplication de l'ADN ce qui permet de maintenir l'intégrité du matériel génétique. De tels mécanismes n'existent pas pour les virus à ARN.

Ainsi, au cours de la réplication virale, les ARN polymérases et la transcriptase inverse des VIH introduisent 1 erreur par environ 10^4 nucléotides (soit 1 erreur par génome et par cycle de réplication) alors que les ADN polymérases virales introduisent 1 erreur par environ 10^7 nucléotides ce qui explique la variabilité génétique plus importante et l'évolution génétique plus rapide des virus à ARN contrairement aux virus à ADN.

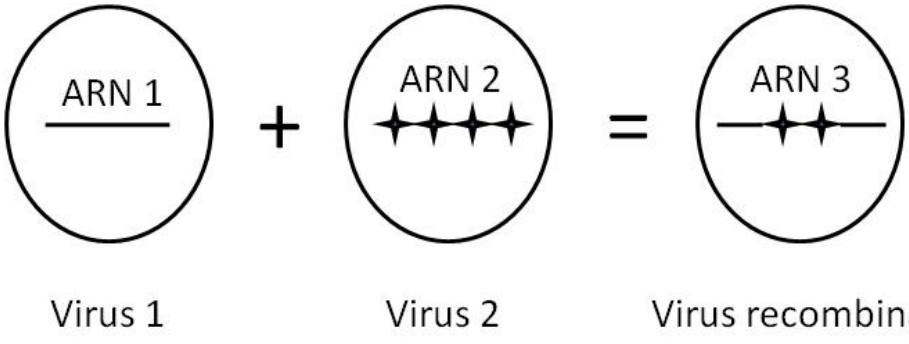
Plus la vitesse de réplication du virus est grande, plus le taux de mutations est important et plus des erreurs s'accumulent au cours des cycles viraux successifs entraînant un changement de l'information génétique virale ce qui va créer très rapidement une population de particules génétiquement différentes de la particule virale d'origine ou « ***quasi-espèces*** ». Ainsi, chez un sujet infecté par un virus à un moment t donné, on ne retrouve pas une population virale homogène (virus avec génomes identiques) mais un ensemble complexe de variants ou quasi-espèces dont les génomes qui dérivent les uns des autres diffèrent entre eux par une ou plusieurs mutations. Si la mutation favorise le virus dans le sens où il devient mieux adapté aux circonstances extérieures, le mutant va progressivement prendre le dessus sur le virus d'origine.

⇒ ***le virus d'origine ou souche parentale est dit "sauvage" (wild-type) et le virus qui a subi une mutation au cours du temps est désigné par virus "mutant".***

1-2- Recombinaison et réassortiment

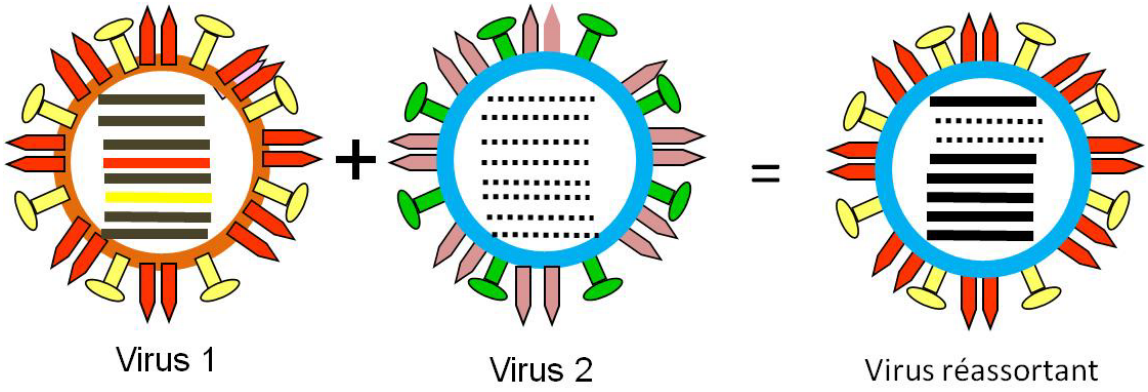
Ces deux mécanismes se voient lorsqu'une même cellule est infectée simultanément (coinfection ou surinfection) par deux virus semblables ou différents. L'interaction entre les deux génomes peut aboutir à une nouvelle combinaison génétique (absente des souches parentales).

Recombinaison : échange de régions génétiques entre les deux virus lors de leur réplication. Cet échange résulte du passage de la polymérase d'un brin à l'autre au cours de leur réplication, donnant naissance à un **virus recombinant** qui possède un acide nucléique provenant des deux virus de départ.



Ce phénomène est observé par exemple avec les VIH leur permettant de se modifier rapidement. Les VIH ont au cours de leur évolution donné lieu à de nombreux sous-types. Dans les populations humaines où il y a une forte transmission de ces virus, les infections mixtes avec plusieurs sous-types ne sont pas rares et des formes recombinantes avec des caractéristiques de deux virus « parents » ont émergé.

Réassortiment : concerne les virus à ARN segmenté, comme les virus de la grippe. Au cours de leur réplication et au moment de l'assemblage, les segments génomiques des virus coinfectants sont redistribués de façon aléatoire au sein des nouveaux virions produits donnant naissance à des **virus réassortants**.



Lorsque des conditions favorables le permettent, ce phénomène de réassortiment peut conduire carrément à l'apparition d'un nouveau virus de la grippe inconnu de la population humaine et peut donner lieu à une véritable pandémie grippale (c.à.d. une expansion rapide du virus dans la population humaine non immune vis-à-vis de ce nouveau virus).

2- CONSEQUENCES DE LA VARIABILITE GENETIQUE DES VIRUS

Les conséquences des variations génétiques des virus sont variables : allant de variations qui restent ***silencieuses*** (n'entraînent pas de modifications au niveau de la chaîne d'acides aminés et n'affectent pas une séquence ou une structure des acides nucléiques importante à la réplication (gène régulateur…)) ou au contraire, peuvent se traduire par un ***changement de protéine ou d'un gène régulateur***… et peuvent conférer alors un avantage aux virus en les rendant

mieux adaptés à leur environnement extérieur. Lors d'une variation de cet environnement, les « quasi-espèces» sensibles à ce nouvel environnement seront éliminées alors que celles résistantes deviendront dominantes d'où leur émergence (sélection de souches résistantes). Les facteurs externes qui entraînent une sélection peuvent être le système immunitaire, le changement de milieu qu'engendre un nouvel hôte ou des médicaments antiviraux (seront détaillés plus loin).

2-1- Variation antigénique

C'est l'une des expressions les plus évidentes de la variabilité des virus et qui leur permet d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte. Cet échappement se voit lorsque les variations touchent la séquence des **protéines de surface** du virus qui sont la cible des anticorps neutralisants.

La modification des antigènes de surface d'un virus peut avoir plusieurs conséquences notamment épidémiologiques, sur la réponse à la vaccination, sur la sensibilité des tests diagnostiques ou sur le pouvoir pathogène.

Exemples :

-la survenue d'**épidémies de grippe** tous les 2 à 3 ans: en effet, lorsqu'au cours de l'hiver, le virus de la grippe A ou B circule parmi la population, la plupart des sujets ont des anticorps qui les protègent contre une nouvelle infection par ce même virus. Mais, pour échapper au système immunitaire, ce virus en passant d'un individu à un autre, se réplique en accumulant progressivement des **mutations**, lui permettant de modifier ses antigènes de surface. L'hiver suivant, on obtient un nouveau variant antigénique contre lequel les anticorps déjà existants chez la population auront une efficacité partielle ce qui permet au virus de réinfecter la population humaine et de diffuser d'où l'éclosion d'une **épidémie.**

-**échappement à la vaccination des virus grippaux** : les mutations continues de ces virus expliquent aussi la nécessité **d'adapter chaque année la composition du vaccin** contre le virus de la grippe en y introduisant les dernières souches virales qui ont circulé.

-**pouvoir pathogène de certains virus** comme les VIH ou le virus de l'hépatite C (VHC) : au cours de leur réplication, ces virus parviennent à modifier leurs antigènes de surface (d'où les quasi-espèces) ce qui leur permet d'échapper continuellement au système immunitaire et d'établir une **infection chronique**.

-**échappement aux moyens de diagnostic virologique** : exemple, certaines mutations au niveau du génome du virus de l'hépatite B peuvent conduire à l'absence de détection du virus par certaines techniques sérologiques au laboratoire d'où un résultat faussement négatif.

2-2-Émergence de nouveaux virus chez l'Homme

L'émergence de nouvelles infections virales humaines est la conséquence d'un ***changement d'hôte*** : à partir d'animaux sauvages ou domestiques vers l'Homme. Cette émergence nécessite d'une part, une ***exposition étroite*** de l'Homme aux animaux permettant le passage du virus animal à l'Homme et d'autre part, une ***adaptation*** de ce virus à l'Homme. Exemples :

► *Les VIH : il en existe deux types, VIH1 et VIH2, dérivant tous les deux de virus infectant le singe (Simian Immunodeficiency Virus ou SIV). Le franchissement de la barrière d'espèces a eu lieu au début du XXème siècle suite à de multiples transmissions des SIV du singe à l'Homme (par exposition répétée de l'Homme au sang ou aux tissus contaminés de singes infectés, lors de la chasse ou de la préparation de la viande de brousse, ou même lors de blessures infligées par des singes domestiqués). Des* ***mutations*** *multiples ont été nécessaires pour que ce virus passe des Singes à l'Homme et s'y adapte. Sa diffusion mondiale a été ensuite possible par des modifications des comportements humains (homosexualité, toxicomanie, urbanisation, voyages…*

► *Un phénomène particulier est celui observé avec le virus de la grippe A chez l'homme : en plus des mutations, ce virus peut varier génétiquement par* **réassortiments**. *Le virus de la grippe A aviaire est véhiculé par les oiseaux migrateurs permettant sa diffusion géographique. Lors d'infections mixtes par un virus de la grippe A aviaire et un virus de la grippe A humaine chez un hôte intermédiaire (le porc), des réassortiments peuvent faire émerger un nouveau*

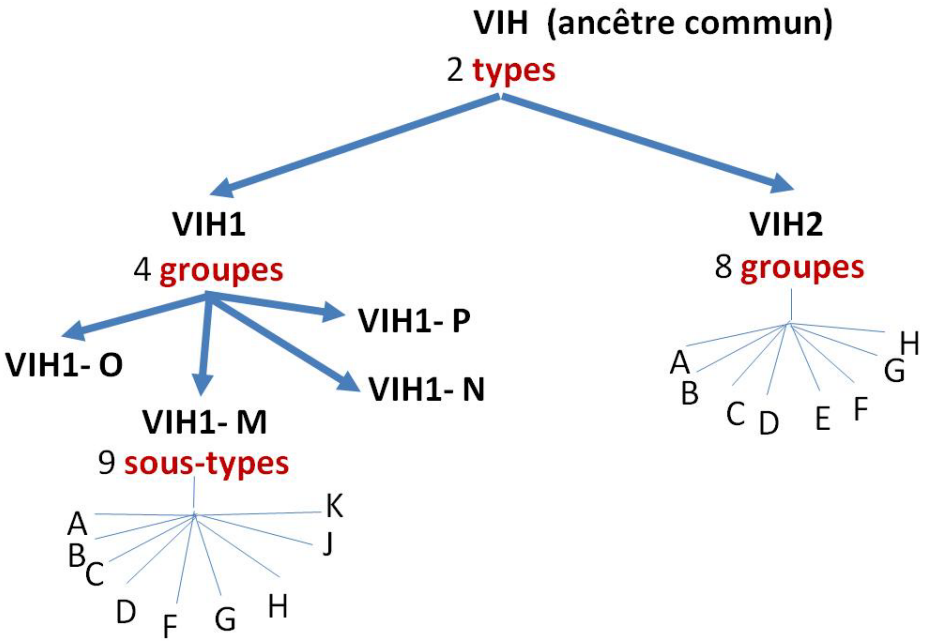
virus ayant des antigènes de surface complètement modifiés. L'émergence de ce nouveau virus au sein de la population humaine sera responsable d'une ***pandémie grippale****, c.à.d. une expansion rapide du virus dans cette population non immune pour ce nouveau virus (exemple : émergence du virus de la grippe A H1N1 en 2009).*

2-3- Diversité génétique

A partir d'un ancêtre commun et au fil du temps, la variabilité génétique des virus peut entrainer l'émergence de ***groupes***, ***génotypes***, ***types*** ou ***sous-types*** de virus par modification de leur séquence nucléotidique. Ils sont distingués en fonction du degré d'homologie de séquence entre les différents isolats.

Exemple : le VIH-1 est actuellement divisé en quatre groupes (M pour majoritaire, N, O et P) et le VIH-2 en huit groupes (notés de A à H). Le VIH-1 groupe M a émergé le premier, suivi du groupe O et du groupe N. Pour le VIH-1 P, seulement deux souches ont été décrites et les datations de l'ancêtre commun sont donc très imprécises.

Après transmission à l'Homme, le VIH-1 groupe M a commencé à se diversifier et est aujourd'hui divisé en neuf sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J, K) avec >90 formes recombinantes circulantes (CRF) résultant de recombinaisons entre sous-types (exemple : AE, AG, DF…).



Par ailleurs, chez un même hôte, 10 milliards de virions sont produits chaque jour chez une personne infectée parmi lesquels 10 à 15 séquences de VIH différentes seront produites ou quasi-espèces.

2-4-Conséquences sur les stratégies thérapeutiques et vaccinales

♦*Résistance aux traitements antiviraux* : elle est due à des mutations touchant les gènes des protéines virales ciblées par les traitements antiviraux. Des traitements, qui offraient au premier abord une bonne protection, peuvent provoquer l'apparition de virus résistants aux molécules antivirales utilisées. Ces virus sont sélectionnés et non créés par le traitement. En effet, les virus mutants résistants, au sein des quasi-espèces, préexistent au traitement antiviral.

Exemple : parmi les molécules antivirales utilisées pour le traitement de l'infection à VIH, certaines inhibent la transcriptase inverse du virus entrainant un arrêt de la réplication virale. Une mutation sur le gène codant cette enzyme virale peut entrainer une modification de l'enzyme qui n'est alors plus reconnue par la molécule antivirale d'où résistance du VIH au traitement. Lors de sa réplication, sur 10000 copies d'ARN viral par ml de plasma, on peut trouver un génome portant déjà cette mutation. Lorsque le malade est mis sous traitement, les virus sensibles sont neutralisés alors que les virus résistants au traitement deviennent majoritaires en quelques jours ou semaines.

♦*Difficulté de mettre au point un vaccin* : le niveau élevé de réplication des VIH ou du VHC avec la production de milliards de quasi-espèces virales expliquent en partie la difficulté jusqu'à maintenant de produire un vaccin efficace capable de neutraliser toutes les quasi-espèces (difficile de stimuler les défenses contre une molécule précise, étant donné qu'elle est sujette à des variations constantes).

3. APPLICATIONS

- Etude phylogénétique des souches virales : permet d'étudier :
  - -l'origine de la souche

-l'établissement de liens épidémiologiques entre les souches virales dans les infections nosocomiales ou les cas de transmission intrafamiliale par exemple.

- Préparation de vaccins:

  -vaccins constitués de mutants apothogènes,

  -vaccins recombinants

- Etude des fonctions des gènes (exemple : par mutagenèse dirigée).

EVALUATION FORMATIVE

1- Citer les mécanismes de variations génétiques des virus.

2- Expliquer le phénomène de réassortiment génétique et donner un exemple de conséquence de ce mécanisme.

3- Expliquer à travers un exemple l'émergence de nouveaux virus.

COURS INTEGRES bactériologie- virologie :

-Epidémiologie des maladies infectieuses bactériennes et virales

-Moyens de prévention des maladies infectieuses bactériennes et virales

EPIDÉMIOLOGIE DES MALADIES INFECTIEUSES bactériennes et virales

Objectifs éducationnels

1. Décrire les différents maillons de la chaine épidémiologique.
2. Distinguer les infections communautaires, nosocomiales et les infections associées aux soins.
3. Définir les interactions entre microbes et populations.

---

1. Chaine épidémiologique:

Une maladie infectieuse résulte de l'interaction entre 6 maillons selon un enchaînement précis : c'est la chaîne épidémiologique. L'**agent infectieux** sort d'un **réservoir** par une **porte de sortie**, se déplace par une **voie de transmission** et pénètre par une **porte d'entrée** dans un **hôte réceptif** (fig 1).

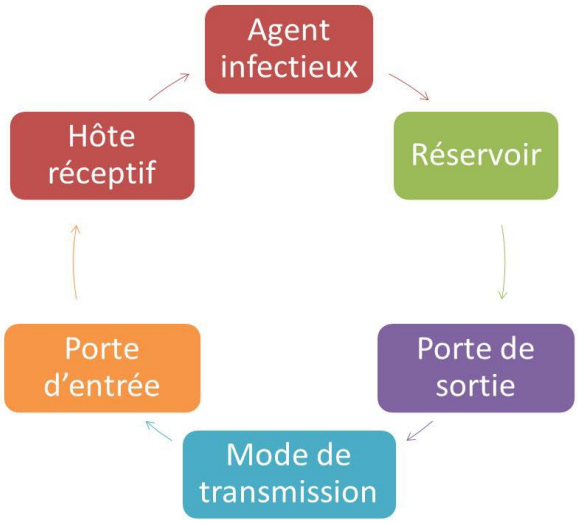


Figure 1 : la chaîne épidémiologique de transmission

La connaissance de ces maillons est importante car, pour lutter contre les maladies infectieuses, il suffit de **rompre la chaîne épidémiologique** en ciblant un de ses maillons.

1.1/ Agents infectieux

L'agent infectieux peut être une bactérie ou un virus (mais aussi un parasite ou un champignon).

1.2/ Réservoir des agents infectieux

Le réservoir est **l'habitat naturel** d'un microbe, c'est à dire niche écologique où il est naturellement présent et capable de se multiplier et d'avoir une activité métabolique. Selon les microbes, le réservoir peut être humain, animal ou environnemental.

1.2.1/ Réservoir humain

- ***L'Homme peut être son propre réservoir*** $\Rightarrow$ ***l'infection est dite endogène.***

  En effet, *c*ertaines bactéries ou certains virus sont hébergés par l'individu lui-même et peuvent provoquer une infection dans certaines circonstances :

  - l'organisme humain sain héberge, dans sa peau, son tube digestif, sur ses muqueuses, 10^{14} agents infectieux appartenant à plus de 500 différentes espèces de bactéries, levures et protozoaires. Certaines de ces bactéries sont susceptibles de provoquer une maladie infectieuse dans certaines circonstances, lorsque les défenses locales ou générales sont altérées: blessures, intervention chirurgicale, froid, défaillance immunitaire passagère ou durable, ou lorsque l'équilibre de la flore est perturbé (traitement antibiotique). Ces maladies de «circonstances» sont appelées ***opportunistes***.

  - de même, certains virus sont capables de rester latents dans l'organisme d'un individu sous forme « endormie ». Sous l'effet de facteurs déclenchants, ils peuvent «se réveiller» et donner de nouveau une maladie infectieuse.

- ***L'Homme peut être un réservoir pour d'autres Hommes*** $\Rightarrow$ ***l'infection est dite exogène.***

  La majorité des agents infectieux pathogènes pour l'Homme a pour réservoir un autre Homme. Qu'il soit malade ou porteur sain, ce réservoir humain excrète la bactérie ou le virus qui l'infecte au niveau de un ou plusieurs de ses liquides biologiques (salive, respiratoires, génitales…). Ces *liquides biologiques* constituent alors la porte de sortie par laquelle l'agent infectieux quitte le réservoir.

  Les infections dont le réservoir est exclusivement humain sont dites des *infections strictement humaines*. *Exemples :*

  -infections virales : la rougeole, la varicelle…

  -infections bactériennes : le choléra, la fièvre typhoïde, la syphilis....

Ces infections strictement humaines sont potentiellement éradicables telle que la variole dont l'éradication a été obtenue dès 1980, suite à des campagnes de vaccination et de surveillance active à l'échelle mondiale.

1.2.2/ Réservoir animal

Plusieurs maladies infectieuses humaines ont un réservoir animal. Ce sont des **zoonoses**. Ces maladies peuvent être transmises à l'homme à partir d'un animal ***malade*** ou ***porteur sain***.

Exemples :

- *Infections bactériennes : la peste (rongeurs), la brucellose (bétail), les salmonelloses non typhoïdiques (volaille, rongeurs,…).*

- *Infections virales : la fièvre jaune (singes), la rage (renard, chien).*

1.2.3/ Réservoir environnemental

Certains agents infectieux ont pour réservoir l'environnement : eau, sol et surfaces.

Exemple : le sol pour les spores tétaniques ou l'eau pour les légionelles.

1.3/ Modes de contamination : (portes de sortie, voies de transmission et portes d'entrée)

La contamination d'un hôte réceptif se fait par contact avec le réservoir. Suite à ce contact, l'agent infectieux doit trouver une porte d'entrée par laquelle il s'introduit dans l'hôte pour le contaminer.

A noter qu'un même agent infectieux peut pénétrer par plusieurs portes d'entrée (exemple le VIH peut pénétrer par le sang ou les voies génitales ou d'une mère à son enfant par voie transplacentaire...).

Le contact réservoir-hôte peut être soit :

- **direct** :

  -*de personne à personne* par contact physique direct, notamment pour les agents dont la survie dans le milieu extérieur est éphémère (exemple, se donner la main, un baiser, rapport sexuel).

  -d'un animal à une personne.

- i**ndirect** : passant par un **i***ntermédiaire* entre le réservoir et l'hôte réceptif. Cet

intermédiaire peut être :

-*inerte*→ appelé **véhicule (objet, instrument ou surface inerte** sur lesquels l'agent infectieux est déposé et qui survit assez longtemps pour être transféré à une autre personne qui touche l'objet ou la surface par la suite). Cette viabilité varie d'un microbe à un autre et en fonction des conditions de température et d'hygrométrie, ce qui conditionne la transmissibilité.

Exemple de durée de survie de quelques microbes sur les surfaces inertes :

- *Méningocoque : <2 heures*
- *Staphylococcus aureus : plusieurs semaines ou mois*
- *Spores tétaniques : plusieurs années*
- *VIH : 2-4 heures*
- *Virus de la grippe : 1-2 jours*
- *Virus de l'hépatite B : >7 jours*

-*animé*→ appelé **vecteur**: certaines maladies infectieuses sont transmises par un vecteur : **moustique**, **tique**… qui prélève l'agent infectieux du réservoir et l'inocule à l'hôte réceptif.

1.3.1/TRANSMISSION INTERHUMAINE

1.3.1.1/ Voie aérienne

L'Homme malade ou porteur asymptomatique émet l'agent infectieux dans l'air ambiant sous forme de **gouttelettes** ou **d'aérosols** lors de la *toux*, *l'éternuement, l'expectoration* ou même *la parole*.

→ **Les gouttelettes** sont des particules provenant de la salive ou des sécrétions des voies aériennes supérieures (40000 gouttelettes sont émises par éternuement, 3000 gouttelettes sont émises par une toux ou 5 minutes de parole).

Elles ont un ***diamètre > 5 µm*** d'où ne peuvent pas rester *en suspension* dans l'air et *se déposent* rapidement dans l'environnement immédiat du malade *(1 à 2 m)*.

Les microbes portés par les gouttelettes sont transmis à l'hôte soit :

- par **inhalation** dans un *rayon de 1 à 2 mètres* autour de la personne source (contact rapproché),

- par ***contact direct*** des muqueuses du visage (bouche, nez ou yeux) de l'hôte réceptif avec les **grosses gouttelettes**, dans l'environnement proche de la personne source (maximum 2 m),
- **via les mains contaminées** par les sécrétions ORL du patient source ou par une surface contaminée (table, jouets…) puis portées au visage (bouche, nez ou yeux).

⇒ pénétration des gouttelettes et sédimentation dans les *voies aériennes supérieures*.

La transmission par gouttelettes est le mécanisme de transmission de la majorité des infections respiratoires telles que la grippe, l'infection à méningocoque ou la coqueluche.

→ **Les aérosols** sont des particules provenant des sécrétions des voies aériennes inférieures (sécrétions bronchiques émises lors de la toux). Ces particules sont de ***petit diamètre < 5 µm*** ce qui leur permet de rester en *suspension dans l'air à plus de 3 mètres* et d'être véhiculées par des courants d'air sur de longues distances de telle sorte que les personnes qui n'ont pas été en contact direct avec une personne infectée courent néanmoins toujours le risque d'être infectées.
⇒ La transmission se fait par **inhalation** de ces aérosols soit lors d'un **contact *rapproché*** *avec la source* ou à une ***distance de plusieurs mètres***.
Le site d'inoculation préférentiel des germes véhiculés par l'aérosol sont les *voies respiratoires inférieures*.

Exemple de maladies transmises par les aérosols: varicelle, rougeole, tuberculose.

1.3.1.2/Voie digestive ou féco-orale

Certaines bactéries ou virus, se multipliant dans les cellules intestinales du sujet infecté, sont éliminés dans les ***selles***. Ces microbes sont particulièrement résistants, peuvent survivre pendant plusieurs semaines dans le milieu extérieur d'où contamination fécale de l'environnement.
La contamination d'un autre individu peut se faire soit directement par les ***mains***

souillées soit indirectement par ***ingestion d'eau ou d'aliments contaminés*** par des germes d'origine humaine ou animale *(bactéries : salmonelles, shigelles, vibrion cholérique/ virus : virus de l'hépatite A, virus de la poliomyélite)*.
L'agent infectieux pénètre chez l'hôte réceptif par la <u>*bouche*</u> d'où le terme transmission féco-orale.

1.3.1.3/Voie cutanée

-Par contact peau à peau avec une lésion cutanée.
Exemple :
-*Staphylococcus aureus excrété dans le pus d'un abcès*
- *transmission du papillomavirus responsable des verrues cutanées.*
-Par contact avec l'environnement : contamination par les spores tétaniques présentes dans le sol.

L'agent infectieux pénètre chez l'hôte réceptif toujours à la faveur d'une <u>brèche cutanée même microscopique</u>.

1.3.1.4/Voie génitale

Les muqueuses génitales, anales et parfois bucco-pharyngiennes sont des portes d'entrée pour les germes responsables de <u>maladies sexuellement transmises</u>.
La contamination de l'hôte réceptif se fait par ***contact*** de l'une de ses muqueuses avec les secrétions génitales d'un sujet infecté dans lesquelles l'agent infectieux est excrété et ceci, lors des ***rapports sexuels***.

1.3.1.5/Voie oculaire

L'agent infectieux se multiplie dans la **conjonctive de l'œil** et est excrété dans les **secrétions oculaires**. La transmission à une autre personne se fait par ***contact*** de son œil avec les doigts, des serviettes, une eau de piscine mal chlorée ou des instruments d'ophtalmologie contaminés soit lors de greffe de cornée à partir d'un donneur contaminé.

1.3.1.6/Voie parentérale

-L'agent infectieux présent chez un donneur peut être transmis à un receveur par **transfusion de sang** ou une **transplantation d'organes**.

-**Echange de seringues contaminées** pour l'injection de drogues par voie intraveineuse chez les toxicomanes,

-**Piqûre par une aiguille souillée** lors d'un accident d'exposition au sang chez les personnels de la santé,

-**Utilisation de matériel médical insuffisamment désinfecté ou stérilisé**, ou autres instruments lors de pratiques personnelles : tatouage, piercing, scarifications…

Dans ces cas, l'hôte est contaminé par l'introduction directe de l'agent infectieux dans son *sang*.

1.3.1.7/Transmission verticale d'une mère à son enfant

L'agent infectieux étant excrété dans le sang ou les sécrétions génitales d'une femme enceinte ou le lait maternel après l'accouchement peut être transmis à l'enfant soit au cours de la grossesse par voie **transplacentaire** ou lors de **l'accouchement** par contact de l'enfant avec les sécrétions génitales de sa mère ou au cours de **l'allaitement**.

1.3.2/ TRANSMISSION DE L'ANIMAL A L'HOMME

-directement par **contact bouche** (par la salive de l'animal) **à plaie,** exemple : transmission du virus de la rage par morsure ou griffure.

-par l'intermédiaire de **vecteurs** : il s'agit essentiellement d'arthropodes hématophages qui assurent la transmission d'un agent infectieux d'un vertébré vers un autre vertébré.

Les maladies transmises par des vecteurs sont dites **à transmission vectorielle.**

Les vecteurs hématophages, lors d'un repas de sang, ingèrent le micro-organisme pathogène présent dans un hôte infecté (homme ou animal), pour le réinjecter dans un nouvel hôte à l'occasion de leur repas de sang suivant.

Ils transmettent ainsi des maladies :

- bactériennes : comme la borréliose de Lyme, les rickettsioses, la peste.
- ou virales : telles que la dengue, ou l'infection par le virus du Nil occidental

  (virus West Nile). Les virus transmis par des arthropodes hématophages sont appelés des **arbovirus** (ce terme dérive de la dénomination anglaise « arthropod-borne virus »).

Ces agents infectieux sont transmis par des vecteurs qui leur sont ***spécifiques***. Ainsi, le virus West Nile est transmis par des moustiques du genre *Culex*, la dengue est transmise par des moustiques du genre Aedes, la borréliose de Lyme par des tiques du complexe Ixodes.

1.4/ Hôte réceptif

L'hôte représente tout sujet soumis à une contamination. La réceptivité de l'hôte dépend de nombreux facteurs dont principalement : âge, sexe, état nutritionnel et système immunitaire, maladie sous-jacente.

2. Infections communautaires, nosocomiales et associées aux soins

Une infection associée aux soins (IAS) est une infection qui survient au cours et/ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge.

Lorsque l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48 heures ou un délai supérieur à la période d'incubation est couramment accepté pour définir une IAS.

Parmi les IAS, les infections nosocomiales sont celles survenant au cours ou au décours d'une hospitalisation, contractées en établissement de soins (ni en incubation, ni présente à l'admission).

Les infections communautaires regroupent toutes les infections non associées aux soins.

3. Modalités d'expression épidémiologique des maladies transmissibles

Cas sporadiques

Ce sont des cas isolés sans relation apparente entre eux dans le temps et l'espace c'est à dire sans lien épidémiologique.

Endémie

Infection qui se maintient à un niveau régulier et faible dans une région ou collectivité.

Epidémie

C'est le développement et la propagation rapide d'une maladie contagieuse dans une région définie et une période de temps limité.
L'épidémie peut survenir dans une région où l'infection sévissait à l'état d'endémie et se traduit alors par une augmentation soudaine et inhabituelle du nombre de cas, ou au sein d'une collectivité antérieurement indemne.

Pandémie

Une pandémie (du grec pan = tout et demos = peuple) est une épidémie qui s'étend à la quasi-totalité d'une population d'un ***continent*** ou de plusieurs continents, voire dans certains cas de la ***planète***. Ex : grippe, VIH, choléra.

Infections émergentes et ré-émergentes

Une maladie émergente est une maladie :

- nouvellement identifiée causée par de nouveaux germes pathogènes (SIDA en 1981)

- ou connue et qui apparait dans une population donnée, d'une région donnée, antérieurement indemne de cette maladie (rougeole ou coqueluche chez les amérindiens, importées par les colons européens).

Une maladie ré-émergente est une maladie déjà connue :

- qui avait disparu et qui réapparait dans une région donnée ou dans un groupe donné de population (réapparition du virus Ebola en Afrique Centrale en 1994 après 18 ans de silence)
- qui avait diminué et qui augmente dans une région donnée ou dans un groupe donné de population.

4. Mesure de l'interaction entre microbes et populations

Cette interaction est représentée par :

4.1. Incidence

Nombre de cas de personnes qui sont tombées malades, pendant une période donnée, pour une population donnée. L'incidence ne tient compte que des nouveaux cas survenus pendant la période définie.

4.2. Prévalence

Nombre de cas de personnes malades, existant ou survenant dans une population déterminée à un moment défini, sans distinction entre les cas nouveaux et les cas anciens.

4.3. Taux d'attaque

Proportion de cas d'infection parmi les personnes susceptibles exposées à l'agent infectieux.

Ex : 80% pour la rougeole, 70% pour la varicelle, 5 à 10% pour la grippe saisonnière, 0,1 à 3% pour le virus du SIDA lors de relations sexuelles.

MOYENS de PREVENTION des MALADIES INFECTIEUSES bactériennes et virales

Objectifs éducationnels

Savoir mettre en œuvre les moyens de prévention des maladies infectieuses

---

Dans toutes les maladies transmissibles, la prévention ou prophylaxie passe par la rupture de la chaine de transmission en agissant sur le réservoir, sur la transmission ou sur la réceptivité de l'hôte.

1. Actions sur le réservoir:

1.1. Actions sur le réservoir humain:

*Actions sur les malades :

- **Isolement des malades contagieux** et les confiner dans des lieux (hôpital ou domicile) qui empêchent la transmission des germes.

Exemples :

- *isolement des malades tuberculeux bacillifères dans des chambres à basse pression pour éviter la transmission par aérosol du bacille de Koch,*
- *éviction scolaire et de travail pour les malades atteints de la coqueluche pendant toute la période de contagiosité de la maladie.*

- **Traitement des malades** : permet de tarir la source de l'infection en limitant la transmission du germe.

*Actions sur les personnes asymptomatiques :

- **Mise en quarantaine** : c'est l'isolement des personnes asymptomatiques et exposées à une infection transmissible jusqu'à la fin de la période d'incubation.

- **Dépistage de porteurs asymptomatiques** : *Ex, dépistage du virus de l'hépatite B en prénuptial.*

*Désinfection : détruire le germe en dehors de l'organisme des malades (les locaux, les objets et les exsudats du patient).

*Déclaration aux autorités sanitaires : certaines maladies sont à déclaration obligatoire *(Rougeole, fièvre typhoïde..)*. La déclaration permet de protéger l'entourage du malade et de prendre les mesures nécessaires pour empêcher l'apparition de nouveaux cas (vaccination, antibioprophylaxie…).

1.2. Actions sur le réservoir animal:

- Vaccinations *(Ex, vaccination anti-Brucella pour le bétail, vaccination anti- rage des chiens et animaux sauvages)*.

- Contrôle alimentaire *(Ex, recherche de salmonelle chez la volaille)*.

- Surveillance des animaux.

- Abattage des animaux errants et sauvages *(Ex abattage des chiens errants pour prévenir la rage).*

2. Actions sur le mode de transmission:

Ces actions visent le réservoir pour empêcher la transmission d'agents infectieux à un hôte réceptif:

Pour les maladies à transmission respiratoire :

- Couvrir le nez et la bouche avec un mouchoir à usage unique, lors de toux, éternuement, écoulement nasal.
- Jeter immédiatement les mouchoirs après usage
- En l'absence de mouchoir, tousser ou éternuer au niveau du coude plutôt que dans les mains.
- En milieu de soins, porter un masque chirurgical.

Pour les maladies à transmission directe : ⇒ mesures d'hygiène individuelle :

- hygiène des mains pour la transmission manuportée des germes responsables des infections communautaires et nosocomiales : se laver les mains fréquemment, surtout après contact avec des sécrétions respiratoires ou après être allé aux toilettes.

Pour les maladies à transmission hydrique : contrôle de la distribution de l'eau

potable, collecte et traitement des eaux usées et des ordures ménagères.

Pour les maladies à transmission alimentaire : hygiène alimentaire, respect de la chaîne de froid pour stopper la multiplication des bactéries dans les aliments tels que les salmonelles.

- Pour les maladies à transmission vectorielle : lutte contre les insectes (insecticides), rats, moustiques (moustiquaires, répulsifs, port de vêtements à manches longues et pantalon).

- Pour les maladies contrôlables par la vaccination : élever le niveau de couverture vaccinale pour diminuer le nombre de personnes susceptibles à la maladie et donc diminuer la probabilité de transmission des maladies.

- Pour les infections sexuellement transmises IST : éducation sanitaire (utilisation de préservatif..), dépistage et traitement des partenaires sexuels.

- Pour les maladies transmissibles par le sang : dépistage de ces maladies chez les donneurs de sang et d'organes.

3. Actions au niveau de l'hôte réceptif

3.1. Education de la population

Information de la population des risques d'une maladie, de ses modes de transmission et des possibilités d'éviction (spots publicitaires, affiches, dépliants…).

3.2. Mesures d'hygiène individuelle

- Lavage des mains à l'eau+savon après contact avec des sécrétions respiratoires ou des objets contaminés ou avant l'alimentation.
- Port d'équipements de protection individuels (masque pour éviter l'inhalation de gouttelettes, lunettes anti-projection),
- Ne pas toucher la bouche, le nez, le visage avec des mains contaminées.

3.3. Mesures spécifiques

3.3.1. Chimioprophylaxie:

Elle consiste à administrer un produit chimique afin d'empêcher le développement de la maladie chez un individu réceptif (Oseltamivir pour la grippe A) ou comme traitement de masse (tétracycline pour le choléra).

3.3.2. Immunisation passive

L'immunisation est dite passive lorsqu'il y a **transmission** à un receveur d'un état de résistance contre un antigène donné, par le transfert d'anticorps préformés.
L'immunisation passive peut se produire :
-naturellement par transfert des *anticorps maternels* au fœtus à travers le placenta. Les anticorps maternels présents dans le colostrum et dans le lait fournissent ainsi une immunité passive à l'enfant.
-artificiellement en injectant à un receveur des *immunoglobulines spécifiques* ou *polyvalentes* : c'est la **séroprophylaxie**.
La séroprophylaxie est indiquée notamment en cas de risque d'être infecté par un virus ou une bactérie donnés, à condition d'être administrée **dans les 72 heures** qui suivent le contact suspect.

Elle a l'avantage de conférer une protection **rapide** MAIS de **courte durée.**

Exemples :

- *administration d'immunoglobulines anti-HBs pour prévenir une infection par le virus de l'hépatite B en cas d'exposition à ce virus (rapport sexuel, piqure par une aiguille contaminée chez un personnel de la santé, nouveau-né issu d'une mère infectée par ce virus),*

- *administration d'immunoglobulines antitétaniques en cas de blessures profondes et souillées éventuellement par les spores tétaniques.*

3.3.3. Immunisation active = Vaccination :

L'immunisation est dite active lorsqu'il y a **production par l'individu lui-même** d'une réponse immunitaire spécifique d'un antigène donné suite à l'exposition à cet antigène.

4. Les différents types de vaccins

On distingue 2 types de vaccins anti-viraux et anti-bactériens selon leur mode de

préparation:

1/ Vaccins classiques (traditionnels) : dans ce groupe, on distingue :

- Vaccins constitués d'agents infectieux entiers :
    - Vaccins **non vivants**
    - Vaccins **vivants**
- Vaccins sous-unités constitués de fractions antigéniques:
    - Toxines bactériennes détoxifiées ou Anatoxines
    - Vaccins capsulaires polysaccharidiques
    - Vaccins protéiques produits par génie génétique.

2/ Vaccins originaux : ces vaccins ont été largement utilisés ces dernières années dans le cadre de la lutte contre la pandémie de COVID-19. Ces vaccins incluent :

- Vecteurs viraux recombinants
- Vaccins à ARNm

4.1. Vaccins classiques:

4.1.1. Vaccins constitués d'agents infectieux entiers:

Ils représentent la plupart des vaccins couramment utilisés.

4.1.1.1.Vaccins non vivants (Inactivés = tués):

L'agent infectieux entier est isolé puis inactivé par différents moyens chimiques (formol, formaldéhyde, β propionolactone) ou par la chaleur.

On obtient un *agent infectieux incapable de se multiplier* dans l'organisme MAIS qui *garde ses propriétés antigéniques*.

4.1.1.2.Vaccins vivants:

✓ **Vaccin vivant non atténué ou hétérologue** : le seul vaccin existant est celui contre la variole. Il est préparé à partir d'un microorganisme non pathogène pour l'homme = le virus de la vaccine (pathogène pour la vache), mais qui est antigéniquement voisin du virus de la variole. Les anticorps produits contre le virus de la vaccine permettent de protéger contre la variole.

✓ **Vaccin vivant atténué** : constitué d'un agent infectieux **MUTANT** encore **vivant** mais à pouvoir pathogène **très atténué** pour ne pas provoquer la maladie. Ce mutant est capable ainsi de se multiplier dans l'organisme sans entrainer de manifestations pathologiques et est par contre capable d'induire une réponse immunitaire comparable à l'infection naturelle.

L'un des risques essentiels de ce type de vaccin est la possibilité de **réversion à des formes virulentes** (exemple, forme orale du vaccin anti-poliomyélite).

Ces deux types de vaccins entiers, vivants et non vivants, présentent chacun ses avantages et ses inconvénients qui sont la conséquence de leur capacité ou non à se multiplier dans l'organisme (tableau 1).

Tableau 1 : Quelques avantages et inconvénients des vaccins vivants et non vivants

Vaccin vivant : multiplication dans l'organisme : ⇒ infection simulant une infection naturelle	**Vaccin non vivant :** pas de multiplication dans l'organisme
Provoque une réponse immune complète : -humorale et cellulaire -locale (muqueuse) et systémique	Réponse immune incomplète : -humorale+ mais cellulaire +/- -systémique mais pas locale
Réponse immune durable ⇒ 1 seule dose suffit/ Rappel inutile Pas de nécessité d'adjuvants*	Réponse immune moins durable ⇒ Plusieurs doses /Rappels nécessaires Adjuvants nécessaires
Présente des risques: -Virulence résiduelle (encéphalite provoquée par le vaccin anti-rougeole) -réversion de la souche vaccinale à une souche pathogène (vaccin vivant atténué anti-poliomyélite)	Pas de risque de : -virulence résiduelle - réversion
Contre-indiqué chez femme enceinte et Immunodéprimé	Peut être administré chez femme enceinte et Immunodéprimé
Fragile ⇒ respect de la chaine du froid++	Stable à la chaleur (avantage dans les pays chauds et sous-développés)

Légende :

cases colorées en gris= avantage

cases colorées en blanc= inconvénient

*adjuvants : substances utilisées pour renforcer le pouvoir immunisant du vaccin tout en diminuant la dose de l'antigène utilisé. Ils permettent ainsi une réponse immunitaire plus forte. L'adjuvant le plus souvent utilisé est le sel d'aluminium.

4.1.2. Vaccins sous-unités:

Constitués des fractions antigéniques immunogènes de l'agent infectieux ⇒ *ces vaccins sous-unités présentent une capacité de stimulation immunitaire plus précise par les antigènes dominants de l'agent pathogène et moins d'effets secondaires mais une immunogénicité souvent moins grande.*

Selon leur mode de préparation, on distingue :

4.1.2.1.Les anatoxines bactériennes:

Ces vaccins concernent les infections bactériennes dues à des toxines comme la diphtérie et le tétanos. Ils sont obtenus par inactivation des toxines bactériennes par la chaleur ou par des agents chimiques comme le formol ou la glutaraldéhyde. On obtient des substances non pathogènes mais qui gardent leur pouvoir immunisant =anatoxines.

4.1.2.2.Vaccins capsulaires polysaccharidiques:

Concernent les bactéries capsulées. Ces vaccins induisent la formation d'anticorps opsonisants *spécifiques de groupe ou de sérotype*.

Il existe des ***vaccins polysaccharidiques non conjugués et conjugués***. En effet, une des limitations des vaccins polysaccharidiques non conjugués est qu'ils sont des antigènes thymoindépendants : -induisent une réponse anticorps de courte durée, -faible chez les enfants âgés de moins de 18 mois, -sans réponse mémoire et -n'empêchant pas le portage de la bactérie.

Une solution à ce problème a consisté à conjuguer l'antigène polysaccharidique à une protéine porteuse thymodépendante d'où -une réponse immune plus importante, -plus précoce (dès les 1ères semaines de vie), -avec une réponse mémoire et -diminution ou disparition du portage de la bactérie. Par exemple, le vaccin contre *Haemophilus influenzae* de type b (Hib) est constitué d'un

polysaccharide capsulaire de type b uni par covalence à une protéine porteuse, l'anatoxine tétanique.

4.1.2.3. Vaccins protéiques:

- **Vaccin anti-coqueluche acellulaire**: il a remplacé le vaccin anti- coqueluche entier en raison des effets secondaires importants de ce dernier. Il est constitué d'antigènes purifiés et inactivés de *Bordetella pertussis* (correspondant aux facteurs de virulence de la bactérie).

Ce vaccin est actuellement combiné à d'autres vaccins contre: diphtérie, tétanos, poliomyélite et +/- Haemophilus influenzae b +/- hépatite B.

- **Protéines recombinantes**: vaccin contre le virus de l'hépatite B obtenu par expression du gène codant l'antigène HBs du virus dans une cellule eucaryote comme la levure.

- **Pseudoparticules virales ou VLP** (Virus-like particles) : ce vaccin existe contre les papillomavirus. Le vaccin est basé sur la capacité d'autoassemblage de la protéine L1 de la capside virale en pseudoparticules virales ayant une morphologie voisine de celle du virus mais sans matériel génétique ⇒ Ces particules sont donc non infectieuses et incapables de se multiplier mais très immunogènes.
- **Vaccins fragmentés**: vaccin actuel anti-grippal. Il est constitué des antigènes purifiés de surface H (hémagglutinine) et N (neuraminidase) des souches les plus récentes du virus de la grippe A et du virus de la grippe B.

4.2. Vaccins originaux:

4.2.1. Vaccins à base de vecteur viral recombinant:

Les vaccins à vecteur viral utilisent un virus sans danger, non apparenté et atténué (appelé un vecteur viral), qui va fournir aux cellules humaines un gène d'intérêt (ADN) d'un autre pathogène, et ce afin de produire, pour ce pathogène, une protéine virale qui est ensuite reconnue par l'organisme comme étant étrangère. Ces protéines utilisent les processus normaux de l'organisme pour produire en toute sécurité une réponse immunitaire. Les vaccins développés récemment contre le SARS-CoV-2 se servent d'un adénovirus atténué comme vecteur viral,

dans lequel est inséré le gène codant la glycoprotéine de spicule (S) du SARS-CoV-2. Une fois inséré dans nos cellules, le vecteur viral libère cette information génétique dans le noyau cellulaire pour qu'elle soit transcrite en ARNm et ensuite traduite en protéine de spicule (S) dans le cytoplasme. Les vaccins à base de vecteurs adénoviraux sont très immunogènes et déclenchent de fortes réponses du système immunitaire à la fois cellulaire et humorale.

4.2.2. Vaccins à ARN messager (ARNm):

La technologie des vaccins à ARNm est apparue dans les années 1990, mais a été utilisée chez l'homme pour la première fois suite à la pandémie de Covid-19. En effet, ces vaccins qui sont relativement facile à produire, ont joué un rôle majeur pour contenir l'épidémie à l'échelle mondiale. L'ARNm de la glycoprotéine de spicule (S) est synthétisé artificiellement en laboratoire, puis encapsulé dans des nanoparticules lipidiques pour le protéger et faciliter son entrée dans les cellules. Une fois l'ARNm injecté, il sera adsorbé par les cellules musculaires pour être traduit par la suite en protéine S dans le cytoplasme. Cette protéine produite localement par l'organisme va induire une réponse immunitaire spécifique humorale et cellulaire.

5. Indications de la vaccination

Elles peuvent être :

- **Systématiques** : vaccination obligatoire en Tunisie des nourrissons contre diphtérie, tétanos, coqueluche, Haemophilus influenza b, tuberculose, poliomyélite, hépatite B, rougeole et rubéole et des enfants agés de 6 ans contre le virus de l'hépatite A.

- **Sélectives** : pour les populations à risque comme les hémodialysés chroniques (hépatite B), sujets tarés et sujets âgés (grippe), chez les femmes en âge de procréer (rubéole).

- **Occasionnelles** : vaccin contre l'hépatite A en cas de voyage dans une zone d'endémie, ou contre la grippe en cas d'épidémie, vaccin anti- méningocoque pour les pélerins à la Mecque.

- **D’urgence** : vaccin contre l’hépatite B associé à l’injection d’immunoglobulines, pour les personnels de la santé exposés à un risque de contamination par le virus de l’hépatite B ou pour un nouveau-né issu d’une mère infectée par ce même virus.

L’objectif maximum de la vaccination est l’éradication de la maladie. Cet objectif a été atteint pour la variole dont l’éradication définitive a été déclarée officiellement par l’OMS en 1979. La poliomyélite est également en voie d’éradication.

Annexe

Exemples de vaccins anti-viraux et anti-bactériens selon leur mode de préparation

Type de vaccine			Anti-bactérien	Anti-viral
Agents infectieux entiers	Non vivant		Coqueluche à germe entier (n'est plus utilisé)	Polio injectable Grippe Hépatite A Rage
	Vivant	Hétérologue		Variole
		Atténué	Tuberculose (BCG)	Polio oral Rougeole Rubéole Oreillons Varicelle-Zona Rotavirus Fièvre jaune
Sous-unités	Anatoxines		Diphtérie-Tétanos	
	Polysaccharides	Non conjugués	**Méningocoque:** - sérogroupe A+C - sérogroupe A+C+ W135+Y **Pneumocoque 23** (adulte)	
		Conjugués	**Méningocoque C** **Pneumo 7-valent** (enfant) **Haemophilus influenzae b**	
	Protéiques		Coqueluche acellulaire	VHB Papillomavirus Grippe

5-PARASITOLOGIE générale

LE MONDE PARASITAIRE ET FONGIQUE

Objectifs éducationnels

1-Définir les paramètres intervenant dans l'interprétation des particularités épidémiologiques, cliniques, physiopathologiques, diagnostiques et thérapeutiques des affections humaines parasitaires et mycosiques :

- Parasite et parasitisme
- Parasites - Diversité - Spécificité – Classification
- Relation hôte parasite et pathogénicité
- Cycles parasitaires - Épidémiologie

INTRODUCTION

La parasitologie médicale comporte des approches différentes mais complémentaires :

● les parasites et champignons microscopiques en tant qu'agents pathogènes avec leurs morphologies et leurs biologies propres.

● le parasitisme forme particulière et dépendante entre deux organismes vivant en relation étroite.

● la maladie parasitaire ou mycosique et son environnement, résultats pathologiques du contact précédent entre le parasite ou champignon et son hôte. Cette relation entre l'hôte et son parasite se situe dans un environnement influant intervenant dans l'épidémiologie et la lutte contre les grandes endémies parasitaires exotiques.

Ces différents chapitres interdépendants nécessitent quelques définitions.

1. PARASITE ET PARASITISME

Le parasitisme est un contact particulier entre deux êtres vivants : le parasite et son hôte. De la forme libre indépendante au parasitisme, forme de contact nécessaire et dépendante, divers intermédiaires sont à distinguer :

● **La vie libre** : l'organisme peut subvenir par lui-même à ses besoins métaboliques.

● **Le saprophytisme** : l'organisme se nourrit de matières organiques ou végétales en décomposition dans le milieu extérieur.

● **Le commensalisme** : l'organisme se nourrit de matières organiques sur un être vivant (milieu buccal, intestin) sans entraîner de troubles ou de spoliations chez son hôte.

● **La symbiose** : les êtres vivent en étroite collaboration dans une association bénéfique aux deux parties (équilibres des flores intestinales ou vaginales).

● **Le parasitisme** : l'organisme parasite vit aux dépens d'un hôte qui lui fournit un biotope et/ou des éléments nutritifs nécessaires à sa survie, cet hôte en pâtissant de façon plus ou moins grave.

Le parasite est ainsi défini comme un être vivant animal ou champignon (règne des Fungi) qui pendant une partie ou la totalité de son existence vit aux dépens d'autres êtres organisés (hôtes).

Le prédateur tue sa proie pour s'en nourrir.

Parasitisme et opportunisme : le parasitisme, échange entre deux êtres, dépendant et préjudiciable pour l'un d'entre eux n'est durable qu'à travers un équilibre parfois fragile entre le parasite et son hôte indispensable à sa survie. Les différents stades entre la vie libre et le parasitisme ne sont pas définitivement déterminés pour un agent infectieux. Il peut, par exemple, passer d'une forme de vie saprophyte à une étape parasitaire virulente (parasitisme facultatif) quand son hôte perd les défenses qui maintenaient un certain écart entre eux (cas des parasites et champignons **opportunistes** dans les tableaux d'immunodéficiences humaines rétrovirales ou thérapeutiques).

Parmi les différents chapitres composant la microbiologie infectieuse, il est convenu en France de regrouper parasites et champignons microscopiques dans une même discipline : la Parasitologie-Mycologie, en y associant un volet particulier exotique prenant en compte les plus grandes endémies parasitaires des pays en développement.

2. PARASITES- DIVERSITE- SPECIFICITE- CLASSIFICATION

Diversité La diversité est la règle en parasitologie. De par leur morphologie et leur biologie (mobilité, reproduction, métabolismes) les parasites sont extrêmement divers, même au sein d'une même famille :

Morphologiquement : la taille d'un parasite peut dépasser 10 mètres (Taenia) et rester de l'ordre du micromètre (microsporidies, leishmanies). Leur recherche peut être assurée par un examen à l'oeil nu (Taenia), la microscopie optique classique (plasmodies) voir électronique (microsporidies).

Stades parasitaires : un même parasite (protozoaire, helminthe, micromycète, ectoparasite) peut prendre chez l'homme, dans le milieu extérieur, ou chez l'hôte intermédiaire, des formes particulières correspondant à différents stades de son développement. Ils sont macro ou microscopiques, intra ou extra cellulaires sous forme adulte ou larvaire, les micromycètes se présentant sous forme de spores ou filaments, les ectoparasites insectes sous forme d'œuf, de larve (nymphe) ou d'adulte (imago).

On parlera de parasites, sous formes libres ou intracellulaires (globules sanguins blancs ou rouges, hépatocytes), adultes mâles et femelles, œufs, larves, formes de résistance (kystes), formes asexuées ou à potentiel sexué.

Les parasites peuvent être permanents, leur existence entière se déroule dans un ou plusieurs hôtes (Tænia, trichine), temporaires partageant leur vie entre une forme libre dans l'environnement et l'autre parasitaire (douves, anguillules), ou encore facultatifs ayant une vie saprophytique mais occasionnellement parasitaire (parasites et champignons opportunistes, myiases).

Spécificité

Les parasites sont plus ou moins étroitement liés à leur hôte. Les parasites sténoxènes (poux, hématozoaires..) sont adaptés, inféodés à un seul hôte, les euryxènes au contraire ne présentent qu'une spécificité lâche : c'est le cas des agents des parasitoses communes à l'homme et aux animaux (distomatoses, formes larvaire des tænias : hydatidose).

Classification biologique des parasites

● Ils sont *intra et/ou extra cellulaires* : au cours de leur cycle certaines formes parasitaires doivent assurer une partie de leur métabolisme au dépend de celui d'une cellule de leur hôte : globule rouge ou blanc, cellule hépatique ou intestinale.

● Leurs *localisations et migrations* sont diverses : si certains parasites et tous les champignons n'ont pas de moyens pour se déplacer par eux-mêmes, ils sont éventuellement transportés par voie aérienne intestinale ou sanguine, certains ont la faculté de ramper, d'avancer grâce à des pseudopodes, des ventouses, des cils, flagelles, ou membrane ondulante et de pénétrer activement le revêtement cutané ou les muqueuses ; ils ont des localisations préférentielles chez l'homme, intra ou extracellulaire, sanguines ou lymphatiques, tissulaires, cutanées, hépatospléniques, cérébrales, cardiaques, rénales ou tubaires (intestins, arbre urinaire, bronches).

Biologiquement et morphologiquement :

On classe les parasites en 4 grands groupes :

1. *Protozoaire* (être unicellulaire doué de mouvement) : selon les cas il se déplace grâce à des plasmopodes (rhizopodes), des flagelles, membrane ondulante ou des cils .Ils se présentent sous forme asexuée ou à potentiel sexué, mobile ou enkysté, intra ou extracellulaire.

2. *Helminthe ou ver* (une part des métazoaires : être pluricellulaire possédant des tissus différenciés). Ils sont reconnus sous formes adultes des deux sexes sous forme larvaire, embryonnaire ou ovulaire.

3. *Fungi ou micromycètes*, ces derniers constituent un règne à part entière, ce sont des champignons microscopiques identifiés sous forme de spores isolées ou regroupées ou de filaments libres ou tissulaire.

4. *Arthropodes, mollusques, pararthropodes (porocéphale), ou annélides* sont des métazoaires, pluricellulaires et possédant des tissus différenciés. Insectes, arachnides mollusques et crustacés, pouvant se présenter sous formes adultes (imago) males et femelles, œufs et larves (nymphes).

L'identification et le classement dans une telle diversité sont difficiles.

Nomenclature et systématique (taxonomie) des parasites humains d'abord morphologique fait maintenant appel à d'autres critères génétiques et immunologiques. Les lois de la systématique sont simples mais strictes. Depuis Charles Linné tous les animaux et végétaux sont désignés par deux mots latinisés (binôme linnéen) (le premier : nom de genre, porte une majuscule, le second sans majuscule est le nom d'espèce (les deux en italiques ou soulignés) suivi du nom de l'auteur qui l'a attribué la première fois et de la date de cette attribution. L'espèce est l'ensemble d'individus dont le croisement, fait au hasard, donne toujours des descendants indéfiniment féconds entre eux, le genre regroupant des espèces affines.

Ex : Culex pipiens Linné 1758

Genre et espèce sont issus d'une suite d'étapes :

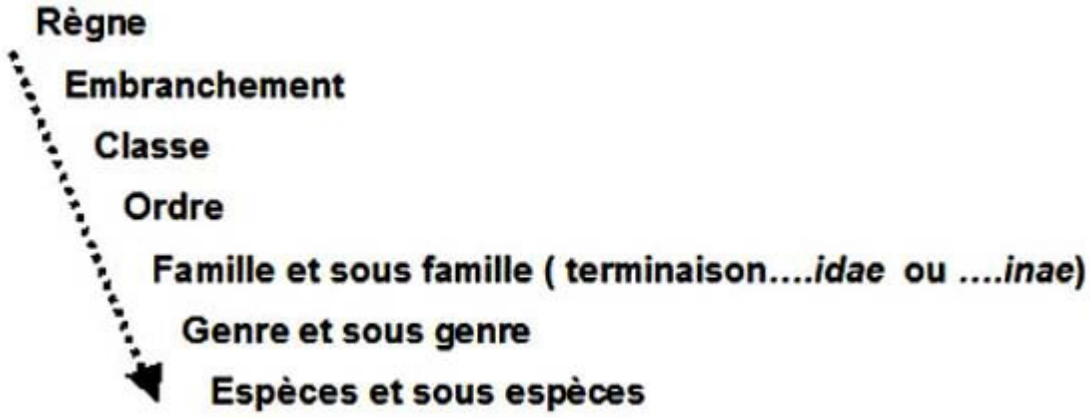


Figure 1 : Genre et espèce sont issues d'une suite d'étapes

Les naturalistes face à la diversité croissante ont du créer le sous-genre, avec une majuscule et entre parenthèses, après le nom de genre, et la sous espèce qui s'écrit sans majuscule après le nom d'espèce.

Ex : *Anopheles (Maculipennia) maculipennisatroparvus van Thiel 1927*

Pour en savoir plus :

Tableau I. Classification des parasites et maladies correspondantes

PROTOZOAIRES	
Embranchement des Apicomplexa (sporozoaires)	
Plasmodium falciparum	Paludisme
Plasmodium vivax	
Plasmodium ovale	
Plasmodium malariae	
Plasmodium knowlesi	
Toxoplasmagondii	Toxoplasmose
*Sarcocystishominis**	Coccidioses intestinales
Isospora belli	
Cryptosporidiumsp.	
Cyclosporacayetanensis	
Embranchement des Rhizoflagellés	
Classe des Rhizopodes	
Entamoebahistolytica (amibe dysentérique)	Amoebose intestinale et tissulaire
Entamoebadispar	Amibes non ou peu pathogènes
Entamoebahartmanni	
Entamoeba coli	
Endolimaxnanus	
Iodamaebabutschlii	
Naegleriafowleri	Méningoencéphalites et kératites amibiennes
Acanthamoebaspp.	
Classe des Flagellés	
Trypanosomabruceigambiense	Trypanosomoses africaines (maladie du sommeil)
Trypanosomabruceirhodesiense	
Trypanosomacruzi	Trypanosomose américaine (maladie de Chagas)
Leishmania donovani	Leishmaniose viscérale de l'Ancien Monde (kala-azar)
Leishmania infantum	
Leishmania tropica	Leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde
Leishmania major	
Leishmania brasiliensis	Leishmaniose cutanée ou cutanéomuqueuseaméricaine
Leishmania mexicana	
Giardia intestinalis ou Giardia duodenalis	Giardiose intestinale (anciennement « lambliase »)
Trichomonas hominis	Flagelloses intestinales non pathogènes
*Chilomastixmesnili**	
*Embadomonasintestinalis**	
*Enteromonashominis**	
*Dientamoebafragilis**	
Trichomonas vaginalis	Trichomonose urogénitale
*Trichomonas tenax**	Flagellose buccale, non ou peu pathogène

Embranchement des Ciliés	
*Balantidium coli**	Balantidiose
Position incertaine	
Encephalitozoonintestinalis	Microsporidioses
Enterocytozoonbieneusi	
*Blastocystishominis**	Blastocystose, rarement pathogène
HELMINTHES	
Embranchement des Némathelminthes (vers ronds)	
Classe des Nématodes, ovipares	
Trichuristrichiura(trichocéphale)	Trichocéphalose
Enterobiusvermicularis(oxyure)	Oxyurose
Ascaris lumbricoides(ascaris)	Ascaridiose
Ancylostomaduodenale(ankylostome)	Ankylostomoses
Necatoramericanus(ankylostome)	
Strongyloidesstercoralis(anguillule)	Anguillulose
Toxocaracanis	Larvamigrans viscérale (toxocarose)
Ancylostomabrasiliensis	Larvamigrans cutanée (larbish)
Anisakisspp.	Anisakiose
Classe des Nématodes, vivipares	
Trichinellaspiralis(trichine)	Trichinellose
Wuchereriabancrofti	Filariose lymphatique de Bancroft
*Wuchereriabancrofti var. pacifica**	Filariose lymphatique à microfilarémie apériodique du Pacifique
Brugiamalayi	Filariose lymphatique de Malaisie
Brugiatimori	
Loa loa	Loaose
Onchocerca volvulus (onchocerque)	Onchocercose
Mansonellastreptocerca	Filarioses non ou peu pathogènes
Mansonellaperstans	
Mansonellaozzardi	
Mansonellarhodaini	
Dracunculusmedinensis(filaire de Médine)	
Embranchement des Plathelminthes (vers plats)	
Classe des Trématodes	
Douves	
Fasciolahepatica(grande douve du foie)	Distomatoses hépatobiliaires
Dicrocoeliumdentriticum (petite douve du foie)	
Clonorchissinensis(douve de Chine)	
Opisthorchisfelineus	Distomatoses intestinales
Fasciolopsisbuski	
Heterophyesheterophyes	
Paragonimuswestermani	Distomatoses pulmonaires
Paragonimus africanus	
Schistosomes	

Schistosomahaematobium	Schistosomose (bilharziose) urogénitale
Schistosomamansoni	Schistosomoses (bilharzioses) intestinales
Schistosomaintercalatum	
Schistosomaguineensis	
Schistosomajaponicum	Schistosomoses (bilharzioses) artérioveineusesextrême-orientales
Schistosomamekongi	
Classe des Cestodes	
Taeniasaginata (ténia du boeuf)	Tæniasis intestinal
Taeniasolium (ténia du porc)	Tæniasis intestinal et cysticercose
Diphyllobothriumlatum	Bothriocéphalose
Hymenolepis nana	Hyménolépiose
Echinococcusgranulosus	Échinococcose hydatique
Echinococcusmultilocularis	Échinococcose alvéolaire
*Multiceps*spp.*	Cénuroses*

** Ces parasites, trop rares ou ayant un rôle marginal en pathologie humaine, ne sont pas développés dans cet ouvrage.*

3. RELATION HOTE PARASITE ET PATHOGENICITE

Relation hôte parasite (variations entre le porteur sain de parasites et le malade). Le conflit plus ou moins pathogénique entre le parasite et son hôte peut, cliniquement et biologiquement, s'étendre du portage sain de parasites (ou de champignons) par l'hôte à la maladie chronique avec des épisodes cliniques plus ou moins aigus et répétés. L'équilibre nécessaire à la survie du parasite et de l'hôte est fragile et cette « paix armée » définie par Sergent (à propos du paludisme) dans la relation entre le parasite et son hôte dépend de facteurs propres aux parasites et de ceux résultant des défenses de l'hôte. Les parasites sont diversement virulents et la pathogénicité reste en partie liée à la quantité de parasite ou de champignon et à leur pouvoir de contourner les défenses que l'hôte va leur opposer. L'hôte parasité en plus d'une réceptivité qui lui est propre va engager contre son parasite des modes de défense aspécifique commune aux agressions par tous les pathogènes (réactions inflammatoires, allergiques…), et des réponses spécifiques (réactions immunes humorales et cellulaires dirigées contre une forme parasitaire ou le parasite dans son ensemble).

● La symptomatologie est en rapport avec certaines localisations et leurs implications métaboliques qui créaient une gradation du risque pathogène : les ectoparasites sont relativement bien supportés, les parasites du tube digestif le

sont moins, ceux de la cavité générale moins encore, mais les parasites des tissus différenciés sont souvent gravement pathogènes, les parasites intracellulaires les plus évolués étant les plus sévères.

● La spécificité parasitaire est le résultat dans le temps d'une adaptation du parasite aux conditions de vie dans son hôte : un parasite « récent », peu adapté, peu spécifique va cliniquement entraîner une maladie bruyante et grave, alors qu'un parasite mieux adapté, plus spécifique engendrera une maladie mieux supportée, chronique et tenace. La gravité entre les divers parasites restant à la base fonction de leur agressivité spécifique.

La pathogénicité des parasites dépend de la diversité de ces derniers, de leurs localisations, migrations, métabolismes, aux différents stades de leur développement.

Rarement isolés différents types d'action sont souvent impliqués :

● **L'action spoliatrice** : le parasite vivant aux dépens de son hôte est spoliateur par définition. Les spoliations souvent mineures s'expriment davantage si les parasites sont nombreux (anémie ankylostomienne) ou lorsqu'ils détournent à leur profit certaines substances (anémie de Biermer par spoliation en vitamine B12 dans le cas de la bothriocéphalose). La spoliation sanguine est le résultat de gaspillage (ankylostomes hématophages broutant la muqueuse duodénale), d'hémolyse (hématozoaires du paludisme), agénérative centrale (pancytopénie des leishmanioses viscérales).

La spoliation intestinale est rarement directement en cause (tænias, ascaris)

● **L'action mécanique-traumatique** fréquente est fonction de la taille des parasites, de leurs localisations, et leurs éventuelles migrations ectopiques. Elle peut être microscopique (éclatement de globules blancs pour les leishmanies et de globules rouges dans le cas de l'hématozoaire, des cellules rétiniennes par le toxoplasme), ou macroscopique bruyante comme l'occlusion lymphatique (filariose lymphatique), biliaire (douves) ou intestinale par un paquet d'ascaris, la migration ectopique ou la perforation d'un ver, ou encore la compression par un kyste hydatique, l'agression duodénale par les ankylostomes.

● **L’action traumatique bactérifère**: tout parasite perforant une muqueuse ou le revêtement cutané peut constituer une porte d’entrée microbienne (amibes et abcès amibien, filaire de Médine et perforation au niveau des malléoles).

● **L’action irritative** : elle peut être réflexe (spasmes intestinaux de l’intestin agressé , diarrhées, épisodes de toux au passage de formes vermineuses larvaires…) mais elle va surtout à plus long terme entraîner la formation de granulomes inflammatoires autour des œufs ou larves parasitaires (dermatite parasitaire et granulomes inflammatoires des bilharzies et larvamigrans) et/ou des foyers de scléro-fibrose (filarioses, bilharzioses), restant suspect dans la genèse de complications néoplasiques (bilharziose urinaire et cancer de la vessie, opisthorchiose et cancer hépato-biliaire).

● **L’action toxique** due à l’émission d’excrétion/sécrétion toxiques d’arthropodes dans les plaies de piqûre ou de produits métabolisés par le parasite et qui auront des actions allergisantes voir anaphylactiques, histolytique comme les amibes nécrosantes, hémolytique dans le cas du paludisme ou nécrotique dans quelques parasitoses à tiques. L’action toxique est souvent majorée à la mort du parasite suite à un traumatisme ou au traitement (fissuration ou rupture d’un kyste hydatique, lyse sous thérapeutique des microfilaires) avec de fréquents phénomènes allergiques ou anaphylactiques.

● **L’action infectieuse** : coexistence entre un parasite et un microbe, est parfois mise à juste titre en évidence dans le couple bilharzies-salmonelles ou la salmonelle enchâssée dans le schistosome échappe à la thérapeutique curative complète, elle est plus discutable dans la relation entre l’appendicite et l’oxyure.

● **L’action immunodépressive**, allergique voir anaphylactique est celle de tout corps étranger pénétrant un organisme qui se défend.

● **Notion de complexe pathogène** : Ces modes d’actions souvent multiples plus ou moins spécifiques d’un parasite, se mêlent à ceux d’autres agents infectieux parasitaires, bactériens ou viraux, qui sur un fond de nutrition déficient, définissent des complexes pathogènes malheureusement interactifs impliqués dans tous les phénomènes morbides et mortels propres aux pays en voie de développement.

(Quelques associations morbides et mortelles : paludisme et rougeole, bilharzioses et salmonelloses, parasitisme et malnutrition, opportunistes parasitaires et mycosiques et immunodépression rétrovirale ou thérapeutique ….)

● **Réactions excessives de l'hôte** : Certaines réactions excessives de l'hôte à l'infestation parasitaire peuvent être pathogènes. Il peut s'agir de processus cellulaires, tissulaires et immunologiques :

○ Processus cellulaires : ils mobilisent, macrophages, éosinophiles, histiocytes intervenant par exemple dans l'anémie normo ou hypochrome, associée éventuellement à une pancytopénie et sous dépendance comme dans le cas du paludisme de phénomène de séquestration splénique et splénomégalie.

○ Processus tissulaires : ils s'expriment par les granulomes réactions autour d'un œuf (bilharzioses) ou d'une larve (toxocarose) modifiant les fonctions tissulaires, évoluant éventuellement vers des calcifications (vessie et uretères dans la bilharziose uro-génitale) ou par des développements scléro-fibreux excessifs (éléphantiasis des filarioses lymphatiques) et dans certains cas par une implication dans les phénomènes de cancérisation (bilharziose urinaire et cancer de la vessie).

○ Processus plus directement immunopathologiques : ils impliquent antigènes, anticorps et complexes immuns circulants participant à la formation de métaplasies réactionnelles (paragonimose), de granulomes, de phénomènes allergiques et anaphylactiques.

● **Facilitation (Favorisation) parasitaire et Echappement (Evitement)** : Le parasite co-évoluant avec son hôte s'organise pour assurer sa survie (adaptation) par différents moyens : une très forte fécondité comme dans le cas des taeniases (*T. saginata*peut produire plus de 100 millions d'œufs par an !), la polyembryonie au stade larvaire souvent (rédies des schistosomes dans le mollusque, une résistance particulière au milieu extérieur (l'oeuf d'ascaris peut survivre plusieurs années), une longévité de plusieurs années (plus de dix ans pour *P. malariae*, l'anguillule, les bilharzies ou les filaires) et des adaptations métaboliques et immunologiques à leurs hôtes.

Cette facilitation de la survie parasitaire s'ajoute à des phénomènes d'évitement ou échappement parasitaire afin de contourner les défenses aspécifiques et spécifiques que peut lui opposer son hôte.

La forme parasitaire intracellulaire est la plus puissante, elle peut mettre en jeu différents mécanismes (utilisation de récepteurs cellulaires, inhibition de la fusion phagosome-lysosome et des enzymes lysosomiaux, détoxification des composés oxygénés, « évasion » du lysosome, modifications et ou modulations des molécules du CMH, de la sécrétion des cytokines, de l'activité du complément ou de l'apoptose des macrophages…), mécanismes différents de ceux des formes parasitaires extracellulaires (effets d'isolement dans le tube digestif, enkystement, variations antigéniques de surface, et immunomodulation comprenant la stimulation de production d'interféron gamma, la libération d'antigènes solubles, l'hydrolyse des immunoglobulines, la « fabulation » consistant à se couvrir d'antigènes de l'hôte ou l'inhibition du complément…). Ces différents modes de défense du parasite face à son hôte jouent un rôle dans l'équilibre entre l'hôte et son parasite et expliquent les diverses expressions cliniques entre le portage sain de parasites et les tableaux cliniques éventuellement mortels, conséquence d'un déséquilibre à l'avantage du parasite.

4. CYCLES PARASITAIRES - EPIDEMIOLOGIE

Le parasite suit dans un même ordre les étapes d'un cycle qui se développe dans un environnement géophysique et humain (socioculturel) adéquat. Cette chaîne épidémiologique est formée de maillons dont la connaissance orientera l'action thérapeutique ou prophylactique individuelle ou collective.

Le plus souvent la chaîne épidémiologique fonctionnelle comporte un réservoir de parasites (l'homme malade ou un réservoir animal) à partir duquel l'agent pathogène va être pris en charge par un hôte intermédiaire, vecteur incontournable dans la transformation du parasite devenu infestant et prêt à contaminer l'homme sain.

Les conditions déterminantes d'un cycle infestant (ou le maintien d'une chaîne épidémiologique), comportent :

● L'existence d'un réservoir de parasites (l'homme malade ou un réservoir animal),

● La présence d'un ou plusieurs hôtes intermédiaires ou vecteurs incontournables assurant la transformation et la pénétration du parasite chez l'homme,
● Des conditions écologiques (climats, géophysique des sols, faune et flore)
●Des conditions éthologiques (comportements, habitudes socioculturelles, économiques et politiques)
● la résistance du sujet contact (réceptivité génétique ou liée à la profession, l'âge, les maladies associées, ou son état immunitaire naturel ou acquis passivement (anticorps de la mère) ou activement en restant périodiquement confronté au parasite).

Les cycles évolutifs comprennent :
● **Des cycles directs** : cycles courts où le parasite est immédiatement infestant (amibes) ou auto infestant (la forme parasitaire émise, larves ou œufs embryonnés, est immédiatement infestante: c'est le cas des anguillules et oxyures) , ou cycles directs longs : une maturation (éclosions des œufs embryonnés, mues des larves) du parasite doit s'accomplir pendant un court séjour dans le milieu extérieur sous certaines conditions d'humidité et de chaleur et de composition des sols (ascaris, anguillules, ankylostomes).
● **Des cycles indirects** : le parasite passe par un ou plusieurs hôtes intermédiaires (ou vecteur transformateur obligatoire de l'agent pathogène en une forme infestante) : poissons (bothriocéphale, *Opistorchis*) crustacés (douve de Chine), mollusques (douves et schistosomes), mammifères (tænias), fourmi (petite douve).

Réservoir de parasites
Le cycle parasitaire puise ses réserves assurant la survie de l'espèce dans des réservoirs d'agents parasitaires. L'homme malade ou porteur sains de parasites peut assurer ce rôle, le malade devenant alors un risque pour la communauté, le traitement prescrit le sera pour lui-même (stérilisation des formes parasitaires pathogènes) mais devra pouvoir atteindre les formes parasitaires, susceptibles d'assurer la transmission à la collectivité. Parfois le milieu extérieur, de nombreux animaux et végétaux peuvent jouer ce rôle de réservoir et assurer la survie et la

transformation du parasite jusqu'à ce qu'il soit à la portée du futur parasité (rongeurs, antilopes, cresson….).

Les différents hôtes

Le parasite fréquente de façon transitoire ou définitive plusieurs types d'hôtes : l'hôte définitif qui héberge les formes adultes propres à la reproduction et les hôtes intermédiaires dans lesquels le germe doit obligatoirement séjourner avant de devenir infestant.

Hôtes intermédiaires

C'est l'être vivant chez lequel le parasite doit obligatoirement séjourner pour se transformer en une forme (le plus souvent larvaire) infestante pour l'hôte définitif.
Il en existe deux formes :

● L'hôte intermédiaire actif ou vecteur, transformateur incontournable dans l'évolution du parasite et sa transformation en une forme infectante. Chez le vecteur le germe peut subir une multiplication (polyembryonie), une maturation le transformant en une forme infectante après une série de migrations et changements structuraux dans le corps du vecteur (anophèles, mollusques) ou bien encore une maturation en même temps qu'une multiplication (trypanosomes ingurgités par une mouche « Tsé-tsé », se divisant activement et changeant de forme).

● L'hôte intermédiaire passif : Il abrite la forme infestante jusqu'à un passage accidentel chez l'hôte définitif (cyclops et filaire de Médine). On peut en rapprocher certains végétaux « support » de formes ayant déjà subit une maturation chez un autre hôte intermédiaire (mollusque puis cresson sauvage dans le cas des distomatoses).

● La place de l'homme dans les cycles parasitaires est normale (*Taenia*), annexe prenant plus ou moins accidentellement la place d'un animal (mycoses, balantidiose), une impasse parasitaire en « cul de sac », l'évolution du parasite étant arrêtée (larvamigrans) ou une impasse « de circonstances » le cycle parasitaire ne pouvant se poursuivre que si l'homme est lui-même dévoré (trichinose).

● Les cycles parasitaires chez un seul hôte sont dits monoxènes (trichine), et hétéroxènes s'ils comportent plusieurs hôtes (bothriocéphale). Ils sont direct (d'auto infestation ou après un court passage dans le milieu extérieur), ou indirects à un (*T. saginata*) ou plusieurs (bothriocéphales) hôtes intermédiaires.

Les modes d'infestation sont divers :

● Les formes infestantes libres dans la nature peuvent être contaminantes par voie orale (douves), transcutanée (bilharzies), aérienne (micromycètes), sexuelle (Trichomonas).

● D'autres formes infestantes sont souvent transmises par un Hôte Intermédiaire, soit par voie orale (cyclops et Filaire de Médine, poissons et douves, viande de porc, taenia et trichine) soit pour les plus graves par des piqûres (filaires, paludisme), déjections (maladie de Chagas), ou sécrétions(borréliose) d'insectes hématophages.

● La mère peut transmettre des parasites à son enfant par voie transplacentaire. Elle le fera le plus souvent en même temps que les anticorps spécifiques circulants.

● La transmission par transfusion sanguine est possible (paludisme, trypanosomoses…). Le cycle du parasite chez le transfusé n'est pas nécessairement le même que chez le donneur (pour le paludisme le receveur de sang contaminé par des formes sanguines n'aura pas de développement parasitaires dans les hépatocytes, comme c'est le cas chez le donneur parasité).

● La greffe d'un organe parasité est une modalité rare mais possible de contamination (toxoplasmose, paludisme..).

5. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES PARASITOSES ET MYCOSES : GENERALITES

Le processus des analyses médicales effectuées dans le laboratoire comporte 3 étapes successives à savoir :

- l'étape pré-analytique : prélèvement, vérification de la validité de la demande d'analyse, recueil des renseignements cliniques, etc.
- l'étape analytique : réalisation de l'examen ou de la technique biologique

- l'étape post-analytique : validation des techniques, interprétation et rendu des résultats, etc.

Le diagnostic biologique des parasitoses et mycoses est assuré le plus souvent et autant que possible par la mise en évidence de l'agent pathogène (diagnostic direct). Il est des cas ou des moments des cycles parasitaires ou le diagnostic ne peut être orienté qu'à partir de données indirectes résultant des réactions de l'hôte à l'infection (diagnostic indirect).

5.1. Diagnostic direct, macroscopique ou microscopique,

Il tend à mettre en évidence le parasite sous l'une ou l'autre de ses différentes formes (adultes, larves, œufs, kystes, levures ou filaments) et recherché dans les principaux secteurs accessibles (selles, sang, urines, peau, liquide céphalorachidien, liquide broncho alvéolaire, prélèvements muqueux…) ou dans le milieu naturel (sol, air, eaux) dans le cas de recherches épidémiologiques environnementales. Le diagnostic direct, devant le pauci parasitisme fréquent, nécessite la mise en œuvre de techniques particulières tendant à concentrer par centrifugation, filtration, mise en œuvre de techniques d'extraction (technique de Baermann dans l'anguillulose) ou de multiplication par cultures parasitaires ou mycologiques (milieu de Sabouraud) pour les micromycètes adaptées aux agents pathogènes recherchés (milieu N.N.N pour les leishmanies, milieu de Tobie ou plus récemment le kit Kivi pour certaines trypanosomoses….). Des colorations spécifiques permettront d'identifier par leurs morphologies les différents éléments du parasite (hématozoaires, amibes, *Pneumocystis*). L'inoculation à l'animal (souris pour la toxoplasmose, rat de Gambie pour les trypanosomiases), le xéno-diagnostic (Maladie de Chagas) sont parfois nécessaires en cas de pauci parasitisme.

5.1.1. Diagnostic parasitologique :

5.1.1.1. Examen parasitologique des selles :

Le prélèvement doit être effectué avant tout traitement anti-parasitaire.

Il comprend deux étapes :

- Examen macroscopique :

Il permet de noter la consistance, la couleur et la présence éventuellede sang, de mucus…..

- Examen microscopique : comporte:

- Un examen direct à l'état frais pour la mise en évidence de la mobilité des formes végétatives (amibes, Giardia…)

- Une technique de coloration : pour mieux visualiser certaines structures du parasite (MIF, lugol).

- Des techniques de concentration :

Ces techniques permettent d'isoler, avec un minimum de résidus, un nombre maximum de kystes de protozoaires ou des œufs d'helminthes.

On distingue deux grands groupes de techniques:

- Les méthodes physiques (sédimentation ou flottation). Exemple : méthode de Willis
- Les méthodes diphasiques (physico-chimiques). Exemple : méthode de Ritchie

5.1.1.2. Scotch test anal ou méthode de Graham :

Ce test permet de mettre en évidence les œufs d´Oxyures (vers intestinaux), très fréquentschez les enfants et très contagieux.

Un morceau de ruban de scotch adhésif transparent appliqué sur la marge anale puis collé sur des lames porte-objets (figure 2).

Le prélèvement doit être fait le matin avant le lever et avant toute toilette de la marge anale.

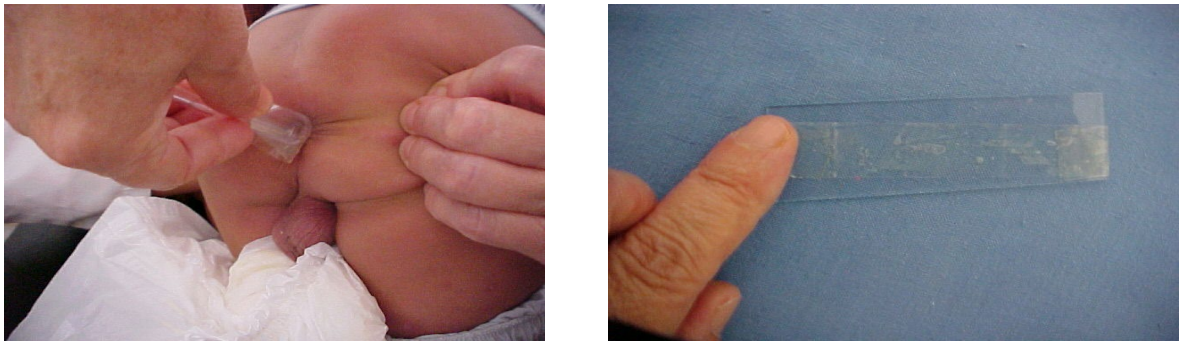


Figure 2 : scotch test anal

5.1.1.3. Autres techniques particulières :

- Méthode de Baerman : permet la recherche des larves d'anguillules

- Colocation de Ziel-Neelson modifiée : est utilisée pour mettre en évidence les oocystes des Cryptosporidies

- Coloration de Weber : permet la recherche de microsporodies.

5.1.1.4. Diagnostic des parasites sanguicoles :

Les parasites sanguicoles peuvent être intracellulaires (plasmodies, leishmanies et toxoplasmes), ou extracellulaires (trypanosomes et microfilaires).

Le diagnostic microscopiquepermet d'identifier l'espèce parasitaire en cause, son stade de développement, et le nombre de parasites (parasitémie).

Les techniques comportent l'examen direct reconnaissant les parasites extracellulaires mobiles entre les globules rouges ou l'examen de frottis ou gouttes épaisses colorés.

- Le frottis sanguin :

La recherche des parasites s'effectue au microscope sur du sang étalé sur lames de verre et coloré. Le prélèvement de sang appliquée au bout du doigt (vaccinostyle stérile) ou à partir d'un prélèvement EDTA. Ces frottis sont colorés par le May Grunwald Giemsa (MGG) (figure 3).

Le frottis permet l'identification aisée de n'importe quelle espèce parasitaire, ainsique de son stade, mais aussi une estimation de la charge parasitaire sanguine (parasitémie).

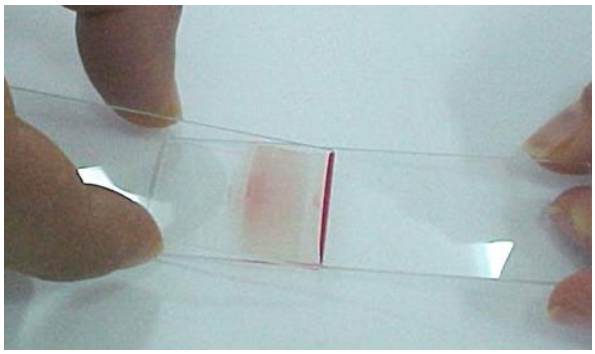


Figure 3 : Frottis sanguin

- La goutte épaisse :

C'est une technique de concentration qui repose sur l'observation complète d'une préparationsanguine, déposée en un cercle réduit sur unelame de verre standard puis hémolysée via différentstypes d'agents comme l'eau distillée,et ensuite colorée selon la méthode de Giemsa (figure 4). Contrairement au frottis sanguin mince, l'intégrité des cellules sanguines n'est plus préservée.

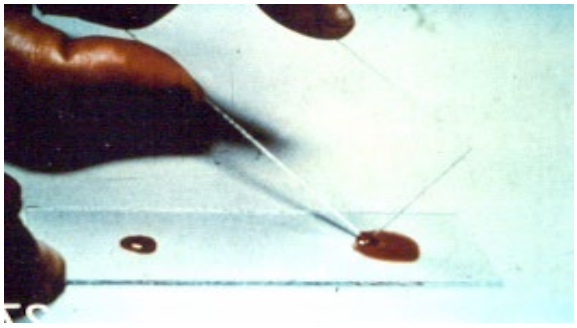


Figure 4 : Goutte épaisse

5.1.2. Diagnostic mycologique

Le diagnostic mycologique comprend 4 étapes importantes :

- Le prélèvement
- L'examen direct
- La culture sur milieux appropriés
- L'identification des champignons isolés.

5.1.2.1. Prélèvement :

Les modalités du prélèvement dépendent de la localisation des lésions (peau, ongle, muqueuses, liquides biologiques…).

Les prélèvements doivent être réalisés avant toute toilette corporelle (prélèvements cutanés surtout) ou traitement spécifique sinon après une fenêtre thérapeutique pour les antifongiques.

- **Lésions cutanées:**

Le grattage avecune curette en bordure de lésion

Pour le Pityriasis versicolor, faire un scotch test cutané.

- **Teignes du cuir chevelu (prélèvement de cheveux et de poils) :**

Arracher avec la pince à épiler les cheveux cassés.

- **Lésions unguéales :**

Il est préférable de couper avec un ciseau toute la partie de l'ongle atteint jusqu'à la limite avec la partie saine, puis on racle la table interne avec une curette ou un vaccinostyle.

- **Lésions des muqueuses et orifices naturels :**

Utiliser un écouvillon stérile. Bien frotter les lésions apparentes.

- **Prélèvements pulmonaire; LCR ; urines:** récoltés dans un récipientstérile.
- **Sang:** Prélever 5 à 10 ml de sang **sur anticoagulant** ou directement sur milieu de culture prêt à l'emploi.
- **Biopsie de tissus ou d'organes ou pièces opératoires :**

  Séparer le prélèvement en deux :

- Une partie destinée à la culture sera mise dans l'eau physiologique stérile.
- Une partie fixée dans du liquide de Bouin ou du formolservira à l'examen anatomopathologique.

5.1.2.2. Examen direct :

Il doit être fait immédiatement. Il s'agit d'un examen à l'état frais avec de :

- L'eau physiologique en cas de pus, sérosité, LCS, crachat, urine ou selles.
- La potasse à 30 % s'il s'agit de squames ou de fragments d'ongle.
- Coloration (Giemsa, Gomori-Grocott, PAS…) pour les biopsies, le frottis sanguin ou la coloration des états frais.

5.1.2.3. Culture :

L'ensemencement se fait sur les milieux de culture dans des tubes ou des boites de pétri, soit par dépôt des squames, soit par dissémination en stries des prélèvements de nature liquidienne.

Le milieu universel est celui de Sabouraud, il contient du glucose, de l'agar et de la peptone, additionné d'un antibiotique à large spectre (chloramphénicol ou gentamycine).

L'incubation de ces milieux se fait à 27°C pour les prélèvements superficiels et à 37°C pour les prélèvements profonds. La lecture macroscopique et microscopique se fait à partir de 24 heures**.**

5.1.2.4. Identification phénotypique :

L'identification des champignons filamenteux (contaminants, dermatophytes) est basée sur :

- l'observation de la morphologie macroscopique des colonies (couleur, délai de pousse ; consistance,..)
- aspect microscopique (technique du drapeau).

L'identification des levures est basée sur l'observation de la morphologie macroscopique, microscopique et les caractères physiologiques et biochimiques.L'identification physiologique se fait par des galeries d'assimilation des hydrates de carbone et/ou la détection d'enzymes.

5.2. Diagnostic indirect :

Il est spécifique (sérologique à la recherche d'anticorps ou d'antigènes circulants) ou aspécifique (protidogramme, modifications de l'hémogramme anémie, éosinophilie). Sans se substituer à la recherche directe de parasites, le diagnostic indirect est primordial quand le développement parasitaire est insuffisant pour en détecter les premières formes (phases de migrations larvaires des helminthes), dans le cas de localisations viscérales profondes (abcès amibien hépatique ou pulmonaire), lors d'impasses parasitaires (larvamigrans viscérale, kyste hydatique, trichinose), si l'infestation est fugace (toxoplasmose) ou intermittente (trypanosomiase), et à la phase chronique d'affections au long cours traitées ou non. Les réactions immunologiques surtout sérologiques à la recherche d'anticorps ou d'antigènes circulants, doivent être idéalement spécifiques d'espèce et si possible de stade (réactions de précipitation, analyse immunoéléctrophorétique, co-électrosynérèse), sensible et quantitative (réactions d'immunofluorescence indirecte : IFI, méthode ELISA : Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay, réactions d'agglutination directe ou de lyse, d'agglutination passive de particules « latex », d'hémagglutination passive, de déviation ou fixation du complément) pour détecter précocement, suivre l'évolution post thérapeutique, dépister d'éventuelles rechutes et différencier une infection précoce d'une ancienne ou tardive (toxoplasmose). Il est souvent nécessaire d'associer différentes techniques aux qualités complémentaires. La mise au point récente de techniques de recherche de parasites et micromycétes par biologie moléculaire, est d'un apport précieux (PCR qualitative et quantitative en temps

réel par exemple pour toxoplasmose). Certaines techniques (Western-blot, avidité des anticorps, charge immunitaire) sont plus particulièrement utiles pour dater et surveiller une éventuelle transmission et un développement pathologique chez une mère son fœtus ou son nouveau-né dans le cas de la toxoplasmose. Des kits, à la recherche d'antigènes circulants, sont disponibles pour aider au diagnostic (paludisme, aspergilloses pulmonaires invasives…).

Le protidogramme et la numération formule sanguine sont des éléments d'orientation plus difficiles à interpréter en cas de multiparasitisme comme habituellement dans les régions intertropicales.

L'augmentation des IgM totale au-delà de 4 fois le taux normal par exemple est un bon indicateur d'une phase lymphatico sanguine de trypanosomose d'Afrique de l'ouest.

L'anémie est le résultat plus ou moins direct d'une infestation parasitaire sur un fond nutritionnel et dans un complexe pathogène associant parasitoses, bactérioses et viroses chez le même malade. Les principales anémies parasitaires sont l'anémie hypochrome ferriprive, microcytaire de l'ankylostomose (vers hématophages spoliateur) fréquente chez l'enfant, et

l'anémie normochrome, hémolytique, régénérative du paludisme (hématozoaires intra globulaires en division faisant éclater les globules rouges ajouté à une séquestration splénique des érythrocytes sensibilisés par les parasites sanguicoles). D'autres parasitoses sont anémiantes comme les leishmanioses viscérales (kala-azar). Les bilharzioses hépato spléniques (*S.mansoni ou S. japonicum, S. mekongi*) sont accompagnées d'anémie normochrome, régénérative hémorragique, très différentes de la bothriocéphalose rare pouvant entraîner une anémie macrocytaire mégaloblastique parabirmérienne par carence en vit B12 (ce tænia se nourri des précurseurs de la vit B12).

Il faut noter que plusieurs parasitoses anémiantes peuvent coexister, que plusieurs mécanismes anémiants concernent éventuellement la même parasitose (ankylostomose, bilharzioses..) et que ces anémies parasitaires s'associent aux autres causes d'anémies caractérisant les pays en voie de développement intertropicaux, les anémies carentielles et génotypiques (hémoglobinopathies, enzymopathies érythrocytaires).

Modifications des leucocytes :

● **Une leucopénie**

Elle est décrite dans le paludisme viscéral évolutif ou dans le cas d'accès de reviviscence, elle participe à la pancytopénie de la leishmaniose viscérale. Cette leucopénie est parfois retrouvée dans certaines mycoses disséminées avec atteinte médullaire.

● **Un syndrome mononucléosique**

Il est mis en évidence dans le cas de toxoplasmose acquise. Une lymphomonocytose est décrite en phase aigue de la trypanosomose américaine, et s'accompagne de plasmocytose (lymphocytes contenant des granulations colorées par le PAS, témoin de la production intense d'IgM) dans la trypanosomose africaine

● **L'éosinophilie**

Une hyperéosinophilie sanguine est constante dans la plupart des parasitoses à helminthes (vers). Cette hyperéosinophilie est rapidement croissante en période de migrations larvaires surtout tissulaires et se stabilise souvent à un niveau plus faible en période d'installation des adultes (Courbe de Lavier).

L'éosinophilie sanguine est normalement de 1 à 3% des leucocytes soit 100 à 300 éosinophiles/mm3. Les médicaments antihelminthiques spécifiques provoquent en début de traitement une croissance transitoire des éosinophiles qui se normaliseront quand les vers seront éliminés. L'auto infestation dans le cas de l'anguillulose entraîne une hyperéosinophilie oscillante avec des pics correspondant à l'auto infestation. En zone tempérée (Europe) on peut évoquer une ascaridiose, une oxyurose en cas de faible hyperéosinophilie, une taeniase souvent oubliée, ou plus rarement une trichinose par épidémie très éosinophilogène, une distomatose, ou un syndrome de larvamigrans viscérale. En zone intertropicale chaude et humide une hyperéosinophilie est très fréquente et les étiologies multiples chez un même malade : ankylostomoses, filarioses, anguillulose, bilharzioses sont à évoquer en plus des diagnostics déjà évoquées. Dans les méningites aigues à, éosinophiles dues à *Angiostrongyluscantonensis*, l'hyperéosinophilie est inconstante et modérée tandis que la présence d'éosinophiles dans le LCR est habituelle.

● **La thrombopénie**

Elle est le résultat d'une atteinte médullaire, elle concerne souvent la leishmaniose viscérale. Elle est décrite aussi dans l'accès palustre aigu et par hypersplénisme dans les bilharzioses et le paludisme viscéral évolutif.

Points essentiels

● Tailles, métabolismes, formes parasitaires caractérisent la grande diversité des parasites. Ils comportent des protozoaires des vers ou helminthes des insectes et des champignons microscopiques ou micromycetes.

● La pathogénicité, propre aux différentes formes parasitaires est le résultat d'actions traumatiques, spoliantes, inflammatoire, immunopathologique, etc.

● L'expression clinique variable est fonction de la période du cycle : migrations larvaires et biodispersion des adultes intra ou extracellulaires.

● La démarche diagnostique est directe (cherchant à mettre en évidence une forme parasitaire caractéristique), indirecte d'orientation spécifique (mettant en évidence les réactions sérologiques de l'hôte parasité) ou indirecte aspécifique (phénomènes inflammatoires, éosinophilie, protidogramme etc.).

● Les traitements seront individuels (prophylactiques ou curatifs) ou collectifs (prophylaxies, programmes internationaux ou nationaux de lutte contre les endémies).

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

Pr Ayadi Ali

L'HYPEREOSINOPHILIE SANGUINE D'ORIGINE PARASITAIRE

Objectifs éducationnels

1- Décrire la courbe d'hyperéosinophilie de Lavier

2- Interpréter la courbe de Lavier en fonction du cycle évolutif des helminthes

3- Rattacher une hyper-éosinophilie sanguine à son étiologie parasitaire et demander les premiers examens complémentaires les plus pertinents

---

INTRODUCTION

L'hyperéosinophilie (HE) sanguine se définit comme l'augmentation permanente de la valeur de la numération des polynucléaires éosinophiles (PE) au delà d'un seuil généralement admis de 500cellules/mm^3.

Schématiquement, on peut diviser les HE en deux groupes : les HE "réactionnelles", dans lesquelles la production d'IL-5 est liée de manière évidente à une réponse immunitaire à Th2 dirigée contre des allergènes courants (pneumallergènes, trophallergènes, substances chimiques et/ou médicamenteuses) ou des **antigènes parasitaires** ; les HE "non allergiques", liées à des affections comportant un aspect dysimmunitaire (lymphomes, maladie de Crohn et de Whipple, collagénoses, angéites nécrosantes) ou d'étiologie inconnue (syndrome hyperéosinophilique [SHE]).

En Parasitologie, seules les helminthiases, et non les protozooses, sont susceptibles d'entraîner une HE: cependant, cette anomalie peut manquer, notamment en cas d'infection vermineuse ancienne. Seule l'exploration des HE "réactionnelles", de loin les plus courantes, sera abordée ici, celle des autres HE relevant de la discipline (onco-hématologie, médecine interne) qui traite de l'affection associée.

L'hyperéosinophilie vermineuse évolue dans le temps. L'allure générale de ces variations est schématisée par la courbe de Lavier (figure 1), avec ses quatre stade successifs : latence, élévation rapide, plateau et enfin diminution progressive et retour à la normale pour les parasites dont la première phase est

tissulaire. La durée de chacune de ces phases et la valeur maximale de l'hyperéosinophilie varient évidemment avec la nature et le nombre de parasites présents.

Immédiatement après un traitement antihelminthique, on peut observer une augmentation transitoire de l'éosinophilie. Ce phénomène est lié à la lyse des parasites et est comparable à ce que l'on observe en suivant l'évolution quantitative des anticorps circulant dans les verminoses traitées.
Sur les bases très précises que nous venons de rappeler, l'hyperéosinophilie « vermineuse » constitue un phénomène important. Sur le plan pratique, la facilité avec laquelle elle est recherchée peut en faire un élément d'orientation diagnostique surtout pour les parasitoses où elle atteint des chiffres très élevés (1000 à 10 000 éosinophiles/mm^3, par exemple, dans la toxocarose). En outre, cette hyperéosinophilie est un phénomène précoce et elle atteint son maximum avant que la verminose n'ait pu être décelée par des moyens autres que sérologique.

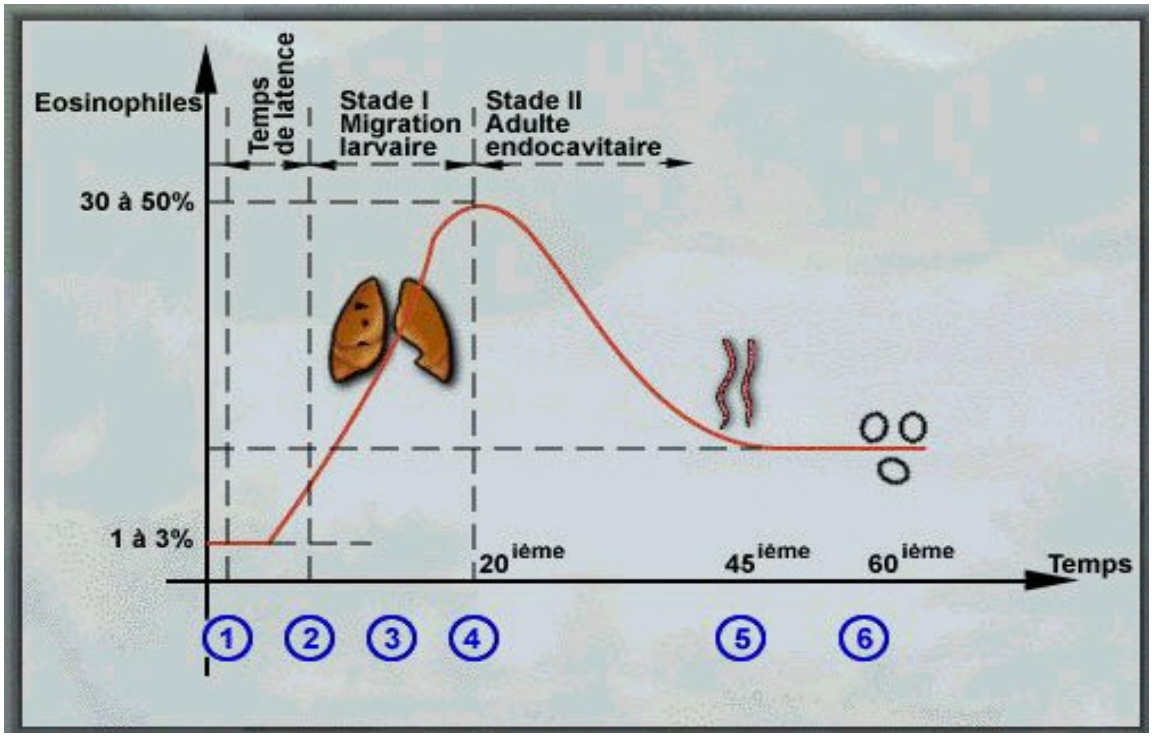


Figure 1 : La courbe de Lavier

Les différents points à aborder pour explorer une hyperéosinophilie sont détaillés ci-dessous.

1. INTERROGATOIRE

Ce premier pas de l'exploration d'une HE est indispensable :

● Toute prise médicamenteuse récente, même anodine, doit faire suspecter une HE liée à la thérapeutique. Certaines substances (bêta-lactamines, héparine calcique, hypocholestérolémiants) ont un pouvoir éosinophilogène notoire, mais toute drogue peut a priori être suspectée. Il conviendra alors, avant d'aller plus loin dans les investigations biologiques, de refaire un hémogramme à distance (2 à 3 semaines) de l'arrêt ou du changement du traitement, ce type d'HE cédant rapidement avec la disparition du stimulus allergisant.

● Le patient donnera sa profession et devra être interrogé sur son mode de vie en Métropole, sur la région où le Service Militaire a été effectué, sur ses voyages ou séjours hors Union Européenne, et pour les migrants, sur le pays d'origine. Il faut éviter le terme "Outre-mer" qui est parfois mal compris.

Cette partie de l'interrogatoire doit être particulièrement minutieuse, les consultants occultant quasi systématiquement voyages ou séjours brefs et / ou datant de plus de quelques années. La strongyloïdose, par exemple, est cependant une affection dont la longévité dépasse les 40 ans; de leur côté, les larves filariformes de *Strongyloïdesstercoralis*traversent la peau en quelques minutes, leur vitesse de migration étant, dans les tissus, de 10 cm par heure : le touriste ordinaire peut donc lui aussi être facilement infecté.

● Toute notion de séjour ou de voyage exotique devra donc faire ajouter aux investigations biologiques la recherche des helminthiases tropicales les plus courantes.

● Il sera également demandé au patient, lors de la prise de rendez-vous, d'amener à la consultation tous les résultats d'hémogramme en sa possession afin d'évaluer l'ancienneté et le type (stable ou fluctuante) de son HE.

2. EXAMENS DE PREMIERE INTENTION

Hémogramme

La découverte d'une HE doit faire prescrire, dans un délai de 2 à 3 semaines, un hémogramme de contrôle.

Nombre d'HE, par exemple chez les sujets atopiques en saison pollinique, sont dues à des allergisations transitoires. Spontanément et rapidement résolutives, elles ne doivent pas en principe faire l'objet d'investigations approfondies. A l'inverse, l'examen de contrôle peut montrer une HE rapidement croissante, souvent évocatrice d'une helminthiase en phase d'invasion.

VS et CRP

En pathologie helminthique, une inflammation objectivée par des perturbations de la VS et du dosage de la CRP ne se voit en principe qu'au cours de la phase d'invasion, dite "toxi-infectieuse", de certaines parasitoses (bilharzioses, distomatose à *F. hepatica*, trichinellose, formes majeures de la toxocarose (*larvamigrans*viscérale). La clinique souvent très évocatrice, les renseignements épidémiologiques et l'HE rapidement croissante doivent alors faire éliminer ces affections en priorité.

3. EXAMENS DE DEUXIEME INTENTION

Dosage des IgE totales

Il s'agit d'un examen "pivot". L'augmentation du titre des IgE totales due aux helminthiases procède d'un mécanisme encore imparfaitement connu. Elle été décrite pour la première fois en 1968 chez des enfants éthiopiens souffrant principalement d'ascaridiose et a été retrouvée ensuite dans la plupart des helminthiases. La seule exception est probablement le taeniasis à *T. saginata*dans lequel l'hyperéosinophilie de la phase d'invasion, bien que parfois considérable, ne s'accompagne pas en principe d'une élévation du taux des IgE totales.

Cette augmentation est en principe importante, au delà de 500 kUI / l. Elle peut manquer chez les individus non répondeurs ou porteurs d'une helminthiase ancienne.

Les HE induites par des substances chimiques (médicaments), ou non allergiques, ne s'accompagnent généralement pas d'une élévation du taux des IgE totales.

Dosage des IgE spécifiques

La recherche et le dosage des IgE spécifiques des principaux pneumallergènes (acariens, pollens d'arbres, d'herbacées et de graminées, épithélia de chat et moisissures) dépistent la plupart des sujets atopiques.

La cinétique de l'éosinophilie, associée au résultat du dosage des IgE totales et de la VS, va permettre à ce stade d'envisager certaines hypothèses causales :

● une HE croissante ou fluctuante, avec IgE totales élevées et absence d'inflammation, est évocatrice d'une helminthiase tissulaire;

● une HE croissante, avec IgE totales et signes biologiques d'inflammation, peut correspondre soit à une helminthiase tissulaire en phase d'invasion, soit à l'association d'une helminthiase et d'une affection inflammatoire;

● une HE croissante, avec IgE totales et marqueurs de l'inflammation dans les limites de la normale, est compatible avec une helminthiase digestive type taeniasis, ou une allergie médicamenteuse;

● une HE stable avec IgE totales dans les limites de la normale ou peu augmentées (terrain atopique) et inflammation sera a priori non allergique.

Coprologie parasitaire

Cet examen est capital, la coprologie parasitaire étant la première des investigations pouvant conduire à un diagnostic de certitude. Lors de la prescription, il faut expliquer au patient que des selles émises la veille du passage au laboratoire peuvent à la rigueur convenir si elles ont été conservées dans un endroit frais (mais pas au réfrigérateur, une nuit à + 4°C tuant, par exemple, les larves d'anguillule).

Etant donné le nombre croissant d'individus exposés à la strongyloïdose (migrants, voyageurs), et l'existence de foyers d'anguillulose dans l'Union Européenne (Catalogne, Italie du Nord ainsi qu'en France).

Il faut indiquer sur la prescription que la technique de Baermann, spécifique des larves d'anguillule, doit être effectuée.

En raison des particularités du cycle reproductif d'*Enterobiusvermicularis*(femelles gravides pondant à l'extérieur du tube digestif), les techniques coprologiques habituelles sont assez mal adaptées au diagnostic de cette helminthiase. La méthode de choix est le test à la cellophane adhésive ("scotch-test") de Graham, dont la fiabilité est conditionnée par l'absence de toilette préalable.

Devant une notion d'HE tropicale, il sera ajouté aux coprologies parasitaires, en fonction des renseignements épidémiologiques :

● une recherche de microfilaires sanguicoles à midi (loase, mansonelloses, filariose à *Wuchereriabancrofti*"apériodiques" de la zone Pacifique et à minuit (filarioses lymphatiques, mansonelloses);

● une recherche des microfilaires cutanéo-dermiques (*Onchocerca volvulus* et *Mansonellastreptocerca*) par scarifications cutanées;

● un examen parasitologique des urines à la recherche d'œufs de *Schistosomahaematobium*.

4. TRAITEMENTS D'EPREUVE

Du fait des insuffisances du diagnostic parasitologique direct, une HE pour laquelle les examens sus-cités, correctement exécutés, n'auront fourni aucune étiologie doit bénéficier d'un traitement d'épreuve avant de poursuivre les investigations biologiques. Celui-ci concernera en priorité le taeniasis et l'oxyurose, et éventuellement la strongyloïdose si les antécédents épidémiologiques sont compatibles.

Le schéma suggéré utilise le praziquantel (Biltricide ®), à la posologie de 15 mg/kg en une seule dose au cours d'un repas, relayé par le flubendazole (Fluvermal). Si une strongyloïdose est envisageable et si le patient n'a pas séjourné dans une zone d'endémie filarienne (spécialement loase), le flubendazole est remplacé par l'ivermectine (Stromectol ®). Dans le cas contraire, afin d'éviter une réaction de lyse des microfilaires, l'albendazole(Zentel ®) est utilisé, à la posologie de 10 mg/kg/ jour pendant 5 jours.

Un hémogramme de contrôle, effectué 2 semaines après la deuxième cure de flubendazole, ou 2 mois après la cure d'ivermectine ou d'albendazole, devra montrer une disparition de l'HE.

5. SERODIAGNOSTICS DES HELMINTHIASES

A partir des années 70, l'introduction en Parasitologie de techniques immunodiagnostiques fiables et performantes a entraîné la diminution drastique du nombre des hyperéosinophilies idiopathiques. Il faut seulement ne pas céder à

la facilité et se souvenir que les investigations sérologiques sont complémentaires et non exclusives des examens directs décrits ci-dessus.

Lorsque des informations épidémiologiques et un syndrome clinico-biologique évocateurs accompagnent l'HE, la demande de sérodiagnostic peut être ciblée. Par exemple, un syndrome toxi-infectieux avec hépatite faisant suite à une consommation de cresson orientera vers une distomatose à *F. hepatica*. Cependant, les signes cliniques d'accompagnement sont souvent non spécifiques, et l'interrogatoire à visée épidémiologique peu informatif. Les sérodiagnostics des helminthiases seront donc effectués de façon groupée. Un "panel" courant comprend les sérologies de la distomatose, de l'hydatidose, de la strongyloïdose et de la toxocarose. En cas de notion d'HE tropicale, les diagnostics des filarioses et des schistosomoses sont ajoutés. Dans la mesure du possible, deux méthodes seront effectuées par sérologie.

L'autre raison de grouper les immunodiagnostics des helminthiases et doubler les techniques est l'existence de communautés antigéniques à l'origine de possibles réactions croisées. La fréquence et le degré de ces réactions croisées sont fonction de la nature de l'helminthe en cause (les Nématodes sont le plus souvent incriminés), de l'intensité de l'immunisation, de la nature du réactif antigénique et de la technique utilisés : le bilan sérologique devra comporter, si nécessaire, une conclusion générale, indispensable en cas de séropositivités multiples; en cas de négativité, il pourra être refait quelques mois plus tard, surtout si les IgE totales sont augmentées.

CONCLUSION

L’exploration des HE, même limitées aux formes réactionnelles, est donc une démarche complexe mais nécessaire, qui requiert une étroite collaboration entre le Clinicien et le Biologiste. Correctement effectuée, elle donne des résultats satisfaisants et permet notamment le diagnostic d'helminthiases chroniques passées cliniquement inaperçues.

Références

Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL), Campus de Parasitologie-Mycologie.

Pr Ayadi Ali

6-SEMIOLOGIE INFECTIEUSE

SEMIOLOGIE INFECTIEUSE

Objectifs éducationnels

1. Décrire les principaux signes cliniques et biologiques observés au cours des infections.
2. Définir la fièvre et l'hypothermie.
3. Décrire les variations physiologiques de la température.
4. Décrire les modalités de mesure de la température et de la réalisation d'une courbe de température.
5. Préciser, par l'interrogatoire, le mode de début et d'évolution dans le temps de la fièvre.
6. Décrire une courbe de température.
7. Identifier les éléments de l'examen physique à chercher devant un malade fébrile.
8. Différencier une fièvre d'une hyperthermie et d'une une fièvre factice.
9. Définir les différents états infectieux.

---

1. INTRODUCTION :

L'infection est le résultat de l'agression de l'organisme humain par un micro-organisme. Il en résulte une réponse inflammatoire liée à la présence de l'agent pathogène ou à l'invasion d'un tissu. Lorsqu'elle est symptomatique, l'infection se manifeste par des signes subjectifs rapportés à l'interrogatoire et par des signes objectifs retrouvés à l'examen physique.

Nous abordons dans ce cours les principaux signes cliniques (fonctionnels et physiques) et biologiques orientant vers une infection et nous définissons les différents états infectieux.

2. SEMIOLOGIE CLINIQUE AU COURS DES INFECTIONS :

Les signes cliniques observés au cours des processus infectieux peuvent être localisés et/ou généraux. Les signes localisés au niveau d'un organe ou d'un appareil dénotent de l'infection de ce dernier. Les signes généraux orientent vers un processus infectieux évolutif dans l'organisme, sans orienter vers le ou les sites de l'infection.

Ces signes cliniques ne sont pas pathognomoniques d'une infection, mais sont fortement évocateurs.

2.1. Les signes généraux :

Les signes généraux les plus fréquents orientant vers un processus infectieux sont :

- La fièvre : fréquente et fortement évocatrice. L'analyse de ses caractéristiques est intéressante puisqu'elle peut orienter vers l'origine de l'infection. Un chapitre spécifique lui est réservé.

- Les arthralgies : douleurs ressenties au niveau des articulations. Elles sont souvent diffuses.
- Les myalgies : douleurs ressenties au niveau des muscles.

- Une éruption cutanée diffuse ou un purpura diffus

- L'asthénie : plutôt physique et sexuelle que psychique.

- L'anorexie.

- L'amaigrissement : Elle est la conséquence d'une anorexie et/ou d'une diarrhée qui se prolongent.

- L'association d'une asthénie, d'une anorexie et d'un amaigrissement constitue la classique altération progressive de l'état général. Elle n'est pas spécifique de l'infection mais oriente, quand elle est d'origine infectieuse, vers un processus à évolution subaiguë ou chronique.

- L'association d'une altération de l'état général à une fièvre vespéro-nocturne accompagnée de sueurs, constitue des signes d'imprégnation tuberculeuse.

- Le Syndrome infectieux : Fièvre, précédée parfois de frissons et associée à des arthro-myalgies, une asthénie, et une anorexie.

- Le Syndrome septicémique : Débute très souvent de façon brutale. Il est marqué par une asthénie et des frissons intenses, pouvant être associés à une cyanose des extrémités et à des marbrures, visibles particulièrement en regard des genoux et des cuisses. Ces frissons durent quelques minutes et laissent ensuite la place à un pic de fièvre à 39 – 40°C. L'examen note, outre les signes orientant vers le point de départ de l'infection, un patient très asthénique, tachycarde, parfois

polypnéïque voire agité. Sa TA peut être normale ou abaissée signant la gravité du tableau.

2.2. Les signes localisés :

- **La douleur** : s'exprimant au niveau du foyer infectieux. Exemple : douleur thoracique en cas de pneumonie, céphalée en casque en cas de méningite, douleur de la mâchoire en cas d'abcès dentaire…

Le caractère lancinant de la douleur oriente vers un foyer infectieux bactérien collecté ou en voie de collection, principalement au niveau cutanéo-muqueux ou ostéo-articulaire.

- **Les signes inflammatoires** : rougeur, œdème, augmentation de la chaleur locale, douleur spontanée et/ou provoquée par la palpation. Ces signes peuvent être isolés ou associés et peuvent se voir sur la peau ou au niveau des autres organes et structures visibles et palpables (pavillon de l'oreille, ganglions, peau, testicule, doigts, orteils, articulation…)

- **Les signes orientant vers une infection cutanée** :

* Un abcès : c'est une collection purulente dans une cavité néoformée, avec des stades évolutifs différents allant du stade pré-suppuratif au stade de la collection. Le stade pré-suppuratif se manifeste par une tuméfaction douloureuse, rouge, chaude et indurée. Au stade de collection, la tuméfaction devient fluctuante au centre et peut se fistuliser spontanément ou après ponction ou incision.

* Un placard inflammatoire de la peau

* Une trainée de lymphangite : Inflammation aiguë des vaisseaux lymphatiques qui accompagne le transport des bactéries phagocytées par les cellules immunitaires au niveau du site initial de l'infection vers le relai ganglionnaire correspondant. Elle se traduit par un cordon inflammatoire le long du vaisseau lymphatique.

- **Les signes orientant vers une atteinte muqueuse** : muqueuse inflammatoire, érythémateuse, irritée, sensible, saignante spontanément ou au moindre contact.

- **Les signes d'une atteinte articulaire** : une arthrite. Elle se caractérise par une douleur, une impotence fonctionnelle, des signes inflammatoires en regard, une tuméfaction voire un épanchement intra articulaire. La mobilisation passive et active de l'articulation est très douloureuse voire impossible

- **Les signes d'atteinte respiratoire** : Toux sèche ou productive, dyspnée de gravité variable. La purulence de l'expectoration oriente vers une origine infectieuse, le plus souvent bactérienne. Le changement de la couleur de l'expectoration et l'augmentation de son abondance oriente vers une surinfection bactérienne.

- **Les signes d'atteinte ORL** :

* Signes rhinologiques : rhinorrhée claire ou purulente

* Signes d'atteinte sinusienne : des céphalées d'importance variable, qui s'exagèrent à la mobilisation de la tête associées mouchage antérieur ou postérieur purulent.

* Signes pharyngolaryngés : Maux de gorge, rougeur du pharynx, hypertrophie inflammatoire des amygdales, dysphonie. Des amygdales inflammatoires et hypertrophiées orientent vers une angine. La présence de ponctuation blanchâtres sur des amygdales inflammatoires vers une angine érythémato pultacée. La présence de débris nécrotiques et de de fibrine facilement décollables et non saignantes à la surface des amygdales inflammatoires définit l'angine pseudomembraneuse. La présence, sur les amygdales inflammatoires, de dépôts blanchâtres ou grisâtres, épaisses, adhérentes et saignantes au décollement oriente vers une angine à fausses membranes.

* Une tuméfaction inflammatoire comblant le sillon rétro mandibulaire oriente vers une parotidite.

* Signes otologiques : l'otalgie unilatérale et l'écoulement purulent issu du conduit auditif externe sont des signes d'une otite. Une tuméfaction inflammatoire de la paroi de ce conduit, rétrécissant son calibre, oriente vers une otite externe. Un tympan inflammatoire oriente vers une otite moyenne. Une douleur à la

pression de la mastoïde associée ou pas à une tuméfaction du sillon retro auriculaire décollant ou pas le pavillon orientent vers une mastoïdite.

- **Les signes d'atteinte digestive** : Douleur abdominale, ballonnement abdominal, nausées, vomissements, diarrhée

On peut distinguer 3 types de diarrhée :

* Diarrhée cholériforme : selles liquidiennes afécales, en eau de riz, ni glaireuses ni sanglantes très abondantes.

* Dysenterie : selles glaireuses et/ou sanglantes voire muco-purulentes avec des ténesmes (tensions douloureuses, dans la région de l'anus, avec une envie constante d'aller à la selle) et des épreintes (des douleurs abdominales à type de colique s'accompagnant d'une contraction douloureuse et répétitive de la partie terminale du côlon et du rectum s'achevant par une fausse envie pressante et impérieuse d'aller à la selle).

* Diarrhée gastro entéritique : fécale ± abondante, associée souvent à une fièvre et à des douleurs abdominales.

- **Les signes d'atteinte urinaire et génitale**: douleur sus pubienne, brulures mictionnelles, dysurie, pollakiurie, impériosité mictionnelle. La douleur exquise à la palpation de la prostate révélée par le toucher rectal (TR) oriente vers une prostatite aiguë. Une fluctuation douloureuse de la prostate au TR oriente vers unn abcès prostatique.

Un écoulement urétral chez l'homme, observé plus fréquemment le matin orientent vers une urétrite. Une tuméfaction testiculaire et/ou épididymaire d'allure inflammatoire, souvent associée à des signes d'infection urinaire ou génitale oriente vers une orchite ou une orchi-épididymite. Chez la femme, des pertes vaginales, et une dyspareunie, associées à prurit vulvaire et à un aspect inflammatoire des lèvres orientent vers une infection génitale dite une vulvo-vaginite. Ds pertes vaginales associées à des douleurs sus-pubiennes et une mobilisation douloureuse de l'utérus au toucher vaginal orientent vers une endométrite.

- **Les signes d'atteinte du système nerveux central**: dans un contexte d'infection, la présence d'un syndrome méningé oriente vers une méningite. La présence de signes encéphaliques orientent vers une encéphalite.

- Le syndrome méningé : associe des céphalées, souvent en casque, une sonophobie, une photophobie, des vomissements et une douleur du rachis cervico-dorsal. L'examen trouve un malade dans une position antalgique, couché en chien de fusil, tête légèrement en flexion. En décubitus dorsal, une raideur douloureuse est sentie à la flexion passive de la tête induite par l'examinateur. Cette manœuvre induit une flexion involontaire des hanches et des genoux : signes de Brudzinski. Toujours en décubitus dorsal, a tentative de flexion passive des hanches, genoux en extension, est limitée par une douleur le long du rachis : signe de kernig. Le même signe peut être recherché sur un malade en décubitus dorsal en tentant l'extension totale du genou d'un membre dont la hanche est déjà en flexion à 90°. Cette manœuvre est limitée par le déclanchement de la même douleur.

- Les signes d'une atteinte encéphalique : un ou plusieurs des signes suivants : un trouble de la conscience, crise convulsive, trouble psychiatrique (délire, confusion, hallucination, propos incohérents…), déficit moteur focalisé, atteinte d'un ou de plusieurs nerfs crâniens.

La combinaison d'un contexte infectieux, de signes méningés et de signes encéphaliques définit une méningo-encéphalite.

3. ETUDE SEMIOLOGIQUE DE LA FIEVRE

3.1. Définition

La fièvre est un symptôme caractérisé par l'élévation pathologique de la température corporelle. Il n'existe pas de consensus sur la valeur pathologique de la température, mais on considère habituellement qu'une température matinale supérieure à 37,5 ou une température supérieure à 37,8 à n'importe quel autre moment de la journée, comme pathologique.

La fièvre est un symptôme pouvant orienter vers plusieurs pathologies.

L'hypothermie est la baisse de la température corporelle à des valeurs ≤ à36°.

La mesure de la température doit être un geste systématique à chaque consultation.

3.2. Les variations physiologiques de la température :

3.2.1. Au cours du nycthémère :

La température varie spontanément au cours du nycthémère. La température vespérale maximale (37,7°) est supérieure de 0,5 à 1° à la température matinale (36,5 – 37,2°). (Fig. 1)

3.2.2. Avec l'effort :

L'effort peut entraîner une élévation transitoire de température de quelques dixièmes de degrés. La température peut atteindre même 39° C après un effort musculaire intense.

3.2.3. Avec le cycle menstruel :

La température mesurée le matin avant le lever, augmente de 0,6 °C à partir du jour de l'ovulation (14ème j), pour revenir à sa valeur antérieure le premier jour des règles. (Fig. 2)

3.2.4. Autres :

La température est plus élevée chez les enfants et plus basse chez personne âgée.

En position debout, elle est supérieure de 0,3 à 0,4° à celle mesurée en position assise.

Une élévation de 0,5° accompagne l'alimentation, la digestion et le stress émotionnel.

3.3. Modalités de mesure de la température :

3.3.1- Les instruments de mesure :

* Les thermomètres à mercure en verre :

Le temps de mesure est long, car il faut attendre la phase d'équilibre thermique entre le thermomètre et le tissu. Ces thermomètres tendent à être abandonnés dans certains pays, vue le risque de pollution mercurielle.

* Les thermomètres électroniques :

Utilisables par voie rectale, axillaires ou buccale.

Le temps de contact est court : 30-60 secondes par voie rectale.

* Les thermomètres électroniques à infra rouge :

Utilisables uniquement par voie auriculaire. En 1-3 secondes, ils évaluent la température tympanique, qui est proche de la température centrale hypothalamique, en captant le rayonnement thermique infra rouge émis par le tympan, sans qu'il ait contact direct avec la membrane tympanique.

3.3.2- Les voies de mesure :

Différentes voies de mesure sont possibles. La pratique a consacré la thermométrie par voie rectale, axillaire, buccale et auriculaire.

*La voie rectale :

C'est la voie de référence en dépit de certaines limites. Le thermomètre est maintenu à 4 cm de la marge anale pendant 3mn. Sa précision dépend de la profondeur d'introduction du thermomètre, du degré de vascularisation du périnée et de la présence de selles. Elle expose aux risques de traumatismes locaux (ulcérations muqueuses, rectorragie, perforation anale). Le risque de transmission d'agents pathogènes doit être prévenu par l'utilisation d'étui protecteur à usage unique, et la par la décontamination systématique.

*La voie cutanée axillaire :

Le délai nécessaire pour atteindre l'équilibre thermique dans le thermomètre est de 8 – 13 mn.

La température cutanée axillaire est nettement influencée par les phénomènes locaux (sudation, vasoconstriction, vasodilatation) et par l'environnement (température ambiante, vêtements, courent d'air).

Mesurée dans les bonnes conditions, la température axillaire est inférieure à la température rectale de 0,5°.

*La voie buccale :

La température est prise en mettant le thermomètre sous la langue pendant 7- 10’

Cette voie expose au même risque infectieux que la voie rectale et nécessite des précautions similaires.

*La voie auriculaire :

Elle a l’avantage d’être facile, rapide, avec moins de risque infectieux et traumatique.

3.3.3- Conditions de mesure :

La prise de la température se fait le matin au réveil (et pas au lever), et l’après-midi ou le soir, après 15 mn de repos en position allongé. La température sera aussi prise au moment d’une poussée fébrile ou de frisson.

3.4. Etude sémiologique de la fièvre :

L’examen d’un malade fébrile repose sur l’interrogatoire, sur l’étude de la courbe de température et sur l’examen physique. Cette démarche permet de s’orienter vers une étiologie et d’évaluer la tolérance de la fièvre.

3.4.*1-L’interrogatoire* :

Il permet de préciser :

a. le mode de début : qui peut être :

- Aigu : ascension de la température de 37° à 40° en quelques heures, débutant par un frisson unique ou prolongé. (Exemple : pneumonie)

- Progressif : ascension de 0,5°/j. Le maximum thermique est obtenu en 4 à 5j. (Exemple : Fièvre typhoïde).

- Insidieux : ne permettant pas de préciser le début exact de la fièvre.

b.L’évolution de la fièvre dans le temps :

- Elle peut être permanente.
- Elle peut être par accès.

- Elle peut avoir des variations dans le nycthémère : une fièvre àprédominance vespérale (Exemple : brucellose, tuberculose, lymphome).

c.La durée d'évolution de la fièvre:

- Fièvre brève : accès thermique ne dépassant pas les 24 h.

- Fièvre aigue : évoluant depuis moins de 7j.

- Fièvre persistante : évoluant depuis 7 à 20j.

- Fièvre prolongée : évoluant depuis plus de 21j.

3.4.*2- Etude de la courbe de température :*

Cette courbe sera établie en marquant sur une feuille la température du matin et celle du soir, et mieux, la température prise toutes les 3h.

L'analyse doit prendre en considération les baisses de la température qui peuvent suivre la prise des médicaments pouvant avoir un effet antipyrétique (paracétamol, AINS, salicylés, corticoïdes)

La courbe peut avoir un des aspects suivants :

a. Le clocher fébrile : est une élévation brutale et irrégulière de la température.

b.Fièvre continue ou en plateau : elle est continue à 40°, avec des rémissions possibles de 0,5° le matin. (Fig. 3). Exemple : Fièvre typhoïde, septicémie.

c. Fièvre rémittente quotidienne :

La température du matin est subnormale. Elle s'élève à 39 - 40° le soir.(Fig4).

Exemple : suppuration profonde.

Lorsque la fièvre rémittente dure dans le temps, se manifeste par des grandes oscillations entre le matin et le soir et s'accompagne d'un amaigrissement, elle est classiquement dite une fièvre hectique.

d. Fièvre intermittente :

Accès de fièvre séparés par des intervalles d'apyrexie totale. Ces intervalles peuvent être :

- Réguliers : exemple au cours des accès palustres.

  - Fièvre tierce : accès de fièvre à J1, J3, J5… (Fig. 5).
  - Fièvre quatre : accès de fièvre à J1, J4, J7… (Fig. 6).

- Irréguliers : au cours des infections canalaires : voies biliaires, urinaires, digestives.

Lorsque des oscillations thermiques apparaissent au cours de la même journée, la fièvre est dite aussi oscillante.

e. Fièvre ondulante : Evolue sur des semaines ou des mois. Il s'agit de poussées fébriles à débuts et à fins progressifs, qui durent 1 à 5 semaines, et qui s'alternent avec des remissions thermiques complètes de 2 à 14j. (Exemple : brucellose, maladie de Hodgkin, lymphome.) (Fig. 7.).

f. Le fébricule : c'est un décalage thermique aux alentours de 38°. (Fig. 8.).

g. Fièvre désarticulée ou folle : c'est une fièvre souvent prolongée à grandes oscillations. Exemple : leishmaniose viscérale.

h. La guérison en crise : lorsque la température revient brutalement à un niveau normal et s'y maintient.

i. La Chute en lysis : Baisse progressive de la fièvre s'étalant sur plusieurs journées. Exemple au cours de l'endocardite infectieuse.

3.4.3-Examen physique :

a. Augmentation de température cutanée.

b. Les Frissons : succession de secousses musculaires qui débutent souvent aux masséters, et qui diffusent au reste du corps. Elles précèdent souvent le pic de fièvre, et correspondent à la réponse de l'organisme à l'élévation de la température du thermostat hypothalamique.

c.L'hypersudation : contingente de la défervescence rapide induite par la commande centrale ou par les antipyrétiques. Le caractère des sueurs n'est pas

spécifique, mais leur odeur rappelant la paille mouillée oriente vers la brucellose et leur survenue vespérale est plus notée au cours de la tuberculose, de la maladie de Hodgkin et des lymphomes.

d. Accélération de la fréquence respiratoire.

e. Accélération du rythme cardiaque : se fait à raison de 15 battements /mn / degré de fièvre supérieure à 37°.

L'élévation de la fréquence cardiaque peut être grave chez les porteurs d'une pathologie coronaire.

Une dissociation du pouls par rapport à la température peut se voir dans certaines pathologies, comme la fièvre typhoïde, les viroses, la rickettsiose, les infections aux germes atypiques.

f. Evaluer l'état d'hydratation :

Les pertes hydriques sont estimées à 400 ml/j chez l'adulte (environ 7ml/Kg/j), et

à 10 ml/ Kg/j chez l'enfant, par degré de température au dessus de 37°.

Une fièvre très élevée peut être responsable d'une déshydratation extra cellulaire.

g. Evaluer l'état neurologique :

La fièvre élevée chez le sujet âgé peut s'associer à une asthénie intense, une somnolence et une perte de l'autonomie. Chez le nouveau né, le nourrisson et l'enfant jusqu'à l'âge de 5-6 ans, toute fièvre élevée peut être responsable de convulsions dites hyper pyrétiques.

h. Rechercher une étiologie de la fièvre.

3.5. Diagnostic différentiel:

3.5.1- L'hyperthermie:

C'est une augmentation de la température du corps sans élévation thermique au niveau du centre hypothalamique.

Exemple : Hyperthyroïdie, Coup de chaleur, Certains médicaments (neuroleptiques, anesthésiques).

3.5.2- La fièvre factice :

Survient sur un terrain psychologique particulier.

Différents moyens de manipulation du thermomètre doivent être suspectées sur :

- Fièvre isolée en dehors de toute anomalie clinique ou biologique : ni tachycardie, ni augmentation de la chaleur cutanée, ni altération de l'état général.
- Chiffres anormalement élevés (42°).
- Défervescence rapide sans signes d'accompagnement (sueurs).
- Différence notable entre la température rectale et orale.
- Absence de fièvre lorsque la température est prise sous le contrôle du médecin ou à la mesure faite sur les urines fraîchement émises.

4. SEMIOLOGIE BIOLOGIQUE AU COURS DES INFECTIONS :

Au cours des infections, des anomalies biologiques orientant vers un processus infectieux évolutif peuvent être observées. Ces anomalies sont évocatrices, toutefois leur présence n'est pas spécifique de l'infection. Leur absence n'élimine pas non plus l'infection.

4.1. Les anomalies hématologiques :

4.1.1- Les anomalies de la NFS :

- Une hyperleucocytose à prédominance de polynucléaires neutrophiles oriente vers une infection bactérienne ou fongique invasive.
- Une hyperleucocytose majeure à PNN (> 20.000/mm3) est en faveur d'une collection purulente.
- Une leucopénie oriente plus vers une infection virale ou une infection à bactéries intra cellulaires.
- Une hyper éosinophilie est en faveur d'une infection parasitaire.

4.1.2- Le Syndrome mononucléosique :

La définition de ce syndrome est cyto-hématologique (se base sur le frottis sanguin coloré au MGG et sur la NFS).

• Sur la NFS on note une élévation des éléments mononucléés (monocytes et lymphocytes) à plus de 50% de la formule des globules blancs.

• Sur le frottis on constate sur la lignée blanche au moins 10% de grands lymphocytes hyperbasophiles : cellules de grande taille, à cytoplasme basophile, avec un renforcement périphérique de la basophilie. Le noyau de ces cellules est souvent accolé au bord cellulaire. Ces cellules correspondent à des lymphocytes T CD8+ à action cytotoxique activés en réponse à une agression le plus souvent infectieuse.

La principale caractéristique du SMN est le caractère polymorphe de l'hyperlymphocytose qui est faite de lymphocytes T normaux, de grandes cellules hyperbasophiles, de cellules lymphoplasmocytaires, de cellules lymphoïdes plus immatures et de plasmocytes.

D'autres anomalies sont fréquemment observées au cours du SMN mais non obligatoires pour le diagnostic, comme : une hyperleucocytose, une augmentation du chiffre absolu des lymphocytes et une monocytose souvent modérée < 1000/mm3.

4.2. Le syndrome inflammatoire :

En dehors des infections très localisées et bénignes, on peut observer au cours des épisodes infectieux une élévation de la vitesse de sédimentation, de la C réactive protéine (CRP) et de la Pro-calcitonine (PCT). L'élévation de la CRP et de la PCT est en faveur d'une origine bactérienne, parasitaire ou fongique d'une infection. Ces 2 paramètres ne sont pas élevés habituellement au cours des infections virales.

4.3. Les anomalies du Liquide céphalorachidien (LCR) :

En cas de suspicion de méningite, la réalisation d'une ponction lombaire (PL) pour l'analyse du LCR est capitale pour le diagnostic et pour la recherche de la cause. Le LCR normal est normo tendu, d'aspect clair, eau de roche. Chez l'adulte, il contient moins de 5 éléments blancs (EB)/mm^3 avec un taux d'albuminorachie entre 0,1 et 0,3g/l et une glycorachie avoisinant 50% de la glycémie prélevée de

façon concomitante à la PL. LE LCR peut rester clair s'il contient moins de 200 EB/mm^3. Entre 200 et 500 EB/mm^3, le LCR est souvent opalescent. Un aspect trouble du LCR oriente vers une élévation assez importante des éléments blancs. Une aspect purulent est en faveur d'une méningite bactérienne à pyogène. L'élévation des éléments blancs avec une prédominance de PNN oriente vers une méningite purulente. Une prédominance de lymphocyte des EB plaide plus en faveur d'une cause virale. La baisse de la glycorachie à moins de 40% de la glycémie oriente vers la consommation du glucose dans le LCR par une bactérie ou un champignon.

5. DEFINITIONS DES ETATS INFECTIEUX :

5.1. SRIS: Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique

C'est une réponse systémique à certaines agressions cliniques graves : pancréatite aiguë, ischémie, polytraumatisme, choc hémorragique, maladie de système.

Il se caractérise par la présence d'au moins 2 des signes suivants :

- T° > 38° ou < 36°
- FC > 90 / mn.
- FR > 20 / mn ou PaCO2 < 32 mm Hg
- GB > 12000/ mm3 ou < 4000 / mm3.

5.2 SEPSIS : syndrome septique non sévère :

SRIS lié à une infection.

5.3 Sepsis grave :

C'est un sepsis associé à une hypotension ou à une hypoperfusion :

- l'hypotension : TA systolique<90 mmHg ou une réduction d'au moins 40 mm Hg des chiffres tensionnels antérieurs, ceci en l'absence d'une cause connue d'hypotension (médicament, choc cardiogénique).
- L'hypoperfusion se traduit habituellement par une acidose lactique, une oligurie, une altération aiguë de la conscience.

5.4. Choc septique :

C'est un sepsis sévère associé à une hypotension persistante malgré un remplissage adéquat et / ou nécessité de drogues inotropes ou vasoactives.

En présence d'un sepsis grave ou d'un choc septique, l'hospitalisation en réanimation est la règle.

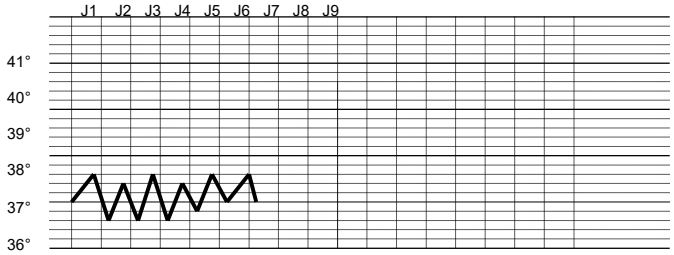


Fig. 1 :Courbe normale

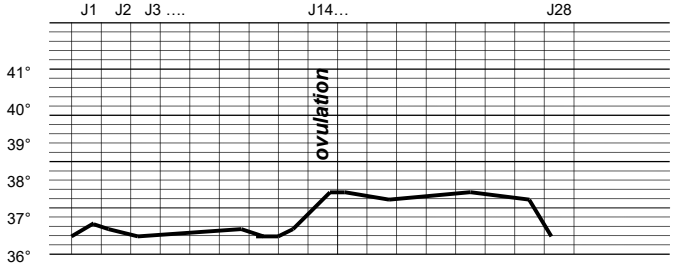


Fig. 2 : modification de la température matinale avec le cycle menstruel

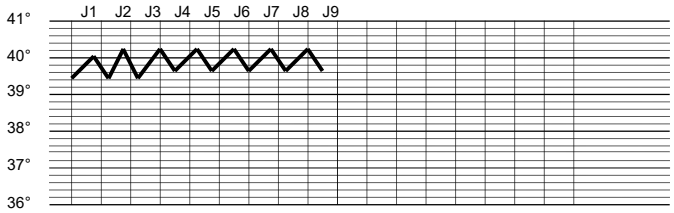


Fig. 3 : Fièvre en plateau

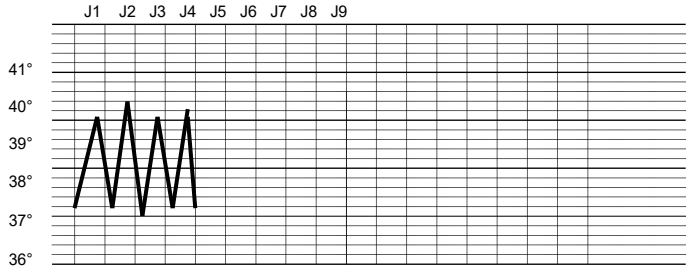


Fig. 4 : Fièvre intermittente

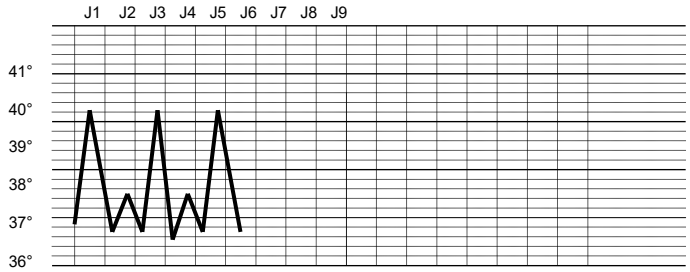


Fig. 5 : Fièvre tierce

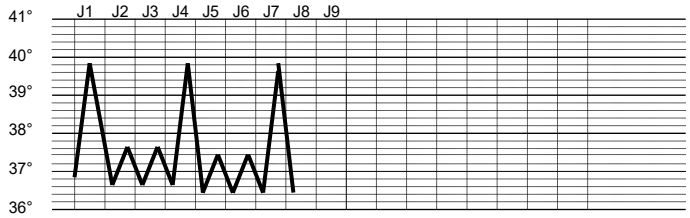


Fig. 6 : Fièvre quarte

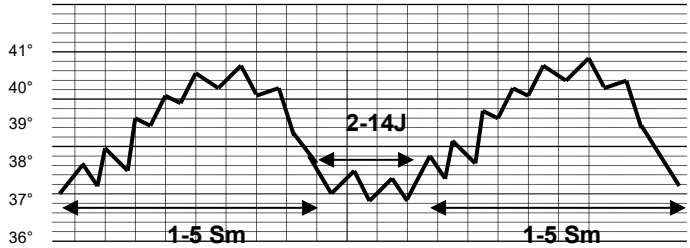


Fig. 7 : Fièvre ondulante

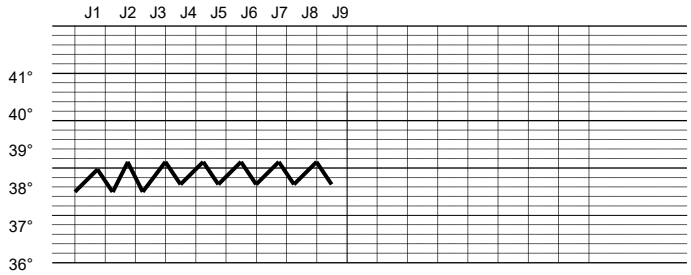


Fig. 8 : Fébricule

EVALUATION :

QROC :

1/ A combien sont estimées les pertes hydriques d'une personne âgée de 50 ans et qui présente une fièvre élevée en plateau à 39° c persistante pendant 24h ?

……
……

2/ Décrire succinctement une fièvre ondulante ?

……
……

3/ citer les effets de l'élévation de la température sur un enfant de 2 ans ?

……
……

4/ Comment se modifie la courbe de la température au cours du cycle menstruel ?

……
……

5/ Expliquer une dissociation du pouls par rapport à la température.

……
……

6/ citer 4 arguments en faveur d'une fièvre factice.

……
……

……
……