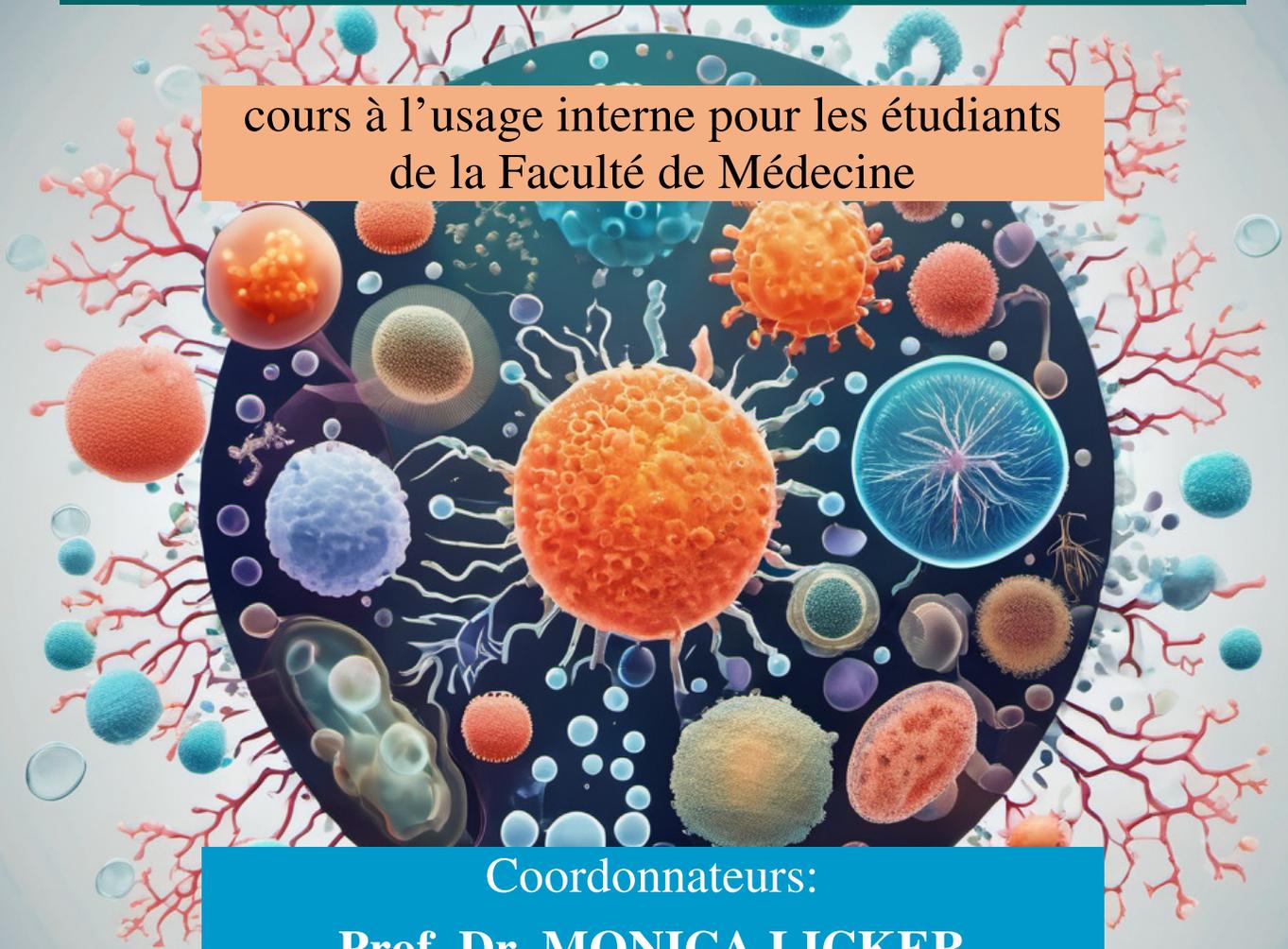




UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

MICROBIOLOGIE CLINICĂ BACTERIOLOGIE GĂNERALE

cours à l'usage interne pour les étudiants
de la Faculté de Médecine



Coordonnateurs:

Prof. Dr. MONICA LICKER

Assistante universitaire dr. ADELA VOINESCU

Assistante universitaire dr. DAN VULCANESCU

Étudiant VICTOR MARC

Editura „Victor Babeș”

Piața Eftimie Murgu nr. 2, cam. 316, 300041 Timișoara

Tel./ Fax 0256 495 210

e-mail: evb@umft.ro

www.umft.ro/editura

Director general : Prof. Univ. Dr. Sorin Ursoniu

Colecția: MANUALE

Coordonatori colecție: Prof. univ. dr. Codruța Șoica

Prof. univ. dr. Daniel Lighezan

Referent științific: Prof. univ. dr. Codruța Șoica

Indicativ CNCIS: 324

© 2024 Toate drepturile asupra acestei ediții sunt rezervate.

Reproducerea parțială sau integrală a textului, pe orice suport, fără acordul scris al autorilor este interzisă și se va sancționa conform legilor în vigoare.

ISBN 978-606-786-395-6

TABLE DES MATIÈRES

BACTÉRIOLOGIE GÉNÉRALE

1. LE MONDE BACTÉRIEN.....	6
LES PRINCIPALES ÉTAPES DE L'ÉVOLUTION DES CONNAISSANCES SUR LES GERMES	6
2. MORPHOLOGIE BACTÉRIENNE.....	8
2.1. CLASSIFICATIONS ET NOMENCLATURES DES BACTÉRIES	8
2.1.1. Classification taxonomique des bactéries. Nomenclature.....	8
2.1.2. Classification médicale des bactéries.....	9
3. STRUCTURE DES BACTÉRIES.....	13
3.1. LES CONSTITUANTS DU CYTOPLASME	13
3.1.1. L'appareil nucléaire - structure et fonction.....	13
3.1.2. Les plasmides.....	14
3.1.3. Les ribosomes, structure et fonctions.....	14
3.2. LA MEMBRANE PLASMIQUE, STRUCTURE ET FONCTION.....	15
3.3. LA PAROI CELLULAIRE	15
3.3.1. Le peptidoglycane, structure et fonctions.....	15
3.3.2. Parois des bactéries à Gram positif	16
3.3.3. Paroi des bactéries à Gram négatif.....	17
3.3.4. Paroi des <i>Mycobacteriaceae</i>	19
3.4. LA CAPSULE	20
3.4.1. Le glycocalyx.....	20
3.5. LES FLAGELES (CILLS)	21
3.6. LES PILS BACTERIENS.....	21
3.7. LA SPORE BACTÉRIENNE.....	21
4. PHYSIOLOGIE ET CROISSANCE.....	23
4.1. DIVISION BACTÉRIENNE.....	23
4.2. DYNAMIQUE DE LA CROISSANCE	23
4.2.1. La courbe de croissance	23
4.2.2. La croissance in vitro (sur les milieux liquides et solides).....	25
4.2.3. La croissance en culture continue	25
4.2.4. La croissance in vivo.....	25
4.2.5. La croissance en biofilm.....	26
4.3. CONDITIONS FAVORABLES À LA CROISSANCE.....	26
4.3.1. Sources d'énergie	26
4.3.2. Sources de carbone.....	26
4.3.3. Sources d'azote et besoins en soufre	26
4.3.4. Besoins inorganiques.....	27
4.3.5. Atmosphère.....	27
4.3.6. Nutriments	27
4.4. LES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA CROISSANCE.....	28
4.4.1. Température.....	28
4.4.2. pH.....	29
4.4.3. Pression osmotique.....	29

4.4.4. Eau libre.....	29
4.4.5. Pressions partielles d'oxygène	29
4.5. APPLICATIONS: LES CULTURES BACTÉRIENNES AU LABORATOIRE.....	30
4.5.1. Les milieux de culture	30
4.5.2. La notion d'isolement par épuisement	30
4.5.3. Les différentes apparences des colonies.....	31
5. GENETIQUE DES BACTERIES	32
5.1. ORGANISATION ET RÉPLICATION DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE CHEZ LES BACTÉRIES.....	32
5.2. MUTATIONS CHROMOSOMIQUES	34
5.2.1. Définition des mutations.....	34
5.2.2. Caractères des mutations	34
5.3. TRANSFERTS DE MATÉRIEL GÉNÉTIQUE.....	35
5.3.1. La transformation.....	35
5.3.2. Transferts utilisant des bactériophages	37
5.3.3. Transfer des plasmides par conjugaison.....	38
5.4. TRANSPOSONS ET TRANSPOSITION	39
6. ANTIBIOTIQUES ET ANTISEPTIQUES.....	40
6.1. ANTIBIOTIQUES.....	40
6.1.1. La notion de spectre	41
6.1.2. Mécanismes d'action des antibiotiques	42
6.1.3. Evolution de la résistance	50
6.2. ANTISEPTIQUES.....	51
7. RELATION ENTRE BACTÉRIES ET HÔTES	54
7.1. CLASSIFICATION DES INTERACTIONS	54
7.2. LA FLORE NORMALE/LE MICROBIOME	55
7.3. POUVOIR PATHOGENE	58
7.3.1. Les Facteurs de virulence des bactéries pathogènes	59
7.3.2. Le pouvoir pathogène est due à la diffusion d'une toxine à distance de la porte d'entrée.	59
7.3.3. L'endotoxine - Le choc endotoxinique	60
7.3.4. Le pouvoir pathogène résulte d'une inflammation au niveau de la porte d'entrée secondaire à la multiplication bactérienne :	60
7.3.5. Le pouvoir pathogène résulte d'une dissémination du microorganisme à partir de la porte d'entrée :	61
8. LES FACTEURS DE DÉFENSE CONTRE LES BACTÉRIES.....	62
RÉSISTANCE NON-SPECIFIQUE	62
L'IMMUNITÉ NATURELLE	62
8.1. LES FACTEURS GENETIQUES.....	62
8.2. FACTEURS TISSULAIRES.....	62
8.3. LA FLORE NORMALE	63
8.4. FACTEURS HUMORALLES	63
8.4.1. Le complément.....	63
8.4.2. Le lysozyme.....	64
8.4.3. Les cytokines	64
8.4.4. La réponse de phase acute	65

8.4.5. L'opsonisation et les opsonines	65
8.4.6. Les interférons	66
8.5. LES FACTEURS CELLULAIRES	66
8.5.1. La réaction inflammatoire	66
8.5.2. La phagocytose	67
9. L'IMMUNITÉ ACQUISE	69
LES ANTIGÈNES	69
9.1. L'IMMUNITÉ ACQUISE	69
9.2. LES ANTIGÈNES	71
10. LES ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE ET LES CELLULES IMPLIQUÉS DANS LA RÉPONSE IMMUNITAIRE	74
10.1. LES ORGANES CENTRAUX	74
10.2. LES ORGANES PÉRIPHÉRIQUES	74
10.3. LES CELLULES IMPLIQUÉS DANS LA RÉPONSE IMMUNITAIRE	76
11. LES ANTICORPS	78
STRUCTURE, CLASSES, FONCTIONS	78
11.1. LA STRUCTURE DES IMMUNOGLOBULINES	78
11.2. CLASSES DES IMMUNOGLOBULINES	79
12. L'IMMUNITÉ HUMORALE ET CELLULAIRE	81
LES INTERVENANTS	81
12.1. L'IMMUNITÉ À MÉDIATION HUMORALE	86
12.2. L'IMMUNITÉ À MÉDIATION CELLULAIRE	87
12.3. L'IMMUNITÉ PASSIVE	88
12.4. LA DYNAMIQUE DE LA SYNTHÈSE DES ANTICORPS	88
13. RÉACTIONS IMMUNITAIRES PATHOGÈNES	90
13.1. LA HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE I (DE TYPE ANAPHYLACTIQUE)	90
13.2. LA HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE II	91
13.3. LA HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE III DES COMPLEXES IMMUNS	92
13.4. LA HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE IV MÉDIATION CELLULAIRE	92
14. LES ORIGINES DE L'INFECTION	95
14.1. SOURCES D'INFECTION	95
14.1.1. Notions d'épidémiologie	95
14.2. LES RÉACTIONS DE L'ORGANISME À L'INFECTION	96
14.2.1. La fièvre	96
14.3. FACTEURS DE PATHOGÉNÉCITÉ DANS LES INFECTIONS BACTÉRIENNES	96
14.3.1. La maladie infectieuse	97
14.3.2. Première phase de la maladie infectieuse: la pénétration de la bactérie dans l'organisme	99
14.3.3. Deuxième phase de la maladie infectieuse: la intervention de bactéries dans l'organisme infecté	101
14.4. IMMUNISATION PAR VACCINATION	103
14.4.1. Immunoprophylaxie par des sérums thérapeutiques	105
BIBLIOGRAPHIE	106

1. LE MONDE BACTÉRIEN

Les principales étapes de l'évolution des connaissances sur les germes

La microbiologie est la science qui a pour objet l'étude des microbes (du grec: mikros = petit; bios = vie).

Ce terme (microbe) englobe tous les organismes vivants, de petites dimensions nécessitant le microscope: microorganismes, microbes ou protistes (primitifs).

La microbiologie médicale traite l'étude de la morphologie des agents microbiens, la relation avec l'hôte humain, la pathogènes, la résistance, le diagnostic étiologique des maladies infectieuses, les bases de la thérapie et prophylaxie anti-infectieuse.

Hippocrate (460-377 avant JC) a décrit la théorie des miasmes (air empoisonné). **Fracastoro** (médecin italien de 1478 à 1553) a suggéré en 1546 que des organismes invisibles (spores de maladies) sont la cause des maladies comme la syphilis ou La maladie des français.

L'existence d'un monde bactérien fut méconnue jusqu'à l'invention du microscope au début du XVII^{ème} siècle. **Anton van Leeuwenhoek** (1632-1723), drapier hollandais et amateur de loupes et d'instruments d'optique, découvre entre 1674 et 1687 le monde microbien. Il décrit des sphères, des bâtonnets, des spirilles, correspondant aux principales variétés morphologiques de bactéries.

La découverte d'un monde d'organismes invisibles à l'œil nu, fait renaître un grand débat sur l'origine de la vie. „D'où viennent ces microorganismes ?” Plusieurs théories ont été émises:

- certains naturalistes de l'époque prétendaient qu'ils provenaient de la décomposition des tissus animaux et végétaux morts, la viande, la vase, (boue) etc.,. (**génération spontanée** ou abiogénèse) = théorie selon laquelle la vie provient du non vivant,
- au début du 19^{ème} siècle, en se basant sur des expériences, plusieurs chercheurs essayent d'apporter des preuves en faveur de la **biogénèse** (tout l'organismes vivant provient d'un organisme vivant préexistant), contre la génération spontanée.

Lazzaro Spallanzani tentait de réfuter l'abiogénèse: Il faisait bouillir des solutions nutritives à base de bœuf dans des flacons avant de les sceller hermétiquement.

Mais le véritable fondateur de la Microbiologie est **le chimiste français Louis Pasteur** (1822-1895) dont **les études sur les fermentations**, les “maladies” du lait, du vin, de la bière, des vers à soie, lui avaient fait pressentir que les maladies contagieuses de l'homme et des animaux étaient dues, elles aussi, à des micro-organismes vivants.

Beaucoup de civilisations anciennes produisaient des boissons et des aliments produits par fermentation microbienne. Pendant des siècles les populations des Balkans (Bulgarie, Yougoslavie, Albanie...) ont consommé des produits à base de lait fermenté. La fermentation provoque une transformation, par l'intervention des microorganismes, dans le goût, la texture, et l'apport nutritionnel.

Semmelweis, un médecin hongrois (1818-1865) introduit la désinfection des mains avec du chlorure de chaux, réduisant la mortalité maternelle dans une clinique obstétricale à Vienne.

En **1867 Lister**, un chirurgien anglais, publie son travail sur la chirurgie aseptique. Il a défini la sepsie (l'infection) et l'antisepsie (les mesures prises pour combattre ou empêcher l'infection). À cette époque Lister utilisa une solution diluée de phénol pour y tremper les pansements chirurgicaux et pour vaporiser les salles.

En **1876, Robert Koch**, un médecin allemand, a démontré que le charbon est dû à *Bacillus anthracis*. En 1882 il découvre le bacille de la tuberculose, en 1883 *Vibrio cholera* et puis, en 1884 publie ces postulats pour la première fois.

En **1880 Pasteur** a démontré le principe de l'immunisation. Les bactéries pouvaient perdre leur virulence, ou leur capacité de causer la maladie, si on les laissait vieillir. Mais, ces bactéries atténuées ou moins virulentes, pouvaient stimuler l'hôte à produire des anticorps (immunisation).

Dans' une quarantaine d'années, d'incroyables progrès conceptuels et techniques seront réalisés. L'étude des bactéries pathogènes conduit à l'invalidation de la théorie de la génération spontanée, a été introduite la conception des premiers vaccins, la mise en évidence des antibiotiques et les processus de fermentation. Les trouvailles techniques, que les microbiologistes d'aujourd'hui utilisent toujours quotidiennement, sont également nombreuses: stérilisation, utilisation des milieux de culture solide, invention des boîtes de Petri, étude des cultures pures, coloration de Gram (Christian Gram 1884).

L'étude de **virologie** a commencé beaucoup plus tard, en 1892. En 1909 les virus ont été isolé sur des cultures cellulaires et en 1911 sur des œufs embryonnés.

En **1928 Fleming** a découvert la pénicilline, et, en 1941, **Florey et Chainé** ont réussi la purification, la stabilisation et l'introduction de la pénicilline dans la thérapie. En 1940, Waksman a découvert le groupe Streptomyces. Ensuite ont été détecté les aminosides, les macrolides, les quinolones et des nombreux autres antibiotiques naturel ou synthétique. Mais au fur et à mesure que ces nouvelles classes d'antibiotiques ont été découvertes, la résistance acquise des bactéries aux antibiotiques s'est progressivement installée.

Haeckel (1866) crée le terme de protistes pour désigner, entre le monde animal et le monde végétal, les êtres unicellulaires et les êtres pluricellulaires sans tissu différencié.

Chatton (1937) proposa la subdivision en protistes eucaryotes et protistes procaryotes. Les protistes supérieurs ou "eucaryotes" (algues, protozoaires, champignons) possèdent un noyau entouré par une membrane, de nombreux chromosomes, un appareil de mitose assurant lors de la réplication, l'équipartition chromosomique parmi les cellules filles, et une structure cellulaire analogue à celle des animaux et des plantes. Les protistes inférieurs ou "procaryotes" (bactéries) sont de petites cellules dans lesquelles le "noyau" est constitué par un chromosome unique sans membrane nucléaire et sans appareil de mitose.

Les bactéries sont caractérisées par l'existence d'une paroi rigide (peptidoglycane) qui conditionne les trois formes morphologiques fondamentales: sphérique (cocci), cylindrique (bacilles), hélicoïdales (spirilles). Ces organismes se multiplient habituellement par scissiparité mais peuvent aussi présenter des recombinaisons génétiques partielles. Il faut enfin distinguer les protistes des virus.

Pendant longtemps, les virus ont été caractérisés par leur taille (1.000 fois plus petits que les bactéries en moyenne), qui explique leur propriété de traverser des filtres capables de retenir les bactéries (d'où le nom de virus filtrant).

2. MORPHOLOGIE BACTERIENNE

Lwoff (1953) a défini les caractères fondamentaux qui différencient bactéries et virus: les virus ne possèdent qu'un seul type d'acide nucléique qui est l'unique support génétique: ADN ou ARN, alors que l'on trouve les deux acides nucléiques chez la bactérie. Les virus ne possèdent pas les enzymes nécessaires pour leurs bio-synthèses et sont des parasites obligatoires d'autres cellules plus évoluées: bactéries, cellules végétales ou animales.

Tableau 2.1. Caractères fondamentaux qui différencient bactéries et virus

Caractères fondamentaux	Bactéries	Virus
Unité de structure	La cellule	Le virion
Acides nucléiques	Deux types: ADN et ARN	Un seul type ADN ou ARN
Systèmes enzymatiques de biosynthèse	Présents	Absents: "parasite" strict d'une cellule plus "évoluée"
Reproduction	Par division cellulaire	Par réplication
Croissance	Présence d'une croissance: augmentation harmonieuse de tous les éléments de la cellule	Absence de croissance. La structure du virion est définitivement organisée après la synthèse de ses constituants

2.1. CLASSIFICATIONS ET NOMENCLATURES DES BACTÉRIES

Il existe plusieurs méthodes de classer les bactéries d'intérêt médical.

2.1.1. Classification taxonomique des bactéries. Nomenclature

L'espèce bactérienne est la base de tout l'édifice taxonomique: sont rassemblées dans la même espèce les bactéries qui ont le plus d'affinité génétique, c'est-à-dire les souches qui sont supposées descendre d'un ancêtre commun.

Les espèces qui ont en commun un certain nombre de caractères sont rangées dans un même genre, les genres apparentés dans une même famille, les familles comparables dans un même ordre, et ainsi de suite en remontant vers les groupes taxonomiques ou taxons de rangs supérieurs: classes, divisions, embranchements. Toutes les bactéries sont désignées par deux noms latins, le nom de genre (écrit avec une majuscule), suivi du nom d'espèce (écrit en minuscule): par exemple *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

En conclusion, les termes taxonomiques permettent de donner sans ambiguïté un nom à une souche bactérienne isolée d'un produit pathologique.

2.1.2. Classification médicale des bactéries

Les règles de classification et de nomenclature présentées plus haut sont établies par le Comité International de Nomenclature des bactéries, organisme relié à l'O.N.U. Ce "catalogue" des bactéries ne tient pratiquement aucun compte du pouvoir pathogène des bactéries, considéré par les taxonomistes comme simple caractère accessoire. Par conséquent, la classification bactérienne internationale n'a pas de sens médical.

Il serait d'avoir une classification des bactéries d'intérêt médical. Une telle classification pourrait se concevoir comme un compromis entre la classification des maladies infectieuses selon leurs signes cliniques et la classification des bactéries selon leur pathogénicité.

La classification clinique rapproche les bactéries causes des grands syndromes (méningites, endocardites, etc.). **La classification pathogénique** rapproche les maladies dues à la même bactérie (staphylococcies) ou au même mécanisme pathogénique (toxi-infections).

L'une des classifications qui reste la plus utilisée en Microbiologie médicale est basée sur les **propriétés tinctoriales des bactéries (coloration de Gram)** et sur leur mobilité. (Tableau 2.2.)

Tableau 2.2. Classification des bactéries basée sur les propriétés tinctoriales et sur leur mobilité.

Coloration	Forme	Mobilité
Gram (+)	COQUES	
	Staphylocoques	-
	Streptocoques	-
	Entérocoques	-
Gram (-)	<i>Neisseria</i>	-
Gram (+)	BACILLES	
	<i>Bacillus</i>	+
	<i>Listeria</i>	+
	<i>Corynebacterium</i>	-
Gram (-)	Entérobactérie	+/-
	<i>Pseudomonas</i>	+
	<i>Acinetobacter</i>	-
	<i>Campylobacter</i>	+
	<i>Vibrio</i>	+
	<i>Haemophilus</i>	-
	<i>Bordetella</i>	+

Les bactéries sont une forme originale de cellule dans le monde vivant (le Tableau 2.3 les compare aux cellules eucaryotes).

Tableau 2.3. Tableau comparatif des caractères de procaryotes et eucaryotes

Caractéristiques	Bactéries	Cellules eucaryotes
Taille habituelle	0,3 à 2,5 µm	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 méiose
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)
Enveloppes cellulaires	Hétéropolymère glucidopeptidique	Cellulose et autres polysaccharides 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

Dimension: Le monde bactérien est peuplé d'entités microscopiques invisibles à l'œil nu. Les dimensions sont si petites qu'un volume de 1 cm³ peut contenir 1 012 bactéries pesant environ 1 g, et dans un milieu liquide clair, au moins 1 à 10 millions de bactéries sont nécessaires pour produire une turbidité macroscopiquement perceptible. Environ 10 à 100 000 milliards de bactéries sont présentes dans notre intestin, leur nombre dépassant de loin celui de nos cellules.

La taille des bactéries est exprimée en micromètres (1µ=10⁻³ mm), les variations dépendent de l'espèce, de la forme, de l'environnement et de l'âge de la culture. Généralement, elle se situe entre 1 et 10µ.

Formes: Les morphologies bactériennes sont variées.

Par rapport à leur forme, on distingue 4 catégories de bactéries: rondes (cocci), allongées (bacilles), courbées (spirilles, spirochètes, vibrions) et filamenteuses (actinomycètes).

- les coques sont des bactéries rondes (genre *Staphylococcus*), ovales (genre *Streptococcus*), lancéolées (*Streptococcus pneumoniae*), réniformes (genre *Neisseria*) d'un Ø de 0,8 à 1µ;

- les bacilles sont des bactéries allongées en forme de bâtonnet mesurant entre 1,5 et 10µ. Avec les bacilles, il est important d'examiner les extrémités, leur aspect jouant un rôle dans leur identification. Ainsi, les bacilles peuvent avoir des extrémités arrondies (famille des *Enterobacteriaceae*), coupées droites (*Bacillus anthracis* - le bacille charbonneux), écrasées (*Corynebacterium diphtheriae* - le bacille diphtérique), en forme de ruban (*Fusobacterium*);

- les coccobacilles sont des bactéries légèrement allongées, étant des formes intermédiaires entre les coques et les bacilles (*Yersinia pestis*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*);

- les vibrions sont des bactéries courbées en forme de virgule (*Vibrio cholerae*);
- Les spirochètes sont des bactéries spirales au corps flexible comportant 12 à 20 spirales (*Treponema pallidum*), de nombreuses spirales serrées (*Leptospira*) ou 2 à 3 spirales (*Borrelia*):
- Les actinomycètes sont des bactéries très semblables aux champignons et forment des filaments ou hyphes longs et ramifiés qui se brisent, donnant naissance à des formes bacillaires (*Actinomyces*).

Disposition: Dans un environnement adapté les cellules des bactéries peuvent être associées en groupes qui sont caractéristiques de l'espèce. Les groupes sont essentiellement induits par le processus de division bactérienne.

La disposition des bactéries permet parfois la reconnaissance du genre, voire de l'espèce, en examinant au microscope optique les préparations colorées réalisées à partir des cultures, ou directement à partir du produit récolté chez le patient.

Les coques sont placées:

- en tas ou comme une grappe de raisin comme par exemple les germes du genre *Staphylococcus*;
- en chaînes dans le genre *Streptococcus*;
- en diplo, comme deux flammes de bougie qui se rejoignent par leurs bases, chez l'espèce *Streptococcus pneumoniae*;
- chez diplo, comme deux grains de café qui se regardent à travers leurs concavités comme par exemple chez *Neisseria gonorrhoeae* (gonocoque) et *Neisseria meningitidis* (méningocoque);
- isolés, qui ne présentent pas d'intérêt médical.

Les bacilles sont disposés:

- le plus souvent isolés et dans des positions aléatoires les uns par rapport aux autres comme par exemple la plupart des bacilles Gram négatif ;
- grouper par deux (diplobacilles) ou en chaînes courtes comme par exemple le genre *Klebsiella*;
- disposés en chaînes comme les bacilles du genre *Bacillus* (bacille du charbon);
- disposés de manière caractéristique sous forme de lettres majuscules ou de lettres chinoises, comme les bacilles diphtériques (*Corynebacterium diphtheriae*);

Tableau 2.4. Exemples de bactéries à Gram positif d'intérêt médical

FORME DE BACTÉRIES	FAMILLE/GROUPE	GENRE
Coques	<i>Micrococaceae</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>Micrococcus</i>
	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i>
Bacilles	Sporule	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>
	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces</i>
	Autre	<i>Propionibacterium</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Listeria</i>

Tableau 2.5. Exemples de bactéries à Gram négatif d'intérêt médical

FORME DE BACTÉRIES	FAMILLE/GROUPE	GENRE	
Coques	<i>Neisseriaceae</i>	<i>Neisseria</i>	
	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>	
Bacilles	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	
		<i>Salmonella</i>	
		<i>Shigella</i>	
		<i>Klebsiella</i>	
		<i>Enterobacter</i>	
		<i>Proteus</i>	
		<i>Morganella</i>	
	<i>Yersinia</i>		
		<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>
		<i>Spirillaceae</i>	<i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i>
	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	
	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Pasteurella</i> <i>Haemophilus</i>	
	Autre	<i>Brucella</i> <i>Bordetella</i>	
	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionella</i>	
	<i>Bacteroides</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i>	

3. STRUCTURE DES BACTÉRIES

L'unité morpho-fonctionnel des bactéries c'est une cellule procaryote, une des molécules organiques complexes autoorganisés qui échangent de l'énergie avec l'environnement et est capable de réguler de manière autonome les fonctions vitales.

Dans la structure des bactéries ont été décrites:

- **des composants obligatoire** (la cytoplasme, le noyau, les mésosomes, la membrane plasmatique, la paroi cellulaire)
- **des composants facultatifs** (la capsule, les flagelles, les fimbriae, les spores).

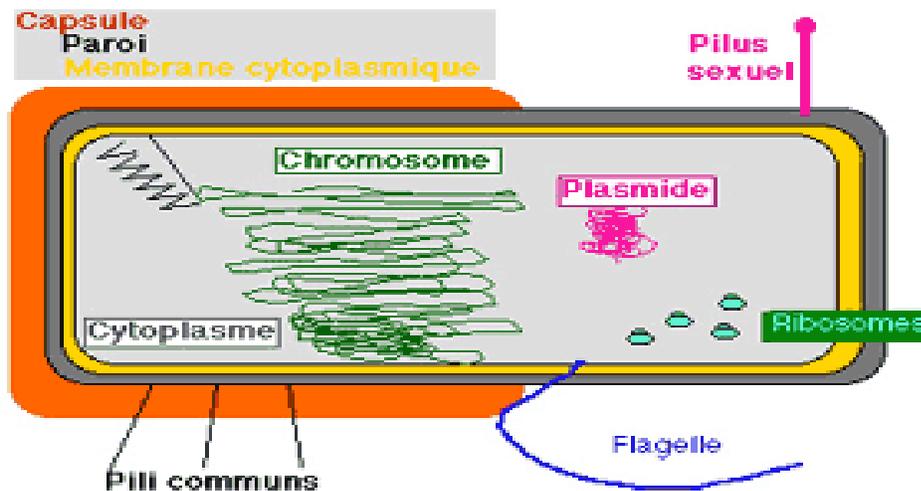


Figure 3.1. La Cellule bactérienne: structure

3.1. LES CONSTITUANTS DU CYTOPLASME

3.1.1. L'appareil nucléaire - structure et fonction

Il est composé d'ADN (80%) et d'ARN. L'ADN du chromosome bactérien est bicaténaire et circulaire, non placé dans un organite comme pour les cellules supérieures. Chez certaines bactéries, les chromosomes peuvent être linéaires ou multiples (deux ou trois chromosomes différents) ou les deux à la fois. Sa longueur importante fait qu'il est comprimé en multiples boucles stabilisées par de l'ARN et des protéines (voisines des histones). Chaque boucle est elle même "super-enroulée" sous l'action de l'ADN gyrase. Le surenroulement est déterminé par des topoisomérases dont l'ADN gyrase; il permet à l'ADN chromosomique qui est environ 1000 fois plus long que la longueur d'une bactérie, d'occuper une place réduite. Sur l'ADN sont aussi fixées de nombreuses protéines régulatrices et des enzymes de synthèse (ADN polymérase pour la duplication de l'ADN, ARN polymérase ADN dépendante pour initier la synthèse des protéines).

Le rôle du noyau bactérien consiste à stocker l'information génétique nécessaire à l'autoréplication, à l'organisation structurelle et fonctionnelle de la cellule bactérienne, donc aux caractères qui définissent l'espèce.

Des antibiotiques perturbent la synthèse de l'appareil nucléaire soit en agissant sur les voies de synthèse (sulfamides et triméthoprime), soit en perturbant les changements de conformation de l'ADN (quinolones et novobiocine).

Ainsi, les antibiotiques perturbent la synthèse de l'appareil nucléaire sont les sulfamides et triméthoprime, les quinolones et le novobiocine.

3.1.2. Les plasmides

Ce sont des molécules d'ADN circulaires super-enroulées situées dans le cytoplasme des bactéries. Sont extrêmement fréquents dans le monde bactérien. Dans les conditions naturelles, ils ne sont pas indispensables à la vie de la bactérie, mais lui apportent des caractères permettant la survie dans des conditions défavorables ou étendant son écosystème. La taille des plasmides varie de quelques centièmes à plus d'un dixième de celle du chromosome.

Fonctionnellement, les gènes portés par les plasmides sont extrêmement divers : gènes structuraux (fimbriae), gènes métaboliques et cataboliques (métabolisme des sucres, catabolisme de molécules organiques), gènes de production de toxines, gènes de résistance aux antibiotiques, etc. Certains plasmides n'ont pas encore de fonction connue. Une même bactérie peut comporter, dans son cytoplasme, aucun plasmide, plusieurs copies du même plasmide ou plusieurs types de plasmides différents.

La réplication des plasmides se fait indépendamment du chromosome, mais de façon statistiquement coordonnée. Un plasmide possède tous les enzymes nécessaires à sa réplication : sa réplication est autonome. Cette autonomie explique que le nombre de plasmides d'un type donné ne soit pas constant dans une bactérie et que, dans certaines conditions expérimentales (utilisations d'agents chimiques interférant avec la réplication) ou naturelles (incompatibilités entre plasmides différents présents dans le cytoplasme), un plasmide puisse ne pas être transmis à la bactérie fille. Les cellules filles d'une bactérie porteuse de plasmides acquièrent donc en général le ou les plasmides lors de la division bactérienne.

3.1.3. Les ribosomes, structure et fonctions

Constitués d'ARN et de protéines, les ribosomes bactériens comportent deux sous-unités (30 S et 50 S). Fonctionnellement on connaît deux sites essentiels pour la synthèse des protéines : le site aminoacyl qui accueille l'acyl-tARN et le site peptidyl qui accueille la chaîne d'acides aminés en cours de constitution. Les ribosomes sont particulièrement présents à proximité de la membrane cytoplasmique, site de synthèse de la paroi et des protéines exportées.

Les ribosomes sont le site de synthèse des protéines dans la cellule.

Les antibiotiques qui perturbent la synthèse des protéines au niveau des ribosomes sont : les aminosides, les tétracyclines, les synergistines, les macrolides et lincosamides, l'acide fusidique et les phénicolés.

3.2. LA MEMBRANE PLASMIQUE, STRUCTURE ET FONCTION

C'est une membrane trilamellaire formée de phospholipides dont les pôles hydrophobes sont face à face, entourant des protéines. Elle est à l'interface entre cytoplasme et structures externes. Certaines protéines, les perméases, jouent un rôle important dans les échanges. D'autres protéines sont des enzymes respiratoires ou impliquées dans la production d'énergie (ATPase). La membrane joue ainsi un rôle métabolique majeur : on y trouve la plupart des activités associées aux mitochondries dans la cellule supérieure.

La membrane plasmique est détruite par les antibiotiques du groupe des polypeptides et les antiseptiques.

Le rôle de la membrane cytoplasmique :

- c'est une membrane à perméabilité sélective, remplissant la fonction de barrière osmotique qui régule les échanges de la cellule bactérienne, dans les deux sens avec le milieu environnant.
- sécrète de nombreuses enzymes hydrolytiques qui sont libérées dans l'environnement où elles divisent le substrat nutritif en unités résorbables,
- remplit le rôle de mitochondries des cellules eucaryotes, étant le siège des enzymes de la chaîne respiratoire et de la phosphorylation oxydative, donc le centre de génération d'énergie cellulaire,
- c'est le siège de la synthèse des acides gras, des phospholipides,
- participe à la synthèse de la paroi cellulaire, des polysaccharides capsulaires, participant activement à la croissance et à la division de la cellule bactérienne, à la formation de la spore bactérienne,
- constituent une cible possible pour l'action de certains agents chimiothérapeutiques comme les polymyxines et les antiseptiques.

3.3. LA PAROI CELLULAIRE

Il s'agit d'une enveloppe rigide qui assure l'intégrité de la cellule bactérienne et qui est responsable de la forme des cellules. Elle protège la bactérie des variations de pression osmotique. La paroi n'est absente que chez les *Mollicutes*. La partie commune à toutes les parois bactériennes est le peptidoglycane.

3.3.1. Le peptidoglycane, structure et fonctions

Le peptidoglycane est un hétéropolymère : il est composé de chaînes glucidiques reliées les unes aux autres par des chaînes peptidiques. La macromolécule réticulée tridimensionnelle est ainsi constituée et sa solidité dépend de l'importance des interconnexions. La paroi de la bactérie est ainsi une unique macromolécule.

La chaîne polysaccharidique est formée de chaînons N-Acétyl Glucosamine - Acide N-Acétyl Muramique. Les chaînes peptidiques formées au minimum de quatre aminoacides (par exemple L-Alanine - D-Glycine - L-Lysine - D-Alanine) sont toujours fixées sur l'acide muramique. L'enchaînement des aminoacides des séries D et L est une constante. Ces tétrapeptides sont reliés directement entre eux ou par une courte chaîne peptidique.

La synthèse du peptidoglycane s'effectue par sous-unités dans le cytoplasme jusqu'à l'assemblage ; les composés y sont liés à l'Uridine Di-Phosphate (UDP). La "brique" de base est un

assemblage N-Acétyl Glucosamine - Acide N-Acétyl Muramique - L-Alanine - D-Glycine - L-Lysine - D-Alanine - D-Alanine (disaccharide-pentapeptide). Les chaînes peuvent être reliées pour former la molécule réticulée finale par liaison covalente entre les peptides (réaction de transpeptidation).

Le peptidoglycane est la cible d'un enzyme présent dans tout le règne vivant, le lysozyme, qui découpe les chaînes glucidiques quand elles sont accessibles (germes à Gram positif). Des antibiotiques (β -lactamines, glycopeptides et fosfomycine) perturbent la synthèse du peptidoglycane ; sous leur action on voit apparaître des déformations (allongements, formes anormales).

3.3.2. Parois des bactéries à Gram positif

Les bactéries à Gram positif sont caractérisées par une paroi sans autre constituant majeur que le peptidoglycane. La muréine représente jusqu'à 30% du poids sec d'une cellule. Le peptidoglycane est très solide, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.

Il existe aussi des constituants mineurs d'un point de vue quantitatif :

- les acides téichoïques, sont des polymères de glycérol ou de ribitol et de phosphore fixés sur la N-Acétyl-Glucosamine et jouent un rôle dans les transferts d'ions et dans la fixation de certaines protéines par l'intermédiaire d'un ion Ca^{2+} ;
- les acides lipotéichoïques, polymères de glycérol et de phosphore sont fixés par leur partie lipidique dans la membrane cytoplasmique et s'étendent dans la paroi et au-delà ; ils jouent le même rôle que les acides téichoïques mais interviennent aussi dans l'adhérence aux cellules et ont un faible effet toxique ;
- les polysaccharides neutres sont utilisés pour l'identification infraspécifique;
- les protéines présentes sont essentiellement des enzymes.

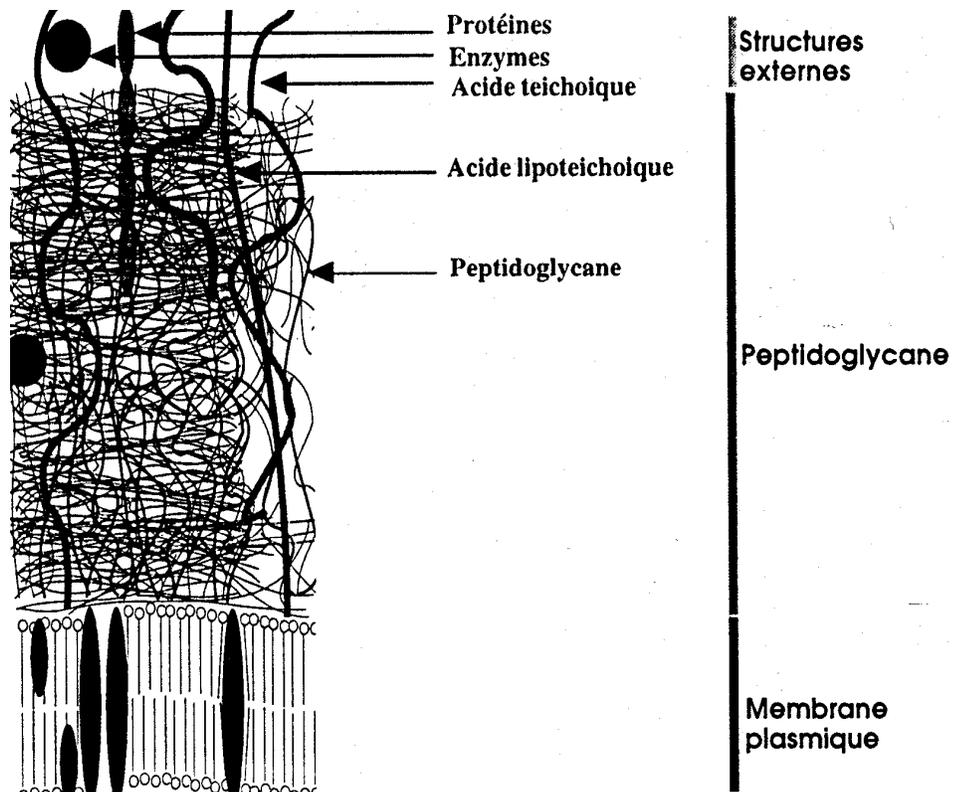


Figure 3.2. Schéma simplifié de la paroi d'une bactérie à Gram positif

3.3.3. Paroi des bactéries à Gram négatif

Chez les bactéries à Gram négatif, le peptidoglycane est en couche mince et peu dense (moins de 15% du poids sec), les liaisons inter peptidiques sont peu nombreuses, surtout à proximité de la membrane cytoplasmique. Cette couche très hydrophile constitue un élément essentiel connu sous le nom d'espace périplasmique.

Au-delà existe une structure originale composée d'une alternance de zones hydrophobes et hydrophiles : la membrane externe. Le constituant essentiel de cette membrane est un lipide complexe couplé à la glucosamine et à des résidus phosphore, le lipide A. Sur les résidus glucosamine, des polysaccharides complexes sont fixés et forment la partie la plus externe de la paroi. Ces polysaccharides sont essentiels pour la physiologie bactérienne dans les processus de pénétration de nutriments ou de toxiques, ils sont spécifiques de sous-espèces ou de types et comportent des sucres originaux. Vers l'intérieur de la paroi, on trouve des phospholipides. Une molécule, la lipoprotéine, présente en grand nombre, assure la liaison phospholipides-peptidoglycane.

La membrane externe est constituée d'une double couche phospho-lipoprotéique comprenant une grande quantité de molécules de protéines :

- protéines non spécifiques de la membrane externe avec la fonction de porines, délimitent des canaux remplis d'eau à travers laquelle les substances solubles peuvent diffuser dans l'espace périplasmiques.

-protéines spécifiques avec fonctions de transport pour certaines substances, dont certaines sont également des récepteurs pour les bactériophages.

-protéines de surface peuvent jouer un certain rôle dans les bactéries pathogènes, tels que 7 protéines de surface chez les shigelle qui fournissent envahissant

Dans la membrane externe se trouvent enchâssées des protéines (dont une zone est hydrophobe), qui assurent la cohésion de la membrane, une liaison avec le peptidoglycane et des fonctions diverses de perméabilité sélective ou non. Ces porines sont essentielles à la vie de la bactérie mais aussi à l'action de certains antibiotiques. D'autres protéines servent à la captation d'ions (par exemple du fer), ou de vitamines et d'autres protéines sont des enzymes.

Au-dessus de la membrane externe des bacilles à Gram négatif c'est le **lipopolysaccharide de la paroi (LPS)** ou l'endotoxine. Il est composé de :

-lipide A ayant une structure particulière, qui est constitué d'unités de disaccharide glucosamine liés par des acides bêta-hydroxyacides avec 10 à 16 atomes de carbone reliés directement à la membrane externe,

-noyau ou «core», appelés antigène R commun à tous les bactéries Gram négatives,

-les antigènes O des bactéries Gram-négatives représentent une répétition des unités de monosaccharide (15 à 40) qui sont propres pour l'espèce, et le type.

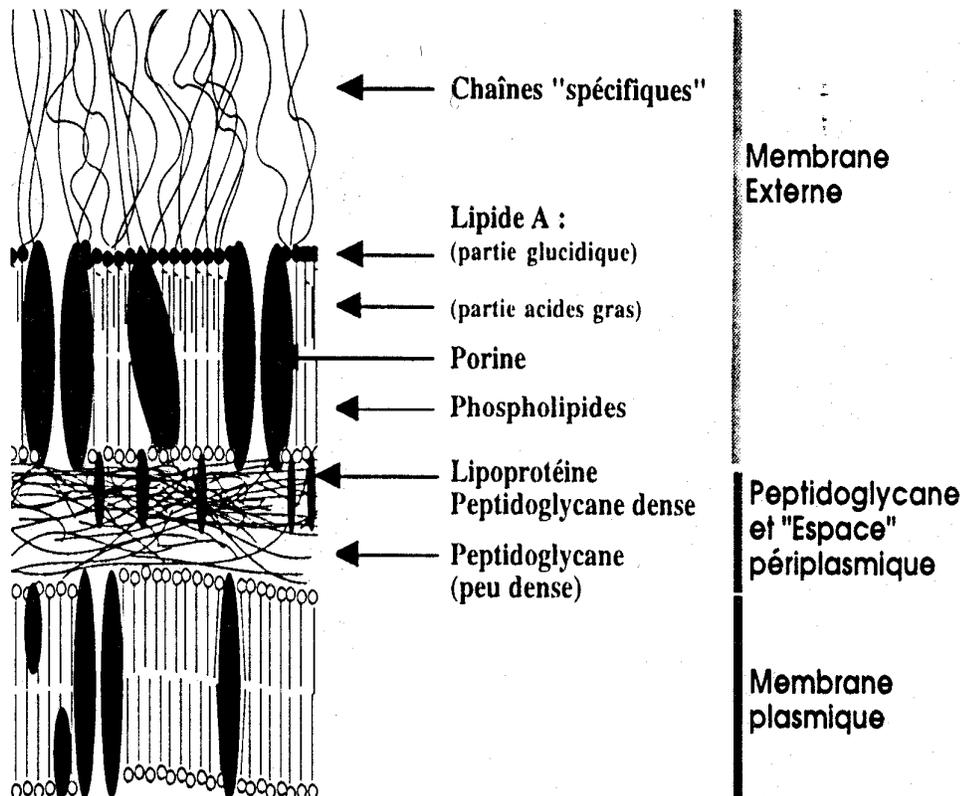


Figure 3.3. Schéma simplifié de la paroi d'une bactérie à Gram négatif

Le LPS c'est une toxine labile à la chaleur qui est libéré dans l'environnement des bactéries gram-négatives après leur lyse. Le lipide A produit la fièvre, active les mécanismes de défense anti-infectieux. En excès produit le choc endotoxinique grave, voire mortelle.

La double structure de la paroi cellulaire chez des bactéries Gram-négatives crée un compartiment qui s'étend à partir de la membrane cellulaire à la membrane externe appelé **l'espace périplasmique**.

Il contient le peptidoglycane et une un gel d'alimentation pour les bactéries avec les enzymes de dégradation (phosphatases, protéases, nucléases), aussi des enzymes d'inactivation pour certains antibiotiques (bêta-lactamases et les céphalosporinases).

3.3.4. Paroi des *Mycobacteriaceae*

Ce sont des bactéries à Gram positif, possédant une quantité importante de peptidoglycane, mais celui-ci est recouvert de lipides (jusqu'à 70% du poids de la paroi). Les lipides externes constituent une barrière, la membrane externe des *Mycobacteriaceae*.

Ces lipides complexes, ramifiés et de gros poids moléculaire (on connaît surtout les acides mycoliques), sont liés à des polysaccharides et à des protéines. Cette couche externe explique la résistance des mycobactéries dans l'environnement et la sensibilité aux antibiotiques très éloignée de celle de bactéries à Gram positif.

La coloration de Ziehl est positive pour ces bactéries : les couches de lipides suppriment l'élution du colorant par le mélange acide-alcool. Si le colorant employé est la fuchsine, les cellules apparaîtront rouges, si le colorant est fluorescent (immunofluorescence), les cellules resteront fluorescentes.

Les antibiotiques spécifiquement antituberculeux agissent sur cette paroi lipidique. L'isoniazide, l'éthionamide et la pyrazinamide bloquent la synthèse des acides mycoliques des mycobactéries, la fixation de ces composés dans la paroi est inhibée par l'éthambutol qui bloque la synthèse de l'arabinogalactane, composant essentiel de la paroi externe des *Mycobacteriaceae*.

Le rôle de la paroi cellulaire :

- assure la forme, la résistance mécanique et osmotique des bactéries ;
- assure la protection de la membrane cytoplasmique contre la pression interne de la cellule bactérienne,
- régule le trafic de la paroi moléculaire dans les deux sens, donc l'échange de substances entre la bactérie et l'environnement, étant perméable aux molécules de GM inférieur à 10 000 daltons et de diamètre inférieur à 1 nm ;
- stocke certaines enzymes dans l'espace périplasmique des bactéries à Gram négatif qui seront libérées selon les besoins, contrairement aux bactéries à Gram positif qui éliminent leurs enzymes directement dans le milieu extérieur ;
- présente des récepteurs pour les bactériophages ;
- est le siège de certains facteurs de pathogénicité ;
- joue un rôle dans la division bactérienne et dans le processus de sporulation.
 - Autres propriétés de la paroi bactérienne:
 - Coloration de Gram : Cette coloration est fondée sur l'action successive d'un colorant d'aniline (le cristal violet), d'iode puis d'un mélange d'alcool et d'acétone. Dans un premier temps, le colorant pénètre dans la paroi et le cytoplasme. Dans un second temps, l'iode réagit avec le colorant et le rend insoluble. La perméabilité plus grande des bactéries à Gram négatif à l'alcool

permet la décoloration. Les bactéries à Gram positif restent colorées en mauve. Une contre-coloration (par exemple en rose) permet de visualiser à nouveau les corps cellulaires des bactéries à Gram négatif. L'intérêt de cette coloration est de communiquer une information rapide et médicalement importante, car le pouvoir pathogène et la sensibilité aux antibiotiques sont radicalement différents. In vivo, sous l'action des antibiotiques, les bactéries à Gram positif peuvent perdre leur coloration et être délicates à identifier par cette méthode.

➤ La paroi est antigénique: Les polysaccharides de la membrane externe (dans ce rôle d'antigène, ils prennent le nom d'antigène O), acides téichoïques et lipotéichoïques des staphylocoques, antigènes protéiques M des streptocoques sont des structures liées à la paroi.

➤ Les antibiotiques (β -lactamines, glycopeptides et fosfomycine) perturbent la synthèse du peptidoglycane ; Sous leur action on voit apparaître des déformations (allongements, formes anormales).

L'absence de paroi est habituellement létale pour les bactéries (*Mollicutes* exceptés), cependant des formes de bactéries dépourvues d'enveloppes extérieures existent, ce sont les "formes L" et les protoplastes. Les "formes L", mutants de bactéries devenues dépourvues de paroi suite à l'action des antibiotiques, ne semblent pas avoir un intérêt médical. Les protoplastes sont des bactéries obtenues dans des conditions expérimentales sous l'action des β -lactamines dans un milieu hyperosmolaire : l'effet lytique des antibiotiques n'est plus observé dans ces conditions.

3.4. LA CAPSULE

La capsule est un constituant inconstant de la bactérie. Constitué de polysaccharides acides, ce composant est très lié à certains pouvoirs pathogènes car il empêche la phagocytose.

Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (le colorant - encre de Chine ou Nigrosine est repoussé par la capsule et celle-ci apparaît en clair sur fond noir).

La capsule intervient dans l'identification infraspécifique ou typage qui est une des méthodes de reconnaissance des épidémies. Les polymères capsulaires purifiés sont la base de certains vaccins (*Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*).

3.4.1. Le glycocalyx

Ce sont des fibres polysaccharidiques entourant la bactérie. Le glycocalyx est responsable de l'attachement des bactéries aux cellules (cellules buccales, respiratoires, plaque dentaire) ou à des supports inertes (plaque dentaire sur l'émail dentaire, les instruments et les prothèses dans le cas de bactéries d'intérêt médical). Le glycocalyx rend les bactéries résistantes à l'action des antiseptiques, désinfectants et antibiotiques.

Certaines structures de cette couche externe des bactéries sont plus grosses, protéiques, fibrillaires et rigides (*fimbriae* ou *pili*), elles permettent l'attachement spécifique des bactéries sur les cellules qui semble une phase essentielle dans certains pouvoirs pathogènes (*Escherichia coli* de certaines infections urinaires).

Le rôle de la capsule : La capsule joue un rôle dans la résistance des bactéries à la phagocytose, étant ainsi un facteur de virulence. Les variantes non encapsulées de la même espèce sont non pathogènes. Par exemple, *Streptococcus pneumoniae*, type S, encapsulé, produit une septicémie mortelle chez la souris blanche, alors que le variant non encapsulé n'est pas pathogène.

La capsule est une structure dotée de propriétés antigéniques spécifiques (antigènes K) qui permettent la différenciation de certains sérotypes au sein de l'espèce.

3.5. LES FLAGÈLES (CILLS)

Sont organismes de mobilité. Beaucoup de bactéries sont mobiles. C'est un caractère de virulence. En fonction de la position et le nombre des cils, il y a des bactéries : atriche (sans cills), monotriche (avec une seule cille), lophotriche (un groupe de cills, à une extrémité), amphitriche (deux groupes des cills, à deux extrémités), peritriche (cills disposés tout autour de la bactérie).

3.6. LES PILI BACTÉRIENS

De nombreuses espèces bactériennes à Gram négatif présentent à leur surface des appendices filamenteux, rigides, plus courts que les flagelles, en grand nombre (100-500/cellule) et généralement péritriches. Ils ne peuvent être observés qu'en microscopie électronique.

D'un point de vue chimique, ce sont des polymères de protéines pilines, disposés en hélice dans une structure tubulaire. La nature protéique des pili leur confère des propriétés antigéniques. D'un point de vue fonctionnel, les pili sont répartis en :

- sex pili - codés par des formations génétiques extra chromosomiques (plasmides) et qui revêtent une importance particulière dans le transfert de matériel génétique entre bactéries. Ils sont présents notamment chez les bactéries à Gram négatif (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*),
- les pili communs ou pili d'adhésion (fimbriae), en grand nombre, codés chromosomiquement, et qui permettent aux bactéries de s'attacher fermement au milieu de culture ou aux cellules sur lesquelles elles se trouvent. Ils constituent donc un facteur de virulence important (par exemple chez les gonocoques). En plus de l'adhésion, les pili communs ont également des propriétés anti phagocytaires.

Les deux catégories de pili présentent des antigènes spécifiques et peuvent être des récepteurs de bactériophages.

3.7. LA SPORE BACTÉRIENNE

Certaines bactéries, entre autres d'intérêt médical (genre *Clostridium* et *Bacillus*), ont la propriété de se différencier en formes de survie appelées spores. Ces bactéries se présentent donc soit sous une forme végétative métaboliquement active et potentiellement pathogène, soit sous une forme métaboliquement inactive et non pathogène.

La transformation de la forme végétative en spore est la sporulation, elle prend 6 à 8 heures à 37°C pour *Bacillus subtilis*. La sporulation est déclenchée par des modifications de l'environnement, essentiellement l'épuisement en matières nutritives. La mise en conditions favorables (nutritives, thermiques et chimiques) permet à la spore de redonner une cellule végétative (germination).

La sporulation est caractérisée par une déshydratation progressive du cytoplasme, par l'apparition de nouveaux composés comme le dipicolinate de calcium par une densification des structures nucléaires et par la synthèse d'une paroi sporale épaisse et imperméable. La spore, initialement intrabactérienne est libérée dans le milieu extérieur.

Les spores sont très résistantes à la température (plusieurs heures à 100°C), aux rayonnements, aux agents chimiques (antiseptiques, désinfectants) et au temps (survie atteignant plusieurs siècles). Métaboliquement inactives, les spores résistent naturellement aux antibiotiques.

L'intérêt médical est avec :

- les conserves familiales (Botulisme) (produite par *Clostridium botulinum*)
- les plaies souillées par de la terre (Tétanos) (produite par *Clostridium tetani*)
- l'anthrax (le Charbon) (produite par *Bacillus anthracis*)

4. PHYSIOLOGIE ET CROISSANCE

4.1. DIVISION BACTÉRIENNE

Les bactéries se multiplient par fission binaire : une cellule grandit (et l'ADN se duplique) puis se divise en deux cellules filles séparées par un septum de division formé par la paroi cellulaire. La réorganisation des parois qui conduit à la formation du septum puis à la séparation met en jeu divers systèmes enzymatiques de synthèse et de dégradation.

4.2. DYNAMIQUE DE LA CROISSANCE

La croissance bactérienne est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie. Elle aboutit à l'augmentation du nombre de bactéries. Au cours de la croissance, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et, d'autre part, un enrichissement en sous-produits du métabolisme, éventuellement toxiques.

4.2.1. La courbe de croissance

La croissance peut être étudiée en milieu liquide ou solide.

- 1. La phase de latence :** Placée dans un milieu neuf (*in vitro* ou *in vivo*), une bactérie doit d'abord effectuer certaines synthèses et éventuellement modifier le milieu ; ceci se traduit par une latence à la croissance pouvant atteindre plusieurs heures. Cette phase de latence est toujours plus longue *in vivo*. Cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptées au nouveau substrat.
- 2. La phase d'accélération:** Après la phase de latence se produit une augmentation de la vitesse de croissance.
- 3. La phase quasi- exponentielle :** le taux de croissance atteint un maximum. Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante. Le temps de doublement des bactéries est le plus court. La masse cellulaire est représentée par des cellules viables. La multiplication s'effectue à taux constant : la multiplication est exponentielle ou proche de celle-ci. On mesure la rapidité de croissance par le temps mis pour une bactérie pour se diviser (temps de génération), qui est aussi le temps que met une population bactérienne pour doubler (temps de doublement). Le taux de croissance correspond à l'inverse d'un temps de génération.

La phase de croissance assimilable à une exponentielle peut être très courte. *In vitro*, le temps de génération se mesure habituellement en minutes.

Tableau 4.1. Temps de génération (T_G) *in vitro* et *in vivo* de quelques bactéries

Bactérie	T_G <i>in vitro</i> (minutes)	T_G <i>in vivo</i> (heures)
<i>Escherichia coli</i>	20-40	5
<i>Salmonella typhimurium</i>	20-40	3-5
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	3-5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	4
<i>Vibrio cholerae</i>	20	2-5
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	120-240	24-48

4. La phase de ralentissement: la vitesse de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

5. La phase maximale stationnaire: le taux de croissance devient nul. Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

6. La phase de déclin (éventuelle de mortalité): le taux de croissance est négatif. Toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il y a accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse (croissance cryptique).

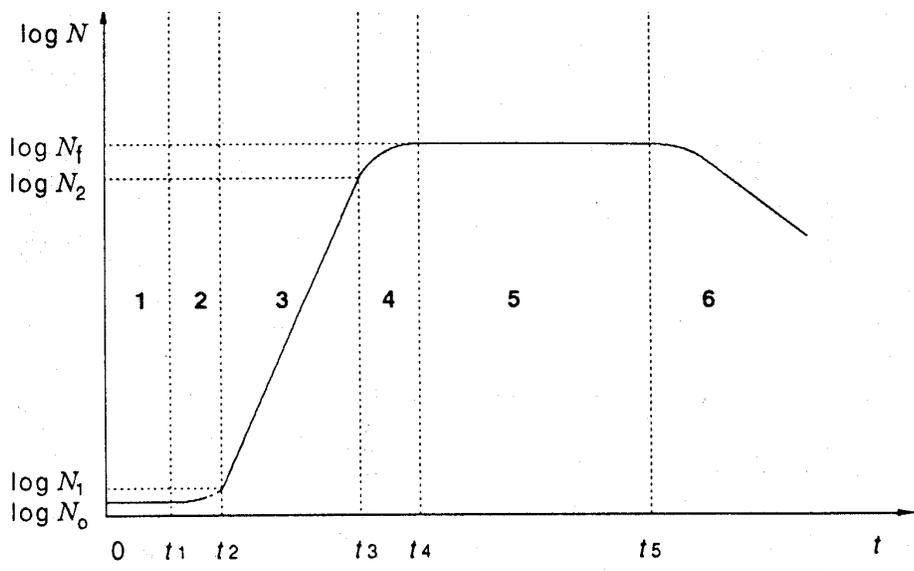


Figure 4.1. Croissance typique d'une bactérie en milieu liquide. N est le nombre de bactéries, N_0 est l'inoculum, N_1 le nombre de bactéries en fin de phase d'accélération, N_2 , le nombre de bactéries en fin de phase exponentielle et N_f le nombre de bactéries final.

1 - Phase de latence; 2 - Phase d'accélération; 3 - Phase quasi-exponentielle; 4 - Phase de ralentissement; 5 - Phase stationnaire; 6 - Phase éventuelle de mortalité.

4.2.2. La croissance *in vitro* (sur les milieux liquides et solides)

Les bactéries peuvent être cultivées sur les milieux liquide, solide ou semi-liquide. Les milieux liquides sont utilisés pour la culture de bactéries pures ou lors d'infection monomicrobienne

-Exemple: l'hémoculture en flacon - culture d'une bactérie dans un bouillon nutritif ou encore à partir du sang d'un malade.

Les milieux solides ou semi-solides, à base d'agar (gélose), sont utilisés pour l'isolement de bactéries. Dans ces milieux, ont été ajoutés des nutriments favorisant la croissance des bactéries étudiées.

-Exemples: culture par isolement d'une bactérie à la surface d'un milieu gélosé contenant du sang (mouton, cheval) montrant après 18 à 24 h à 37°C d'incubation des colonies hémolytiques.

4.2.3. La croissance en culture continue

Il y a une croissance exponentielle continue lorsque le milieu de culture est renouvelé régulièrement et que les métabolites sont éliminés en même temps.

Lorsque l'objectif est d'obtenir une masse microbienne importante ou des produits bactériens pour la recherche, la préparation de vaccins, les industries diverses (pharmaceutique, alimentaire, etc.), la culture des bactéries se fait dans des systèmes ouverts, dans lesquels le milieu de culture est remplacé en permanence par milieu frais, éliminant en même temps la masse de bactéries nouvellement formée. Les bactéries seront toujours en phase logarithmique, la courbe de multiplication ayant un aspect linéaire.

4.2.4. La croissance *in vivo*

Est le plus souvent très ralentie. Les bactéries doivent lutter pour leur approvisionnement en nutriments, en fer, en vitamines mais aussi contre des produits antibactériens présents dans notre organisme tels que lysozyme et complément.

Il faut aussi penser que, *in vivo*, la plupart des bactéries sont phagocytées par les macrophages et les polynucléaires. Sous l'action des antibiotiques la croissance pourra se ralentir (les temps de génération augmentent: c'est la bactériostase partielle), ou s'arrêter totalement (bactériostase).

Les bactéries à habitat extracellulaire sont exposées à l'action des anticorps, du complément, de la phagocytose, contrairement aux bactéries qui se multiplient de manière intracellulaire et sont protégées par l'action de ces facteurs et échappent parfois à la surveillance immunologique.

Les bactéries développent des mécanismes adaptatifs pour contourner les barrières qui s'opposent à leur reproduction. Même lorsque la multiplication des bactéries est stoppée, leur simple présence dans l'organisme peut constituer un stimulus immunologique permanent aux conséquences bénéfiques ou au contraire néfastes.

4.2.5. La croissance en biofilm

Les bactéries peuvent s'attacher aux surfaces, s'associer entre elles et s'entourer d'un polymère organique pour constituer un biofilm. Leur organisation et leur métabolisme dépendent de la nature de la surface et de l'environnement physico-chimique. Les biofilms intéressent tous les domaines de la microbiologie et de la médecine:

- matériels d'exploration,
- matériels implantés,
- muqueuses lésées, etc.

Les biofilms sont caractérisés par une hétérogénéité spatiale: il existe des variations métaboliques importantes à l'intérieur du biofilm et à l'interface milieu liquide/milieu solide.

4.3. CONDITIONS FAVORABLES À LA CROISSANCE

La croissance ne survient que si la bactérie bénéficie d'un environnement favorable (nutritif, température, pH, force ionique, teneur en oxygène, etc.).

4.3.1. Sources d'énergie

Les bactéries doivent trouver dans leur environnement les substances nécessaires à leur énergie et à leurs synthèses cellulaires:

- Les bactéries phototrophes utilisent l'énergie lumineuse pour la photosynthèse (synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique).
- Les bactéries chimiotrophes puisent leur énergie à partir de composés minéraux ou organiques. Elles utilisent des donneurs et des accepteurs d'électrons (élément minéral: bactérie chimolithotrophe, ou élément organique: bactérie chimioorganotrophe).

La grande majorité des bactéries d'intérêt médical sont chimioorganotrophes.

4.3.2. Sources de carbone

Le carbone est l'un des éléments les plus abondants de la bactérie. Le plus simple des composés est l'anhydride carbonique ou CO₂. Celui-ci peut être utilisé par la bactérie pour la synthèse de certains métabolites essentiels qui ferait intervenir une réaction de carboxylation. Le CO₂ est la seule source de carbone pour les **bactéries autotrophes**.

Les bactéries hétérotrophes utilisent facultativement le CO₂. Elles dégradent une grande quantité de substances hydrocarbonées (alcool, acide acétique, acide lactique, polysaccharides, sucres divers).

4.3.3. Sources d'azote et besoins en soufre

Les bactéries ont besoin de substances azotées pour synthétiser leurs protéines. La provenance de cet azote peut se faire par fixation directe de l'azote atmosphérique ou par incorporation de composés azotés (réactions de désamination, de transamination).

Le soufre est incorporé par les bactéries sous forme de sulfate ou de composés soufrés organiques.

4.3.4. Besoins inorganiques

Le **phosphore fait partie des acides nucléiques** et de **nombreuses réactions enzymatiques**. Il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la bactérie. Il est incorporé sous forme de phosphate inorganique.

D'autres éléments jouent un rôle dans le métabolisme bactérien: sodium, potassium, magnésium, chlore et dans les réactions enzymatiques: calcium, fer, magnésium, manganèse, nickel, sélénium, cuivre, cobalt, vitamines.

4.3.5. Atmosphère

En médecine, on connaît le rôle déterminant de l'oxygène comme modulateur de la vie bactérienne.

Les bactéries aérobies strictes: ne se développent qu'en présence d'air. Leur source principale d'énergie est la respiration. L'oxygène moléculaire, est l'ultime accepteur d'électron, est réduit en eau (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Neisseria*).

Les bactéries microaérophiles se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air (*Campylobacter*, *Mycobacteriaceae*).

Les bactéries aéro-anaérobies facultatives se développent avec ou sans air. C'est le cas de la majorité des bactéries rencontrées en pathologie médicale: les entérobactéries (*Escherichia*, *Salmonella*), les streptocoques, les staphylocoques.

L'énergie provient de l'oxydation des substrats et de la fermentation.

Les bactéries aéro-anaérobies (la majorité des genres pathogènes) sont aérotolérantes et oxydatrices (quand de l'oxygène est présent) ou fermentatrices (en absence d'oxygène). Exemple: *Streptococcus*.

Les bactéries anaérobies sont tuées par l'oxygène (mais certaines sont cependant capables de survivre assez longtemps à l'air libre) et fermentatrices. Ne se développent qu'en absence totale ou presque d'oxygène qui est le plus souvent toxique. Ces bactéries doivent se cultiver sous atmosphère réductrice. La totalité de l'énergie est produite par fermentation. Exemples: *Clostridium*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* etc.

4.3.6. Nutriments

Les aliments doivent répondre à des besoins constitutifs et énergétiques. Tous les nutriments pénètrent d'abord dans la bactérie par diffusion passive ou par un processus actif pouvant être spécifique. Les gaz diffusent librement dans les cellules. Les aliments des bactéries peuvent être directement assimilés sous forme simple (glucose, acides aminés, ions, etc.) mais des exoenzymes peuvent dégrader des substrats (polysaccharides, protéines, lipides) en vue de leur emploi. Tous les nutriments doivent traverser la paroi bactérienne puis la membrane cytoplasmique. Un petit nombre de molécules le font par diffusion libre: ce sont les gaz (O₂, CO₂), les acides gras, certains nutriments liposolubles. La majorité des substances pénètrent grâce à des protéines de transport (porines, perméases).

Les substrats sont métabolisés grâce à l'équipement enzymatique selon les voies métaboliques propres à chaque espèce bactérienne (Embden-Meyerhof, cycle des pentoses, cycle de Krebs, etc.). L'excrétion des métabolites peut également être réglée par des protéines de transport, ou se produire par diffusion ou lors de la lyse bactérienne.

Certains produits indispensables à la croissance sont captés à l'extérieur des bactéries par des structures chimiques (fer), qui sont alors captées et introduites dans la cellule. Chez les bactéries à Gram négatif, les porines sont essentielles au processus de pénétration des aliments et des vitamines ou du fer.

Les besoins constitutifs élémentaires peuvent être limités à un substrat apportant de l'énergie, les cellules captant le carbone, l'azote et l'oxygène dans le milieu ambiant. Pour les bactéries d'intérêt médical, la source de carbone est un composé organique (bactéries dites hétérotrophes). Habituellement, il s'agit d'un sucre comme le glucose.

Des éléments tels que sodium, phosphore et soufre, fer, calcium, magnésium et potassium doivent être disponibles. D'autres métaux à l'état de traces (oligo-éléments) sont aussi indispensables (Co, Cu, Zn, Mn, Mo).

Certaines bactéries ont besoin, en plus, d'un ou de plusieurs composés organiques qu'elles ne peuvent synthétiser. Ces composés appelés "facteurs de croissance doivent être apportés par l'environnement (*in vivo* ou *in vitro*). Ces bactéries sont dites auxotrophes par opposition aux bactéries prototrophes qui sont capables de synthétiser tous les constituants indispensables à partir d'un composé chimique simple (glucose, par exemple). Ces facteurs de croissance varient selon les espèces bactériennes ou les souches: acides aminés, bases nucléiques et vitamines, composés complexes (hémine).

Les dépenses énergétiques dues à la synthèse des liaisons riches en énergie (ATP, glucose 6P, acétyl-coA, etc.) sont aussi importantes. Les bactéries d'intérêt médical utilisent des réactions chimiques d'oxydoréduction et sont appelées chimiotrophes. Comme pour la source de carbone, le glucose est le plus souvent le substrat énergétique des bactéries "médicales".

La détermination des besoins nutritifs et la démonstration de certaines étapes du métabolisme sont à la base de l'identification des bactéries par les laboratoires de diagnostic.

4.4. LES CONDITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA CROISSANCE

4.4.1. Température

Le taux de croissance d'une bactérie 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. L'optimum permet de déterminer, assez artificiellement, des zones de températures correspondant aux bactéries mésophiles (optimum entre 20°C et 40°C), thermophiles (optimum supérieur à 40°C), psychrophiles (optimum inférieur à 20°C). Les bactéries hôtes de l'Homme et des animaux à sang chaud sont des mésophiles et ont un optimum situé entre 3°C et 4°C et une température minimale de croissance voisine de 1°C. Toutefois certaines espèces pathogènes peuvent se développer à 4°C comme *Yersinia enterocolitica* et en dessous de 4°C comme *Listeria monocytogenes* ou *Bacillus cereus*.

Les bactéries psychrophiles de l'environnement constituent la flore dite d'altération des aliments, se développent dans les produits laitiers et les aliments réfrigérés. Les températures élevées s'opposent à la multiplication ou est ainsi une méthode de prévention des croissances bactériennes dangereuses dans les cuisines de collectivités et la pasteurisation (par exemple maintien à 70°C pendant 30 minutes) détruit les bactéries sans forme de résistance. Une haute température (105°C) maintenue quelques secondes ("Ultra Haute Température" ou UHT) donne le

même résultat. Chaleur sèche générée par le four Pasteur à 180°C pendant 30 minutes et chaleur humide obtenue dans l'autoclave à 120°C pendant 30 à 60 minutes servent à la stérilisation.

4.4.2. pH

Les bactéries pathogènes ou liées à l'écosystème humain se développent dans des milieux neutres ou légèrement alcalins. Comme pour la température on décrit des pH minima, optima et maxima. Les bactéries médicalement importantes se développent entre pH 5,5 et 8,5 avec un optima voisin de pH 7. Certaines espèces pathogènes telles les *Pseudomonas*, les *Vibrio* se développent bien en milieux alcalins et cette propriété est utile pour leur isolement ; à l'opposé les *Lactobacillus* du vagin se multiplient mieux à pH 6 et au-dessous.

4.4.3. Pression osmotique

Les bactéries sont assez tolérantes aux variations des concentrations ioniques. Des espèces pathogènes sont osmotolérantes (staphylocoques, *Vibrio cholerae*): elles supportent une salinité élevée (ceci est utilisé pour la réalisation de milieux sélectifs); on les appelle aussi halotolérantes. On connaît cependant des bactéries pathogènes halophiles exigeant plus de 2% de NaCl pour se multiplier (*Vibrio parahaemolyticus*) mais certaines espèces vivant dans des saumures, tolèrent des concentrations de NaCl supérieures à 20-30%.

4.4.4. Eau libre

Les bactéries d'intérêt médical ont besoin d'un environnement humide où l'eau est facilement accessible. La croissance s'arrête si la teneur en eau libre est faible (fortes concentrations en sel, en sucres ou dessiccation). Elles ne se développent pas dans des aliments présentant ces caractères.

4.4.5. Pressions partielles d'oxygène

On distingue classiquement plusieurs classes parmi les micro-organismes en fonction de leurs rapports avec l'oxygène: aérobic strict, microaérophile, aéro-anaérobic facultatif et anaérobic strict. Un tel comportement conditionne également les divers processus (respiration, fermentation) permettant d'obtenir l'énergie nécessaire à la formation de liaisons riches en énergie et à la mise à disposition des matériaux nécessaires à la construction cellulaire. Les réactions d'oxydoréduction en chaîne mises en œuvre sont individualisées les unes des autres par la nature de l'accepteur final d'électron. Les bactéries aérobies strictes ne se développent qu'en présence d'air et même parfois d'oxygène pur. Leur source principale d'énergie est la respiration et l'oxygène moléculaire, l'ultime accepteur d'électron, est réduit en eau. Parmi les bactéries médicales les *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Acinetobacter* sont aérobies strictes.

Les bactéries microaérophiles se développent mieux ou exclusivement lorsque la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air (*Campylobacter*, *Mycobacteriaceae*).

Les bactéries qui se multiplient avec ou sans air sont les aéroanaérobies facultatifs. La majorité des bactéries médicalement intéressantes sont de ce type, notamment les entérobactéries (*Escherichia*, *Salmonella*, etc.), les *Streptococcus* et les *Staphylococcus*.

Les bactéries anaérobies strictes ne se développent qu'en absence presque totale d'oxygène et ce gaz est le plus souvent toxique. Certaines souches doivent être cultivées sous vide ou sous atmosphère réductrice. La totalité de l'énergie est produite par fermentation. Parmi les bactéries anaérobies figurent des bactéries intestinales (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium*) et de nombreuses bactéries présentes dans les flores normales de l'organisme. La toxicité de l'oxygène serait expliquée par la production de radicaux superoxyde que les bactéries anaérobies ne semblent pas pouvoir détruire (absence de superoxyde dismutase), et par l'absence ou la faible activité enzymatique des catalases et des peroxydases des anaérobies.

4.5. APPLICATIONS: LES CULTURES BACTÉRIENNES AU LABORATOIRE

4.5.1. Les milieux de culture

Un milieu de culture est composé d'un mélange de substrats nutritifs (acides aminés, peptides, bases nucléiques, sucres, etc.), d'un système tampon évitant les variations trop importantes de *pH*, de sels minéraux et de vitamines. Les milieux de culture doivent être débarrassés des bactéries éventuellement présentes dans les ingrédients qui le composent ou dans les récipients qui le contiennent par stérilisation (habituellement à l'autoclave en atmosphère de vapeur d'eau chauffée à 120°C pendant 20 minutes).

Diverses adjonctions peuvent être faites pour favoriser ou permettre la croissance de bactéries exigeant des "facteurs de croissance" (vitamines, protéines, hémoglobine, etc.) Les milieux complétés les plus utilisés sont les milieux au sang (mouton ou cheval).

L'augmentation de la biomasse se traduit dans un milieu liquide par l'apparition d'une turbidité visible à l'œil nu ou, dans le cas d'un milieu rendu solide par adjonction d'un gélifiant tel que la gélose, par l'apparition d'une accumulation de bactéries autour des bactéries initialement déposées à la surface du milieu ("colonie" bactérienne).

4.5.2. La notion d'isolement par épuisement

Isoler des bactéries consiste à obtenir un clone à partir d'un mélange de cellules bactériennes ou d'un produit pathologique. Chaque colonie constitue un clone, ensemble d'individus bactériens issus de la croissance d'une seule cellule bactérienne. Ces clones sont aisément obtenus par ensemencement d'une surface de milieu gélosé à l'aide d'une pipette Pasteur qui permet de prélever l'inoculum, c'est à dire le matériel contenant les bactéries et d'en assurer la dispersion sur la surface par frottement de la pointe de verre à la surface du milieu.

Si des précautions sont prises afin d'éviter la dispersion sur une surface déjà ensemencée, la densité des bactéries déposées sur le milieu est exponentiellement décroissante avec la surface de dispersion. En fin de zone de dispersion les cellules sont isolées les unes des autres par une distance suffisante pour obtenir, après incubation à 37°C par exemple, des colonies-clones. Cette technique d'"épuisement", de l'inoculum est à la base de l'isolement des bactéries au laboratoire.

Des milieux dits "sélectifs" peuvent contenir des substances inhibant (sels, antibiotiques) les bactéries non recherchées.

4.5.3. Les différentes apparences des colonies

La forme des colonies dépend de plusieurs facteurs intrinsèques à la bactérie (mobilité, morphologie, production de capsule, de matériel extracellulaire, présence de fimbriae, pigmentation, etc.) et extrinsèques comme les gradients de solutés créés autour de la colonie et la présence de colorants dans le milieu de culture. On distingue les colonies d'après leur taille, leur forme, leur aspect de surface.

Tableau 4.2. Exemple de caractères morphologiques des colonies

Caractères morphologiques des colonies	Qualificatifs
Taille	De 0,1 mm à 8 mm, ce caractère dépendant de l'espèce, du milieu et de la durée de l'incubation
Forme Contour	Régulière, sectoriée, asymétrique net, lobé, dentelé, échancré, filamenteux
Relief	Plate, lenticulaire, bombée, acuminée, ombiliquée, mamelonnée, incrustée
Aspect de surface	Mat (colonies dites "rough" ou R), lisse (colonies dites "smooth" ou S), brillant, ridé, plissé

5. GENETIQUE DES BACTERIES

L'Hérédité : c'est la propriété de tous les organisme de transmettre des caractères spécifiques a descendants.

La Variabilité : c'est l'apparition des caractères diffèrent de celle de la celle parentale.

5.1. ORGANISATION ET RÉPLICATION DE L'INFORMATION GÉNÉTIQUE CHEZ LES BACTÉRIES

Le **chromosome** des bactéries est généralement formé d'un double brin d'ADN circulaire surenroulé. Certaines bactéries présentent d'autres structures génomiques chromosome linéaire (*Borrelia burgdorferi*), chromosomes multiples (*Brucella melitenisis* qui possède deux chromosomes circulaires). La longueur du chromosome chez les bactéries est très variable : de 6×10^5 paires de bases (*Mollicutes*) à 10^9 paires de bases (myxobactéries), contenant de 500 à 10.000 gènes. Chaque gène est composé d'un enchaînement de nucléotides, transcrit en ARN messenger lui-même traduit en une chaîne peptidique. Dans les cellules eucaryotes, les gènes sont séparés par des introns qui sont excisés durant le processus de maturation des ARN messagers. Ainsi l'absence de phase de maturation des ARNm autorise les bactéries à débiter les processus de traduction des ARNm en protéines alors que l'étape de transcription n'est pas terminée.

La réplication du chromosome bactérien permet à chaque bactérie fille de recevoir une copie identique du chromosome. Cette réplication débute à un site spécifique du chromosome appelé origine de réplication. La réplication progresse de manière bidirectionnelle à partir de cette origine, les fronts de progression du processus étant désignés fourches de réplication. Après séparation des brins, chaque brin sert de matrice pour la synthèse du brin complémentaire. La réplication fait intervenir un nombre important de protéines enzymatiques et non enzymatiques parmi lesquelles: l'ADN gyrase qui permet la séparation préalable des brins parentaux, la primase qui catalyse la synthèse d'amorces indispensables à l'initiation de la synthèse d'ADN, l'ADN polymérase qui catalyse la réaction de synthèse d'ADN.

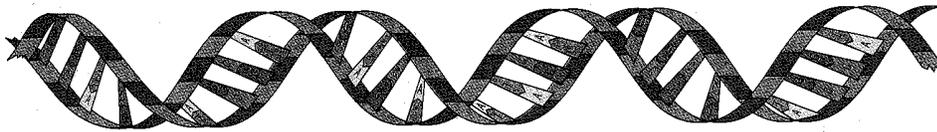


Figure 5.1. La structure de l'ADN

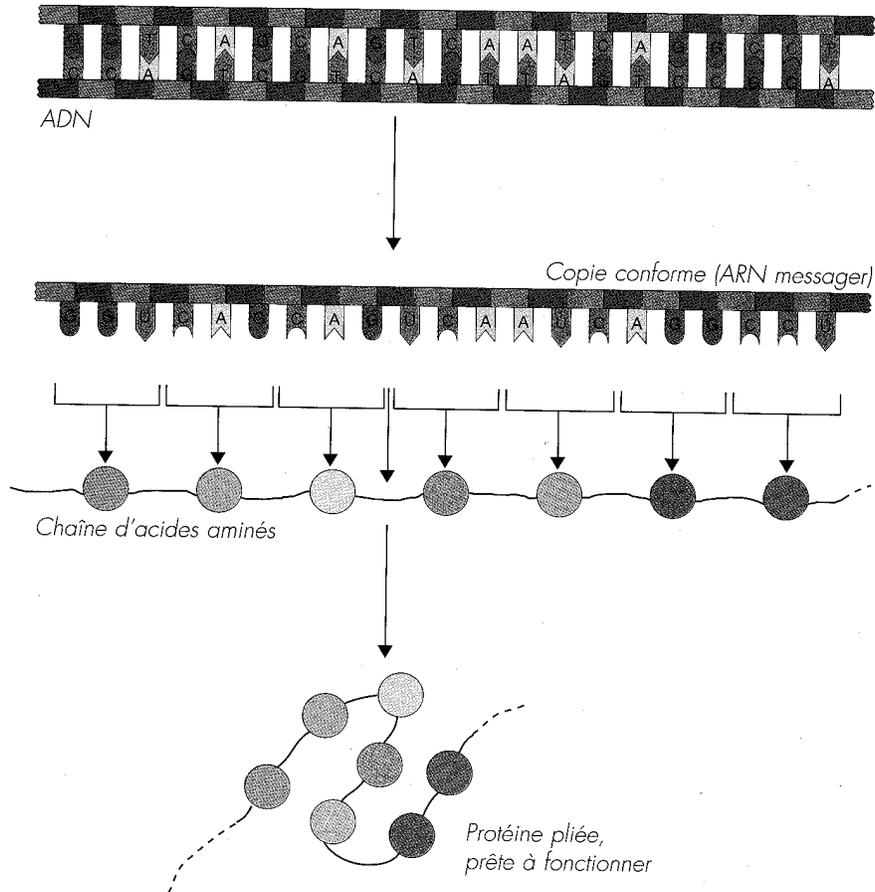


Figure 5.2. Schéma d'obtenir a une protéine composée d'acides aminés qui sont reliés les uns aux autres comme des perles sur un collier

Les plasmides sont déterminants génétiques non nucléaires (ADN), extra chromosomiales, libre dans le cytoplasme, et représentent des éléments de l'hérédité extra chromosomique, qui donnent aux nombreuses espèces qui les hébergent des nouveaux caractères. Il s'agit du principal processus d'évolution rapide des bactéries. Les plasmides sont classés en :

- conjugative (peut être transférée d'une cellule à une autre),
- non conjugative (ne peut pas être transférée d'une cellule à une autre, seulement avec des plasmides conjugatives)
- épisome (intègre dans le chromosome).

Le rôle des plasmides:

- **Plasmides de virulence**: sécrétion d'une enterotoxine (chez *E. coli*), des hémolysines (chez *S. aureus*)
- **Plasmides de résistance** aux antibiotiques (facteur R), décrit chez: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, etc.
- **Plasmides sexuelles** (facteur F), classer les bactéries en: bactéries F- (femelle), bactéries F+ (mâle), bactéries Hfr (mâle).

Le bactériophage sont des virus spécifiques des bactéries. Dans leur structure il y a: le tête (avec l'acide nucléique -ADN ou ARN), la capside (de nature protéique avec une rôle de protection), la queue, la gaine contractile et la plaque terminale.

Les transposons sont présents dans de très nombreux génomes bactériens (plasmidiques ou chromosomiques). Un transposon est caractérisé par des extrémités identiques à séquences inversées répétées qui portent des gènes responsables de leur excision et de leur intégration au génome de l'hôte. Ils assurent la mobilisation de séquence d'ADN au sein d'un même génome ou entre génomes différents. Ils ont été décrit par Barbara Mc Clintock, 1931, 1952, 1983 (comme des gènes sautillants).

Les fragments d'insertion (IS) sont des petits fragments de ADN avec de limite structurale bien précisé, avec beaucoup de sites de intégration dans le génome. **Les transposons (Tn)** contiennent aussi d'autres gènes que celle qui assure la transposition.

5.2. MUTATIONS CHROMOSOMIQUES

La mutation ou variation génotypique est une modification spontanée ou provoquée, indépendante des conditions de mise en évidence, transmissible de façon stable dans la descendance et résultant d'une modification du génome bactérien.

5.2.1. Définition des mutations

Au niveau cellulaire, une mutation correspond à l'apparition d'un individu qui diffère de la population d'origine. Les bactéries issues de cette cellule porteront toutes le nouveau caractère. L'exemple classique est celui d'une population de *Mycobacterium tuberculosis* qui n'ont pas eu de contacts avec la streptomycine et que l'on soumet, sur un milieu de culture, à l'action de l'antibiotique; les colonies résistantes qui se développent sont des mutants issus d'une seule cellule ayant acquis le nouveau caractère. Au niveau moléculaire la mutation correspond à une modification de la séquence des nucléotides d'un gène bactérien (séquence d'ADN). Un changement de la séquence des nucléotides modifie le produit du gène correspondant selon le principe de colinéarité entre ADN et protéines.

5.2.2. Caractères des mutations

Les mutations sont rares, non induites par la sélection, discontinues, indépendantes et transmises à la descendance de façon stable. Lors de chaque duplication du génome il existe une probabilité d'apparition d'une mutation pour un gène donné. Toutes les mutations ne changent pas le phénotype et donc ne modifient pas l'adaptation à l'environnement (mutations neutres). D'autres diminuent l'adaptation de l'individu à l'environnement et sont éliminées; d'autres l'accroissent et les mutants finissent par remplacer la souche sauvage. C'est la sélection naturelle. Ainsi, en médecine, les mutants résistants sont favorisés par la présence d'antibiotiques ou d'antiseptiques et supplantent les souches sauvages. Le taux de mutation peut être augmenté par l'action de certains agents physiques (rayons UV et X) ou chimiques (nitrosoguanidine, acide nitreux), ce sont des agents mutagènes. Un retour à l'état antérieur phénotypique peut survenir avec la même probabilité que

l'événement mutationnel initial (mutation réverse). Une mutation réverse n'est pas obligatoirement la correction exacte de l'erreur initiale.

La mutation est définie à l'échelle moléculaire comme une modification de la séquence nucléotidique d'un ADN. Les mutations ponctuelles correspondent au remplacement d'une base par une autre dans la séquence d'ADN. Les transitions sont des changements d'une purine en une autre purine (ou pyrimidine en une autre pyrimidine). Les transversions correspondent au remplacement d'une purine par une pyrimidine ou l'inverse. On obtient une mutation faux-sens par changement d'un seul acide aminé ou une mutation non-sens (arrêt de la synthèse peptidique) par remplacement d'un aminoacide par un codon d'arrêt de lecture.

Les mutations par addition ou délétion de matériel génétique correspondent à l'insertion d'une séquence d'ADN étrangère dans un gène, l'interruption de la séquence normale du gène entraîne bien souvent la perte de la fonction antérieure codée par le gène.

5.3. TRANSFERTS DE MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Si la mutation modifie de façon durable le patrimoine génétique des bactéries, son apparition reste accidentelle et sa sélection l'exception; en revanche les autres mécanismes assurant une modification du patrimoine génétique sont très efficaces et leur transmission se fait à la descendance mais aussi à d'autres bactéries. Deux catégories de modifications de ce type s'opposent selon qu'elles concernent le noyau bactérien uniquement (avec recombinaison) ou le noyau et les plasmides (sans recombinaison).

5.3.1. La transformation

C'est le transfert d'un fragment d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice.

Ce phénomène a été découvert par Griffith, en 1928, qui montra que l'inoculation à la souris de pneumocoques vivants mais dépourvus de capsule et donc avirulents associés à des pneumocoques capsulés de type S_{III} mais tués, détermine la mort de l'animal et permet d'isoler à partir de celui-ci des pneumocoques virulents de type S_{III}.

Les souches sauvages de pneumocoques sont encapsulées, forment des colonies d'aspect lisse, dites "smooth" (S) et sont virulentes pour les souris.

Des mutants, dits "rough" (R) dont les colonies sont d'aspect rugueux ne forment pas de capsule et sont avirulents. La virulence du pneumocoque est associée à la substance polysaccharidique de la capsule. Cette substance, antigénique, permet de distinguer plus de 75 sérotypes.

Par injection intra-péritonéale à la souris, Griffith constata:

1. que les pneumocoques vivants de type S provoquent une septicémie mortelle;
2. que des pneumocoques de type S tués laissent les souris vivantes ;
3. qu'un mutant acapsulé R, vivant, n'entraîne pas la mort de la souris quel que soit le sérotype capsulé dont il provient.

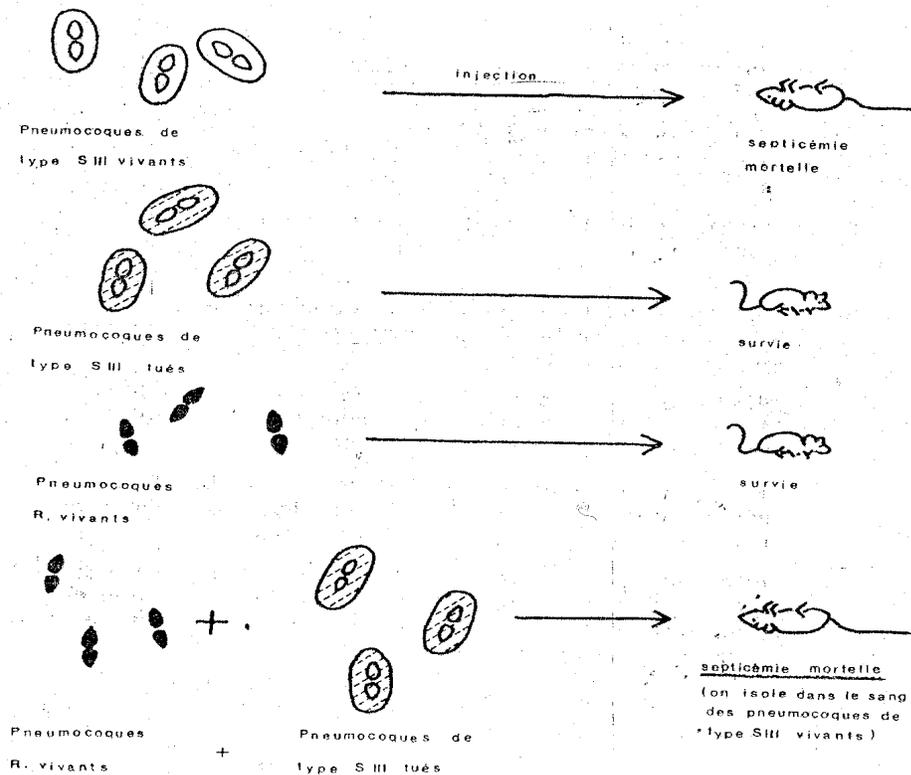


Figure 5.3. L'expérience de Griffith

Avery et ses collaborateurs en 1944 effectuèrent la même expérience mais cette fois, in vitro, et démontrèrent que des extraits purifiés d'ADN de pneumocoques tués de type S sont capables de conférer à des pneumocoques vivants mais avirulents, le caractère du type S virulent. Cette transformation en pneumocoques virulents relève bien de l'ADN car l'activité transformant est totalement détruite par le déoxyribonucléase et augmente proportionnellement avec le degré de purification de l'ADN. De plus, le phénomène est reproductible en série: le DNA des bactéries nouvellement transformées est capable de transformer à son tour d'autres bactéries et cela indéfiniment.

La transformation est cependant un processus fréquent chez certaines espèces à Gram positif (*Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus*, etc.) mais s'observe aussi chez certaines bactéries à Gram négatif (*Haemophilus*, *Neisseria*, *Moraxella*). L'ADN d'une bactérie donatrice, libéré naturellement lors d'une lyse bactérienne, est transféré sous forme libre à une bactérie réceptrice. La bactérie réceptrice doit être dans un état réceptif, dit de compétence, caractérisé par la présence de récepteurs spécifiques de l'ADN à la surface bactérienne. La pénétration de l'ADN de la donatrice s'accompagne d'une hydrolyse de l'un des deux brins de la molécule et l'intégration de l'ADN exogène dans le chromosome de la réceptrice se fait par recombinaison légitime.

La transformation a été très utilisée dans la cartographie du génome mais elle est surtout à la base de certaines méthodes d'ingénierie génétique applicables à de nombreuses espèces bactériennes après induction artificielle de l'état de compétence à l'aide d'agents chimiques ou biologiques.

5.3.2. Transferts utilisant des bactériophages

Les bactériophages sont des virus spécifiques des bactéries. Comme les virus des organismes supérieurs, ils peuvent entrer dans la cellule, s'y multiplier en exploitant les processus synthétiques et métaboliques, sortir de la bactérie en provoquant la lyse. L'emploi de cette lyse bactérienne d'origine virale en thérapeutique s'est révélé totalement impossible tant pour des problèmes d'efficacité que de résistance bactérienne et de réactions immunitaires adverses chez le malade traité.

Certains de ces virus peuvent infecter les cellules puis s'intégrer dans le génome sous une forme stable et partiellement exprimée sous forme de protéines appelée prophage. Ces bactériophages sont dits tempérés. Des stimuli physiques (UV) ou chimiques (mutagènes) peuvent lever la répression de leur développement. Le virus, s'exprimant à nouveau, lyse la bactérie hôte lors d'un cycle lytique. Cette propriété est dénommée lysogénie. Tous ces virus contiennent un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN) protégé par une capsidie protéique dont le rôle est aussi la fixation sur des récepteurs bactériens.

➤ Expression bactérienne du génome viral

Un prophage peut exprimer une partie de ces gènes et ainsi modifier le phénotype de la cellule. Ce processus est celui de la conversion lysogénique. La lysogénie induit des modifications de la composition des polysaccharides des antigènes de la membrane externe de certaines souches (*Salmonella*) ou la production de toxines (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*).

L'expression de gènes viraux due à la présence du prophage limite les possibilités de fixation et de développement d'autres bactériophages voisins. Une bactérie lysogène est ainsi moins sensible à d'autres attaques virales; c'est la base de la lysotypie, qui est une identification infra-spécifique utile en épidémiologie (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc.).

➤ Transfert de gènes bactériens par un virus: transduction

La transduction est le transfert d'un fragment d'ADN par un bactériophage entre une bactérie donatrice et une réceptrice. Le bactériophage n'est que le transporteur involontaire de l'ADN.

• Transduction localisée

La transduction localisée, dite aussi transduction restreinte, est le fait de bactériophages tempérés intégrés dans l'ADN bactérien: dans une faible proportion de cas, l'excision de l'ADN phagique se fait de façon anormale et un fragment du génome bactérien de la bactérie donatrice est libéré avec le génome viral. Le génome du bactériophage est alors imparfait (il est dit défectif, un fragment peut manquer) et il comporte une séquence plus ou moins longue d'ADN bactérien. Un bactériophage défectif a besoin d'un bactériophage intact pour infecter à nouveau une bactérie (bactérie réceptrice) et s'y intégrer. Lors de cette intégration, le bactériophage défectif intègre aussi le fragment du génome bactérien qu'il porte. La bactérie réceptrice ainsi lysogénisée devient porteuse d'un gène provenant de la bactérie donatrice. Le cas le plus connu est celui d'*Escherichia coli* et du bactériophage λ , qui transmet le plus fréquemment le caractère gal et la propriété de métaboliser le galactose.

- **Transduction généralisée**

La transduction généralisée est le fait de bactériophages virulents qui lysent l'ADN de la bactérie hôte (la bactérie donatrice) et, par hasard, incorporent dans leur capsid à la place de l'ADN viral attendu un fragment plus ou moins long de l'ADN. Le phénomène est très peu fréquent. L'ADN capté correspond à n'importe quel groupe de gènes contigus de la bactérie donneuse : seuls les gènes distants de moins de 1% de la longueur du génome peuvent être transportés par la même particule de bactériophage. Un bactériophage ainsi constitué est fonctionnel : il peut introduire l'ADN qu'il contient dans une bactérie sensible. Le fragment de l'ADN introduit dans le cytoplasme bactérien peut s'intégrer par un processus de recombinaison et les caractères acquis sont alors stables au cours des générations. Certains fragments ne sont pas intégrés dans l'ADN ni répliqués mais les gènes portés peuvent être exprimés.

- **Transduction plasmidique**

Dans les mêmes conditions que le transfert de l'ADN bactérien par transduction généralisée, l'ADN des plasmides contenu dans une bactérie donneuse peut être transféré dans une réceptrice par un bactériophage.

5.3.3. Transfer des plasmides par conjugaison

Les plasmides sont des déterminants génétiques non nucléaires de très nombreuses bactéries. Ils sont transmissibles à la descendance par la réplication mais aussi à d'autres cellules bactériennes. La transmission est dite "horizontale" pour signifier qu'elle ne répond pas à la transmission habituelle aux descendants mais qu'elle correspond à une "contamination" des bactéries dépourvues de plasmide qui voisinent avec la bactérie porteuse.

Cette transmission aux bactéries non porteuses s'effectue par transduction, transformation ou par conjugaison.

La conjugaison est un mécanisme permettant à une bactérie de recevoir une molécule d'ADN (plasmidique et éventuellement chromosomique) d'une autre bactérie suite à un contact entre donatrice et réceptrice. Les plasmides peuvent provoquer eux-mêmes les conditions nécessaires à la conjugaison (processus permettant la rencontre efficace des cellules, mécanismes de transfert de l'ADN ou mobilisation), on les nomme alors plasmides conjugatifs.

D'autres plasmides de taille inférieure sont incapables de se mobiliser de façon autonome et dépendent d'autres systèmes de transfert comme l'aide d'un autre plasmide dont les fonctions vont suppléer à leur carence, ou la transduction. Le transfert du plasmide du donneur au receveur est conditionné par l'appariement donatrice-réceptrice. L'appariement met en jeu des *fimbriae* spécialisés synthétisés par la bactérie donatrice porteuse du plasmide conjugatif ("pili sexuels") capables de reconnaître, par leurs extrémités, des zones de contact à la surface des bactéries réceptrices. Après fixation, les *fimbriae* se contractent pour favoriser le rapprochement. Un contact cellulaire étroit ("pont cytoplasmique") permet ultérieurement le passage de l'ADN de la donatrice vers la réceptrice. Le passage est à sens unique et orienté. Le modèle admis pour expliquer le passage de l'ADN d'une bactérie à l'autre est celui dit des "cercles roulants". Dans ce modèle, la synthèse d'une des molécules de l'ADN se fait sous une forme ouverte qui passe dans la réceptrice où elle est complétée et circularisée. La transmission par transformation des plasmides ne semble pas limitée aux bactéries de la même espèce. Certains plasmides en s'intégrant dans le chromosome de la bactérie donatrice sont capables de le mobiliser et de permettre son introduction dans une

autre bactérie de même espèce. Une recombinaison homologue entre les ADN du donneur et du receveur peut alors avoir lieu. Les plasmides capables de cette mobilisation sont intégrés dans le chromosome et celui-ci se comporte alors comme un plasmide conjugatif géant. Le transfert de n'importe quel gène chromosomique est ainsi possible entre bactéries de même espèce. Le cas le mieux connu est celui du plasmide F d'*Escherichia coli*.

5.4. TRANSPOSONS ET TRANSPOSITION

La transposition est un phénomène de transfert de gènes entre deux molécules d'ADN n'utilisant pas les mécanismes de recombinaison habituels ("légitimes"). La recombinaison est dite illégitime du fait de l'absence de toute relation structurale entre les séquences du site donneur et du site receveur. Les transposons sont présents dans de très nombreux génomes bactériens (plasmidiques ou chromosomiques), mais aussi dans les cellules supérieures. La taille des transposons varie de 700 à plus de 10 000 paires de bases. Un transposon est caractérisé par des extrémités identiques à séquences inversées répétées. Les transposons portent des gènes responsables de leur excision et de leur intégration au génome de l'hôte. Ils sont connus pour assurer la mobilisation de séquence d'ADN au sein d'un même génome ou entre génomes différents. Outre les gènes impliqués dans leur propre transfert, ils peuvent coder pour des protéines diverses telles que des gènes de résistance aux antibiotiques, ou des gènes de virulence. Des transposons identiques sont retrouvés dans des espèces bactériennes différentes (*Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*).

Le Rôle des transposons

Les transposons constituent un génome collectif ou un patrimoine génétique commun, dans lequel puissent les bactéries en fonction de leur nécessité d'adaptation ou de la pression de sélection. Ces éléments sont la preuve du "génie génétique in vivo". Ils sont très utilisés en mutagenèse in vitro, ou encore par les bactéries elles-mêmes pour moduler l'expression d'un gène.

Le principal mécanisme d'apparition de nouvelles propriétés chez les bactéries soit en relation avec l'acquisition d'ADN soit de type plasmidique soit de type transposon. Cette extraordinaire aptitude du monde bactérien à s'adapter aux conditions environnantes montre leur supériorité et notre nécessaire adaptation telle l'usage de plus en plus ciblé des antibiotiques.

Les applications de la génétique bactérienne

Le clonage de gènes est une forme particulière de recombinaison génétique illégitime in vitro. Ainsi, des plasmides facilement transmissibles d'une bactérie à une autre est fréquemment utilisés comme vecteurs pour le transfert et le clonage de matériel génétique d'une bactérie à une autre ou entre organismes phylogénétiquement très éloignés. Grâce à cette technique, des gènes sont introduits dans le génome bactérien qui codent pour la synthèse de substances telles que, par exemple, les interférons, l'insuline, les STH, etc., qui seraient soit impossibles, soit très coûteuses à obtenir chimiquement. La bactérie préférée du génie génétique est *Escherichia coli*, qui n'est naturellement pas capable de transformation, mais dont le génome a été introduit in vitro avec les déterminants génétiques les plus divers provenant d'organismes phylogénétiquement éloignés, comme les humains et les animaux.

6. ANTIBIOTIQUES ET ANTISEPTIQUES

6.1. ANTIBIOTIQUES

Définition: substances chimiques produits par des champignons ou des bactéries ou obtenus par synthèse. Ils sont des substances capables d'inhiber ou de détruite certains espèces microbienne.

D'après la définition de Waksman (1941), on a longtemps appelé antibiotique toute substance chimique isolée d'un microorganisme (bactérie ou champignon) et capable d'inhiber et même de détruire d'autres microorganismes.

À l'heure actuelle, cette définition trop restrictive doit être abandonnée, car des substances obtenues par synthèse chimique possèdent les propriétés des antibiotiques. La production de certains antibiotiques s'effectue de préférence par voie de synthèse chimique plutôt que par obtention à partir de microorganismes (chloramphénicol).

Il est donc logique de considérer comme antibiotique toute substance chimique, quelle que soit son origine, dans la mesure où son action s'exerce selon un mécanisme bien déterminé qui consiste à perturber spécifiquement une étape essentielle du métabolisme des bactéries (antibiotiques antibactériens) ou des champignons (antibiotiques antifongiques).

Les effets des antibiotiques sont extrêmement divers puisqu'ils dépendent de l'antibiotique, du germe étudié, de l'état physiologique de la bactérie. En pratique, on étudie l'effet des antibiotiques essentiellement *in vitro* - conditions physiques et chimiques et dans des conditions normalisées de culture.

La bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance bactérienne, pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance. Ceci ne vaut que si la bactérie était en phase de croissance avant le contact. Dans le cas contraire une absence de développement peut aussi correspondre à une augmentation très prononcée du temps de latence. La bactériostase peut être étudiée en milieu liquide, par exemple par un suivi photométrique de la croissance des micro-organismes en présence de concentrations variées d'antibiotiques.

La bactéricidie. Certains antibiotiques provoquent, au-delà d'une certaine concentration seuil, l'apparition d'une mortalité bactérienne. Cette bactéricidie s'effectue selon deux modalités essentiellement : i) l'effet peut être proportionnel à la concentration d'antibiotique (le plus souvent jusqu'à une concentration au-delà de laquelle il n'y a plus d'accroissement de la létalité); ii) l'effet est de type "tout-ou-rien" ; la vitesse de mortalité est maximale dès que la concentration seuil de bactéricidie est atteinte. Dans le premier cas on parlera de mortalité dépendante de la concentration (ou "concentration dépendante"); dans le second cas on parlera de mortalité dépendante du temps d'exposition à l'antibiotique (ou "temps dépendante"). Pour les antibiotiques dont l'activité dépend de la concentration, l'obtention *in vitro* de concentrations élevées semble déterminante (l'obstacle majeur est alors la tolérance du produit). Ces antibiotiques "concentration dépendants" sont les aminosides, les fluoroquinolones (pour les bacilles à Gram négatif), l'imipénème. À l'inverse, les produits dont l'activité bactéricide est maximum dès une concentration seuil faible (par rapport aux

zones thérapeutiques) sont plus affectés par le facteur temps et ne nécessitent pas l'obtention *in vivo* de concentrations élevées mais de concentrations durables. Ces antibiotiques "temps dépendant" sont, par exemple, les β -lactamines et les glycopeptides.

6.1.1. La notion de spectre

À chaque antibiotique on associe une liste d'espèces bactériennes qui constitue le 'spectre d'activité' de la molécule.

Le spectre naturel, établi dans les premières études avant tout emploi en thérapeutique, reste stable par définition puisqu'il ne prend pas en compte la proportion de bactéries ayant acquis une résistance à l'antibiotique après son utilisation. Cette proportion augmente au cours du temps parce que l'emploi de l'antibiotique exerce la pression de sélection nécessaire à l'émergence de mutans ou de souches porteuses de facteurs extra chromosomiques de résistance. Cette notion doit être connue du clinicien car elle explique des situations d'apparence paradoxale : par exemple, le spectre naturel de la pénicilline G comprend *Staphylococcus aureus* alors 90% des souches sont actuellement résistantes par production de pénicillinase.

Le spectre actuel représente toutes les souches microbiennes sensible à un antibiotique dans une certain moment, dans une place limite, et dépend des antibiotiques utilise dans cette place. L'antibiogramme est impérative !

Pour faciliter le choix d'un traitement antibiotique, les espèces bactériennes ont été réparties en 4 classes apportant une information "actualisée" sur le spectre d'activité :

EUCAST (Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens) est un réseau placé sous les auspices de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (ESCMID) et du Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) visant à normaliser les tests de sensibilité aux antimicrobiens dans le cadre d'un Norme européenne. Depuis 2019, il existe une recommandation à tous les pays européens d'utiliser les lignes directrices européennes et de nouvelles définitions EUCAST ont été formulées pour : Sensible (S), Intermédiaire (I) et Résistant (R) :

- S (sensible) - Schéma posologique standard : Un micro-organisme est classé comme « sensible » à un schéma posologique standard, lorsqu'il existe une forte probabilité de succès thérapeutique en utilisant un schéma posologique standard de l'agent.
- I - Sensible à une exposition accrue*: Un organisme est classé comme « Susceptible, exposition accrue* » lorsqu'il existe une forte probabilité de succès thérapeutique car l'exposition à l'agent est augmentée en ajustant le schéma posologique ou sa concentration au site d'infection.

* L'exposition dépend de la façon dont la voie d'administration, la dose, l'intervalle entre les doses, la durée de la perfusion, ainsi que la distribution et l'excrétion de l'agent antimicrobien influenceront l'organisme infectieux au site de l'infection;

- R - Résistant : Un micro-organisme est classé « résistant » lorsqu'il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique même en cas d'exposition accrue.

6.1.2. Mécanismes d'action des antibiotiques

6.1.2.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

1. Les β -lactamines

Ces antibiotiques se fixent sur des protéines membranaires, les Protéines de Liaison aux pénicillines (PLP) intervenant dans la synthèse du peptidoglycane. Ces protéines sont des enzymes catalysant les liaisons entre chaînes peptidiques dans la paroi ou assurant le remaniement de ces chaînons. Les PLP essentielles sont capables de réactions de transpeptidation et des transglycosylation. Les β -lactamines jouent le rôle d'un substrat formant une liaison stable avec la PLP et bloquant son action. L'induction de la mortalité (bactéricidie) par les β -lactamines n'est que partiellement due à leur action sur les PLP : c'est plus l'équilibre entre synthèse et lyse naturelle (sous l'action d'autres enzymes telles des hydrolases) qui en est la cause.

Leur absorption digestive est variable: nulle pour la pénicilline G et ses formes retard, elle est bonne pour la pénicilline V, l'ampicilline et surtout ses dérivés (amoxicilline) et certains céphalosporines.

Les β -lactamines s'éliminent toutes par voie urinaire, sous forme active. Certaines ont en plus un taux d'élimination biliaire important et sous forme active: ampicilline et dérivés, céfopérazone, ceftriaxone.

La toxicité de beta-lactamine: en général sont netoxique, mais en doses plus élevée sont responsable par la: fièvre, diarrhée, vasculite, dépression médullaire, entérocolite pseudomembranes, neurotoxicité.

Mais les beta-lactamines sont allergisantes : les pénicillines sont responsables par 0.7% - 10% des toutes les allergies à l'antibiotiques, même le choc anaphyl(0.004% - 0.04%) ou la mort (0.001% - 1/100000).

Tableau 6.1. Les β -lactamines

Nom générique	Nom de spécialité	Voie d'administration	Spectre d'action
Pénicillines naturelles			
Pénicilline G	Pénicilline G Diamant	Parentérale	- coques et bacilles à Gram positif: staphylocoques, streptocoques, entérocoques, bacilles du genre <i>Bacillus</i>
Pénicilline semi-retard	Bipénicilline	Parentérale	
Benzathine Pénicilline	Extencilline	Parentérale	- coques à Gram négatif: gonocoques, méningocoques
Pénicilline V	Oracilline, Ospen	Orale	- germes anaérobies (au dessus du diaphragme): <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Actinomyces</i> - spirochètes: <i>Treponema pallidum</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i>

Pénicillines M		Orale, parentérale	
Oxacilline	Bristopen		-les coques à Gram positif: staphylocoques, streptocoques;
Cloxacilline	Orbénine		
Dicloxacilline	Diclocil		
Pénicillines A		Orale, parentérale	- bactéries à Gram positif:
Ampicilline	Ampicilline, Totapen, Prototapen, etc.		staphylocoques, streptocoques, entérocoques, listeria, bacille charbonneux, etc.
Amoxicilline	Agram, Amodex, Clamoxyl, Bactox, Zamocilline, etc.		- bactéries à Gram négatif: entérobactéries
Carboxy-pénicillines		Parentérale	
Ticarcilline	Ticarpen		-bactéries à Gram négatif:
Ureido-pénicillines		Parentérale	entérobactéries, bacilles pyocyaniques, bactéries anaérobies
Mezlocilline	Baypen		
Pipéracilline	Pipérilline		
Pénicillines + inhibiteurs β-lactamases		Orale, parentérale	ils augmentent l'activité antibactérienne des pénicillines, uniquement lorsque la résistance bactérienne est le résultat de la production de bêta-lactamases.
Amoxicilline + acide clavulanique	Augmentin		
Ticarcilline + acide clavulanique	Claventin		
Pipéracilline + Tazobactam	Tazocilline		
Carbapénèmes		Parentérale	
Imipénème + Cilastatine	Tienam		- la plus large spectre: Enterobacteria, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>S.maltophilia</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Legionella pneumophilia</i> ; antibiotique de réserve -aussi indiquée dans les infections mixtes causées par CGP, BGN, BGN non fermentative; - <i>Streptococcus</i> spp. (inclusivement <i>Str. pneumoniae</i> – intermédiaire résistant à la pénicilline, <i>S.aureus</i> (MSSA), <i>Neisseria spp.</i> , <i>H.influenzae</i> , etc.

Monobactames		Parentérale	
Aztreonam	Azactam		-BGN aerobies: Enterobacteria: <i>E.coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>S. marcescens</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Providencia</i> , <i>Morganella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Neisseria</i> spp., <i>M. catarrhalis</i>
Céphalosporines 1^{re} génération		Orale, parentérale	
Céfaclor	Alfatil		-large spectre, similaire aux aminopénicillines, actif notamment sur les cocci à Gram positif (<i>S. aureus</i>);
Céfalexine	Efacet, Cépoprexine, etc.		
Céfalotine	Céfalotine		
Céphalosporines 2^e génération		Orale, parentérale	
Céfamandole	Kéfandol		- certains BGN. de la famille des <i>Enterobacterales</i> , le genre <i>Haemophilus</i> , anaérobies; -moins actifs que les coque Gram-positives
Céfoxitine	Mefoxin		
Céfuroxime	Zinnat		
Céphalosporines 3^e génération		Orale, parentérale	
Céfopérazone	Céfobis		-spectre très large avec une très bonne activité sur les BGN, y compris <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; -peu actif sur les coque à Gram positif
Céfotaxime	Claforan		
Cefsulodine	Pyocéfal		
Ceftriaxone	Rocéphine		
Latamoxef	Moxalactam		
Cefpirome	Cefrom		
Céphalosporines 4^{eme} génération		Parentérale	
Céfépime	Axepim		très large spectre, antibiotique de réserve, actif sur les BGN- MDR, <i>Pseudomonas</i> , etc
Céphalosporines + inhibiteurs		Parentérale	
Ceftazidime + Avibactam	Zavicefta		- antibiotique de réserve, - actifs sur les BGN -MDR
Ceftolozan + Tazobactam	Zerbaxa		

Légende: Coques Gram positif= CGP; bacilles Gram négatif= BGN, bactéries multirésistantes (MDR)

2. Les glycopeptides

Les cibles sont l'undécaprényl-phosphate (UDP) transporteur transmembranaire des précurseurs de la paroi, la chaîne de peptidoglycane en formation, les peptides de la paroi non encore couplés. Ces interactions avec la synthèse des parois sont dues à l'affinité pour le peptide pariétal natif avant toute intégration dans la paroi. Sont des grosses molécules polaires, généralement administrées par voie intraveineuse.

Exemples: Teicoplanine (Targocid), Vancomycine (Vancocine). Les glycopeptides sont actifs sur les bactéries à Gram positif. Ils sont considérés comme des antibiotiques de réserve sur les CGP-MDR, comme le SARM (*Staphylococcus aureus* meticiline- R) et autres bactéries GP résistantes aux beta-lactamines.

La vancomocine est aussi utilisée pour traiter les infections causées par *C. difficile* (bacille G (+) anaérobie) par voie orale.

La résistance aux bactéries GP est relativement rare, rapportée dans: *Enterococcus* (VRE) et *Staphylococcus* (VISA).

Sont inactif sur les bactéries GN (la molécule est trop grosse pour traverser le membrane externe et atteindre le site cible. La vancomycine est néphrotoxique, moins le teicoplanine.

3. La Fosfomycine

Elle inhibe une des phases cytoplasmiques de la synthèse de la paroi en bloquant une pyruvyl-transférase. Exemples: Fosfomycine (Fosfocine).

6.1.2.2. Antibiotiques agissant sur la membrane externe

Des antibiotiques (le groupe des Polymyxines) peuvent détruire l'intégrité de cette structure. Leur affinité pour la membrane externe explique leur action plus limitée sur les bactéries à Gram positif. Les polymyxines se fixent sur les phospholipides de la membrane externe; celle-ci ne peut plus se remanier, se déforme et devient perméable. Des effets indirects sur la respiration et la production d'énergie sont observés. La membrane externe est aussi le site d'action essentiel des antiseptiques.

La Polymyxine B et E (Colistine) sont active sur les bacilles à Gram négatif, y compris *Pseudomonas*. Ils sont considérés antibiotique de réserve pour les BGN- MDR et ont une administration parentérale. *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* spp. sont naturellement résistants.

Ils peuvent également être utilisés par voie locale dans les otites externes, infection oculaire, infections cutanées, mais ne sont pas jamais adsorbés par le tube digestif.

L'administration systémique présente un risque de néphrotoxicité.

6.1.2.3. Antibiotiques agissant sur l'appareil nucléaire

1. Les sulfamides et le triméthoprim

Ils agissent sur la voie de synthèse de l'acide folique et des folates, (qui sont des cofacteurs de la synthèse des acides nucléiques), par une mécanisme compétitif. Les deux produits agissent sur des réactions différentes ce qui explique leur action synergique.

L'action est purement bactériostatique. Exemples: Sulfaméthoxazole, Sulfadiazine, Sulfaméthizol.

Ils ont un large spectre (Gram+/-), utilisé principalement dans les infections urinaires, les infections à *Nocardia* et *Toxoplasma gondii*, la lèpre (dapsone). Ils sont actifs sur *Haemophilus* sp., *V. cholerae*, *Salmonella* sp., *Streptococcus pneumoniae*.

2. Les quinolones

Ces produits agissent initialement sur des enzymes réglant la conformation de l'ADN, les topo-isomérases (essentiellement les topoisomérases II ou ADN gyrase). L'arrêt de l'activité de ces enzymes bloque tout changement de conformation de l'ADN. et toute synthèse d'ADN.

Tableau 6.2. Quinolones

Nom générique	Nom de spécialité	Spectre d'action
Acide nalidixique	Negram forte	- première utilisation restreinte en raison de la toxicité
Acide oxolinique	Urotrate	
Ciprofloxacine	Ciflox	- Staphylocoques, BGN, <i>Enterobacterales</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia</i> sp., - Indications cliniques: infection urinaire, systémique, fièvre typhoïde
Norfloxacine	Noroxine	
Ofloxacine	Oflocet, Tarivid	
Péfloxacine	Péflacine	

3. Les rifamycines (rifamycine sv, rifampicine)

Ce sont des antibiotiques inhibant la synthèse des ARN messagers par inhibition de l'ARN polymérase ADN dépendante. La synthèse protéique est stoppée et un arrêt de la synthèse de l'ADN en est une conséquence. La bactéricidie induite par la rifampicine (Rifadine, Rimactam) serait due à la formation de superoxydes apparaissant lors de l'oxydation de la molécule. L'effet bactéricide est faible. Ils sont actifs sur *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*.

4. Les nitroimidazolés

Ces produits sont réduits en dérivés actifs en condition strictement anaérobie comme l'hydroxylamine. L'effet est bactéricide. Exemples: Métronidazole, Tinidazole, Ornidazole; ils sont active sur les bactéries anaérobies strictes à Gram positif et à Gram négatif non sporulée. Les Imidazoles ont aussi une activité antiparasitaire (infections à *Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia*).

6.1.2.4. Antibiotiques agissant sur les ribosomes

1. Les phénicolés

Ces composés se fixent sur le ribosome au niveau du site aminoacyl. Ils inhibent l'élongation de la chaîne peptidique et ceci arrête le mouvement des ribosomes le long de l'ARN messager. Dans le seul cas d'*Haemophilus influenzae*, le chloramphénicol est bactéricide par un autre mécanisme encore inconnu. En dehors de ce cas les phénicolés sont bactériostatiques. Exemples: Chloramphénicol, Thiamphénicol. sont bactériostatiques.

Ils ont un large spectre (BGP, BGN), et sont active sur les staphylocoques, streptocoques, pneumocoques, gonocoques, meningocoques, entérobactéries, anaérobies.

Ils sont contre-indiqués chez l'enfant et les femmes enceinte car ils présentent un risque d'aplasie médullaire.

2. Les tétracyclines

Ces produits se fixent sur le ribosome au niveau du site aminoacyl mais seraient aussi présents au niveau du site peptidyl quand le nombre de molécules d'acyl-tARN fixé antérieurement est important. La conséquence est l'arrêt de la fixation de nouveaux aminoacyl tARN sur le ribosome et un arrêt de l'élongation des chaînes peptidiques. Les tétracyclines sont bactériostatiques; ils sont active sur *Chlamydia* sp., *Brucella* sp., *Leptospira* sp., anaérobies, mycopasmes.

Les nouvelles générations de cyclines (Tigecycline, Eravacycline) sont considérées comme des antibiotiques de réserve pour les bactéries MDR. Reactions adverse: hepatotoxicite, nefrotoxicite, coloration maron des dents. Contreindications: chez les enfants et les femmes enceinte.

Tableau 6.3. Tétracyclines

Nom générique	Nom de spécialité
Tétracyclines (sels ou base)	Tétracycline Diamant, Abiosan, Hexacycline, etc.
Oxytétracycline	Terramycine Solu-retard
Doxycycline	Doxyciline, Tolexine, Vibramycine, etc.
Minocycline	Mestacine, Mynocine
Tigecycline	Tygacil
Eravacycline	Xerava

3. Les synergistines, les macrolides et lincosamides

Ces produits se fixent tous sur la sous-unité 50S du ribosome. Les synergistines sont formées de deux composés agissant en synergie, synergimycines A et B. Les synergimycines de type A bloquent la synthèse protéique en interférant avec l'élongation de la chaîne peptidique en supprimant la fixation de l' aminoacyl-tARN et la formation ultérieure des liaisons peptidiques. Les

synergimycines B, l'érythromycine et les lincosamides inhibent la formation de la liaison peptidique et induisent un détachement de la chaîne d'acides aminés. Les macrolides sont bactériostatiques. L'association synergimycine A et B (comme dans une synergistine) est bactéricide.

Ces produits sont actifs sur les *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*, *Corynebacterium diphtheriae*.

Les macrolides sont adsorbés par le tube digestif, et administrés par voie orale, ont une bonne pénétration intracellulaire, et sont principalement éliminés par la bile. Sont actifs sur les CGP aérobies, anaérobies, spirochètes, et aussi sur: mycobactéries, les protozoaires (*T. gondii*, *E. histolytica*, *P. falciparum*), *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Borrelia*, *Neisseria* et autres pathogènes génitaux.

Ont aussi un spectre d'activité contre un certain nombre d'agents pathogènes respiratoires, y compris les nouvelles *Legionella* spp. L'érythromycine est donc un médicament important dans le traitement de la pneumonie atypique. L'érythromycine remplace la pénicilline chez les personnes allergiques.

Azithromycine peut être administrée en association avec la tétracycline, dans le traitement des infections à chlamydia chez les femmes enceintes et les enfants.

Ont des effets secondaires gastro-intestinaux, en particulier l'érythromycine.

Tableau 6.4. Macrolides, synergistines, lincosamides

Nom générique	Nom de spécialité
Macrolides	
Ethyl succinate d'érythromycine	Biolid, Erythrocin, etc.
Propionate d'érythromycine	Propiocrine
Spiramycine	Rovamycine
Clarithromycine	Zeclar
Synergistines	
Pritinamycine	Pyostacine
Virginiamycine	Staphylomycine
Lincosamides	
Clindamycine	Dalacine
Lincomycine	Lincocine

4. L'acide fusidique

L'acide fusidique (Fucidine) bloque l'adjonction d'un nouvel acide aminé dans la chaîne peptidique en formation (blocage de la translocation). Il est bactériostatique; est active sur les cocci à Gram positif.

5. Les aminosides

Ce sont des antibiotiques agissant sur de nombreux métabolismes cellulaires, dont la synthèse des protéines au niveau des ribosomes. Ils pénètrent dans le cytoplasme par un mécanisme actif nécessitant de l'énergie (système de transporteurs d'électrons et ATP). Les aminosides sont des inhibiteurs de la traduction. Des effets dus à l'accumulation de protéines non exportées au travers de la membrane cytoplasmique expliquent l'effet bactéricide.

Ils ont une très large spectre (CGP, BGN). L'Amikacine et la Tobramycine sont actives sur le bacille pyocyanique, la Spectinomycine est active sur le gonocoque. La Kanamycine, la Néomycine, la Gentamicine sont active sur les *S. aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, les entérobactéries.

Propriétés générales:

- utilise dans le traitement des septicémies sévère
- sans absorption orale
- sont toxique pour le rein et pour l'oreille interne – importance de dosage!

Tableau 6.5. Aminoglycosides

Nom générique	Nom de spécialité
Streptomycine	Streptomycine
Amikacine	Amikin
Isépamicine	Isépalline
Kanamycine	Kamycine
Gentamicine	Gentamicine, Gentalline
Sisomycine	Sisolline
Tobramycine	Nebcine
Nétilmicine	Nétromicine

6. Le Linezolid

Le linézolid fait partie de la classe des médicaments oxazolidinones.

Mécanisme d'action: il agit en supprimant la production de protéines bactériennes. Ce qui arrête la croissance ou provoque la mort des bactéries. Le mécanisme d'action exact du linézolide semble être unique dans le sens où il bloque le début de la production de protéines plutôt que l'une des étapes ultérieures.

Il a été approuvé en 2000. Depuis lors, la résistance bactérienne au linézolide est restée faible.

C'est un antibiotique utilisé pour traiter les infections causées par le CGP résistant à d'autres antibiotiques (antibiotique de réserve): entérocoques résistants à la vancomycine (VRE), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), streptocoques.

Les principales utilisations sont: les infections cutanées et la pneumonie, bien qu'il puisse être utilisé pour diverses autres infections, notamment la tuberculose pharmacorésistante.

Il est utilisé par voie intraveineuse ou orale.

Les effets indésirables liés à une utilisation à court terme) sont: maux de tête, diarrhée, éruptions cutanées et nausées. Les effets indésirables liés à une utilisation à long terme sont: la

suppression de la moelle épinière, lésions nerveuses, y compris des lésions du nerf optique, qui peuvent être irréversibles.

6.1.3. Evolution de la résistance

La résistance acquise affecte la population de chaque espèce bactérienne avec une fréquence variable, qui dépend surtout de la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisés en thérapeutique.

6.1.3.1. Mécanismes biochimiques

Les bactéries peuvent devenir résistantes à l'action des antibiotiques par quatre mécanismes principaux:

- i) défaut de pénétration de l'antibiotique par diminution de la perméabilité membranaire;
- ii) altération de la cible moléculaire, après mutation ou modification enzymatique;
- iii) excrétion accrue de l'antibiotique qui entraîne une concentration insuffisante au niveau de la cible intracellulaire;
- iv) inactivation enzymatique de l'antibiotique, qui peut être hydrolysé (pénicillinase, céphalosporinase pour les β -lactamines, carbapenemase pour les carbapenèmes) ou modifié dans sa structure chimique (acétylase, adénylase, phosphorylase pour les aminosides).

6.1.3.2. Déterminisme génétique

Un mécanisme de résistance, comme tout autre caractère, n'est que l'expression du patrimoine génétique de la bactérie. Il ne peut être acquis qu'à la suite d'un événement modifiant l'ADN: mutation, ou transfert de gène(s) d'une bactérie résistante à une bactérie sensible.

Mutations

Les mutations sont des événements spontanés qui affectent toute population bactérienne.

La résistance acquise par mutation est liée essentiellement à deux mécanismes: diminution de la perméabilité et altération des cibles moléculaires. Ce type de résistance est le seul connu pour les rifamycines, la fosfomycine, et les quinolones.

Sa fréquence reste faible pour les autres antibiotiques et dans l'ensemble des groupes bactériens, à l'exception des antibiotiques antituberculeux et des mycobactéries, où la résistance par mutation est le seul mécanisme observé.

Acquisition de gènes

La résistance est le plus souvent acquise par transfert de gènes entre bactéries par l'intermédiaire d'un plasmide. Ce transfert de plasmide peut avoir lieu entre souches de la même espèce (transfert intraspécifique) et entre souches d'espèces différentes (transfert interspécifique).

Les transposons, vecteurs de gènes de résistance entre plasmides, participent à la constitution de plasmides porteurs de multiples résistances par additions successives de gènes. Après transfert plasmidique, une bactérie peut donc acquérir simultanément de nombreuses informations de résistance.

Ces transferts sont fréquents par conjugaison chez les bacilles à Gram négatif, qui sont les principaux vecteurs de la résistance “épidémique”.

La résistance plasmidique intéresse la plupart des antibiotiques: β -lactamines, aminosides, macrolides, sulfamides, triméthoprim, phénicol, tétracyclines.

Évolution

La fréquence des résistances acquises aux différents antibiotiques est très inégale selon les espèces. Le mécanisme de résistance impliqué et son déterminisme génétique conditionnent la diffusion dans l'espèce ou entre les espèces. L'usage des antibiotiques demeure le facteur essentiel du développement de la résistance, par la pression de sélection qu'il exerce, tant sur les flores commensales de l'organisme que sur les bactéries pathogènes rencontrées dans les infections en pratique courante et dans les infections d'origine iatrogène ou nosocomiale.

La fréquence des souches multirésistantes a considérablement augmenté dans certaines espèces (habituellement commensales), comme les staphylocoques, les entérocoques et les bacilles à Gram négatif, responsables d'infections opportunistes dans les services spécialisés (soins intensifs, chirurgie) où l'antibiothérapie curative et/ou prophylactique est largement utilisée.

La sélection de bactéries multirésistantes de l'environnement est également à l'origine d'infections opportunistes chez les patients fragilisés.

La fréquence des infections nosocomiales a augmenté récemment:

- Staphylocoques à coagulase négative (SCN): infections par cathéter (60 à 90% résistants à la méticilline),

- *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) (5 à 40% de toutes les infections nosocomiales hospitalières),

- souches multirésistantes (MDR) de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. dans les unités de soins intensifs,

- *Klebsiella pneumoniae* sécréteur de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), sélectionné après traitement par des céphalosporines à large spectre, sensibles à l'imipénèm,

- BGN résistants aux carbapénèmes.

Mais il y a aussi des infections communautaires avec des bactéries résistantes: *Str. pneumoniae* résistante à la pénicilline, *H. influenzae*, résistants à l'ampicilline, SARM communautaire.

6.2. ANTISEPTIQUES

Les antiseptiques sont des substances chimiques bactériostatiques ou bactéricides utilisées pour réduire de façon médicalement significative la densité bactérienne d'un écosystème. Les antiseptiques sont utilisés dans les soins médicaux car relativement bien supportés par les tissus. L'effet des antiseptiques est toujours fonction du temps d'exposition de la flore au produit.

Les désinfectants sont destinés au contrôle des flores en milieu inerte. Les conservateurs sont des additifs bactériostatiques permettant de supprimer la croissance bactérienne, par exemple en médecine, dans certains solutés comme les collyres.

Tableau 6.6. Les grands groupes d'antiseptiques

Classe	Produit antiseptique	Exemple
Alcools	Alcool éthylique 70%	Alcool éthylique 70%
Biguanides	Chlorhexidine	
Carbanilides	Trichlorocarbanilides	
Colorants	Éosine	Solution d'éosine alcoolique
	Cristal violet	
Halogènes	Dérivés iodés	Alcool iodé
		Polyvinyl pyrrolidone iodée
Acides	Acide benzoïque, acide acétique, acide lactique	Conservateurs
Amidines	Hexamidines	
Métaux	Sels d'argent, de cuivre, de Zinc Oxyde de zinc Sels organiques de mercure	Nitrate d'argent
Oxydants	Eau oxygénée Permanganate de potassium	
Phénols	Phénols Bisphénols Polyphénols Hexachlorophène	
Tensio-actifs	Cationiques Ammoniums quaternaires Bromure de cetrimonium	
Tensio-actifs	Anioniques Lauryl sulfate de sodium	

Le choix d'un antiseptique dépend de nombreux facteurs tels que le type de localisation anatomique, la nature des tissus concernés, leur état normal ou non (brûlures, dermatoses). Un même groupe chimique peut permettre des formulations adaptées qui sont commercialisées.

Les modalités d'emploi sont le plus souvent très strictes: l'association avec d'autres antiseptiques ou des savons; le non-respect de l'indication ou de la durée d'action peuvent entraîner l'inefficacité.

Les bactéries ne sont pas uniformément sensibles aux antiseptiques et la notion de spectre concerne les grands groupes bactériens (tableau 6.7.). Les spores bactériennes sont le plus souvent bien plus résistantes que les bactéries en état de vie active. L'état physiologique de la bactérie influe aussi sur l'efficacité des produits: les bactéries adhérentes aux supports inertes ou aux cellules sont beaucoup plus résistantes aux effets des antiseptiques.

Tableau 6.7. Spectre d'activité des principaux antiseptiques

Classe	Bactéries à Gram +	Bactéries à Gram -	Mycobactéries	Spores
Alcools	Actifs	Actifs	Actifs	Inactifs
Biguanides	Très actifs	Actifs	Inactifs	Inactifs
Carbanilides	Peu actifs	Inactifs	?	?
Halogènes: Chlore	Très actifs	Très actifs	Actifs	Actifs
Halogènes: Iode	Très actifs	Très actifs	Actifs	Actifs
Métaux: mercure	Actifs	Actifs	Inactifs	Inactifs
Phénols et dérivés	Activité variable	Activité variable	Activité variable	Activité variable
Tensio-actif cationiques	Très actifs	Peu actifs	Inactifs	inactifs

Il existe ainsi des résistances acquises (plasmidique) aux antiseptiques (tableau 6.8.). La résistance, naturelle ou acquise, est la cause des contaminations des solutions d'antiseptiques et de certaines épidémies d'infections nosocomiales.

Tableau 6.8. Résistances plasmidiques aux antiseptiques

Classe	Espèces concernées par la résistance plasmidique
Biguanides (chlorhexidine)	<i>Staphylococcus aureus</i>
Métaux lourds (mercure)	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Escherichia coli, Salmonella, Proteus</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Tensio-actifs (Ammoniums quaternaires)	<i>Staphylococcus aureus, autres Staphylococcus</i>
	<i>Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae</i>
Phénols (Hexachlorophène)	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Escherichia coli, Salmonella</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

7. RELATION ENTRE BACTÉRIES ET HÔTES

7.1. CLASSIFICATION DES INTERACTIONS

Les relations entre bactéries et leur hôte ne sont qu'un cas particulier des relations entre êtres vivants dont on connaît différentes formes.

1. Neutralisme ou saprophytisme

Les bactéries de l'environnement se retrouvent fréquemment comme une flore de passage sur la peau ou les muqueuses: bactéries des végétaux comestibles, de la terre, des eaux, etc. Cette présence transitoire est sans aucun danger et ne persiste pas, même si certaines espèces peuvent trouver des conditions de croissance assez favorables dans l'organisme.

2. Mutualisme ou symbiose

La bactérie et son hôte ne tirent aucun bénéfice de la relation et c'est sans doute ce qui s'observe dans le cas de bactéries cutanées, de l'oropharynx ou de l'intestin pour lesquelles n'ont pas été mises en évidence d'interactions positives ou négatives avec l'Homme.

3. Commensalisme

Dans cette relation d'apparence déséquilibrée la bactérie vit par exemple au contact des muqueuses, s'y développe de façon persistante - elle en est tributaire - et libère des constituants indispensables à la vie de l'hôte. Il est difficile de définir autrement les relations entre l'Homme et des bactéries intestinales dont le rôle utile se limite à une stimulation indispensable à la maturation de l'immunité. Dans ces deux cas l'Homme est bénéficiaire. Il est vraisemblable cependant que les conditions correspondent aussi à un amensalisme car la croissance de la bactérie est limitée sans que l'autre organisme n'en soit affecté.

4. Protocoopération

Les bactéries des muqueuses sont classiquement responsables d'un "effet de barrière": leur présence, les produits sécrétés et les bactériocines limitent l'implantation de nouvelles bactéries potentiellement pathogènes. Cet effet protecteur semble relever de la protocoopération. Il est avéré par l'effet adverse d'un traitement antibiotique qui permet, après la destruction des flores normales, l'implantation d'autres bactéries.

5. Compétition

Il n'existe pas d'exemple de compétition entre bactéries et Homme et cette relation aboutissant à un équilibre n'est pas rencontrée entre un individu pluricellulaire et les bactéries.

6. Prédation et parasitisme

La prédation est la relation correspondant essentiellement aux bactéries pathogènes qui se développent au détriment de l'hôte humain. Les bactéries peuvent être occasionnellement prédatrices: ainsi *Escherichia coli* est le symbiote habituel du tube digestif mais peut donner des infections diverses et *Acinetobacter* est un germe de l'environnement agent d'infection en milieu hospitalier. On nomme aussi ces bactéries "bactéries pathogènes opportunistes" car des modifications importantes de l'environnement bactérien ou la déficience de l'hôte sont la base du déclenchement du pouvoir pathogène. Les bactéries parasites sont obligatoirement liées à l'Homme ou aux vertébrés et n'ont d'existence que dans ce type de relation: elles sont toujours pathogènes. La maladie infectieuse peut être apparente ou inapparente. Leur spécificité les fait souvent dénommer "bactéries pathogènes spécifiques" car elles sont spécifiques d'une maladie clairement identifiée et physiopathologiquement spécifiques: *Helicobacter pylori* est exclusivement humain, agent de l'ulcère duodénal.

7.2. LA FLORE NORMALE/LE MICROBIOME

La microbiocénose ou la microflore normale humaine est formée par plus de 500 espèces différentes qui se trouvent en état d'équilibre (l'eubiose) les uns avec les autres et avec l'homme. Ils peuvent être divisés en **microbes-résidents obligatoires** trouvés constamment chez l'homme et en **microbes de passage temporel ou la microflore transitoire**.

Le nombre total microbien chez l'homme adulte fait à peu près dix puissance quatorze avec la domination des anaérobies stricts.

Les microbes habitant sur la peau et sur les muqueuses se trouvent dans la pellicule de polysaccharides. Pour 1 cm carré de la peau on compte presque quatre vingt mille microbes sur la surface ainsi que dans les couches profondes. Les facteurs de la défense de la peau tels que l'enzyme lysozyme, les anticorps IgA limitent la multiplication microbienne. La peau et les mains sales servent de source de la transmission des microbes, y compris des microbes pathogènes.

Les voies aériennes supérieures sont le site de la multiplication des *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp., des anaérobies et d'autres microbes. La trachée, les bronches et les poumons de l'homme sain sont stériles.

La microflore de tube digestif se trouve dans les cavités et sur les muqueuses. Elle est la plus variable de tous, son nombre est le plus important. De multiples bactéries, les champignons *Candida* et les protozoaires créent la plaque dentaire. Quelques microbes (les bacilles lactiques, les streptocoques, *Candida*) augmentent le risque de la carie dentaire. Dans le milieu acide (le pH égal à 1-2) les microbes sont rapidement inactivés. En conditions de l'acidité abaissée dans l'estomac se multiplient les lactobacilles, les levures et les *Helicobacter pylori* (en partie pylorique). Ce dernier est reconnu comme un des facteurs de la formation de l'ulcère gastrique et duodénale.

C'est dans **l'intestine grêle** et surtout dans le gros intestin que les microbes sont les plus abondants. 80-90% de microbes intestinaux appartiennent aux bifidobactéries anaérobies, aux lactobactéries, aux bactéroïdes anaérobies et à *E.coli* qui est un anaérobie facultatif (éventuel). En effet, l'intestin humain contient jusqu'à un kilogramme et demi de microbes, chaque gramme de matières fécales contient à son tour jusqu'à deux cent cinquante milliards de microbes.

Le terme microbiome (du grec micro « petit » et bíos « vie ») a été utilisé pour la première fois en 1952 pour désigner les micro-organismes présents dans un environnement particulier. En

1988, la définition a changé : « une communauté microbienne caractéristique occupant un habitat bien défini, qui possède des propriétés physico-chimiques distinctes ». Le terme ne désigne donc pas seulement les micro-organismes impliqués, mais inclut également leur « théâtre d'activité », qui aboutit à la formation de niches écologiques spécifiques.

En 2020, une nouvelle définition du microbiome a été proposée, basée sur un changement de description et complétée par deux phrases explicatives. Le microbiome, qui forme un micro-écosystème dynamique et interactif susceptible de changer au fil du temps et à grande échelle, est intégré aux macro-écosystèmes, y compris l'hôte eucaryote et est essentiel à au fonctionnement et à la santé de l'hôte. Le microbiome représente l'ensemble des génomes des bactéries colonisant l'organisme. On les considère collectivement pour une raison essentiellement pratique. Pas seulement les bactéries, mais aussi les autres microbes, de virus, de champignons, qui font partie intégrante des organismes vivants forment le microbiome. Les bactéries qui vivent en commensalisme avec le corps des hôtes y jouent des rôles très importants, notamment pour la digestion et la défense contre les organismes pathogènes.

On estime que les bactéries hébergées par le corps humain sont environ dix fois plus nombreuses que ses propres cellules. L'ensemble de leurs populations forme un écosystème dont on sait peu de choses et qui fait aujourd'hui l'objet d'études.

On peut trouver plus de 100 000 milliards de bactéries bénéfiques dans notre organisme (deux à trois kilogrammes chez un adulte). Il y a de nombreux projets de recherche avec le but d'identifier les communautés microbiennes découvertes dans les différentes parties du corps et de chercher les corrélations entre les changements dans le microbiome et la santé humaine. Ils n'ont été visualisés que récemment, grâce à des avancées technologiques comme les outils d'imagerie moléculaire et le séquençage du génome de nouvelle génération. La composition de microbiome change au cours de notre vie, et une diminution du nombre et de la diversité de ses constituants est associée aux maladies et au vieillissement. Le plus grand microbiome est celui de l'intestin : dans le côlon il y a entre 300 et 1000 espèces microbiennes.

Ces dernières années, le terme « flore normale » a été progressivement remplacé par le terme « microbiote » dans le cadre de la recherche sur le microbiome humain, car il est plus précis et reflète mieux la composition et les fonctions du microbiote. Ainsi, **le microbiote** fait référence à l'ensemble des micro-organismes qui vivent dans un habitat ou un environnement particulier (par exemple, le microbiote intestinal est la communauté de bactéries, champignons et autres micro-organismes qui vivent dans le tube digestif humain). D'autre part, **le microbiome** comprend, outre les micro-organismes, leur habitat et leurs interactions avec celui-ci. Le microbiome est donc plus complet et désigne l'ensemble du matériel génétique des micro-organismes (leur ADN) ainsi que leur environnement physique dans lequel ils vivent.

Le microbiote a de nombreux rôles. Cette microflore est très utile :

- 1) elle produit des acides différents, des antibiotiques tuant les microbes putrides ;
- 2) contribue à la nutrition et métabolisme de l'organisme (*E. coli*) ; synthétise les vitamines B12, K2, B6, la biotine, l'acide folique. Les levures synthétisent les vitamines B1, B2, D2, la biotine, l'acide pantothénique ;
- 3) elle participe au métabolisme humain, par exemple au catabolisme de la bilirubine et à sa transformation en pigments biliaires. Elle prend part aussi à la détoxification des substances toxiques endogènes et exogènes.
- 4) les microbes intestinaux stimulent le système immunitaire humain ; les Ac réagit croix avec des autres espèces,

- 5) toutes ces fonctions énumérées assurent la **résistance de la colonisation de l'organisme sain qui s'exprime par la capacité de bloquer l'occupation de l'intestin par les microbes pathogènes**. La flore normale, diminue la multiplication de la flore pathogène par une mécanisme compétitif sur les récepteurs et le substrat nutritif
- 6) modulation du SNC,
- 7) angiogenèse intestinale,
- 8) développement du système immunitaire,
- 9) mais aussi peut constituer **la source majeure de les infection opportuniste** (*S. epidermidis*, *E. coli*).

La composition du microbiote peut être modifiée sous des traitements inappropriés avec des antibiotiques ou sous l'action de facteurs nocifs de l'environnement. Ainsi, une dysbactériose se forme, de nouveaux microbes se multiplient et des processus de putréfaction ont lieu. L'intestin devient le site de formation d'ammoniac, d'indole et de sulfure d'hydrogène, tous toxiques.

Une telle eubiose perturbée peut être traitée avec des eubiotiques. Ce sont des médicaments obtenus à partir de la microflore normale (bifidobactéries, lactobactéries, *E.coli*). En cas d'affaiblissement de l'immunité humaine, la microflore normale peut provoquer des infections endogènes.

Tableau 7.1 La flore microbienne normale de l'hôte humain

Microorganismes	Peau	Cavite buccale	Intestin	Voies respiratoires supérieures	Tractus génital
<i>Staphylococcus</i> spp.	+++	+	+	++	++
<i>Enterococcus</i>	(+)	(+)	++	-	(+)
Streptocoques oraux	+	+++	+		+
Cocci anaerobies		+	+		+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		+		+	
<i>Neisseria</i> non pathogenes		+		+	
Corynebacteries non pathogenes	++	+	+	+	+
Spores aerobies	(+)				
Clostridies			+++		(+)
<i>Actinomyces</i>		+++			+
Enterobacteries	(+)	(+)	+++	(+)	+
<i>Pseudomonas</i>			+		
<i>Haemophilus</i>	+		++		(+)
Bacilles Gram négatif anaerobies stricts	+++	+++	+++		+++
Spirochetes		++		+	(+)
Mycoplasmes		++	+	+	++
Champignons (levures)	++	+	+	+	+
<i>Entamoeba</i> , <i>Giardia</i> , <i>Trichomonas</i>			+		+

7.3. POUVOIR PATHOGENE

L'infection est une maladie provoquée par des agents pathogènes vivants. On distingue deux types de bactéries responsables d'infections:

1. Les bactéries pathogènes

Sont des bactéries responsables d'une maladie même chez le sujet " sain " (ex: fièvre typhoïde, choléra, tuberculose, méningite, etc.).

Le pouvoir pathogène conditionne le type de maladie et va dépendre de l'espèce bactérienne responsable de l'infection. Par exemple, le choléra dont l'agent est *Vibrio cholerae* est une maladie complètement différente de la méningite à méningocoque. Cette notion de pouvoir pathogène est à distinguer de celle de virulence.

Ces bactéries pathogènes peuvent (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*) ou non (*Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*) appartenir à la flore humaine commensale.

Pour certaines bactéries, comme le méningocoque (agent de la méningite cérébrospinale), le portage sain dans le nasopharynx est la situation de loin la plus fréquente, la maladie est l'exception puisqu'elle ne touche qu'un porteur sain sur 10 000. Ce point souligne que pour ces bactéries qui en réalité appartiennent à la flore commensale de l'homme bien que "pathogènes", il existe une susceptibilité individuelle qui peut être l'âge (plus fréquentes chez les jeunes enfants) ou propre à certains individus, de nature encore indéterminée.

La virulence est une notion quantitative alors que le **pouvoir pathogène** est une notion qualitative.

Ainsi pour un même pouvoir pathogène, il peut y avoir des souches plus ou moins virulentes. Exemple: *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri* sont toutes les deux responsables d'une dysenterie bacillaire, mais pas avec les mêmes doses.

Quelques bactéries suffisent pour développer une infection avec *S. dysenteriae* alors que plusieurs milliers sont nécessaires avec *S. flexneri*. Cette espèce est donc considérée comme moins virulente que *S. dysenteriae*.

2 - Les bactéries opportunistes

Les bactéries opportunistes ne donnent habituellement pas de maladie chez les sujets sains. En revanche, elles peuvent devenir pathogènes chez les sujets aux défenses immunitaires altérées. Ces bactéries sont souvent des bactéries commensales qui vivent à la surface de la peau et des muqueuses de l'homme.

Chez le sujet normal, elles ne donnent pas d'infections, mais à la faveur d'une immunodépression ou d'une antibiothérapie, elles vont être contre-sélectionnées et proliférer leur donnant ainsi un avantage sélectif.

Le type de maladie (et donc le pouvoir pathogène) dont ces bactéries sont responsables est, en général, monomorphe: colonisation de la porte d'entrée avec développement d'une inflammation non spécifique à ce niveau (pneumonie, infection urinaire, infection sur cathéter), éventuellement suivie d'une généralisation, septicémie avec des localisations secondaires possibles (endocardite, abcès profond, ostéites, méningites).

7.3.1. Les Facteurs de virulence des bactéries pathogènes

En dehors des intoxications, la première étape du pouvoir pathogène est la colonisation de l'hôte au niveau de la porte d'entrée. En pratique, cela se traduit par : une adhésion aux cellules épithéliales des muqueuses à l'aide de pili ou d'adhésines non fimbriaires. L'adhésine des pili est située au sein de fimbriae. Cette adhésine est la molécule qui va interagir avec un récepteur sur les cellules de l'hôte. Dans le cas des adhésines non fimbriaires, la protéine est située sur la membrane externe des bactéries. Dans certains cas (*Escherichia coli* entéropathogène), ce récepteur est sécrété par la bactérie à l'intérieur du cytoplasme des cellules de l'hôte. Une fois la porte d'entrée colonisée, plusieurs types de pouvoir pathogène peuvent s'exprimer.

7.3.2. Le pouvoir pathogène est due à la diffusion d'une toxine à distance de la porte d'entrée.

Dans ce cas, la bactérie adhère, colonise et se multiplie au niveau de la muqueuse de la porte d'entrée et peut éventuellement provoquer une inflammation à ce niveau. Mais l'essentiel du pouvoir pathogène est dû à la production d'une toxine dont les effets peuvent s'exercer à distance de la porte d'entrée, par exemple:

- *Vibrio cholerae* (choléra) - dans ce cas, il y a une colonisation de l'intestin et la production de la toxine cholérique qui va être responsable de la perte hydroélectrolytique
- *Escherichia coli* entérotoxigène (diarrhée des voyageurs), même mécanisme que pour le cholera
- *Bordetella pertussis* (coqueluche). La muqueuse colonisée est l'arbre trachéo-bronchique. La production de la toxine va être responsable de la toux et des signes généraux et éventuellement cardio-vasculaires
- *Staphylococcus aureus* producteur de TSST (toxine du syndrome de choc toxique). Le staphylocoque colonise une muqueuse (vaginale par exemple) et la production de toxine qui diffusera sera responsable du choc.
- *Corynebacterium diphtheriae* (agent de la diphtérie). Le pathogène est responsable d'une angine, secondaire à la multiplication bactérienne, mais seules les souches produisant la toxine diphtérique pourront donner le croup et les signes généraux.

Les toxines bactériennes

Les bactéries pathogènes produisent de nombreuses substances qui sont toxiques pour leur hôte. Lorsqu'il s'agit de protéines et qu'elles agissent à faibles concentrations, il s'agit de toxines. Dans certains cas (tétanos et botulisme par exemple), seule la toxine est pathogène et la multiplication du microorganisme ne participe en rien aux symptômes observés. On distingue plusieurs types de toxines :

A. Les toxines A-B

Ce type de toxines à deux composants, la sous-unité B qui est responsable de l'interaction avec les cellules de l'hôte et la sous-unité A qui contient l'activité enzymatique (toxique). Cette activité varie d'une toxine à l'autre et peut être une activité ADP ribosylante (toxine cholérique, toxine pertussique et toxine diphtérique) ou une activité protéolytique (toxine tétanique ou toxine botulinique).

B. Les toxines formant des pores

Une famille de toxines est responsable de la formation de pores conduisant à la lyse cellulaire. A titre d'exemple, il s'agit de l'hémolysine d'*Escherichia coli*, et la listériolysine (hémolysine) de *Listeria monocytogenes*.

C. Les enzymes hydrolytiques

Beaucoup de bactéries pathogènes produisent des protéases, DNAses, collagénases qui vont participer à la formation des lésions au siège de la multiplication bactérienne. Exemple: infection à staphylocoque doré (*S.aureus*).

D. Les toxines protéiques

Ces toxines sont des protéines produites par les bactéries (soit sécrétées, soit libérées par la lyse bactérienne), qui vont agir à un site cellulaire précis, différent pour chaque bactérie toxigène; ces caractéristiques les opposent à l'endotoxine.

Les gènes responsables de la synthèse de toxines sont portés soit par le chromosome, soit par des plasmides (*Vibrio cholerae*), soit encore par des prophages (*Corynebacterium diphtheriae*).

L'activité des toxines protéiques est inhibée par des anticorps spécifiques (antitoxines), ce qui peut être utilisé pour le traitement.

Le traitement des toxines protéiques par le formol et chaleur fait perdre à ces molécules leur pouvoir toxique tout en conservant leur antigénicité: ce sont les anatoxines. Ceci est à la base de la vaccination contre certaines infections, comme la diphtérie ou le tétanos.

7.3.3. L'endotoxine - Le choc endotoxinique

C'est le composant essentiel de lipopolysaccharide. A cours des septicémies à bactéries à Gram négatif, ce dernier est libéré par la lyse bactérienne consécutive à la réponse immunitaire ou à un traitement antibiotique. Il va se fixer ensuite sur des récepteurs membranaires cellulaires. Le choc endotoxinique est commun à toutes les bactéries à Gram négatif.

Il est marqué par:

- la fièvre** due à la libération de molécules pyrogènes par les cellules ayant capté le lipopolysaccharide
- des troubles de la coagulation** dues à l'activation du facteur XI: la coagulation intraveineuse disséminée ou CIVD
- collapsus vasculaire** secondaire à une vasodilatation périphérique consécutive à la libération par les plaquettes et les polynucléaires d'amines vasoactives.

Ces différents troubles vont entraîner **des lésions de divers organes, par hémorragie ou nécrose** (surrénales, reins, poumons, cerveau). **Le pronostic du choc endotoxinique reste très sévère.**

7.3.4. Le pouvoir pathogène résulte d'une inflammation au niveau de la porte d'entrée secondaire à la multiplication bactérienne :

- *Shigella* responsable d'une dysenterie
- *Neisseria gonorrhoeae* responsable de la blennorrhagie
- *Salmonella typhimurium* (diarrhée)
- Abcès cutanés / furoncles dus à une multiplication localisée de *Staphylococcus aureus*

- Angines, sinusites, otites, bronchites le plus souvent dues à des bactéries de la flore commensale du nasopharynx qui deviennent pathogènes (streptocoques, pneumocoques, *Haemophilus*, anaérobies).

- Infections urinaires, basses le plus souvent, ou encore atteinte du rein dues à *Escherichia coli*.

Les bactéries en cause sont, en général, des pathogènes à **multiplication extra-cellulaire**, dont la diffusion à distance de la porte d'entrée peut être une complication à redouter (surtout vrai pour les infections urinaires et les abcès sous-cutanés). Pour certains de ces pathogènes qui doivent franchir une muqueuse pour atteindre le secteur extra-cellulaire (*Shigella*, *Salmonella*, et *Neisseria gonorrhoeae*), cet envahissement nécessite une étape de multiplication à l'intérieur des cellules épithéliales.

7.3.5. Le pouvoir pathogène résulte d'une dissémination du microorganisme à partir de la porte d'entrée :

On distingue deux types de pathogènes selon que la multiplication bactérienne ait lieu à l'intérieur ou à l'extérieur d'un compartiment cellulaire.

A/ Les bactéries à multiplication intra-cellulaire

Le plus souvent le compartiment dans lequel la multiplication prend place sont les **macrophages**:

- Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose)
- *Salmonella typhi* (fièvre typhoïde)
- Listeria monocytogenes* (listériose)
- Brucella* (brucellose)
- Legionella* (Maladie des légionnaires)
- Coxiella burnetti* (Fièvre Q)

Pour les bactéries à multiplication intra-cellulaires, le plus important est d'éviter d'être dégradées par les macrophages :

- soit elles inhibent la fusion phagolysosomale et se répliquent dans la vacuole (*Salmonella*),
- soit elles sortent de la vacuole de phagocytose et se répliquent dans le cytosol (*Listeria*),
- soit elles ne sont pas dégradées dans le phagolysosome.

B/Les bactéries à multiplication extra-cellulaire

Il s'agit du pouvoir pathogène le plus fréquent. Les bactéries se multiplient dans le secteur extra-cellulaire et sont équipées pour résister à l'activité bactéricide du complément et à la phagocytose par les polynucléaires:

- Septicémies (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, etc.)
- Pneumonies (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, etc)
- Pyélonéphrites (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, etc)
- Méningites (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*)
- Endocardites (*Streptococcus*, *Enterococcus*, etc)

Ces bactéries à multiplication extra-cellulaires ont **un tronc commun de facteurs de virulence** qui sont: la capsule polysaccharidique qui est essentielle dans la résistance à la bactéricidie sérique et/ou la phagocytose et la chaîne latérale du lipopolysaccharide.

8. LES FACTEURS DE DEFENSE CONTRE LES BACTERIES

Résistance non-spécifique

L'immunité naturelle

La résistance anti-infectieuse est la somme de tous les mécanismes qui protègent l'organisme "contre les infections :

- **La résistance innée: assure la résistance naturelle, non-spécifique**, contre les microorganismes, c'est commun pour les individus d'une espèce, non-conditionnée par un contact antérieur avec le germe.
- **La résistance acquise, ou l'immunité anti-infectieuse** : se développe pendant la vie, résultat de la contamination continue avec des agents infectieux différents, dépendent de l'expérience immunologique de chaque personne.

Tous les organismes possèdent une résistance non-spécifique avant même de rencontrer un agent pathogène, cette propriété est donc innée. Cependant celle-ci se différencie de l'immunité innée de l'espèce par sa non-spécificité vis-à-vis des microbes. Ils paraissent que ces facteurs peuvent agir sur les microbes pathogènes et non pathogènes dans le macroorganisme. On peut séparer les mécanismes biochimiques, physicochimiques et mécaniques de la défense non-spécifique.

Le plus souvent, les bactéries pathogènes infestent un hôte par les cavités naturelles ("porte d'entrée") et parviennent donc au contact des muqueuses digestives, respiratoires ou génitales, qu'elles colonisent secondairement. En revanche, la peau constitue une barrière difficilement franchissable par les bactéries à moins qu'elle ne soit lésée par un traumatisme (plaie, piqûre, brûlure). Ces surfaces sont susceptibles de prévenir ou de limiter leur colonisation par des intrus en mettant en jeu des mécanismes de défense, successivement non spécifiques puis spécifiques.

Les Bases de l'immunité naturelle sont :

8.1. LES FACTEURS GENETIQUES

Sont représentés par:

- une incompatibilité entre les facteurs pathogènes du microbe et ses récepteurs-cibles sur les cellules, les enzymes et les autres molécules du macroorganisme; ainsi, le virus de la peste canine ne peut pas utiliser les systèmes enzymatiques et l'appareil de la translation d'une cellule des autres animaux pour sa multiplication,
- la résistance individuelle: il y a des variations individuelles et de la race; il y a des porteurs sains, mais aussi /des formes graves de la maladie.

8.2. FACTEURS TISSULAIRES

La "barrière cutanéomuqueuse" joue le rôle protecteur initial contre de nombreuses infections en mettant en œuvre des moyens physiques, physicochimiques et biologiques. La barrière physique est, pour la peau, constituée de la couche d'épithélium kératinisé (couche cornée) qui, de plus, desquame et entraîne ainsi les bactéries qui s'y déposent. Pour les muqueuses le mucus, parfois abondant, joue un rôle équivalent de barrière et d'élimination de la flore exogène.

L'abondance de certaines excréments (urine, larmes) élimine aussi la plupart des bactéries. La barrière physico-chimique est constituée, au niveau de la peau, par le film d'acides gras insaturés et de NaCl provenant des glandes sébacées et sudoripares.

Les barrières naturelles de la peau et des muqueuses, l'acidité élevée de la sueur et du jus gastrique servent d'un obstacle pour l'introduction des microbes dans le macroorganisme. La salive, les larmes, le sang, les macrophages et les neutrophyles contiennent du **lysozyme** qui détruit les liaisons β de l'enveloppe bactérienne. L'acide hyaluronique, qui est le composant principal de la matrice intercellulaire, bloque la diffusion des microbes.

8.3. LA FLORE NORMALE

S'oppose à la multiplication de la flore pathogène par:

- une compétition sur les mêmes récepteurs cellulaires et même substrat nutritif
- sécrétion de produits secondaires toxiques
- stimulation de système immunitaire

L'administration abusive des antibiotiques va être responsable par la destruction d'équilibre écologique existant dans l'organisme.

8.4. FACTEURS HUMORAUX

8.4.1. Le complément

C'est un ensemble sérique de 25 protéines-enzymes qui s'activent en chute sous l'action d'un trigger. Les principaux composants sont appelés: C1-C9. Les processus de mise en phase et propagation de cette chute s'appellent: **activation de complément.**

La plaque tournante du système complément c'est le C3 qui s'auto-active selon un phénomène du "tout ou rien" dès fixation de sa première sous-unité C1q sur le complexe antigène-anticorps.

Cette fixation-activation ne peut se déclencher que si le C1q se fixe simultanément sur deux molécules d'immunoglobulines présentes sur la surface de l'antigène.

1. Au cours de la **voie alterne** d'activation, C3 est clivée directement par les produits des microorganismes, endotoxines, polysaccharides. Le C3b obtenue est active par les facteurs B et D et agit alors lui-même comme la C3 convertase.
2. Au cours de la **voie classique** d'activation, l'activation de système complément se **produit dans la présence de complexe antigène-anticorps**, après une réponse immunitaire. Les bactéries entrent dans l'organisme et répondent à des anticorps correspondants avec qui formeront des complexes antigène-anticorps. Les anticorps ont des récepteurs R_c pour le complément. Une molécule de C1q, C1s et 2 molécules de C1r forment l'unité de reconnaissance qui va se connecter de complexe antigène-anticorps. L'unité de reconnaissance va cliver C2 et C4 dans C2a, C2b et C4a, C4b. C4b2a formeront C3 convertase du chemin classique, qui va cliver C3 dans C3a et C3b, la pièce essentielle dans la réaction suivante.
3. **La voie d'activation lectinique** est similaire avec la voie classique (C4 et C2) mais sans des Ig. Lie avec des résidus de mannose situés sur la surface de microorganismes (*Salmonella*,

Listeria, *Neisseria*, *Cryptococcus neoformans*, HIV-1, VRS). Mannose binding lectin (MBL) lie des 2 proteases, MASP – I et MASP II (Manan binding lectin Associated Serine Protease), qui tombe en panne C4 et C2 qui formeront C4bC2a – convertaza du chemin lectinique.

4. **La voie commune:** L'étape suivante, c'est-à-dire, la formation de complexe C5-C9 avec l'action lytique identique pour les voies alterne, classique et lectinique. Quelle que soit la voie d'activation, les réactions suivantes sont communes:
- C3 convertase se combine avec C3b et formant C5 convertase (C3bC3b2BbP pour la voie alterne et C3b4b2a pour la voie classique),
 - C5 se décompose en C5a et C5b. C5b se fixe sur la surface de la cellule où se trouve l'antigène (la surface bactérienne),
 - De C5b il va se connecter C 6, 7, 8 qui avec plusieurs molécules de C9, qui formes un **complexe d'attaque membranaire (CAM)** qui va perfore le membrane plasmatique cellulaire avec la lise consécutive de la cellule bactérienne.

Les actions biologiques principales des composants du système du complément sont :

1. Représente **le signal pour l'inflammation** – par les produites intermédiaire résultat pendant l'activation:

- C5a - facteur chimiotactique et chemokinetic pour PMN apporte dans l'éclosion infectieuse,
- C3a et C5a - anafilatoxines avec un rôle dans la degranulation physiologique de mastocytes avec la libération des médiateurs chimique vasoactives,

2. **Provoque la cytolyse des microbes et des autres cellules:** les cellules sur laquelle le complément est fixé sont des cellules étrangères (des bactéries) qui sont lyser sous l'action de CAM. Dans la situation de cas pathologique, le complément se fixe sur les cellules propre d'organisme, produisant leur destruction;

3. **Opsonisation des microorganismes :** les phagocytes ont sur leurs surfaces des récepteurs pour C3b. Afin, les microbes cela a été fixé C3b se joindra à des cellules phagocytaires en cours de phagocytose plus efficace.

8.4.2. Le lysozyme

La salive, les larmes, le sang, les macrophages et les neutrophiles contiennent du lysozyme qui détruit les liaisons β (1,4) -glycosidiques dans les glycosaminoglycannes de l'enveloppe bactérienne. L'acide hyaluronique, qui est le composant principal de la matrice intercellulaire, bloque la diffusion du microbe.

8.4.3. Les cytokines

Sont des peptides, similaire avec des hormones, avec des propriétés immunomodulatrice, produit par les cellules qui répond à l'invasion microbienne. Les cytokines autocrines actionnent sur les cellules productrices. Les cytokines paracrines ont un effet sur les cellules voisines. Les cytokines endocrines ont un effet sur les cellules à distance.

Les plus importantes cellules productrices sont les macrophages et les lymphocytes (et les autres). La sécrétion des cytokines est déclenchée dans le cas de agents microbiennes (des bactéries, des toxines) contribuant à la croissance de la résistance anti-infectieuse. Les cytokines ont un rôle important dans le déclenchement de l'inflammation :

- -IL-1: production de la fièvre, croissance de la perméabilité vasculaire, l'explosion respiratoire dans les macrophages, et PMN,
- -IL-6: déclenchement de la synthèse des protéines de la phase aiguë,
- -IL-8: secrète par les macrophages pendant leur stimulation avec IL-1 et TNF; c'est un facteur chimiotactique forte pour PMN, contribuant la formation de pus dans la place infectieuse,
- -TNF α : favorise des enzymes protéolytiques des cellules mésoenchymales, l'agrégation et activation de PMN avec libération des enzymes protéolytiques de cellules mésoenchymales, afin sont producteurs de lésions tissulaires.

Quelque symptomatologie générale de l'infection : la fièvre, somnolence, l'état de d'inconfort, la douleur musculaire etc., sont à cause de ces substances.

Les lymphokines sont : des substances sécrétées par le lymphocyte T active, des polypeptides de faible poids moléculaire. On connaît actuellement plus de cinquante parmi lesquelles :

- l'interleukine 2,
- le MIF "Macrophage Inhibiting Factor",
- les CSF "Colony Stimulating Factor", le SRF "Skin Reactiv Factor",
- le BCGF "B Cell Growth Factor",
- l'interféron.

Les lymphokines agissent sur le lymphocyte T, le lymphocyte B, le macrophage, le polynucléaire et la cellule souche médullaire.

8.4.4. La réponse de phase acute

C'est une réaction généralisée, non-spécifique, de l'organisme, stimulée par l'infection, l'inflammation, lésions tissulaires, et processus prolifératifs. Elle est produite par l'intermédiaire de cytokines: IL-1, IL-6, TNF α , PGE1 (prostaglandine E1) et interférons.

- -la fièvre – c'est le résultat de l'action d'IL-1, TNF et alfa IF – qui agissent tous ensemble sur le centre de thermorégulation d'hypothalamus,
- -multiplication de PMN dans le sang périphérique,
- -diminution de Fe, Zn en sérum (nécessaire pour la multiplication bactérienne).

La protéine C-réactive (PCR) est produite par la cellule hépatique, stimulée par IL-1 (en 24-48 heures du début de l'inflammation aiguë la concentration sérique de PCR se multiplie par milliers de fois). PCR peut se connecter de polysaccharide bactérien et fongique. Par l'activation de complément, sur la voie alternative, va faciliter la bactériolyse et la phagocytose.

8.4.5. L'opsonisation et les opsonines

La phase de recouvrement de l'antigène s'appelle l'opsonisation et les immunoglobulines sont alors désignées par le terme d'opsonines. **Les opsonines** sont des substances qui adhèrent à la

surface d'un microorganisme, ce qui en fait accessible à la phagocytose. **Les opsonines non-spécifiques** sont :

- C3b, - produit pendant l'activation de complément se lie de manière covalente aux microorganismes. Cette complexe microorganisme-C3b, se lie de glycoprotéine-réceptrice pour C3b présent sur la membrane de phagocytes (CR1). Le microorganisme va être phagocyte plus facilement.
- la fibronectine, une glycoprotéine avec des fonctionnes d'opsonine pour le Gram -positives. Elle se retrouve sur la surface de muqueuses, empêchant la colonisation des muqueuses avec de la flore bactérienne.

Les Opsonines spécifique sont les anticorps impliqués dans la résistance acquis.

8.4.6. Les interférons

Les virus, certains produits bactériens et quelques substances de l'induction comme l'ARN (acide ribonucléique) provoquent la synthèse de l'interféron dans les cellules humaines et animales. Les interférons sont des protéines avec une petite masse moléculaire dont une partie sont les glycoprotéines. Elles empêchent l'infection d'autres cellules par le virus et peuvent même inhiber la multiplication des bactéries.

L'interféron a la spécificité seulement vis-à-vis d'une cellule-hôte défendue. C'est-à-dire l'interféron humaine défend surtout les cellules humaines mais il est peu spécifique vis-à-vis de l'espèce du virus.

L'interféron est synthétisé par les leucocytes (α - interféron), les fibroblastes (β - interféron), les T-lymphocytes (γ -interféron).

Ils ont une activité variée. On peut citer l'activité antivirale (α , β), anti tumorale, antiproliférative, radio protectrice.

Le γ - interféron représente un immuno- modulateur capable d'influencer l'activité des lymphocytes B et T et macrophages. Il modifie la capacité des cellules indiquées de participer dans la synthèse des anticorps ou dans la phagocytose.

Le résultat de l'action des interférons consiste dans l'arrêtée de la synthèse des protéines dans la cellule infectée est, ce qui inhibe la multiplication du virus ou aboutit à la mort des cellules tumorales (dont la capacité de vivre est étroitement liée à la synthèse intensive des protéines).

8.5. LES FACTEURS CELLULAIRES

8.5.1. La réaction inflammatoire

L'infection locale conduit au déclenchement de la **réaction inflammatoire**. Lors de l'agression microbienne, les tissus libèrent des médiateurs chimiques : l'histamine et la bradykinine qui déclenchent des phénomènes vasculaires :

- vasodilatation capillaire,
- stase capillaire,
- passage extravasculaire de fibrinogène (qui se transforme en réseau de fibrine).

En essence, la pénétration de microorganismes dans les tissus conduit à l'activation de complément, avec les suivantes résultats :

- la cytolysse des cellules microbiennes et
- déclenchement de la réponse inflammatoire infectieuse.

La chute d'activation de complément va entraîner la libération de médiateurs chimiques (des cytokines, protéines de phase aiguë, les médiateurs résultant de la dégranulation de mastocytes, etc.) qui participent directement dans le processus inflammatoire et attire les phagocytes dans la place infectieuse. Les phagocytes supprimeront les microorganismes invasifs par la phagocytose.

L'inflammation aiguë est le résultat de changements passés dans un tissu comme une réponse d'une agression mécanique, chimique ou microbienne. C'est un mécanisme de défense anti-infectieuse rapide, qui tend à localiser l'infection et prévenir la dissémination.

Les manifestations locales de l'inflammation sont : l'érythème (rubor), la chaleur (calor), la douleur (dolor) et l'œdème (tumor).

L'inflammation peut évoluer à la guérison avec de la „restitutio ad integrum” des tissus ou avec des suites. Le résultat d'une réaction inflammatoire dépend de plusieurs facteurs : l'extension du processus inflammatoire, les microorganismes impliqués, la réactivité de l'hôte.

Les trois événements majeurs de l'inflammation sont : la vasodilatation capillaire locale, les modifications structurales microvasculaires et l'accumulation de leucocytes à la place infectieuse.

Les modifications structurales microvasculaires et l'accumulation de leucocytes : sous l'action de médiateurs chimiques qui ont été produits au cours de l'activation de complément et secrètent par les macrophages stimulés par les toxines bactériennes, l'endothélium capillaire se modifie, et va permettre l'adhésion de PMN sur lui. Les PMN sont attirés par les facteurs chimiotactiques bactériens. Elle laissera le capillaire par les diapédèses et va redresser sur la place inflammatoire, ou détruira les microorganismes par la phagocytose.

Prostaglandines, leucotriènes, thromboxanes et des lymphokines (comme l'interleukine 1) modulent le niveau de la réponse inflammatoire. Les bactéries ayant échappé à la réponse locale atteignent des organes distants par voie lymphatique, puis sanguine. Elles sont alors prises en charge par les macrophages du système réticulo-histiocytaire (cellules de Kupffer du foie, cellules des sinus de la rate) qui assurent leur destruction : la splénectomie est de ce fait un facteur de risque infectieux.

8.5.2. La phagocytose

Des phénomènes cellulaires aboutissant à la **phagocytose** sont par ailleurs déclenchés par l'apparition de produits bactériens et d'autres facteurs de l'organisme (afflux de polynucléaires attirés par les produits bactériens, apparition locale de macrophages).

La phagocytose c'est le facteur principal de la résistance non-spécifique qui est assuré par les macrophages (les monocytes mobiles du sang ou les cellules immobilisées des tissus) et par les leucocytes (les neutrophiles et les éosinophiles). Le mécanisme et les étapes de la phagocytose sont les suivants :

- **Chemotaxie-atraction des neutrophiles (PMN)**: un phagocyte attrapé une cellule microbienne et la transporte dans le cytosol et ensuite dans phagosomes
- **Oponisation (préparation de bactéries pour la phagocytose)**: la phagocytose est facilitée si des anticorps correspondant aux antigènes bactériens peuvent recouvrir les germes (ce sont les opsonines ; le phénomène est l'opsonisation).
- **Inclusion-dans une vacuole coalesce**
- **Digestion** –par des mécanismes bactéricides

Le phagocyte est activé. Cette activation peut être expliquée par les changements dans son métabolisme et par la consommation du glucose et de l'oxygène (« l'explosion respiratoire »). Les enzymes qui catalysent la production des formes actives de l'oxygène (O₂, H₂O₂, OH) sont aussi activées. Ce sont la NADPH-oxydase, la NADH-oxydase, la myéloperoxydase, qui à leur tour augmentent l'oxydation peroxydée des lipides, des protéines, des enzymes ainsi que la destruction des membranes. Le rôle très important dans la destruction des microbes est attribué aux peptides riches en arginine, dites défensines, excrétées par les structures granulaires des neutrophiles ;

Un phagosome se combine à un lysosome en formant un **phagolysosome** à l'intérieur duquel s'achève le catabolisme du microbe qui se fait avec la participation des hydrolases lysosomales. La sécrétion d'enzymes mais surtout la production locale d'H₂O₂ et de radicaux superoxydes induisent alors la mort des bactéries phagocytées et leur lyse. Le pH du phagolysosome chute (pH<4). Une phase d'acidification, de lyse des polynucléaires et de phagocytose des débris par les macrophages clôt la réaction. C'est la **phagocytose complète** ou parfaite.

En outre il existe la **phagocytose imparfaite** sous laquelle les macrophages ne tuent pas de microbes. Ces derniers peuvent même se multiplier dans les macrophages (le bacille tuberculeux, le gonocoque, SIDA).

Un autre facteur de la défense cellulaire est le thrombocyte qui après son activation par complexe immune forme et dégage les substances actives (lysozymes, histamine, β-lysines, prostaglandines et d'autres). Ces substances sont les facteurs de la défense humorale.

Facteurs de variations de la phagocytose

La présence d'une capsule permet aux bactéries de s'opposer à la phagocytose tout comme la production de toxines actives sur les polynucléaires (leucocidines). Certaines bactéries comme *Mycobacterium*, *Brucella*, *Pasteurella*, *Listeria*, *Salmonella*, peuvent persister à l'état vivant dans les phagolysosomes.

Le diabète, les carences vitaminiques C et A, les grandes carences nutritionnelles, l'usage immodéré d'alcool ou de tabac ou les traitements au glucocorticoïdes diminuent les défenses cellulaires par phagocytose. Du fait du rôle du fer dans la physiologie bactérienne, l'anémie hémolytique est un facteur de risque infectieux.

De façon évidente, les neutropénies toxiques ou médicamenteuses modifient aussi le potentiel de phagocytose : des maladies touchant la destruction des bactéries par les phagolysosomes ou la perte de chimiotactisme des polynucléaires se traduisent par des infections répétées au niveau cutané, ganglionnaire, pulmonaire ou hépatique par des staphylocoques ou par des bacilles à Gram négatif.

9. L'IMMUNITE ACQUISE

Les antigènes

Le système de la résistance naturelle reconnaît les molécules de surface, qui sont : communes aux nombreux agents infectieux, inchangé pendant l'évolution filogénétique, inexprimé aux tissus de la hôte. Les pathogènes bactériens qui expriment ces modèles peuvent être reconnus et éliminés par des cellules qui utilisent des systèmes inchangés, bien conservés, qui contiennent des modèles de reconnaissance des neutrophiles et macrophages.

L'échec de la résistance naturelle dans l'identification des agents infectieux, se produit quand l'agent infectieux :

- n'exprime pas à la surface un modèle microbien commun,
- il change rapidement les molécules de surface,
- il évolue plus rapidement que la résistance naturelle.

L'identification antigène-spécifique par le système de l'immunité acquise s'est développée pour surmonter ce problème.

9.1. L'IMMUNITE ACQUISE

L'immunité acquise différencie le "self" de "non-self", répond par des effecteurs humoraux et cellulaires qui vont éliminer ce qui est étranger pour l'organisme, maintenant l'individualité et l'intégrité de celui-ci il y a cette réponse.

L'immunité acquise est spécifique selon l'espèce microbienne. Elle est acquise par les hommes ou les animaux après la naissance, au cours d'une infection (l'immunité active) ou lors de la transmission d'anticorps maternels à travers le placenta (l'immunité passive). Dans certaines régions on peut trouver l'immunité dite collective, dont l'apparition est due à une épidémie.

L'immunité acquise provoquée se crée par l'immunisation avec de différentes substances, les vaccins. Ceux-ci peuvent être vivants, inactifs, chimiques et moléculaires. L'organisme produit activement les facteurs de défense comme si c'était une maladie infectieuse. C'est donc **l'immunité acquise artificielle active**.

L'introduction de sérums antimicrobiens préventifs spécifiques contenant des anticorps assure la résistance de l'organisme à l'infection homologue. Il s'agit d'une **immunité acquise artificielle passive**.

Les facteurs de l'immunité innée et acquise coopèrent dans l'organisme vivant. Sous l'action mutuelle de tous ces facteurs il se forme une immunité dite locale ou l'immunité de « porte d'entrée » spécifique de chaque infection. C'est-à-dire l'immunité locale des voies aériennes, du tube digestif, de la peau et des muqueuses.

Au niveau des muqueuses, un rôle important est attribué aux immunoglobulines de type IgA. La capacité discriminante de l'immunité locale est possible car elle fait partie de l'immunité générale de l'organisme tout entier.

L'immunité acquise se développe pendant la vie, conséquence de la contamination continue avec des agents infectieux, dépendante de l'expérience immunologique de chaque personne.

Elles impliquent le système immunitaire de l'hôte. **La fonctionnalité du système immunitaire se basée sur la complémentarité stérique entre deux partenaires:**

- **L'antigène** – non-self, qui a la capacité de produire des changements biologiques du système immunitaire, consistant dans l'apparition : des effecteurs de l'immunité humorale (anticorps) et cellulaires (des lymphocytes sensibilisés),
- **Le récepteur d'antigène** – de la part de l'organisme
- **des anticorps** dans le sérum et les sécrétions, produits par les plasmocytes (immunité à médiation humorale)
- **le récepteur** pour l'antigène quand il se constitue comme une composant de la membrane cellulaire [Récepteur des cellules B (BCR) pour le lymphocyte B et Récepteur des cellules T (TCR) pour le lymphocyte T] (immunité à médiation cellulaire).

L'immunité acquise après une infection bactérienne est spécifique. La reconnaissance spécifique des antigènes, qui est la principale caractéristique du système immunitaire, est assurée par les lymphocytes T et les lymphocytes B. Ces cellules présentent à leur surface des récepteurs : le **TCR**, dans le cas du lymphocyte T, et le **BCR**, dans le cas du lymphocyte B. Ils sont constitués de deux unités, l'une établissant le contact avec l'antigène, l'autre transmettant vers l'intérieur du lymphocyte un ou plusieurs signaux.

Leur interaction avec l'antigène induit, d'une part, l'activation et la prolifération des lymphocytes T auxiliaires (helper) (LTh), ou des lymphocytes T cytotoxiques (LTc), et d'autre part, l'activation et la prolifération de lymphocytes B qui se différencient secondairement en plasmocytes sécréteurs d'anticorps.

L'émission de nombreuses cytokines et les contacts cellulaires assurent la coordination de ces réponses. Cette défense spécifique requiert également l'intervention d'une cellule dite **présentatrice de l'antigène (CPA)**. Alors que les lymphocytes B reconnaissent les déterminants antigéniques (**épitopes**) portés par les antigènes protéiques intacts (ou natifs), les lymphocytes T ne reconnaissent que des fragments de ces antigènes (peptides d'une dizaine d'acides aminés) qui leur sont présentés par les CPA. Ces cellules sont, soit des phagocytes professionnels comme les macrophages, les cellules dendritiques de la rate et des ganglions lymphatiques, les cellules de Langerhans de la peau ou les cellules de Kupffer du foie, soit des lymphocytes B eux-mêmes, soit d'une manière générale toute cellule nucléée de l'organisme.

Les peptides antigéniques sont présentés aux lymphocytes T associés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (**MHC**) de classe I ou de classe II. Les molécules de classe I sont exprimées à la surface de toutes les cellules nucléées, alors que les molécules de classe II sont des glycoprotéines retrouvées uniquement à la surface des macrophages, des lymphocytes B et de certaines cellules épithéliales. Ainsi les macrophages et les lymphocytes B expriment à la fois des molécules de classe I et de classe II.

Les antigènes exogènes internalisés, soit après contact avec l'immunoglobuline membranaire d'un lymphocyte B et endocytose, soit par phagocytose dans un macrophage sont, après protéolyse partielle dans les endosomes, uniquement présentés par les molécules de classe II et stimulent des réponses des LTh.

Deux sous-populations sont individualisées au sein des lymphocytes LTh: **la sous-population Th₂ et la sous-population Th₁**. La première stimule les lymphocytes B, qui se différencient en plasmocytes sécréteurs d'anticorps, alors que la seconde produit l'interféron g, qui active les macrophages. Les antigènes synthétisés dans le cytoplasme des cellules (antigènes

endogènes, comme les antigènes des bactéries à multiplication intracellulaire), après fragmentation partielle en petits peptides dans des protosomes, s'associent dans le réticulum endoplasmique rugueux aux molécules MHC de classe I et stimulent les LTc: ces lymphocytes ont la capacité de tuer toute cellule de l'hôte exprimant à sa surface ce(s) peptide(s).

Le schéma de coopération cellulaire précédemment décrit et faisant intervenir les LTh vaut dans la grande majorité des cas pour les antigènes dits "thymodépendants". Toutefois, une telle coopération n'est pas nécessaire s'il s'agit d'antigènes dits "thymo-indépendants", tels que le lipopolysaccharide des bacilles à Gram négatif ou les divers polysaccharides capsulaires (par exemple, ceux du pneumocoque): ceux-ci se lient aux lymphocytes B et stimulent directement leur prolifération. La production de cytokines par les lymphocytes T est toutefois requise pour une prolifération optimale de ces lymphocytes B.

Les réactions immunologiques peuvent être:

- physiologiques – assure l'immunité de l'organisme et lesquelles l'homme essaie de les produire artificiellement par l'immunisation passive (sérothérapie) ou active (vaccination)
- immunopathologiques – défavorable pour l'organisme.

9.2. LES ANTIGENES

A toutes les étapes de l'interaction entre le microbe et l'organisme humain ou animal, le second peut reconnaître les structures étrangères de la cellule microbienne et surtout les structures antigéniques et les facteurs de pathogénicité des microbes. Déjà au stade précoce de l'infection le macroorganisme met en marche les mécanismes de la reconnaissance et de réaction immunitaire adéquate aux antigènes étrangers. C'est pourquoi étudions le terme «antigène».

Les antigènes sont des substances que l'organisme les perçoit comme non self, qui produisent une réponse immunitaire et qui sont capables de réagir avec des récepteurs spécifiques.

Les antigènes complets ont deux propriétés:

-immunogénicité: la capacité d'induire une réponse immunitaire,

-l'antigénicité: la propriété de répondre spécifiquement avec des effecteurs immuns.

Les antigènes incomplètes (Haptène)- dont l'immunité manque; ils ont seulement l'antigénicité.

L'épitope c'est la partie d'un antigène reconnue par l'organisme comme non self. Il peut y avoir:

- des plusieurs épitopes différents - par rapport à l'Ag synthétisent la même quantité de AC différents,

- ou des épitopes répétitifs (identiques).

Le paratope c'est la partie complémentaire de l'effectuer immunitaire.

La position des épitopes c'est essentiel pour leur reconnaissance par les lymphocytes T ou B.

Des épitopes qui seront reconnus par les anticorps ou **lymphocytes B** sont des **proéminences de certaines molécules accroupies à la surface de l'antigène** et elles s'appellent *les épitopes structural* ou **les épitopes B**. Ces épitopes ne sont antigéniques que dans l'état natif, la dénaturation de la protéine modifie l'apparence de ces épitopes.

Les lymphocytes T reconnaissent seulement les épitopes situés à l'intérieur de la molécule d'antigène, qui sont des peptides courts (8-10 acides aminés). Ces épitopes linéaires sont appelés

épitopes séquentiels ou épitopes T. Ils sont reconnus par les lymphocytes T seulement après la digestion de l'antigène par les macrophages et après ils arrivent à la surface d'antigène.

Le L_B reconnaît l'épitope comme une partie de la molécule intacte d'Ag, reconnaît **la haptène**. **Le L_T voit** son épitope correspondant, seulement après la décomposition de la molécule et **reconnaît la partie cachée du transporteur (porteur)**.

Les antigènes sont classés comme :

- **thymo-dépendants** qui stimulent le système immunitaire (les lymphocytes T) après leur transformation à l'intérieur des macrophages ; ils sont de nature protéique,
- **thymo-indépendants** qui stimulent directement les lymphocytes B, à l'état natif, sans l'intervention des lymphocytes T; sont de nature polysaccharidique, avec des épitopes répétitifs.

Il y a beaucoup de facteurs qui influencent l'immunogénicité : la nature chimique (protéines, polysaccharides, lipides), le poids moléculaire plus de 10.000, la stabilité de la molécule, la dose, le rythme d'administration, la voie d'administration, le calendrier des vaccinations, le couplage avec un adjuvant.

Après l'origine des antigènes, il y a :

- **des antigènes allogéniques**, provenant d'individus de la même espèce et qui divisent l'espèce dans des groupes. Un exemple de ces antigènes sont les antigènes érythrocytaires qui déterminent les groupes sanguins,
- **auto-antigènes** qui sont des substances propres au corps, qui ont été modifiés et ne sont plus reconnus comme «self» par le système immunitaire,
- **les antigènes xénogéniques** sont des antigènes provenant d'une autre espèce. Ce type d'antigènes sont très importants dans la pathologie humaine; sont les antigènes microbiens.

Les antigènes d'histocompatibilité (MHC ou HLA) représentent un groupe de gènes d'histocompatibilité - complexe MHC, qui encode la membrane glycoprotéique contre laquelle se dirige la réponse immunitaire (RI). Sont considérés la cause du rejet de greffe.

- MHC I (avec les domaines : $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3, \beta 1$) – localisé sur toutes les cellules nucléées (absente sur les hématocytes),
- MHC II (avec les domaines: $\alpha 1, \alpha 2, \beta 1, \beta 2$) – localisé seulement sur CPA (sur les macrophages),

Pour MHC I et MHC II - la reconnaissance d'Ag par L_T , est initiée donc par le RI – être la base de la résistance anti-infectieuse acquise. MHC I et MHC II sont responsables de la restriction immunologique.

L_T reconnaissent les Ag étrangères seulement si elles sont associées avec la MHC:

- ♦ **L_{Tf} facilitateur (L_{Th-CD4}) reconnaissent les antigènes seulement en association avec le MHC_{II}** ; les Ag seront présentées au L_{Th} seulement sur les macrophages et le L_B (la base de la restriction immunologique),
- ♦ **L_{Tc} cytotoxique (L_{Tc-CD8}) reconnaissent les antigènes de surface seulement en association avec le MHC_I** . Elles chassent les cellules de l'organisme qui devient non-self par: la modification de la structure antigénique de surface, la pénétration d'un virus, dans le cas des microorganismes intracellulaire, ou de la transformation tumorale.

Les antigènes bactériens sont:

- des antigènes capsulaires (chez *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella*, *Bacillus anthracis*, l'antigène Vi du bacille typhique, l'antigène K de bacille *E. coli* enteropato­gen, ou *Klebsiella*, etc.)
- les antigènes du paroi (l'antigène O provenant de la paroi des bactéries à gram-négatif, la protéine M du streptocoque du group A),
- exoenzymes (les hemolysines sécrétée par le *Staphylococcus aureus*, les fibrinolysines de streptocoque beta-hemolitique de grup A etc.),
- les exotoxines (difterique, tetanique, diférantes enterotoxines etc.).

La réponse immunitaire est donc en fonction de l'habitat bactérien (extra ou intracellulaire).

Les super antigènes sont des antigènes qui stimulent de manière dramatique, incontrôlable, la prolifération des LT, qui ont dans la structure de leur récepteur pour antigènes certaines spécifications v β , sans se soumettre à la restriction MHC. Il ne se lie pas à la TCR, mais à côté de TCR et des molécules MHC de CPA (par exemple : **les toxines bactériennes** comme les entérotoxines staphylococciques, la toxine staphylococcique du choc toxique, etc.). Elles ne provoquent pas une réponse adaptative, mais une activation massive des cytokines avec de la fièvre, hipertoxicité systémique, immunosuppression et chocs. Elles ne nécessitent pas un traitement dans les macrophages.

10. LES ORGANES DU SYSTEME IMMUNITAIRE ET LES CELLULES IMPLIQUES DANS LA REPONSE IMMUNITAIRE

L'immunité acquise est créée par les organes du système immunitaire. Ces organes consistent du tissu lymphoïde qui contient des cellules réticulaires (c'est la charpente du tissu) et des lymphocytes. Les principales cellules fonctionnelles sont les T- et B-lymphocytes et leurs sous-populations.

Le nombre total des lymphocytes chez l'homme est 10^{12} (dix puissance douze). La masse totale du tissu lymphoïde fait 1-2% de la masse du corps. Les organes lymphoïdes du système immunitaire sont divisés en centraux et périphériques.

10.1. LES ORGANES CENTRAUX

1). **Le thymus.** Les cellules du tronc lymphoïdes y arrivent de la moelle osseuse. Dans le thymus elles se transforment en thymocytes puis en T-lymphocytes qui sont transportés à la lymphe et au sang. Le thymus qui est une glande synthétise aussi des lymphocytokines comme la thymosine et la thymopoïétine. Ceux-ci régularisent la maturation et la différenciation des T-lymphocytes en T- facilitateur (T-helpers LTh), T-supresseurs (LTs), T-effecteurs (T cytotoxiques -LTc). L'absence innée du thymus, son développement inachevé ou son ablation aboutissent à un déficit immunitaire grave ou à la mort de l'organisme.

2) **La moelle osseuse.** Ses cellules sont les précurseurs des T- et B-lymphocytes. Les précurseurs des T-lymphocytes arrivent au thymus. Les précurseurs des B-lymphocytes se transforment dans la moelle osseuse en B-lymphocytes qui passent dans le sang et puis dans les organes périphériques. Les organes périphériques immuns contiennent les cellules immunocompétentes-les immunocytes ou les T- et B-lymphocytes, qui réalisent elles-mêmes les réactions de l'immunité cellulaire et humorale.

10.2. LES ORGANES PERIPHERIQUES

Les organes périphériques sont: la rate, les nœuds lymphatiques, les agglomérations (les îlots) du tissu lymphoïde dispersées partout dans le corps : dans la muqueuse de l'intestin grêle (les plaques de Peyer), dans les amygdales palatines, dans l'appendice etc. Le sang est aussi un organe périphérique du tissu lymphoïde qui contient les T- et B-lymphocytes. Les lymphocytes sont les cellules principales de l'immunité humorale et tissulaire. Les B-lymphocytes ont une surface granuleuse. La membrane de ces cellules contient les molécules transmembranaires des immunoglobulines de la classe IgM et IgD. Ces Ig jouent le rôle des récepteurs de l'antigène. Après l'interaction de ces Ig et des antigènes modifiés se passent l'activation et la blaste-transformation des B-lymphocytes en plasmocytes synthésant et sécrétant des anticorps.

Le ganglion lymphatique a le rôle de filtre pour les antigènes entrés par voie lymphatique et qui seront prises par la CPA. Sous la capsule de ganglion lymphatique se trouve le sinus sous-capsulaire, bordée de macrophages. Les lymphocytes et antigènes arrivent ici par les vaisseaux lymphatiques associés. Chaque nœud possède sa propre vascularisation. Les lymphocytes

circulants entre dans le ganglion par les veinules de la zone paracorticale et quitte le ganglion par la VLE (les vaisseaux lymphatiques efférents). Pour revenir dans la circulation il doit traverser toute la circulation lymphatique jusqu'à la veine sous-clavière. La zone paracorticale contient LT en contact avec le CPA. La zone corticale contient le LB organisés dans des follicules lymphoïdes, qui ont des centres germinatifs. La zone médullaire contient LT, LB et des plasmocytes disposés en forme de cordons médullaires, ainsi que les macrophages. Quand la lymphe passe des vaisseaux lymphatiques afférents (VLA) aux vaisseaux lymphatiques efférents (VLE), les antigènes sont phagocytés par les macrophages situés dans la zone médullaire.

La rate a le rôle de filtre pour les antigènes entrés par voie sanguine, qu'ils seront pris par le CPA. La rate a la pulpe rouge, impliquée dans la destruction des hématies affectées par le vieillissement et la pulpe blanche, le tissu lymphoïde de la rate. C'est organisé sous la forme de zones lymphoïdes péri artériolaires autour de l'artériole centrale. Dans la zone adjacente à la artériole se trouvent les LT, autour de cette zone sont les LB sous forme de follicules primaires et germinatifs. Dans la zone marginale des follicules se trouvent les macrophages et les cellules dendritiques. La rate manque de drainage lymphatique, les lymphocytes entrent et sortent de la rate par les capillaires de l'artériole centrale.

Le MALT et l'importance de MALT : les muqueuses représentent une vaste zone vulnérable à la colonisation et à l'invasion par divers microorganismes. Le total des IgA sécrétées localisées sur les muqueuses dépasse la concentration IgG sérique. Les antigènes localisés sur la surface des muqueuses sont séparés de l'environnement interne à travers la barrière épithéliale. Pour produire une réponse immunitaire, les antigènes doivent traverser l'épithélium de la muqueuse et être pris et traités par les cellules avec des antigènes. MALT protège les muqueuses de la colonisation par des agents infectieux. C'est l'organe cible de recherche pour la production des vaccins. Influence l'immunité systémique et bloque la sensibilisation allergique.

Le nombre de cellules du MALT dépasse largement le nombre total de cellules de la moelle osseuse, du thymus, la rate et les ganglions lymphatiques.

Le MALT est constitué par le tissu lymphoïde attaché aux muqueuses gastrointestinales (GALT), respiratoire (BALT) et urogénitale et représente la principale barrière anti-infectieuse contre les microorganismes qui entrent par voie digestive, respiratoire ou génito-urinaire.

BALT est composé par des follicules et d'autres agrégats lymphocytaires arrangés dans le système bronchique, en particulier au niveau des bifurcations des bronches. BALT a un réseau de capillaires, artérioles, veinules, avec un rôle de filtre pour l'Ag qui arrivent ici par voie respiratoire ou circulatoire.

GALT comprend des plaques de Peyer intestinales et des lymphocytes intra-épithéliaux. Les cellules M ou Owen sont situées vers la lumière intestinale, en forme de fer à cheval avec la concavité vers les plaques de Peyer et sont spécialisées dans les présentations des antigènes dans l'intestin.

Le sort de l'agent infectieux dépend de la porte d'entrée:

- directement dans la circulation – va atteindre la rate où ils déclencheront une réponse immunitaire,

- s'il traverse la peau (traumatisme, iatrogène, insectes) - sera transportés du site de l'inflammation par la lymphe vers les ganglions lymphatiques régionaux, qui serviront de siège de la réponse immunitaire,

- s'il traverse le tube digestif ou la muqueuse respiratoire il va arriver dans le tissu lymphoïde attaché aux muqueuses (MALT), où il va se produire aussi la réponse immunitaire. Certains lymphocytes impliqués dans la réponse immunitaire vont migrer vers d'autres organes lymphoïdes, telles que l'information antigénique perçue par le MALT va atteindre tout

l'organisme. De la part des organes lymphoïdes une partie des lymphocytes vont se retourner au MALT. C'est l'homing immunitaire.

10.3. LES CELLULES IMPLIQUES DANS LA REPONSE IMMUNITAIRE

1. Variétés des T-lymphocytes: Les Lymphocytes T impliqués dans la réponse immunitaire représente 69-80% des lymphocytes courants. Les sous populations ont été décrites:

- Lymphocytes Th (helpers en anglais) ou T- facilitateur reçoivent du macrophage l'antigène modifié, le transmettent en β -lymphocytes et secrètent aussi la cytokine-interleukine-2 (IL-2). Ce dernier stimule la prolifération des clones choisis des β -lymphocytes (dans le développement d'une réponse immunitaire humorale d'anticorps), des T-tueurs (killers en anglais) (pour obtenir une réponse cellulaire) et T-suppresseurs. Le marqueur de surface de lymphocyte Th est une molécule CD4+.
- Lymphocytes T-suppresseurs (Ts) sont les antagonistes des T-helpers qui bloquent l'immunité cellulaire et humorale. Les T-suppresseurs et T-helpers sont les lymphocytes régulateurs. Les T-suppresseurs limitent l'expansion clonale des lymphocytes B et T et stimulent antigeniquement en participant à la gradation de la réponse immunitaire (CD8).
- Lymphocytes T- cytotoxique (LTc) - stimulés par des antigènes qui sont exprimés à la surface de la cellule hôte, par exemple, les cellules infectées avec des virus, des microbes à l'habitat intracellulaire ou des cellules tumorales dont le système immunitaire ne le reconnaisse comme self. Le marqueur de surface est toujours CD8+.
- Lymphocytes Tdh (helpers –delay) ont sur leur surface un marqueur CD4+ qui est responsable de la production d'hypersensibilité retardée. Ils secrètent après une stimulation antigénique des lymphokines qui activent les macrophages qui abri les bactéries à l'habitat volontaire ou obligatoire intracellulaire.
- On trouve les tueurs naturels-[NK-cells (en anglais).] dans l'organisme non-immunisé. Ils détruisent les cellules tumorales et transplantées indépendamment du complément et des anticorps.

Enfin, il faut dire quelques mots sur les macrophages. Dans la moelle osseuse les cellules-souches se transforment en monocytes arrivant dans le sang et puis dans les tissus où ils deviennent les macrophages tissulaires. Les monocytes et les macrophages ont plusieurs fonctions dont la principale est de phagocyter les cellules étrangères, les bactéries, les virus ainsi que les cellules vieilles de l'organisme propre. Le macrophage attrape l'antigène étranger par l'endocytose, l'inclut dans un phagosome puis dans un phagolysosome. Dans le phagolysosome l'antigène est partiellement détruit avec l'aide des enzymes lysosomales et des formes actives de l'oxygène. Ici la déterminante antigénique est conservée.

L'étape suivante est la fixation de l'antigène modifié par les protéines du complexe majeure d'histocompatibilité (MHC II) et sa transmission aux récepteurs transmembranaires du LT-helper. Ces récepteurs ressemblent aux immunoglobulines. Le LT-helper transmet l'antigène aux récepteurs des B-lymphocytes. En outre, le macrophage secrète l'interleukine-1 (IL-1) qui active les LT-helpers.

2. Les cellules présentatrices d'antigène (CPA) processe et présente l'antigènes au lymphocytes LTh et sont représentés par : les macrophages professionnels: cellule Langerhans dans peaux, cellules dendritiques dans les ganglions lymphatiques et la rate, monocytes, macrophages

alvéolaire, cellules Kupfer, la microglie, les ostéoclastes, les cellule mésangiale rénale. Sont présente sur la surface le MHC II.

3. Les lymphocytes B représente 2-12% des lymphocytes circulants. Elles ont sur leur surface le marqueur CD19 et les antigènes MHC de II-ème classe. Quand le LB est correspondant stimulé par le LT-helper, ou plus rare par des antigènes tymoindépendentes, il commence se diviser en se tournant dans des lymphoblastes qui donnent naissance aux plasmoblastes, et puis aux plasmocytes. Toutes les cellules provenant d'un seule LB appartient à un seul clone cellulaire, qui produit des millions d'anticorps identiques qui seront libérés dans l'environnement interne. Sur la surface des LB se trouvent BCR, qui est l'anticorps qui permet aux cellules B de reconnaître l'Ag spécifique et dont le LB le produit.

Les plusieurs LB sont sur contrôle direct de LT -helper qui stimulent leur travail et les LT - suppresseur qui le déprime. Il y a aussi des lymphocytes timoindépendente qui ne nécessitent pas la coopération avec les lymphocytes T régulateurs, qui sont stimulés directement par l'antigène. Après la stimulation antigénique, les cellules se différenciées dans des plasmocytes sécrétant des anticorps. Aussi ils sont aussi différenciés dans le LB avec mémoire, qui sont des cellules avec une vie longue, étant en charge d'une réponse humorale rapide à un stimulation supplémentaire avec le même antigène.

11. LES ANTICORPS

Structure, classes, fonctions

Les anticorps sont des protéines sériques qui migrent dans le champ électrique avec des gamma globulines, mais aussi présents aussi dans d'autres fluides corporels ou des sécrétions, avec une structure capable d'assurer une fixation ferme et spécifique de l'antigène.

Les Ig humaines forment l'ensemble des protéines du sérum sanguin et protéines secrétées dans le lait et la salive. En tant qu'anticorps, elles sont capables de réagir à la manière spécifique avec l'antigène ou l'haptène. Une partie d'Ig est intégrée dans les membranes de certaines cellules (T- et B-lymphocytes). L'ancien terme d'Ig- les γ -globulines est dû à leur faible mobilité en électrophorèse. Les albumines du sérum ont la mobilité la plus importante.

11.1. LA STRUCTURE DES IMMUNOGLOBULINES

Ce sont des protéines complexes, oligomères, quaternaire structure en domaines, glycoprotéines. Chaque Ig consiste de protomères. Ils sont des molécules bifonctionnelles: avec Fab – site de reliure avec l'Ag et Fc – site cytofile (pour PMN, macrophages) avec des effets biologiques secondaires. Il existe deux (2) espèces principales des protomères : La chaîne lourde-H (heavy en anglais); La chaîne légère-L (light en anglais); Concernant les types des chaînes, il y a:

- a) des modifications des chaînes lourdes (H): $\gamma, \mu, \alpha, \epsilon, \delta$;
- b) des modifications des chaînes légères (L): λ, κ .

Ça fait 7 (sept) types des chaînes. Les types des chaînes polypeptidiques se différencient par leurs C-terminales, par leur structure primaire.

Le Paratope est le site d'interaction avec l'épitope des antigènes, formé des régions hypervariables et variables des chaînes H et L. Chaque immunoglobuline contient deux paratopes identiques situées dans la région hypervariable des chaînes H et L. L'anticorps est bivalent, avec 1 région variable VH et 1 VL, 3 régions constantes C1, C2, C3 H et 1 région CL.

Ces régions sont stabilisées par des ponts disulfures intercaténaires et sont appelés domaines. Des domaines CH2 s'attache les chaînes oligosaccharidiques.

La région charnière – est un segment de la chaîne lourde située entre CH1 et CH2 et elle change l'angle entre Fab et Fc, après la liaison des anticorps à l'antigène. Comme ça, Fab est perpendiculaire sur Fc, l'image tridimensionnelle des immunoglobulines rappelant la lettre T. Le fragment Fc, situé à l'extrémité -COOH de la molécule, porte:

- **des sites cytofiles** (que certaines immunoglobulines peuvent être fixées par certaines cellules comme, par exemple, des neutrophiles, des macrophages, des cellules basophiles),
- **des sites de fixation du complément,**
- **des marqueurs** isotopique et altopique des chaînes H.

Lors de l'association des anticorps avec l'antigène, cet angle change, la molécule prenant une forme d'Y. Par ce changement se découvre le site de combinaison Fc avec le facteur C1q du complément et se déclenche son activation par voie classique.

11.2. CLASSES DES IMMUNOGLOBULINES

Il existe 5 (cinq) classes des Ig (Ig G, IgM, IgA, IgD, IgE). Chaque classe est définie par le type de la chaîne lourde. La partie de la molécule située du côté N-terminal est dite « variable ». Sa taille est environ 100 de 200 des acides aminés pour la L-chaîne et environ 100 de 450 des acides aminés pour la H- chaîne. La partie variable permet la liaison spécifique avec l'antigène (le microbe).

Les chaînes légères (λ , γ) sont distribuées de façon égale dans des différentes classes des Ig. Formule générale des Ig est $(L_2H_2)_n$ où $n=1-5$.

Chaque domaine (VH, VL, CH1, etc.) est fourni par la liaison disulfidique.

Les Immunoglobulines G – représente 70% - 80% de les Ig sériques. La concentration normale est atteinte à l'âge de 5-8 années, 8-16 mg/ml. Ils représentent des opsonines spécifiques, ont des récepteurs pour le complément et le PMN, favorisent l'incorporation des bactéries par PMN, améliorent la phagocytose, activent le complément par voie classique. La classe d'IgG comprend, outre anticorps opsonisant et anticorps neutralisants (antitoxines), précipitants (des précipitines) et agglutinants (des agglutinines).

Les IgG traversent le placenta de la mère au fœtus, en fournissant la résistance anti-infectieuse des nourrissons pendant les premiers mois après la naissance.

Les Immunoglobulines A: dans le sérum existent comme monomère - fixent pas le complément, réagissent avec des antigènes dans le sang. Les antigènes dans le tube digestif, qui ont pénétré à travers la barrière intestinale et sont arrivés dans le sang sont fixés de l'IgA et éliminés par le foie.

Extravasculaire il y a sur forme de dimère - IgA sécrétoire (S-IgA) – dans les sécrétions des épithéliums (larmes, salive, mucus bronchique etc.) et à la surface des muqueuses.

S - IgA est constitué de 2 molécules d'IgA, liées par une chaîne glycolipidique J (join) et un composant sécrétoire polypeptidique (CS). Le composant sécrétoire s'ajoute au dimère dans les cellules épithéliales et facilite le transport des IgA par l'épithélium et sa sécrétion dans la salive, les larmes, le lait et protège les S-IgA de l'action des enzymes digestives.

Les IgA fixent les bactéries et les virus par le Fab en formant des complexes immuns et empêchant ainsi la fixation de ces agents infectieux et des cellules épithéliales de la muqueuse. Cette «neutralisation» est la fonction anti-infectieuse la plus importante de S -IgA sur les muqueuses.

La concentration normale de S- IgA est atteinte à l'âge de 10-11 années, ce qui explique la fréquence des infections respiratoires chez les enfants.

Les Immunoglobulines M se présentent sur la forme d'une grande structure (IgM-macroglobuline) pentamérique avec une masse moléculaire de 900.000 Da. Les cinq monomères IgM sont liés entre eux par une chaîne J. A cause de masse moléculaire, IgM ne passe pas par le placenta. Représentent 6-7% du total des immunoglobulines sériques. La concentration normale est atteinte à l'âge de 1 année. Le temps de demi-vie est 6 jours.

Dans le cadre de la réponse immunitaire, IgM c'est la classe d'anticorps qui représente la réponse primaire. La présence des anticorps IgM à un agent infectieux particulier indique une infection aiguë, récente. Une grande partie des « anticorps naturels », comme les isoagglutinines de groupe (anti-A, anti B), sont IgM.

Les IgM possèdent 10 sites de combinaison, avec une configuration qui permet la liaison préférentielle d'antigènes corpusculaires, et de microorganismes, provoquant leur agglutination. En

fixant le complément, on obtient en même temps une opsonisation des bactéries. Les IgM activent le complément par voie classique en favorisant la bactériolyse.

Les Immunoglobulines E ne fixe pas le complément. Se trouvent dans des petites quantités dans le sérum des sujets sains, et dans des concentrations grandes au sujets allergiques.

Sont des anticorps cytofils, qui lié par des Fc des récepteurs spécifiques à la surface des leucocytes basophiles et les mastocytaires. En contact avec l'antigène spécifique, a lieu la dégranulation de ces cellules avec la libération de médiateurs chimiques (histamine, sérotonine, leucotriènes, prostaglandines) responsable des manifestations allergiques de type anaphylactique I.

Les Immunoglobulines D sont des anticorps lie à la surface de la membrane cellulaire de 90% des lymphocytes B. Dans le sérum se trouvent seulement des traces. Le rôle exact de cette Ig n'est pas connu, mais on suppose qu'il est un récepteur pour les antigènes sur la surface des lymphocytes B.

ESPÈCES DES ANTICORPS:

1). Les anticorps parfaits des classes différentes ont une grande spécificité et une grande activité (affinité) à l'antigène et participent aux réactions de la défense immunitaire. A partir des IgG bivalents on peut obtenir de la façon artificielle les fragments tels que les F(ab)₂-fragments actifs bivalents et les Fab-fragments peu actifs univalents.

2). Les Fab-fragments sont proches des anticorps incomplets naturels, aussi univalents. Ils n'agrègent pas les molécules des antigènes, par conséquent leur complexe avec les antigènes est peu absorbé et mal détruit par les phagocytes.

3). Lors de l'immunisation par un microbe ou une molécule protéique qui possèdent plusieurs déterminantes antigéniques, lieu la formation des plasmocytes différents, dont chacun secrète un anticorps d'une seule classe (par exemple IgG) contre une seule déterminante antigénique. Les sérums du macroorganisme immunisé contiennent un mélange des anticorps polyclonaux représentant de différentes classes des Ig et aussi des anticorps contre différentes déterminantes antigéniques. A l'aide d'une technique expérimentale spéciale (la technologie hybridomiale) on peut séparer et multiplier un clone des plasmocytes et de leurs hybrides avec les cellules du myélome. Ces hybrides produisent des anticorps monoclonaux contre une déterminante antigénique. Ces anticorps sont utilisés pour la différenciation fine de différents antigènes (par exemple, pour les groupes sanguins ou les souches virales).

12. L'IMMUNITÉ HUMORALE ET CELLULAIRE

Les intervenants

I – L'antigène pénètre dans l'organisme

- **L'intervenant**

L'antigène est une substance capable de déclencher une réaction immunitaire, c'est-à-dire une réaction de défense de l'organisme contre une substance identifiée comme "étrangère".

La molécule antigénique possède constamment deux propriétés:

1. elle est reconnue comme spécifiquement étrangère par une structure complémentaire – le site anticorps;
2. elle est capable d'initier une réponse immunitaire, soit spontanément, c'est le cas de certaines grosses molécules où le motif antigénique – ou hapténique – est répétitif, soit après combinaison avec une protéine porteuse, c'est le cas de nombreuses petites molécules protéiques ou polysidiques.

- **L'action**

Le plus souvent dans le sang, mais également dans la peau (dermites de contact), ou dans les bronches et le tube digestif, l'antigène est immédiatement détecté parce qu'il est reconnu comme étranger.

C'est éventuellement le cas chez l'homme normal, d'une molécule virale ou bactérienne, d'une cellule (par exemple une hématie transfusée), d'une molécule médicamenteuse souvent petite, qui se fixe sur une protéine porteuse pour provoquer la réponse immunitaire.

Cette reconnaissance peut aussi en pathologie, relever d'une erreur du système immunitaire : c'est l'auto-immunité.

II – Le macrophage capte l'antigène et présente au lymphocyte T

- **L'intervenant**

Le macrophage est à la fois une cellule phagocytaire et immuno-compétente.

- C'est une cellule phagocytaire qui provient du monocyte sanguin après passage dans les tissus.
- C'est une cellule immuno-compétente dotée de récepteurs pour les immunoglobulines (portion Fc), le complément (fraction C₃) et l'antigène.

Le récepteur pour l'antigène est localisé à proximité de ce que l'on appelle le produit du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (=antigène HLA-DR).

- **L'action**

Le macrophage déclenche la réaction en captant l'antigène, en le rendant éventuellement davantage immunogène et en le présentant à un lymphocyte T; cette présentation n'est possible que s'il existe une stricte concordance entre les produits d'antigène MHC sur les deux cellules (ce qui s'observe bien sûr chez un même individu).

L'action des macrophages est favorisée par la sécrétion des médiateurs (sérotonine, bradykinine) par le polynucléaire basophile et le mastocyte qui vont favoriser le passage du monocyte à travers l'endothélium et la transformation en macrophage.

Le macrophage réinterviendra à la fin de la réaction immunitaire en éliminant l'antigène et la structure qui le supporte.

III – Le lymphocyte T reçoit l'antigène et s'active

- **L'intervenant**

Le lymphocyte T "mûr" constitue environ 70% de la population lymphocytaire circulant dans le sang. Il se distingue des autres lymphocytes par acquisition de certains récepteurs membranaires lors du passage dans le thymus. Les récepteurs sont distingués par des anticorps monoclonaux:

- T₃= porté par tous les lymphocytes T mûrs;
- T₁₁= correspond au récepteur pour les hématies de mouton, responsable du phénomène des "rosettes";
- T₄ ou T₈ =selon les classes de lymphocytes T.

- **L'action**

Dès la réception de l'antigène, le lymphocyte T est activé par deux signaux:
- l'interleukine 1 (récemment conée) produite par le macrophage;
- le contact direct entre l'antigène, le MHC et le complexe membranaire du lymphocyte T et se métamorphose en cellule immunologiquement active (phase de transformation immunoblastique, autrefois appelée transformation lymphoblastique).

Dès lors, le lymphocyte T va:

- soit sécréter les lymphokines;
- soit évoluer en lymphocyte facilitateur ou supprimeur ou cytotoxique;
- soit, peut être, évoluer en lymphocyte à mémoire.

IV – Le lymphocyte T activé produit des lymphokines

- **L'intervenant**

Les lymphokines sont des substances sécrétées par le lymphocyte T activé. Alors que le lymphocyte T est activé spécifiquement, elles ne sont pas spécifiques de l'antigène responsable de la réaction immunitaire.

Les lymphokines sont des polypeptides de faible poids moléculaire ; on connaît actuellement plus de cinquante parmi lesquelles l'interleukine 2, le MIF "Macrophage Inhibiting Factor", les CSF "Colony Stimulating Factor", le SRF "Skin Reactiv Factor", le BCGF "B Cell Growth Factor" et l'interféron.

Les lymphokines agissent sur le lymphocyte T, le lymphocyte B, le macrophage, le polynucléaire et la cellule souche médullaire.

- **L`action**

Aux divers temps successifs de la réaction immunitaire, les lymphokines vont:

- amplifier la réaction immunitaire par activation du lymphocyte T facilitateur (LTh);
- stimuler l`activation du lymphocyte B producteur des immunoglobulines;
- favoriser l`élimination de l`antigène par activation de toutes les cellules phagocytaires (production de cellules phagocytaires à partir de la cellule souche médullaire et augmentation de la perméabilité de l`endothélium vasculaire permettant le passage du polynucléaire et du macrophage jusqu`au site de la réaction).

V – Les lymphokines activent le lymphocyte T facilitateur (LTh) et le lymphocyte T suppresseur (LTs)

- **L`intervenant**

Les lymphocytes T qui n`ont pas reçu l`information antigénique initiale vont être activés par les lymphokines. Ainsi l`action des lymphokines permet de distinguer:

- le lymphocyte T facilitateur identifié par son marqueur membranaire T₄;
- le lymphocyte T suppresseur identifié par son marqueur membranaire T₈.

- **L`action**

Le lymphocyte facilitateur activé va déclencher puis amplifier la réponse immunitaire humorale en agissant sur le lymphocyte B

Le lymphocyte suppresseur activé va contrôler la réponse immunitaire notamment en l`inhibant après l`élimination de l`antigène.

VI – Le lymphocyte T facilitateur stimule le lymphocyte B qui devient plasmocyte

- **L`intervenant**

Le lymphocyte B constitue seulement 20% de la population lymphocytaire circulante dans le sang, mais il représente la majorité des lymphocytes des organes lymphoïdes.

Le lymphocyte B se distingue du lymphocyte T par l`absence des marqueurs membranaires T; en revanche il est doté de récepteurs pour la fraction Fc des immunoglobulines et la fraction C₃ du complément.

Le lymphocyte B synthétise des immunoglobulines qui possèdent toutes la même spécificité antigénique et qui, à l`état basal, sont insérées dans sa membrane plasmique.

- **L`action**

L`action du lymphocyte T facilitateur par l`intermédiaire des lymphokines (en particulier interleukine 2 et BCGF) provoque la transformation immunoblastique du lymphocyte B en plasmocyte.

A ce stade activé, les immunoglobulines ne sont plus fixées dans la membrane et sont excrétées par vacuolisation.

L`activité des immunoglobulines produites par le plasmocyte est spécifiquement dirigée contre l`antigène responsable de la réaction immunitaire.

VII – Les immunoglobulines sont libérées par le plasmocyte

- **L'intervenant**

Les immunoglobulines sont formées d'une combinaison unique ou multiple de deux chaînes légères et de chaînes lourdes de nature protéique:

- les chaînes légères sont de deux types, kappa ou lambda et une immunoglobuline synthétisée par un plasmocyte possède constamment soit deux chaînes kappa soit deux chaînes lambda;

- les chaînes lourdes sont de cinq types, gamma, alpha, mu, delta, et epsilon et définissent les cinq classes d'immunoglobulines, IgG, IgA, IgM, IgD et IgE.

Les fractions Fab correspondent au site antigénique et la portion Fc est destinée au récepteur membranaire des cellules immunocompétentes.

- **L'action**

La première pénétration de l'antigène dans l'organisme entraîne la stimulation du plasmocyte producteur d'IgM; c'est la réponse primaire dont le délai d'apparition est l'ordre de 48 heures.

Secondairement après 8 à 10 jours les IgG apparaissent dans le sang et les IgA dans les sécrétions muqueuses.

Les IgE interviennent dans l'immunité anti-parasitaire que dans les maladies d'hypersensibilité immédiate (allergie).

Les IgD ne semblent pas intervenir directement dans la réaction immunitaire.

VIII – Les immunoglobulines recouvrent l'antigène et sont captées par le macrophage

- **L'intervenant**

Les immunoglobulines spécifiques sont fixées sur l'antigène par leur site antigénique (fraction Fab).

La portion Fc libre est disponible pour être fixée par les cellules portant des récepteurs à immunoglobulines, en particulier les cellules phagocytaires.

Cette phase de recouvrement de l'antigène s'appelle l'opsonisation et les immunoglobulines sont alors désignées par le terme d'opsonines.

Pour la plupart des antigènes macromoléculaires ou cellulaires, le nombre d'immunoglobulines fixées sur l'antigène est de l'ordre de plusieurs centaines de milliers.

- **L'action**

Le macrophage, et en cas d'antigène bactérien, le polynucléaire neutrophile vont capter l'antigène grâce à leurs récepteurs pour les immunoglobulines (portion Fc).

La phagocytose de l'antigène puis sa destruction par les enzymes protéolytiques lysosomiaux peuvent alors débiter.

IX – Le complément se fixe sur le complexe formé par l'antigène et les immunoglobulines

- **L'intervenant**

Le complément est un ensemble de neuf sous-unités protéiques qui s'auto-active selon un phénomène du "tout ou rien" dès fixation de sa première sous-unité C1q sur le complexe antigène-anticorps.

Cette fixation-activation ne peut se déclencher que si le C1q se fixe simultanément sur deux molécules d'immunoglobulines présentes sur la surface de l'antigène.

- **L'action**

La molécule de complément fixée sur le complexe antigène-anticorps est captée par le récepteur C₃ présent sur la membrane plasmique du macrophage.

Cette captation supplémentaire de l'antigène permet d'intensifier l'activité phagocytaire du macrophage et le cas échéant du polynucléaire neutrophile.

Dans certains cas où l'antigène est porté par une cellule ou une bactérie, le complément peut être fortement activé au point de provoquer la lyse totale de la cellule porteuse.

X – Le lymphocyte T cytotoxique (LTc) et lymphocyte tueur (LK), armé des anticorps, éliminent l'antigène

- **L'intervenant**

Le lymphocyte T cytotoxique porte le récepteur membranaire de type T₈ et constitue peut-être une sous-population du lymphocyte T suppresseur.

Il a le pouvoir de reconnaître spécifiquement l'antigène quand il est porté par une cellule et dès lors de détruire la cellule porteuse.

Le lymphocyte tueur est un lymphocyte non T non B activé non spécifiquement par les lymphokines et qui se dote des immunoglobulines produites par le plasmocyte en les fixant par un récepteur membranaire.

- **L'action**

Le lymphocyte T cytotoxique et le lymphocyte tueur interviennent dans la destruction des cellules portant l'antigène responsable de la réaction immunitaire. C'est par exemple le cas des bactéries intracellulaires au cours de la tuberculose, des infections virales (type herpès, condylome...) et des phénomènes de rejet de greffe.

Dans le cas d'un antigène protéique circulant, comme un médicament, le lymphocyte T cytotoxique et le lymphocyte tueur n'interviennent pas.

De l'ensemble des événements des scènes VIII, IX et X résulte la destruction de l'antigène et finalement son élimination splénique ou hépatique.

XI – Le lymphocyte T suppresseur contrôle la réaction immunitaire

- **L'intervenant**

Le lymphocyte T suppresseur est caractérisé par la présence du récepteur membranaire T₈.

Sa production est spécifiquement activée par l'antigène responsable de la réaction immunitaire.

La fonction suppressive du lymphocyte T suppresseur se fait par l'intermédiaire d'un produit de sécrétion, le SIRS "Sérum Immune Response Seppressor".

- **L'action**

Le contrôle de la réponse immunitaire humorale et cellulaire exercée par le lymphocyte T suppresseur résulte :

- d'une diminution de l'activité du lymphocyte B et donc d'une réduction de la production d'immunoglobulines (en particulier IgG);
- d'une réduction de la production du lymphocyte T cytotoxique;
- d'une inhibition de la stimulation du macrophage (par inhibition du MIF).

XII – Le lymphocyte mémoire conserve l'information antigénique

- **L'intervenant**

Le lymphocyte "mémoire" est un lymphocyte à longue durée de vie : très probablement plusieurs années dans le sang circulant.

Vraisemblablement de famille des lymphocytes T, il est spécifique de l'antigène responsable de la réaction immunitaire.

- **L'action**

L'intervention éventuelle du lymphocyte "mémoire" est conditionnée par une nouvelle pénétration du même antigène dans l'organisme.

Le cas échéant, la réponse immunitaire sera considérablement accélérée se traduisant notamment par :

- une production plus précoce et plus abondante d'immunoglobines spécifiques d'emblée de type IgG;
- une activation amplifiée du lymphocyte T facilitateur, du lymphocyte T cytotoxique et des cellules phagocytaires, mais ceci est une autre histoire.

12.1. L'IMMUNITE A MEDIATION HUMORALE

Les anticorps sont des immunoglobulines ayant une structure faite de quatre chaînes parallèles (2 lourdes, 2 légères) liées entre elles, qui possèdent deux sites d'action. Le premier, Fab, correspond au site spécifique de reconnaissance de l'antigène; le second (Fc) permet la fixation des complexes antigène-anticorps, d'une part au composé C₁ du complément et, d'autre part, à la surface des phagocytes. Trois classes d'anticorps jouent un rôle important dans la défense de l'hôte contre une infection bactérienne: les immunoglobulines de type G (IgG) et M (IgM) et les immunoglobulines sécrétoires de type A (IgAs). Contrairement aux IgG, les IgM et les IgA (y compris les IgAs) sont des multimères: les IgM sont des pentamères et les IgA des dimères, les monomères de chacun de ces 2 types d'immunoglobulines étant attachés les uns aux autres de manière covalente, dans la région Fc, par la pièce J.

En réponse primaire, les anticorps synthétisés par les plasmocytes apparaissent dans le sang en 8 à 10 jours: ce sont d'abord et de façon quasi concomitante des IgM et des IgA, puis des

IgG. Les IgG et les IgM exercent leur action protectrice dans le sang et les tissus alors que les IgA sécrétoires protègent uniquement les muqueuses. L'immunité humorale est efficace vis-à-vis des bactéries invasives à multiplication extracellulaire, des bactéries toxigènes et des bactéries non invasives. En revanche, les bactéries à multiplication intracellulaire sont à l'abri des effecteurs de l'immunité humorale que sont les anticorps spécifiques; c'est la réponse immunitaire cellulaire qui intervient alors pour la résistance acquise. Deux types d'action sont à considérer: l'opsonisation et la neutralisation d'un facteur de pathogénicité.

L'opsonisation correspond à une facilitation de la phagocytose due à la présence de molécules d'immunoglobulines à la surface d'une bactérie (liaison entre le site Fab et un épitope), car tous les phagocytes portent à leur surface un récepteur pour le fragment Fc. Toutefois, toutes les immunoglobulines ne sont pas également "opsonisantes": cette propriété concerne essentiellement les IgG. Si la formation du complexe immun conduit à l'activation du complément (voie classique), les produits de clivage de la fraction C₃ (C_{3b}), trouvent également des récepteurs correspondants à la surface des phagocytes. En raison de leur structure, ce sont les IgM qui activent le mieux le système du complément (une molécule d'IgM, qui est pentamérique, suffit pour activer le composé C₁ alors que deux molécules d'IgG sont requises pour activer ce même composé). En revanche, les IgAs ne possèdent pas cette capacité.

La neutralisation d'un facteur bactérien de pathogénicité peut résulter de la fixation d'un anticorps sur une adhésine permettant à une bactérie de coloniser une muqueuse ou sur une toxine diffusible responsable des manifestations pathologiques de la maladie.

12.2. L'IMMUNITÉ À MÉDIATION CELLULAIRE

Elle dépend en premier lieu des lymphocytes T CD₄ qui, lors de la reconnaissance de l'antigène, vont produire un certain nombre de cytokines agissant sur différents effecteurs: monocytes sanguins, lymphocytes T CD₈, lymphocytes T CD₄, cellules NK (Natural Killer), etc. Parmi les effecteurs il faut individualiser les lymphocytes cytotoxiques T CD₈. Classiquement, ils ont été décrits pour leur capacité à détruire les cellules infectées par des virus. Néanmoins, récemment le rôle protecteur exercé par ces cellules a été démontré dans des modèles expérimentaux d'infections par des bactéries à multiplication intracellulaire (*Mycobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes*). Ces lymphocytes lysent les cellules macrophagiques infectées par ces bactéries.

Les cellules phagocytaires mononucléées (monocytes) représentent les autres effecteurs de la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Celles-ci sont attirées dans le foyer bactérien, puis elles sont activées, devenant alors capables de détruire des bactéries intracellulaires. Plusieurs molécules sont susceptibles d'activer ces effecteurs, parmi lesquelles l'interféron γ et le TNF α .

Le recrutement et l'activation de différents types cellulaires dans le tissu infecté aboutissent à la formation du "granulome immunologique", signe histologique majeur de la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Il assure la stérilisation du foyer et prévient toute dissémination bactérienne. L'intensité de la réponse cellulaire peut être telle qu'elle aboutit, parfois, à une nécrose tissulaire. C'est la persistance locale plus ou moins longue de l'antigène qui conditionne la persistance du granulome dans le tissu. La durée et l'intensité du granulome dépendent aussi du niveau et des mécanismes de régulation de la réponse immunitaire spécifique de l'hôte qui est sous contrôle génétique.

Par ailleurs, un état dit d'hypersensibilité retardée s'installe vis-à-vis du germe responsable et contribue à l'éliminer par une réaction inflammatoire locale. Ainsi, l'état d'hypersensibilité

retardée est défini comme une réaction inflammatoire induite par l'application d'un antigène dans un organisme ayant déjà développé une immunité de type cellulaire vis-à-vis de cet antigène. La réaction d'hypersensibilité retardée que l'on obtient en déposant dans le derme des bactéries tuées ou un extrait de celles-ci (cas de la tuberculine) sont équivalentes aux événements induits par la bactérie au sein du foyer infectieux initial. Il implique la reconnaissance spécifique de l'antigène introduit par des lymphocytes T producteurs de cytokines. Néanmoins, la durée de la réaction inflammatoire locale, née en général après injection d'un antigène soluble, même si elle apparaît de façon retardée (48-72 heures), est plus courte que la réaction granulomateuse décrite précédemment.

12.3. L'IMMUNITÉ PASSIVE

On peut obtenir une protection voisine de celle produite par des anticorps naturels en introduisant dans l'organisme des immunoglobulines, d'origine humaine ou animale, plus ou moins spécifiques d'un antigène bactérien donné. Dans le cas de la neutralisation on parlera alors d'antitoxine (par exemple antitoxine botulique).

12.4. LA DYNAMIQUE DE LA SYNTHÈSE DES ANTICORPS

Les enfants ne possèdent pas des propres Ig jusqu'à l'âge de 3-5 mois. Ils reçoivent les anticorps, qui les défendent contre les infections, avec le lait maternel ou à travers le placenta pendant la vie intra-utérine (période fœtale) - c'est l'immunité passive naturelle.

Le septième-quinzième (7-15) jour après la vaccination primaire ou l'infection il se forme des anticorps, leur maximum est enregistré en quinzième-trentième (15-30) jour.

Le réponse primaire: Les IgM se synthétisent les premières, puis- les IgG et plus tard toutes les autres Ig. La présence des IgM contre un agent infectieux peut témoigner de la phase aiguë de la maladie chez une personne humaine et de son danger épidémique probable.

Le réponse secondaire: à la deuxième introduction de l'antigène (du vaccin) ou à la recontamination (réinfection) le macroorganisme répond par une réaction immunitaire rapide: les B-lymphocytes-cellules de la mémoire immunologique dans un ou deux jours déjà secrètent les Ig surtout de la classe IgG. C'est pourquoi l'immunisation répétée des animaux permet d'avoir les sérums avec une grande concentration des anticorps. C'est la méthode de la préparation des sérums diagnostiques et thérapeutiques.

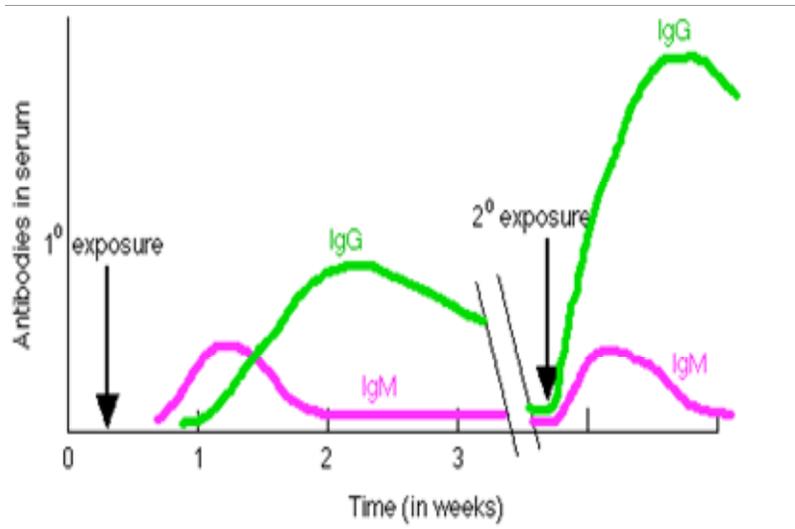


Figure 12.1. La dynamique de la synthèse des anticorps

13. REACTIONS IMMUNITAIRES PATHOGENES

Les réponses immunitaires qui se produisent d'une façon exagérée ou incorrecte correspondent à la hypersensibilité. Ces réactions sont appelées réactions allergiques, et l'Ag - allergènes.

Les réactions de hypersensibilisation se produisent chez les personnes sensibilisées au préalable par un contact antérieur avec l'Ag, donc ce sont des réactions secondaires.

La classification (Gell et Coombs):

- **type I** – les réactions anaphylactique médiée par anticorps IgE (reagines),
- **type II** - les réactions cytolytique-cytotoxique, médiée par des anticorps formés contre les antigènes de surface cellulaire, impliquant les cellules K (LK), le complément et les macrophages
- **type III** - les réactions médiée par des complexes immuns, avec la participation du complément
- **type IV** - les réactions médiée par des lymphocytes T sensibilisés.

13.1. LA HYPERSENSIBILITE DE TYPE I (DE TYPE ANAPHYLACTIQUE)

1. Se produit par le contact avec l'allergène au niveau respiratoire, digestif etc.: le pollen, les spores de moisissure (*Aspergillus*), la poussière de maison, poils d'animaux, aliments (le lait, les fraises, le chocolat, les noix, les œufs, les fruits de mer, etc.), sérums thérapeutiques, médicaments (pénicilline, salicylates), venin d'insectes (guêpes).

Après avoir passé la muqueuse, l'allergène est repris par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) qui le présente aux lymphocytes Th. LTh activées vont sécréter IL-4, IL-13 et IL-5. IL-4 et IL-13 vont agir sur les lymphocytes B qui se transforment en plasmocytes, qui va produire aux personnes atopiques des grandes quantités de IgE au lieu de IgM. IgE va se fixer avec le Fc de les mastocytes et des basophiles. IL - 5 va induire une éosinophilie.

2. L'activation des mastocytes est déclenchée par un nouveau contact avec l'allergène. L'allergène va se joindre avec les IgE fixées sur les mastocytes et il va conduire à une réaction croisée entre les deux molécules de IgE avec des interconnexions du récepteur Fc au niveau de la membrane irritée du mastocyte. La dégranulation se produit à la suite de l'afflux de Ca⁺⁺.

Après l'interaction entre l'IgE fixée sur le mastocyte et l'allergène, l'histamine, la sérotonine, l'acide arachidonique sont libérés par le mastocyte. L'acide arachidonique est métabolisé par la lipoxygénase, ou par la cyclooxygénase en produisant des nouvelles substances médiatrices.

Par la voie de lipoxygénase se produisent des leucotriènes, et par la voie de cyclooxygénase des prostaglandines et thromboxane.

3. Le déclenchement de la réaction anaphylactique

Sur la muqueuse respiratoire, les événements suivants se produisent :

- la histamine produira bronchoconstriction en quelques minutes
- l'invasion de la muqueuse par les granulocytes éosinophiles et les PMN, lymphocytes et thrombocytes.

- les médiateurs libérés produira bronchoconstriction, sécrétion de mucus, œdème de la muqueuse. Se traduira par l'inflammation asthmatique de la muqueuse respiratoire

Par voie parentérale, l'allergène (pénicilline) détermine une réaction systémique qui se manifeste par de l'urticaire, des phénomènes d'asphyxie, choc et collapsus circulatoire avec des résultats souvent mortelle. À petites doses produira la fièvre des foins et l'urticaire.

L'état d'hypersensibilité peuvent être détectés par le test intradermique. Quelques minutes après l'inoculation intradermique de petites doses d'allergènes chez les individus sensibilisés, apparaît une papule urticarienne entouré d'une auréole congestive accompagnée de prurit. Le phénomène disparaît au bout d'une heure. Le risque du choc anaphylactique exige au médecin qui fait le test avec des hautes dilutions d'antigène et être fournis avec les médicaments appropriés et anti-choc.

Le traitement consiste à l'adrénaline, des antihistaminiques (chlorphéniramine, claritin, kétotifène, peritol, romergan, acrius) des corticostéroïdes ou le cromoglycate de sodium (empêche la libération de médiateurs à partir des granules des mastocytes), en monothérapie ou en combinaison.

La prévention se réfère:

- à l'identification de l'allergène par les tests cutanés et l'évitement de l'allergènes.
- maintenance de la perméabilité des voies respiratoires et la fonction cardiaque.

13.2. LA HYPERSENSIBILITE DE TYPE II

Est due à des anticorps Ig G, plus rare au IgM, qui se forme dans le corps à partir des antigènes situés a la surface de cellules ou de tissus. Le mécanisme sont les suivants:

1. La liaison des anticorps aux cellules cibles avec l'activation du complément par voie classique avec la cytolysé ultérieure. Est retrouve dans:

- des réactions post-transfusionnelles: IgM réagir avec les antigènes du groupe ABO des érythrocytes, être responsable de l'agglutination, l'activation du complément sérique et une hémolyse intravasculaire.
- l'anémie hémolytique du nouveau-né: a cause d'une incompatibilité de Rh, est engendré par des anticorps maternels IgG qui reconnaissent les antigènes spécifiques Rh (la facteur D) de la surface des érythrocytes du nouveau-né.

La réaction de type II apparaît dans certaines infections, telles que, par exemple, dans les infections à streptocoques (cardite rhumatismale) dans lequel se synthétise des anticorps contre quelques antigènes streptococciques qui ont une certaine ressemblance avec un antigène present dans la fibre du myocarde. L'hypersensibilité cytotoxique-cytolytique se trouvé également dans d'infection avec des mycoplasmes, virus (hépatite B), protozoaires (paludisme).

2. La cytotoxicité à médiation cellulaire anticorps-dépendante: les IgG seront fixées par Fab aux antigènes viraux ou provenant d'autres pathogènes à habitat intracellulaire (champignons, bactéries) exprimés à la surface des cellules infectées, et par le fragment Fc aux récepteurs du Fc à la surface des lymphocytes tueurs (LK). Ils détruiront la cellule infectée en perforant la membrane cellulaire, grâce à un mécanisme similaire au complément.

13.3. LA HYPERSENSIBILITE DE TYPE III DES COMPLEXES IMMUNS

Sont initiées par les complexes immunitaires antigène-anticorps (IgM și IgG) qui sont formés dans des grandes quantités, ou persistantes dans la circulation et active le complément, causant des lésions au lieu de leur dépôt. Les antigènes qui induisent cette réaction sont: *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum*, *Plasmodium*, le virus d'hépatite B, Le virus Epstein Barr, etc.

Les complexes Ag-Ac pénètrent par l'épithélium vasculaire, se déposées sur la membrane basale des vaisseaux et active le complément. C3a et C5a, qui sont des anafilatoxines, vont augmenter la perméabilité vasculaire. C5a (la facteur chimiotactique) va déterminer l'afflux de PMN. L'activation du complément, la libération d'enzymes lysosomale des PMN va produire l'altération de la membrane basale.

La réaction de type Arthus, c'est une réaction locale des complexes immuns déclenchée après l'inoculation d'antigènes au niveau de la peau:

- **le poumon d'agriculteur** – par l'inhalation de la poussière provenant du foin moisi,
- chez le personnel impliqué dans la production de la fromage fermenté à moules (*Penicillium casei*).

La maladie sérique c'est une réaction de type III généralisée aux patients dont on a administré, en but thérapeutiques, des doses élevées du sérum immunitaire hétérologue (sérum anti-diptérie anti-tétanos préparés sur les chevaux). Après 7 à 10 jours, des anticorps contre les protéines du cheval se forment dans la circulation. Si les protéines n'ont pas été retirés de la circulation avant de l'apparition d'anticorps, ils se joindront à eux et les complexes immuns formés seront déposée sur les parois des vaisseaux. En activant le complément et par les enzymes lysosomales libérées par les PMN « frustrées » de ne pas pouvoir phagocyter les complexes immuns, les parois des vaisseaux vont être endommagées. Les symptômes cliniques sont constitués de: fièvre, éruption urticarienne, adénite généralisée, splénomégalie, enflure et douleurs articulaires, leucocytose avec neutrophilie et éosinophilie, la diminution du complément sérique et albuminurie.

13.4. LA HYPERSENSIBILITE DE TYPE IV MEDIATION CELLULAIRE

Est dépendant des lymphocytes T. C'est le résultat d'une interaction excessive entre un antigène et les mécanismes immunitaires cellulaires.

La stimulation des lymphocytes Th de type retard/delay (LTdh) est produite par des microorganismes avec habitat intracellulaire. LTdh sécrète des lymphokines qui vont activer les macrophages et vont attirer d'autres cellules au siège de l'inflammation. Les macrophages activés sécrètent des médiateurs biologiquement actifs, les cytokines, radicaux libres de l'oxygène, les enzymes lysosomales avec puissante activité microbicide. Les réactions jouer un rôle dans la défense contre les infection chronique avec des bactéries intracellulaires (tuberculose, la lèpre, la brucellose, etc.).

Si ces mécanismes ne parviennent pas à éliminer le micro-organisme, les Ag persistantes vont provoquer une réaction d'hypersensibilité chronique locale.

Les LTdh sensibilisé vont continuellement libérer **des lymphokins** qui provoque l'accumulation et l'activation dans le foyer inflammatoire d'un grand nombre de macrophages non infectés, dont une partie sont convertie dans des cellules épithélioïdes, et les autres vont fusionner

pour former des cellules géantes. Les lésions tissulaires se produisent due à la cytotoxicité non-discriminatoire des macrophages activés. Si la stimulation antigénique continue, l'évolution se fait vers la réaction granulomateuse.

L'allergie de contact (eczéma de contact): le phénomène a été décrit à la fois chez les humains et les animaux, l'apparition de l'eczéma est causé par un contact direct de l'antigène avec la peau, donnant des réactions avec un maximum d'intensité de 2-3 jours.

- les antigènes les plus courants causant l'eczéma de contact sont des haptènes tels que le nickel, le caoutchouc etc. Les petites molécules hapténiques sont capables de pénétrer dans la peau en se fixant au niveau des protéines normales de l'organisme. Les complexes formés sont antigéniques et seront pris par les cellules Langerhans et présentés aux lymphocytes T.
- les cellules Langerhans sont disposées sous la forme de réseaux tégumentaire. Elles portent de MHC de la II-ème classe et portant les antigènes au niveau de la peau, par voie circulatoire aux ganglions lymphatiques régionaux. Le complexe formé par l'haptène et les MHC de II-ème classe est reçu par les lymphocytes T_H. Les lymphokines libérées causent l'apparition de l'infiltrat cellulaire mononucléaire après 15 heures au maximum. L'infiltration est accompagnée d'un gonflement des tissus épithéliaux avec la formation de petites vésicules. L'extension de l'inflammation eczémateuse est généralement limitée à la zone de peau exposée à la haptènes.

Le granulome immunitaire typique (de la tuberculose) dispose d'un centre composé de cellules épithélioïdes, des macrophages et des cellules géantes. Le centre de granulome peut être partiellement nécrosé. Le noyau central est entouré par un anneau de lymphocytes et fibroblastes, et par suite d'une synthèse augmentée de collagène, le granulome devient fibreux.

Le Test de réactivité à médiation cellulaire (Intradermoreaction)

La plupart des gens répondent avec des réactions de type tardifs à l'inoculation intradermique d'antigènes de *Candida*, de tuberculine etc. La réponse négative à l'inoculation de ces antigènes indique un manque de réactivité à médiation cellulaire. Une réaction exagérée désigne une hypersensibilité à l'antigène utilisé. La réaction la plus utilisée est la réaction Mantoux de tester la réactivité à la tuberculine. Se réalise dans les écoles:

- pour détecter les enfants qui ne sont pas sensibilisés aux bacilles tuberculeux pour être vaccinés,
- pour les personnes vaccinés et hypersensibilisés, pour être recherchés s'ils ont développé une infection tuberculeuse.

L'hypersensibilité retardé à médiation des lymphocytes Tc-cytotoxiques:

Les lymphocytes T_C (CD8) sont eux-mêmes cytotoxiques après la stimulation antigénique et interaction avec L_TH (CD4). Ces cellules ont un effet cytotoxique direct sur les cellules cibles par des lymphokines qu'elles sécrètent. L_TC sont stimulés par les antigènes présents à la surface des cellules que le corps ne les reconnaît pas comme "self", comme les cellules infectées avec des virus, les cellules tumorales ou les tissus transplantés. Des lymphokines sécrétées par les L_T cytotoxique la plus importante est la perforine qui ressemble avec la fraction C9 du complément. Comme ceci, elle se insère sur la membrane de la cellule cible, polymérise et forment des canaux transmembranaires qui permettent l'entrée de sodium et donc la lyse cellulaire. Les L_TC sont protégés de l'activité de la perforine par une substance appelée protectine. L_TC joue un rôle crucial dans le rejet des tissus et des organes.

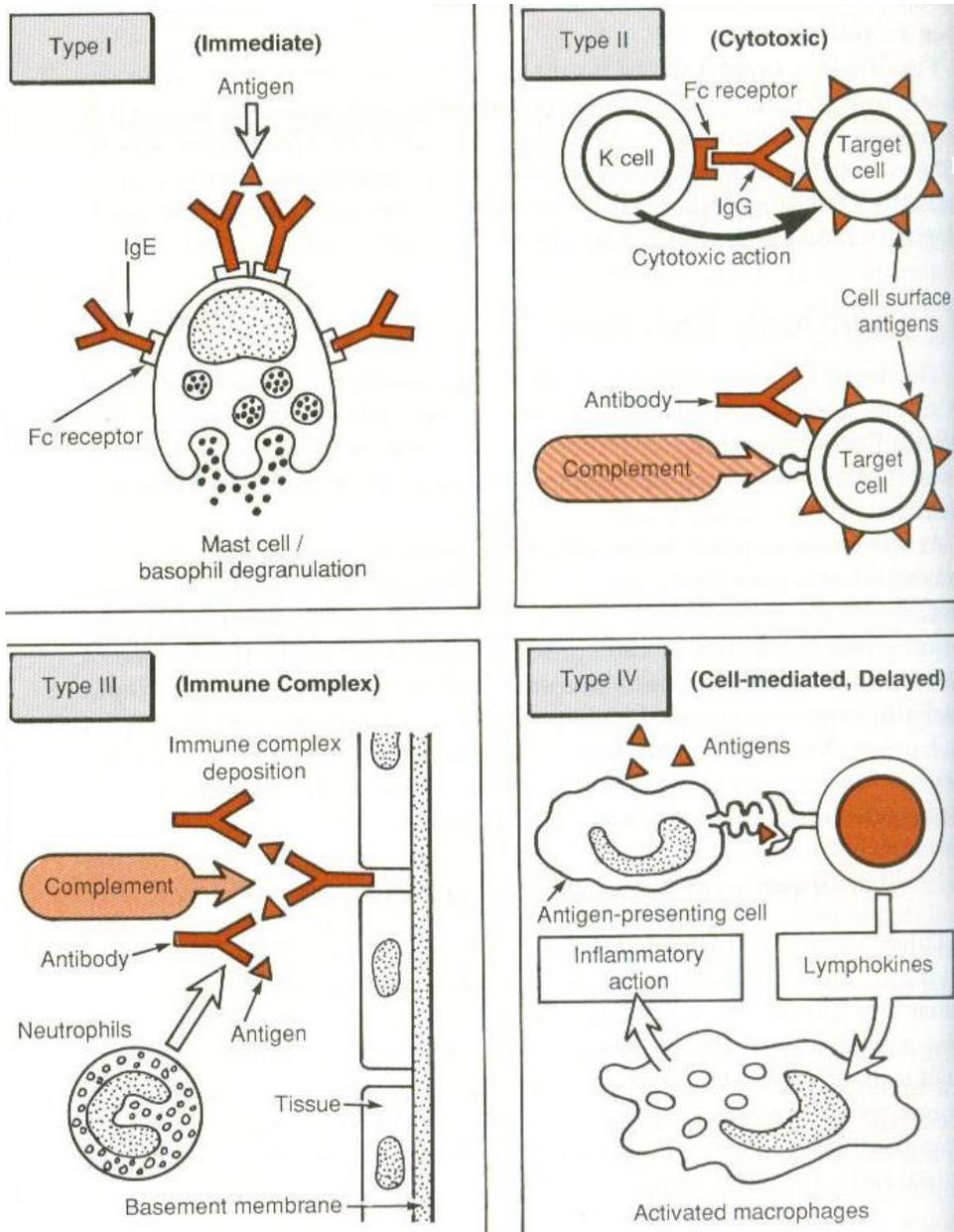


Figure 13.1. Les réactions immunitaire pathogènes

14. LES ORIGINES DE L'INFECTION

14.1. SOURCES D'INFECTION

Les sources de l'infection sont liées au statut de pathogène spécifique ou occasionnel et à l'écologie de la bactérie. La transmission des bactéries pathogènes spécifiques est essentiellement liée à la présence d'un individu contagieux. Le sujet contagieux n'est pas uniformément source de contamination pendant la durée de la maladie.

La contagiosité est maximale pendant la phase visible de la maladie mais peut être nulle pendant la période d'incubation comme elle peut rester forte après la guérison clinique. Dans ce dernier cas, le statut du malade change, il devient "porteur sain".

Le sujet "porteur de germes" (sous-entendu pathogènes spécifiques) devient alors un réservoir disséminateur d'autant plus dangereux qu'il est méconnu : le porteur de *Salmonella typhi* peut disséminer pendant des mois la bactérie dans les eaux, souiller les aliments et être au centre d'une véritable épidémie de fièvre typhoïde. Dans certains cas, le portage pourra se faire sans passage par une infection explicite, la maladie restant infraclinique.

La transmission des bactéries pathogènes opportunistes met en cause non seulement le processus envisagé plus haut, mais aussi les flores normales de l'organisme ou celles présentes dans l'environnement. Ces bactéries expriment un pouvoir pathogène lorsque les circonstances leur sont favorables. En milieu hospitalier la présence de porteurs sains des pathogènes opportunistes parmi le personnel soignant (médecins, infirmières, etc.) amplifie le risque infectieux.

Pour chaque voie possible d'infection, l'organisme possède des défenses qui limitent l'implantation bactérienne et peuvent éventuellement éviter l'infection.

Tableau 14.1. Les "voies de contamination" schématisent le processus d'introduction de la bactérie dans l'organisme

Voie de contamination	Exemples
Orale/digestive	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
Respiratoire (particules, aérosols)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Legionella pneumophila</i>
Muqueuse	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Transcutanée	<i>Brucella melitensis</i> , <i>Borrelia</i> , <i>Pasteurella multocida</i>

14.1.1. Notions d'épidémiologie

Le mode de contamination d'un individu sain par une bactérie donnée dépend du type d'infection qu'elle déclenche. Dans le cas des bactéries pathogènes spécifiques, l'électivité de la localisation de l'infection conditionne la voie de dissémination du germe: transmission par les selles puis les eaux pour *Salmonella typhi*, transmission par les gouttelettes de salive pour *Neisseria meningitidis*.

On distingue classiquement les maladies bactériennes évoluant sous un aspect endémique et celles évoluant sous forme d'épidémies. Les formes endémiques sont caractérisées par la survenue de cas à faible fréquence dans le temps et dans l'espace; à tout moment une fraction faible et statistiquement constante de la population est infectée (cliniquement ou non). Les formes épidémiques sont définies par la survenue groupée de cas dans le temps et dans l'espace. Une épidémie d'extension mondiale est nommée pandémie. Sur un fond endémique peuvent survenir de petites bouffées épidémiques, on parle alors d'endémo-épidémie.

Le développement économique, les progrès de l'hygiène publique, l'amélioration des conditions de vie et les campagnes de vaccination ont fait s'éloigner de l'homme dans les pays développés des maladies infectieuses telles que la peste, le choléra ou la diphtérie qui constituaient de véritables fléaux du fait de leur mortalité élevée. Ces maladies infectieuses ne sont que tenues à distance et non pas éradiquées. Les troubles sociaux, les guerres, les catastrophes naturelles ou une récession économique permettent leur développement.

14.2. LES RÉACTIONS DE L'ORGANISME À L'INFECTION

14.2.1. La fièvre

L'augmentation de la température corporelle est un des signes d'accompagnement des infections bactériennes. La régulation de la température corporelle à sa valeur habituellement observée (37°C) est assurée par le centre thermorégulateur de l'hypothalamus. Cette région est stimulée par l'interleukine 1 mais aussi par l'AMP cyclique, la prostaglandine E1 et la sérotonine. L'interleukine 1 est produite par les macrophages et autres cellules du système réticulo-endothélial et sa production est stimulée par la phagocytose, le lipopolysaccharide des bactéries à Gram négatif, la destruction tissulaire, etc.

14.3. FACTEURS DE PATHOGÉNICITÉ DANS LES INFECTIONS BACTÉRIENNES

Parmi les quelques milliers d'espèces bactériennes connues, quelques centaines sont capables de provoquer des maladies chez les organismes eucaryotes, animaux et végétaux. La capacité pour une bactérie d'induire une maladie infectieuse est appelée virulence.

Elle est mesurée expérimentalement par la dose infectante (c'est à dire le nombre de bactéries) nécessaire pour faire apparaître l'infection. Dans la réalité, pour une espèce bactérienne donnée, la dose infectante n'est pas fixe et dépend de deux facteurs, l'existence et l'expression chez la bactérie de fonctions lui permettant d'envahir l'organisme et la résistance de ce dernier à cette invasion, qui dépend elle-même de l'état des défenses anti-infectieuses. Ceci débouche sur deux conséquences: i) dans une situation épidémique particulière et pour une population donnée, la maladie infectieuse n'affectera pas tous les individus; ii) on ne peut définir une fois pour toutes une liste de bactéries pathogènes, car une profonde dépression des défenses immunitaires pourra permettre l'infection par des bactéries encore jamais rencontrées en pathologie. Ainsi, la maladie infectieuse est le résultat d'une double stratégie chez chacun des deux acteurs, l'hôte et l'agent infectieux. Les stratégies développées par le microorganisme visent à la fois à envahir l'hôte (mécanismes de pénétration et de prolifération de l'agent infectieux) et à se mettre à l'abri des défenses de celui-ci (résistance, échappement à la réponse immunitaire). Les stratégies développées

par l'hôte tendent à éviter d'être envahi (défenses non-spécifiques) et à éradiquer le micro-organisme si l'invasion ne peut être évitée (réponse immunitaire).

En fonction de ces particularités, on a été amené à définir deux types de bactéries pathogènes: i) les bactéries virulentes qui infectent l'individu immunocompétent pour une dose infectante faible, par exemple *Mycobacterium tuberculosis* dans le cas d'une primo-infection tuberculeuse; ii) les bactéries opportunistes, présentes dans les flores commensales ou l'environnement, qui ne peuvent induire une infection qu'avec une dose infectante forte et dans le cas d'une dépression des défenses (physiologique ou pathologique, locale ou générale); c'est le cas de l'infection à *Pseudomonas aeruginosa*. Ceci débouche sur la conséquence pratique que l'implication dans une pathologie d'une bactérie isolée chez un patient doit être évaluée, entre autres critères, en fonction de la bactérie et du contexte général de l'état de ce patient.

14.3.1. La maladie infectieuse

On peut schématiquement diviser l'histoire d'une maladie infectieuse en trois étapes:

- i) la pénétration de l'agent infectieux: c'est une phase le plus souvent silencieuse ou s'accompagnant seulement de signes prodromiques; ii) la prolifération et l'essaimage de l'agent dans l'organisme: c'est la phase des signes cliniques; iii) la guérison ou la mort. Il faut noter que cette dernière issue est, du point de vue de l'agent infectant, un accident indésirable. En effet, en plus des infections reproduisant le schéma ci-dessus, il faut distinguer:
 - ii) les cas où le pouvoir pathogène d'une bactérie ne s'exprime que par une toxine et pour lesquels la présence de la bactérie dans l'organisme n'est pas nécessaire: exemple, le botulisme;
 - iii) les infections pour lesquelles la bactérie reste en surface des téguments, par exemple, la gonococcie;
 - iv) les infections ne dépassant pas un épithélium: exemple, l'épithélium digestif pour les shigelloses (infections à *Shigella*);
 - v) les infections chroniques, où l'invasion et l'apparition de signes cliniques sont séparées par un temps plus ou moins long (par exemple la tuberculose pulmonaire).

14.3.1.1 Les étapes de l'infection sont:

1. Période d'incubation: période se situant entre le moment de l'infection (moment où le germe pénètre dans l'organisme) et le moment de l'apparition de signes cliniques; Elle est très variable d'un germe à l'autre, pour un même germe, cette période d'incubation va également dépendre de facteurs liés à l'hôte (immunité):

- une courte incubation: de 1 à 7 jours (intoxication alimentaire, méningite, diphtérie, gonorrhée, etc.),
- incubation moyenne de 8 à 21 jours (fièvre typhoïde, tétanos, etc.),
- longue incubation de dizaines de jours (hépatite B, 60-180 jours),
- de très longues années (tuberculose, sida, lèpre, etc.).

Les maladies infectieuses cycliques (à évolution régulière), comme la rougeole, la rubéole, la varicelle, la variole, etc., ont une période d'incubation fixe.

2. Période de latence: c'est le laps de temps qui s'écoule entre le moment de l'infection et le moment où l'agent infectieux devient transmissible à un autre individu.

3. Le début: représente l'apparition des premiers symptômes et peut être soudain ou insidieux

4. L'état de la maladie: pendant cette période, les signes cliniques et paracliniques caractéristiques de la maladie se manifestent.

5. La période de convalescence: dans lequel les blessures sont réparées et les fonctions perturbées sont restaurées. Cette période est importante car des rechutes, des complications ou des infections chroniques peuvent désormais survenir:

- évolution favorable: la guérison se produit avec ou sans séquelles,
- cas défavorables: la maladie évolue vers la chronicité ou la mort.

14.3.1.1 Les infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont préoccupantes pour plusieurs raisons: morbidité et mortalité importante, les coûts d'hospitalisation non négligeable, ou l'émergence de bactéries multirésistantes. Toute prise en charge médicale comporte des risques de complications. Les infections nosocomiales ont toujours occupé une place importante. Jusqu'au début de ce siècle, ces infections étaient surtout liées à la présence de patients contagieux et à la méconnaissance des règles élémentaires d'hygiène ou d'asepsie. Ainsi, la tuberculose, la fièvre puerpérale et l'infection de plaie étaient des problèmes majeurs.

Les progrès réalisés depuis lors, notamment avec l'avènement des antibiotiques, des vaccins et une meilleure connaissance des modes de transmission des germes auraient pu laisser penser que les infections nosocomiales allaient être aisément maîtrisées et devenir un problème mineur.

Malheureusement il n'en est rien et les raisons en sont multiples. Les problèmes nosocomiaux actuels sont étroitement liés aux progrès diagnostiques et thérapeutiques de la médecine: prise en charge de patients toujours plus fragiles, multiplications des actes médicaux invasifs, utilisation de technologies de complexité croissantes, implantation de matériel prothétique, développement dans le domaine de la chimiothérapie, des greffes d'organes avec traitements immunosuppresseurs, résistance aux antibiotiques, etc.

Une infection nosocomiale est une infection acquise à l'hôpital (ou tout autre établissement de soins), et qui n'était ni en incubation ni présente à l'admission du patient. En cas de doute, pour différencier une infection communautaire d'une infection nosocomiale, un délai de 48 à 72 heures est retenu entre l'admission et le début de l'infection. En tout état de cause, il est recommandé d'apprécier dans chaque cas douteux la possibilité d'un lien causal entre hospitalisation et infection.

Pour les infections de la plaie chirurgicale, sont acceptés comme nosocomial, les infections survenues dans les 30 jours suivants l'intervention ou s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention.

Les infections nosocomiales endémiques sont de loin les infections nosocomiales les plus fréquentes et elles représentent plus de 95% des infections nosocomiales. Il s'agit d'infections décrites comme sporadiques et ont comme principal réservoir la flore endogène du patient. Cependant, avec l'avènement des nouvelles méthodes de typisation moléculaire certaines infections que l'on pensait être endogènes sont en fait transmises d'un patient à l'autre, démontrant ainsi les lacunes dans le domaine de la prévention.

La distribution des principales infections hospitalières varie selon les services et les institutions. Diverses études d'incidence globales ont révélé entre 4 à 10 infections pour 100 admissions. Les principaux facteurs influençant ces chiffres sont : la taille de l'institution, le type d'institutions, le type de services et le type de patients. Les infections les plus fréquentes sont : les infections urinaires (20-40%), les infections respiratoires (10-30%), les infections de plaies post-chirurgicales (0-40%), et les bactériémies (0-40%). Le reste représente environ 20% et regroupe des infections très variées.

Le type de microorganismes rencontrés dépend de nombreux facteurs dont les principaux sont: le site de l'infection, le type de patient (âge, pathologie sous-jacentes), l'administration de médicaments (antibiotiques, immunosuppresseurs, cytostatiques), la présence de corps étrangers et de matériel prothétique, l'épidémiologie locale.

Les bacilles Gram négatif sont responsables d'environ 50% des infections nosocomiales. La principale source d'infection est humaine, mais peut être aussi l'environnement, en raison de la capacité de certains germes Gram négatif (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, enterobacteria) à proliférer en milieu aqueux. Les bacilles Gram négatif BLSE (résistant à toutes les bêta-lactamines), les bacilles Gram négatif carbapenem-résistants sont responsables avant tout: d'infections urinaires, mais également pulmonaires et des plaies chirurgicales.

Les bactéries Gram positif représentent environ 25% des infections nosocomiales. Les staphylocoques sont responsables d'environ 15% des infections nosocomiales et l'homme est le principal réservoir. On le retrouve principalement dans les infections de plaies chirurgicales et dans les bactériémies, infections de cathéter intraveineux et infections de matériel prothétique (en orthopédie et cardio-vasculaire). Il est important d'identifier les souches de *S. aureus* méti-R (SARM). Environ 10 % des infections nosocomiales sont dues à des streptocoques, et en particulier d'entérocoques, retrouvés dans les infections urinaires et de plaies chirurgicales. Les entérocoques font partie de la flore digestive et peuvent coloniser par continuité le système urinaire et la peau. Il est important d'identifier les souches de Entérocoque vanco-R (VRE).

14.3.2. Première phase de la maladie infectieuse: la pénétration de la bactérie dans l'organisme

Pénétration par une brèche des tissus de revêtement de l'organisme

Les bactéries pathogènes doivent obligatoirement passer le revêtement superficiel de l'organisme, cutané ou muqueux, pour pouvoir l'envahir. La pénétration pourra se faire à la faveur d'une brèche dans le revêtement cutanéomuqueux. Ce sont les infections sur plaie, soit d'origine traumatique, soit d'origine médicale (infections nosocomiales, par exemple acquises lors d'actes de chirurgie, cathétérismes, etc.) ou les surinfections bactériennes de maladies virales (grippe).

Pénétration à travers les tissus de revêtement de l'organisme

La pénétration pourra se faire aussi par l'intermédiaire de cellules situées à la périphérie de l'organisme, qui peut être soit des cellules épithéliales, soit des phagocytes.

L'adhérence à la surface cellulaire

L'adhérence de bactéries aux épithéliums correspond à leur colonisation. Cette adhérence fait intervenir des constituants superficiels de la bactérie et des récepteurs cellulaires, ce qui explique la spécificité d'invasion d'une bactérie pour un type cellulaire ou pour un hôte. Deux types de constituants bactériens impliqués dans l'adhérence sont connus. Les premiers sont représentés par les fimbriae, ils reconnaissent des glycoprotéines présentes à la surface cellulaire et permettent ainsi à la bactérie de s'attacher. C'est le cas, par exemple, de *Neisseria gonorrhoeae*, de *Vibrio cholerae* et des *Escherichia coli* entérotoxiques. Les seconds sont des composés superficiels de la paroi bactérienne, comme les acides lipotéichoïques chez *Streptococcus pyogenes* ou une protéine de la membrane externe chez *Staphylococcus aureus*. Ces deux molécules se lient à la fibronectine, une protéine synthétisée par l'hôte, présente dans le sérum, la salive et le tissu conjonctif, qui elle-même se fixe à un récepteur membranaire du type intégrine de la cellule.

L'adhérence aux cellules phagocytaires, polynucléaires et macrophages, est moins bien connue. *Bordetella pertussis* possède à sa surface une protéine, l'hémagglutinine filamenteuse, qui se lie au récepteur du complément CR₃ présent à la superficie du macrophage. *Mycobacterium tuberculosis* et *Legionella pneumophila* se lient aussi au CR₃, mais on ne connaît pas la molécule impliquée chez ces bactéries. L'adhérence d'une bactérie peut suffire à l'expression du pouvoir pathogène, grâce à la sécrétion de toxines diffusant dans la cellule (par exemple, *Vibrio cholerae*) ou sans doute de cytotoxines, qui, tuant la cellule du revêtement, permettent à l'infection de progresser (*Staphylococcus aureus*).

L'invasion cellulaire

Beaucoup d'espèces bactériennes peuvent adhérer à la surface du revêtement cutanéomuqueux, mais seulement quelques unes pourront pénétrer, au cours d'une deuxième étape, dans la cellule à laquelle elles ont adhéré. L'infection peut s'arrêter à ce niveau (*Shigella*) ou au contraire dépasser la basale de l'épithélium et s'étendre plus ou moins loin dans l'organisme (*Salmonella*, *Listeria*).

Le mécanisme de pénétration dans la cellule est le plus souvent inconnu et il est probable que chaque bactérie invasive peut utiliser plusieurs portes d'entrée.

Dans les cas connus (*Listeria*, *Yersinia*), ces bactéries s'attachent à un récepteur de la surface cellulaire par l'intermédiaire d'une protéine de la paroi bactérienne, appelée invasine, et sont immédiatement intériorisées. Ce processus doit comprendre une interaction coordonnée entre le récepteur cellulaire reconnu par l'invasine et le cytosquelette cellulaire. Ceci semble confirmé par le fait que les récepteurs cellulaires impliqués dans la pénétration de la bactérie font partie d'une famille de protéines appelées intégrines, qui sont des récepteurs transmembranaires jouant un rôle important dans l'adhérence cellule-cellule et les interactions entre cellules et composants de la matrice extracellulaire.

Dans le cas des cellules phagocytaires, l'adhérence de la bactérie au récepteur CR₃ entraîne immédiatement sa phagocytose, mais ceci n'induit pas l'activation de la machinerie antimicrobienne du phagocyte. Au contraire, la pénétration par le récepteur du fragment Fc des immunoglobulines active le macrophage et peut avoir des conséquences létales pour le microorganisme pénétrant. Le phénomène de phagocytose semble aussi impliqué dans la pénétration de *Shigella* et de *Salmonella* dans les cellules de l'épithélium digestif, par un mécanisme resté non élucidé.

Une fois à l'intérieur de la cellule, la bactérie se trouve en général dans une vacuole, ce qui provoque la mobilisation des lysosomes qui fusionnent avec le phagosome. La bactérie doit faire face à ce nouvel environnement, en particulier un pH acide, la présence d'enzymes lysosomiales antibactériennes (les "défensines") et la faible concentration en facteurs de croissance tels que le fer. Elle développe une réponse adaptative. Le résultat de cette réponse bactérienne peut être inefficace, surtout dans les macrophages, et la bactérie est éliminée. Mais la bactérie peut survivre et l'infection cellulaire peut alors devenir chronique. C'est le cas de *Mycobacterium tuberculosis*, dont un composant de la paroi inhibe la mobilisation et la fusion du lysosome et du phagosome. La mycobactérie peut alors se multiplier dans la cellule qui, d'une part, la met à l'abri de la réponse immunitaire et, d'autre part, peut lui servir de véhicule pour essaimer ailleurs dans l'organisme.

Un cas particulier est celui de *Shigella* et de *Listeria*. Après l'entrée dans la cellule, ces bactéries provoquent la lyse de la paroi de la vacuole, grâce à un facteur bactérien comme la listériolysine chez *Listeria*, et se retrouvent libres dans le cytoplasme. Là, elles vont interagir avec le cytosquelette et provoquer la polymérisation polarisée de l'actine cellulaire. Cette protéine mobilise la bactérie et lui permet de passer de cellule en cellule à travers la membrane cellulaire. Ce phénomène, bizarrement commun à une bactérie à Gram négatif et une autre à Gram positif, a des conséquences différentes dans les deux cas : dans celui de *Shigella*, l'infection reste localisée aux cellules de l'épithélium digestif, qui meurent par apoptose, ce qui provoque l'apparition des signes digestifs de la shigellose; dans celui de *Listeria*, l'infection digestive est asymptomatique, mais comme la bactérie passe la limite de l'épithélium, elle peut ensuite essaimer dans tout l'organisme. Enfin, le cas de *Salmonella* est encore différent : la bactérie, qui a pénétré par phagocytose dans l'entérocyte, reste à l'intérieur de la vacuole mais survit à ce milieu, puis traverse la cellule par un phénomène de transcytose et ensuite passant la *lamina propria*, dissémine dans l'organisme.

14.3.3. Deuxième phase de la maladie infectieuse: la intervention de bactéries dans l'organisme infecté

Une fois à l'intérieur de l'organisme, la bactérie va exprimer d'autres fonctions qui vont provoquer l'apparition de signes cliniques, soit directement en lésant des fonctions vitales, soit indirectement par la voie de la réponse immunitaire. Les facteurs bactériens les mieux connus sont les toxines protéiques et l'endotoxine des bactéries Gram négatif.

14.4.3.1. Le choc endotoxinique

Le composant essentiel de l'endotoxine est le lipopolysaccharide. Au cours des septicémies à bactéries à Gram négatif, ce dernier est libéré par la lyse bactérienne consécutive à la réponse immunitaire ou à un traitement antibiotique. Il va se fixer ensuite sur des récepteurs membranaires et être internalisé par endocytose par la cellule.

- Le choc endotoxinique est commun à toutes les bactéries à Gram négatif. Il est marqué par:
- i) la fièvre due à la libération de molécules pyrogènes par les cellules ayant capté le lipopolysaccharide,
 - ii) des troubles de la coagulation dus à l'activation du facteur XI: déclenchant la formation de fibrine, qui obstrue les capillaires sanguins et secondairement conduit à une hypocoagulabilité par consommation des facteurs de coagulation et par là à des hémorragies: c'est la coagulation intraveineuse disséminée ou CIVD;

- iii) collapsus vasculaire secondaire à une vasodilatation périphérique, consécutive à la libération par les plaquettes et les polynucléaire d'amines vasoactives ; ceci induit une séquestration périphérique du sang, une fuite liquidienne vers le compartiment extracellulaire et donc une hypovolémie, et une acidose métabolique par anoxie tissulaire.

Ces différents troubles vont entraîner des lésions de divers organes, par hémorragie ou nécrose (surrénales, reins, poumons, cerveau). Le pronostic du choc endotoxinique reste très sévère.

14.4.3.2. Les toxines protéiques

Ces toxines sont des protéines produites par les bactéries (soit sécrétées, soit libérées par la lyse bactérienne), qui vont agir à un site cellulaire précis, différent pour chaque bactérie toxigène ; ces caractéristiques les opposent à l'endotoxine.

Les gènes responsables de la synthèse de toxines sont portés soit par le chromosome, soit par des plasmides (*Vibrio cholerae*), soit encore par des prophages (*Corynebacterium diphtheriae*).

L'activité des toxines protéiques est inhibée par des anticorps spécifiques (antitoxines), ce qui peut être utilisé pour le traitement. Cependant, les antitoxines ne peuvent agir sur la toxine fixée sur son récepteur, ce qui limite l'intérêt de l'immunothérapie.

Tableau 14.2. Toxines bactériennes d'intérêt médical

Type de toxine	Bactéries	Toxine et activités
Toxines cytolytiques	<i>Clostridium perfringens</i>	Toxine α (activité phospholipase)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Toxine β (activité sphingomyélinase)
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Toxines SH-dépendantes (désorganisation de la membrane cellulaire)
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Toxines SH-dépendantes (désorganisation de la membrane cellulaire)
Toxine active sur un métabolisme	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	ADP ribosylase et inhibition du facteur d'élongation EF-2 des chaînes polypeptidiques
	<i>Pasteurella multocida</i>	Stimulation des ostéoclastes, lyse osseuse
	<i>Bordetella pertussis</i>	Activé adénylcyclase
Toxines neurotropes	<i>Clostridium tetani</i>	Inhibition des synapses inhibitrices du motoneurone
	<i>Clostridium botulinum</i>	Inhibition de la libération d'acétylcholine dans la plaque motrice

Enfin, dans certaines conditions, le traitement des toxines protéiques par polymérisation (formol et chaleur) fait perdre à ces molécules leur pouvoir toxique tout en conservant leur antigénicité : ce sont les anatoxines. Ceci est à la base de la vaccination contre certaines infections, comme la diphtérie ou le tétanos.

14.4. IMMUNISATION PAR VACCINATION

Le premier vaccin, le vaccin antivariolique, a été administré en 1798 par Edward Jenner. Mais la base scientifique de la prophylaxie des maladies infectieuses a été posée par Louis Pasteur qui a préparé : le vaccin contre le choléra du poulet, le vaccin anti-anthrax, et en 1885, le vaccin contre la rage (Joseph Meister a été vacciné en juillet 1885).

En fonction de l'état des agents pathogènes et de la nature des composants antigéniques, les vaccins peuvent être classés en :

- vaccins corpusculaires préparés à partir d'agents pathogènes vivants atténués (microbiens, viraux),
- vaccins corpusculaires préparés à partir d'agents pathogènes tués ou inactivés (microbiens, viraux),
- vaccins préparés à partir de :
 - a) composants microbiens purifiés (produits du métabolisme microbien),
 - b) des fractions ou sous-unités structurales de micro-organismes (polysaccharides capsulaires, composants de la paroi bactérienne, sous-unités antigéniques virales),
- vaccins synthétiques
- vaccins clones ou biosynthétiques obtenus avec de l'ADN recombinant.

Selon le nombre d'antigènes apparentés ou différents dans la même produit, les vaccins peuvent être:

- **vaccins monovalents** dérivés d'une seule espèce bactérienne ou virale (tous les vaccins);
- **vaccins associés** qui représentent une combinaison de vaccins contre plusieurs maladies, une association qui doit assurer l'efficacité de chacun des vaccins et les effets secondaires ne doivent pas être plus fréquents et plus sévères que ceux connus pour chaque vaccin. De tels vaccins sont par exemple le vaccin diphtérie-tétanos (vaccin **bivalent**), diphtérie-tétanos-coqueluche (vaccin **trivalent**), anti méningococcique (**tétravalent**), etc. Ceux-ci peuvent être :
 - **Combinés**, fabriqués avec des vaccins préalablement associés, ou au moment de l'utilisation, dans la même seringue, étant inoculés au même endroit;
 - **Simultanée**, administration de différentes manières et dans différents régions anatomiques.

Les vaccinations générales visent l'ensemble de la population enfantine ou adulte en fonction d'un calendrier de vaccination établi en fonction de la gravité et de la prévalence dans un pays de certaines infections. En Roumanie sont obligatoires:

- vaccinations antitétaniques, diphtériques, anticoquelucheuses (DTPa),
- antituberculeux (BCG),
- anti-polio (VPI),
- anti-rougeole, anti-rubéole, anti-urlian (ROR, simple anti-rougeole moins de 12 l),
- anti-hépatite B.

Les vaccinations sélectives ciblent les groupes de population à haut risque de contracter une infection particulière (les vaccinations contre la grippe, le pneumocoque et le méningocoque sont pratiquées dans les communautés).

Les vaccinations effectives ciblent les patients ou catégories de patients chez lesquels certaines infections sont plus fréquentes et plus graves que dans la population générale (vaccin

contre le *Pseudomonas* chez les brûlés, vaccin contre la grippe chez les patients atteints de maladies respiratoires chroniques, chez les diabétiques).

Tableau 14.3. Le calendrier national de vaccination en Roumanie – Année 2019 - en vigueur

Age recommandé	Vaccin	Administration
Premières 24 heures	HEP B	En maternité
2-7 jours	BCG	En maternité
2 mois	DTPa-VPI-Hib-HEP B* Vaccin pneumococcique conjugué (* vaccin hexavalent)	médecin généraliste
4 mois	DTPa-VPI-Hib-HEP B* Vaccin pneumococcique conjugué	médecin généraliste
11 mois	DTPa-VPI-Hib-HEP B* Vaccin pneumococcique conjugué	médecin généraliste
12 mois	ROR	médecin généraliste
5 ans	ROR	médecin généraliste
6 ans	DTPa-VPI	médecin généraliste
14 ans et puis tout a 10 ans	dTpa	médecin généraliste
12-14-18 ans chez les filles	HPV	médecin généraliste

La voie d'administration des vaccins est généralement parentérale, mais cette voie ne stimule pas la production d'anticorps IgA sécrétoires.

Par conséquent, lorsque la barrière immunitaire muqueuse est essentielle pour une bonne protection, des vaccins atténués doivent être administrés par voie orale pour stimuler la production d'IgA sécrétoires.

Les complications des vaccinations sont :

-la maladie infectieuse induite par des vaccins vivants chez les personnes immunodéprimées. Les maladies infectieuses causées par des souches bactériennes ou des virus atténués sont très rares chez les personnes en bonne santé en raison des contrôles rigoureux nécessaires aujourd'hui pour approuver un vaccin.

-les accidents allergiques sont des réactions anaphylactiques, des réactions de type Arthus, des réactions cytolytiques-cytotoxiques et des réactions à médiation cellulaire. Ceux-ci peuvent être dus à des impuretés antigéniques du substrat sur lequel la souche vaccinale est cultivée ou même à des antigènes vaccinaux.

Les contre-indications aux vaccinations peuvent être :

- temporaires (la grossesse, les maladies fébriles aiguës),
- permanent: chez les patients présentant des déficits immunitaires, chez lesquels même des souches atténuées peuvent provoquer une infection, et les patients hypersensibilisés aux antigènes vaccinaux.

14.4.1. Immunoprophylaxie par des sérums thérapeutiques

Les sérums sont des produits biologiques avec un contenu riche en anticorps spécifiques dirigés contre un ou plusieurs agents pathogènes et sont utilisés pour bloquer le processus infectieux chez les sujets infectés par ce pathogène. Les sérums confèrent une immunité passive (sans la participation du système cellulaire immunocompétent).

L'immunité par transfert d'anticorps est rapide (car le sérum contient des anticorps prêts à l'emploi), mais de courte durée (en moyenne 10-15 jours pour les sérums hétérologues et 20-30 jours pour les sérums homologues), le temps nécessaire à l'élimination de la protéine étrangère du corps.

BIBLIOGRAPHIE

1. LICKER M, DRAGOMIRESCU L, MOLDOVAN R, AXENTE C - Microbiologie clinique: cours à l'usage interne pour les étudiants de la Faculte de Médecine, Lito UMF, Timisoara, 2013.
2. ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS - Cellular and molecular immunology, Elsevier, Philadelphia, 2012.
3. AUCKENTHALER R – Microbiologie des infections des voies respiratoires supérieures. Méd. Et Hyg. 1992.
4. DELHAYE E - Infections des voies respiratoires superieures (IVRS), Hospitau Universitaires Geneve, Geneva, 2021.
5. AVRIL JL - Nouveau dictionnaire de Bactériologie Clinique, Ellipses édition marketing S.A., Paris, 1997.
6. LENNETTE EH, HALONEN P, MURPHY FA - Laboratory diagnosis of infectious diseases-principles and practice, Springer, New York, 2011.
7. BALOWS A; HAUSLER WJ; HERMANN KL; ISENBERG HD; SHADOMY HJ – Manual of Clinical Microbiology, fifth edition, Washington DC, 429-439, 1991.
8. JORGENSEN JH, PFALLER MA, CARROLL KC - Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington D.C., 2015.
9. BROSTOF FJ, SCADDING GK, MALE D, ROITT IM - Clinical immunology, London, Gower Medical Publishing, 1991.
10. BUIUC D, NEGUȚ M.- Tratat de microbiologie clinică, Editura Medicală București 2009
11. CAMPBELL CK; JOHNSON EM; PHILPOT CM; WARNOCK DW – Identification of pathogenic fungi, Wiley and sons, Chichester, 2013.
12. CLARK WA; HOLLIS DG; WEAVER RE; RILEY P – Identification of unusual pathogenic gram-negative aerobic and facultatively anaerobic bacteria. Centers for Disease Control, Atlanta, 1985.
13. SFM Antibiogram Committee – Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie report 2003. Int J Antimicrob Agents, 2003;21(4):364-391.
14. DAVISE H. LARONE – Medically important fungi, a guide to identification, 4th Edition, ASM Press, Washington, D.C., 2002.
15. ELLIOTT T; HASTINGS M; DESSELBERGER U – Medical Microbiology, 5th edition, Blackwell Publishing, Oxford, 2011.
16. PEAKMAN M, VERGANI D - Basic and clinical immunology, 2nd edition, Elsevier, online, 2009.
17. FLANDROIS JP - Bactériologie médicale, Presses Universitaires de Lyon, 1997.
18. DENIS F, PLOY MC, MARTIN C, BINGEN E, QUENTIN R - Bactériologie médicale, 2^{seme} edition, Elsevier, online, 2012
19. FROTTIER J – Nosocomial infection: clinical aspects. Bull Acad Natl med, 177 (5), 695-704, 1993.
20. GILLIAN MIDGLEY – Atlas de poche de mycologie, Médecine-Sciences, Flammarion, Paris, 1998.
21. POUCHUS YF - Guide de poche de mycologie officinale, 2^{seme} edition, Lavoisier, Cachan, 2020.

22. HYDE R – Microbiology and immunology, 3rd Edition, Springer, New York, 2012.
23. KAISER F., BOTTGER E.C, ZINKERNGEL R.M., HALLER O., ECKRT J., DEPLAZEZ P., Manuel de poche de Microbiologie medicale, 2^{seme} edition, Medicine-Sciences, Flammarion, 2016.
24. KWON-CHUNG KJ; BENNETT JE – Medical mycology, Philadelphia: Lea&Febiger, 1992.
25. LE COUSTUMIER A – Critères de décision d`executer ou non un antibiogramme. Spécial Conférences, 18-19, 1996.
26. SOUSSY CJ - L'Antibiogramme en France en 2007, Antibiotiques, 9(2):75-76, 2007.
27. LETONTURIER P – Immunologie generale, 8^{eme} edition, Masson, Paris, 2007.
28. LICKER M, MOLDOVAN R, CRĂCIUNESCU M, DUMITRAȘCU V - Rezistența la antibiotice - istorie și actualitate, Ed. Eurostampa, Timișoara, 2002.
29. LICKER M, NICOARA E., HOGEA E., BADITOIU L., MUNTEAN D., HORHAT F., MOLDOVAN R. - Ghid pentru prevenția multirezistenței bacteriene, Editura Eurobit, Timisoara 2011.
30. MANDELL GL; DOUGLAS RG; BENNETT JE - Principles and Practice of Infectious Diseases. Third Ed. Churchill Livingstone, NY, Edinburgh, London, Melbourne, 2010
31. MOLDOVAN R; COȘNIȚĂ SM; BOER C - Microbiologie medicală vol 1, Lito UMFT, 1997.
32. MOLDOVAN R; DOROIU M; RĂDUȘ S; LICKER M; CRĂCIUNESCU M; BERCEANU-VĂDUVA D; DAN L; BOER C; BRESTOVICEAN D; IACOBICIU I - Bacteriologie Practică, Editura Mirton, Timișoara, 1998.
33. MOLDOVAN R, LICKER M, BERCEANU-VĂDUVA D, CRĂCIUNESCU M, DAN L, BOER C, BRANEA D, NEGRU C, HOGEA E, STÂNGĂ L, HORHAT F, POPA M, MUNTEANU D – Microbiologie-Indreptar de lucrări practice, Lito UMFT, 2013
34. MURRAY PR and col. - Medical Microbiology, Mosby- Wolfe, 9th Edition, Elsevier, Philadelphia, 2020.
35. MURRAY PR; BARON EJ; PFALLER MA; TENOVER FC; YOLKEN RH – Manual of Clinical Microbiology, 7th Edition, ASM Press, Washington D.C., 2007.
36. PILLY E, COLLÈGE DES UNIVERSITAIRES DE MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES – Maladies infectieuses et tropicales: préparation ECN, tous les items d'infectiologie, Alinea Plus Edition, Paris, 2017.
37. ROSS PW; EMMANUEL FXS - MCQs in Medical Microbiology and Infectious Diseases, 3rd edition, Petroc Press, Plymouth, 2004.
38. YOTIS WW - Fundamentals of Medical Microbiology and Immunology, 2nd edition, Outskirts Press, Parker, 2022.
39. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE - Manuel de sécurité biologique en laboratoire, O.M.S., Geneve, 2005.
40. WIEDEMANN B - 30 years development of antibiotics. Arzneimittelforschung 47 (10) 1165-71, 1997.
41. PUCCI MJ, DOUGHERTY TJ - Antibiotic Discovery and Development, Springer, New York, 2011.
42. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCLSI) – Performance standars for antimicrobial disc susceptibility tests, 37(1). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 2017.

43. NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE (NNIS) System report, data summary from October 1986-April 1998, issued June 1998. *Am J Infect Control*, 26, 5, 522-33, 1998.
44. BIANCHI V, EL ANBASSI S, DUPLOYEZ C - Bactériologie, virologie, De Boeck superieur, Louvain-la-Neuve, 2019.
45. PERRY JJ, STALEY JT, LORY S – Microbiologie: cours et questions de revision, Dunod, Malakoff, 2004.
46. HYGENE, PREVENTION ET CONTROL DE L'INFECTION (HPCi) - Accueil Surveillance, <https://www.hpci.ch/surveillance/accueil-surveillance>.
47. UNIVERSITE PARIS DESCARTES - SITE DE MICROBIOLOGIE MEDICALE, <http://www.microbes-edu.org/etudiant/somviro.html>.
48. GMFH Editing - Découvrez le monde caché du microbiome, <https://www.gutmicrobiotaforhealth.com/fr/decouvrez-le-monde-cache-du-microbiome>.
49. EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST) - New S, I and R definitions, <https://www.eucast.org/newsiandr>.
50. LEVINSON W, CHIN-HONG P, JOYCE EA, NUSSBAUM J, SCHWARTZ BS - Review of Medical Microbiology and Immunology, 17th edition, McGraw Hill, New York, 2022,
51. RIEDEL S, MORSE SA, MIETZNER TA, MILLER S - Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology, 28th Edition, McGraw Hill, New York, 2019.