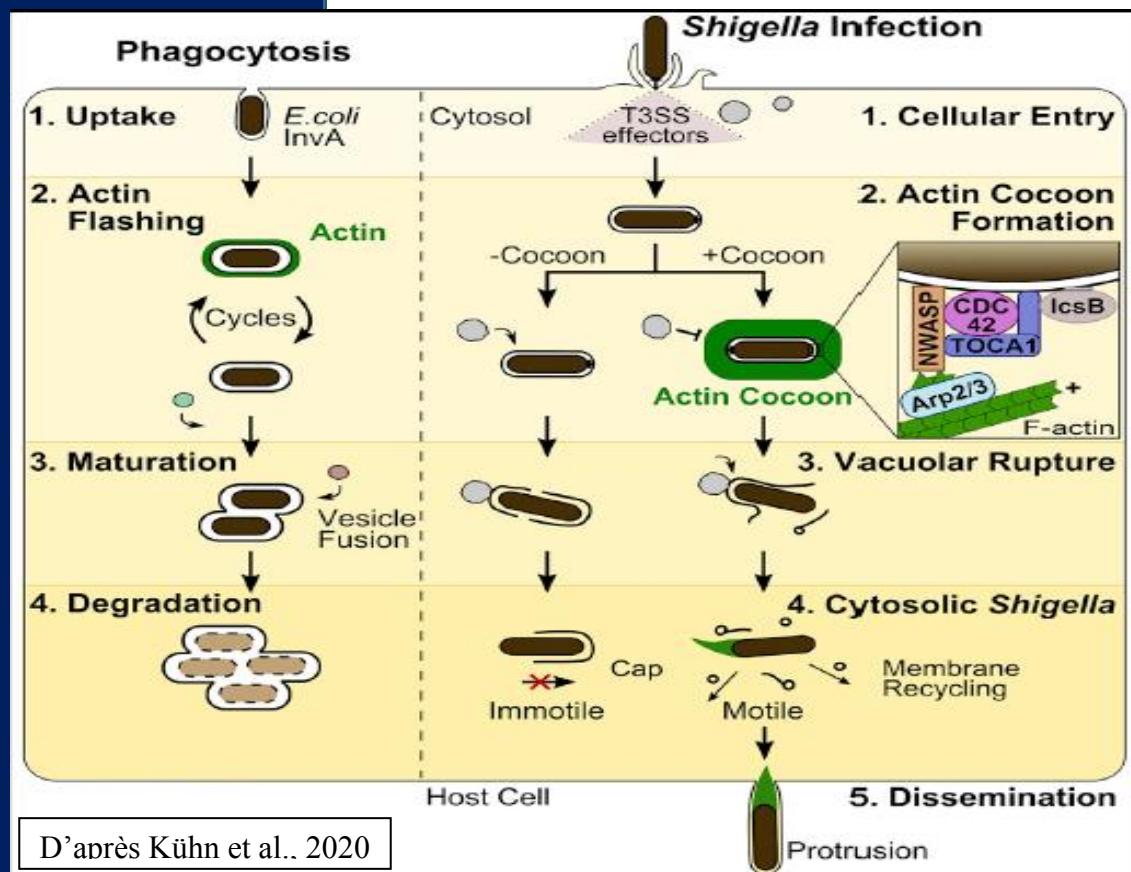


RELATIONS HÔTES – PATHOGÈNES



MESSAOUDI Dalila
Maitre de conférences classe A

PRÉFACE

LE PRÉSENT MANUSCRIT CONSTITUE UNE IMPORTANTE RÉFÉRENCE POUR LES ÉTUDIANTS INSCRITS EN MASTER II IMMUNOLOGIE APPLIQUÉE, IL PERMET INCONTESTABLEMENT UNE COMPRÉHENSION PLUS POUSSÉE ET UN APPRENTISSAGE PLUS FACILE DES DIFFÉRENTES INTERACTIONS CELLULAIRES ET MOLÉCULAIRES ENTRE LES AGENTS PATHOGÈNES ET LEURS CELLULES HÔTES HUMAINES. CE DOCUMENT EXPLIQUE LES GRANDS CONCEPTS DE L'IMMUNITÉ ANTI-INFECTIEUSE AINSI QUE LES MÉCANISMES D'ÉCHAPPEMENT DES BACTÉRIES, DES PARASITES ET DES VIRUS. TOUTEFOIS, IL NE PEUT PAS REMPLACER LE COURS MÊME ; SI SANS DOUTE LES INFORMATIONS DE CE MANUSCRIT SONT TRÈS DÉTAILLÉES PAR RAPPORT AU COURS ENSEIGNÉ.

Intitulé du Master : Immunologie

Programme détaillé des enseignements du semestre 3 (S 3)

Master académique

Spécialité : Immunologie Appliquée (Filière : sciences biologiques)

Intitulé de la matière : Relations Hôtes-Pathogènes

VHS : 67h30 VHH : 06h00

VHS travail personnel : 82h30

Cours : 03h00

Coefficient : 3

Semestre : 3

TD : 01h30

Crédit : 6

Type : UEF

TP : 00h00

Objectifs de l'enseignement

L'objectif de cet enseignement est de faire comprendre aux étudiants les interactions cellulaires lors des défenses immunitaires contre les divers pathogènes (virus, bactérie, parasite, toxines etc. .). Les mécanismes d'échappement viral aux réponses immunitaires ainsi que les principes de la vaccination seront traités sur la base d'exemple.

Contenu de la matière

Chapitre 1 Les grandes classes d'agents infectieux et les mécanismes effecteurs impliqués

Chapitre 2 Trafic intracellulaire des protéines et subversion par les pathogènes

Chapitre 3 Cytokines, communication et activation cellulaire et subversion par les pathogènes

Chapitre 4 Infections bactériennes/les mécanismes de pathogénicité

Chapitre 5 Mécanismes d'échappement des bactéries

Chapitre 6 Les toxines bactériennes

Chapitre 7 La réponse immunitaire au BCG

Chapitre 8 Evasion et subversion du système immunitaire par les parasites

1. Infections par les Plasmodium (paludisme): immunopathologie et échappement
2. Immunologie des infections par trypanosome - Immunologie des infections par Leishmania

Chapitre 9 Lutte antivirale

1. Mécanismes d'échappement viral aux réponses immunitaires
2. Infection par HPV
3. Infection par HTLV

Chapitre 10 Les vaccinations

Connaissances préalables recommandées : Immunologie, microbiologie, parasitologie.

Mode d'évaluation : Epreuve écrite, présentation d'exposés sur des thèmes choisis.

Table des matières

Liste de figures

Liste de tableaux

Cours 1 : Grandes classes d'agents infectieux.....	1
I. Introduction.....	1
II. Agents infectieux et leurs relations avec l'hôte.....	2
II.1. Saprophytisme	2
II.2. Parasitisme.....	2
II.2.1. Commensalisme	2
II.2.2. Symbiose	2
II.2.3. Parasitisme vrai	3
Relations hôtes - bactéries	
Cours 2 : Immunité antibactérienne	4
I. Introduction.....	4
II. Immunité non spécifique	4
III. Immunité adaptative.....	6
III.1. Immunité humorale	6
III.2. Immunité cellulaire	7
Cours 3 : Infections bactériennes et mécanismes de pathogénicité.....	10
I. Définitions et notions générales.....	10
II. Mécanismes de pathogénicité.....	10
II.1. Adhésion.....	12
II.2. Invasion	16
II.2.1. Cellules phagocytaires.....	16
II.2.2. Cellules non phagocytaires.....	17
II.3. Devenir des bactéries intracellulaires.....	18
II.3.1. Echappement vers le cytosol	19
II.3.2. Modification de la voie endocytaire	20
II.3.3. Mise à l'écart de la voie endocytaire.....	21
II.4. Stratégies de sorties utilisées par les bactéries intracellulaires	24
II.4.1. Cytolyse.....	25
II.4.2. Protrusion basée sur la polymérisation des filaments d'actine.....	25
II.4.3. Bourgeonnement	25
II.4.4. Extrusion	25
II.4.5. Expulsion.....	25
II.4.6. Apoptose.....	25
II.4.7. Pyroptose	25
Cours 4 : Toxines bactériennes	26
I. Introduction.....	26
II. Endotoxines	26
II.1. Localisation et structure	26
II.2. Effets des endotoxines.....	27
III. Exotoxines.....	27
III.1. Classification des exotoxines	27

III.2. Mécanismes d'actions moléculaires des exotoxines	29
III.2.1. Toxine cholérique	29
III.2.2. Toxine tétanique.....	30
III.2.3. Toxine botulique	32
III.2.4. Toxine du charbon	33
Cours 5 : Mécanismes d'échappements bactériens.....	35
I. Echappement à l'immunité naturelle	35
I.1. Echappement au complément	35
I.2. Echappement aux phagocytes.....	36
I.2.1. Inhibition du chimiotactisme	37
I.2.2. Évitement de la phagocytose	37
I.2.3. Peu ou pas de phagocytose	37
I.2.4. Phagocytose non efficace	38
I.3. Modulation de l'inflammasome.....	39
II. Echappement à l'immunité acquise.....	40
II.1. Empêchement de la reconnaissance	40
II.2. Modulation de la réponse humorale	40
II.3. Modulation de la réponse cellulaire	40
Relations Hôtes- parasites	
Cours 6 : Immunité anti-parasitaire	41
I. Introduction.....	41
II. Immunité antiparasitaire.....	41
II.1. Immunité humorale	41
II.2. Immunité cellulaire.....	42
III. Conséquences pathologiques de l'immunité antiparasitaire	43
Cours 7 : Infestation par <i>Plasmodium falciparum</i>.....	44
I. Introduction.....	44
II. Structure de <i>Plasmodium falciparum</i>	44
III. Cycle de vie.....	45
III.1. Schizogonie exo-érythrocytaire (hépatique)	46
III.2. Schizogonie érythrocytaire	46
III.3. Gamogonie	48
IV. Réactions immunitaire anti- <i>Plasmodium</i>	48
IV.1. Au niveau de la peau.....	48
IV.2. Au niveau de foie	49
IV.3. Au niveau de la circulation sanguine	50
V. Stratégies d'échappement de <i>Plasmodium</i> à la réponse immune.....	51
Cours 8 : Infestation par <i>Leishmania</i>.....	53
I. Introduction.....	53
II. Epidémiologie	53
III. Structure	53
IV. Cycle de vie	54
IV.1. Cycle de vie de <i>Leishmania</i> chez l'Homme	54

IV.2. Cycle de vie de <i>Leishmania</i> chez le phlébotome	54
V. Mécanismes d'échappements.....	55
V.1. Échappement au complément	56
V.2. Résistance à la lyse intracellulaire	56
V.3. Répression de la présentation antigénique	57
VI. Mécanismes moléculaires des facteurs de virulence de <i>Leishmania</i>	57
VI.1. Détournement de la voie de signalisation induite par la PKC	57
VI.2. Détournement de la voie de signalisation induite par JAK/STAT	58
VI.3. Effet sur la flambée respiratoire.....	58
VII. Immunité anti- <i>Leishmania</i>	58
VII.1. Réponse immunitaire innée à l'infection par <i>Leishmania</i>	59
VII.2. Réponse immunitaire adaptative à l'infection par <i>Leishmania</i>	60

Cours 9 : Infestation par *Trypanosoma*..... 61

I. Introduction.....	61
II. <i>Trypanosoma brucei</i>	61
II.1. Cycle de vie	61
II.2. Maladie de sommeil	61
II.3. Immunité anti <i>Trypanosoma brucei</i>	63
II.4. Mécanismes d'échappements	65
III. <i>Trypanosoma cruzi</i>	66
III.1. Cycle de vie.....	66
III.2. Maladie de Chagas	67
III.3. Immunité anti <i>Trypanosoma cruzi</i>	68
III.4. Mécanismes d'échappements.....	68

Relations Hôtes- virus

Cours 10 : Immunité antivirale..... 70

I. Introduction.....	70
II. Immunité innée.....	70
III. Immunité adaptative.....	70
III.1. Immunité adaptative humorale.....	70
III.2. Immunité adaptative Cellulaire	71

Cours 11 : Mécanismes d'échappement viral aux réponses immunitaires 73

I. Introduction.....	73
II. Mécanismes d'échappement	73
II.1. Mutations.....	73
II.2. Interférence avec l'immunité innée	73
II.2.1. Echappement au complément.....	73
II.2.2. Echappement au NK.....	74
II.3. Interférence avec l'Immunité Adaptative	74
II.3.1. Inhibition de la présentation antigénique	74
II.3.2. Induction de l'apoptose ou suppression des cellules immunitaires	74
II.4. Évasion de la réponse immunitaire par la latence	75

Cours 12 : Infection par le Papilloma virus humain..... 76

I. Introduction.....	76
II. Structure de Papillomavirus humain	77
III. Cycle d'infection.....	77
IV. Réponses immunitaires aux infections au Papilloma virus humain	79
IV.1. Immunité innée	79
IV.2. Immunité adaptative	80
Cours 13 : Infection par le virus T-lymphotropique humain	81
I. Historique	81
II. Transmission	81
III. Structure	81
IV. Cycle et mécanisme moléculaire de la transmission viral	82
IV.1. Cycle viral.....	82
IV.2. Mécanisme moléculaire de la transmission viral	83
V. Maladies associées à l'HTLV-1	83
V.1. Leucémie T de l'adulte.....	84
V.2. Myélopathie/paraparésie spastique tropicale associée au HTLV-1	84
VI. Réponse immunitaire anti-HTLV et mécanisme d'échappement.....	84
Cours 14 : Vaccination et sérothérapie	87
I. Introduction.....	87
II. Bases et principe de la vaccination.....	87
II.1. Mémoire immunologique	87
II.2. Paramètres influençant la réponse immunitaire	88
III. Types de vaccins	89
III.1. Vaccins conventionnels.....	89
III.1.1. Vaccins vivants atténués	89
III.1.2. Vaccins inactivés.....	90
III.1.3. Vaccins sous-unité ou purifiés	90
a/ Anatoxines.....	90
b/ Macromolécules purifiées	91
c/ Antigènes recombinants	91
III.2. Nouveaux vaccins	91
III.2.1. Vaccins vivants recombinants.....	91
III.2.2. Vaccins vivants modifiés	92
III.2.3. Vaccins peptidiques ou synthétiques	92
III.2.4. Vaccins génétiques.....	93
a/ Vaccins à vecteur viral	93
b/ Vaccins à ARNm.....	93
III.2.5. Rappels.....	94
IV. Sérothérapie	95
IV.1. Immunsérums animaux.....	96
IV.2. Gammaglobulines humaines.....	96
IV.3. Anticorps monoclonaux	97
Références bibliographiques	99

Liste de figures

Figure 1 : Assemblage et activation des sous unités cytosoliques et membranaires de NADPH oxydase.....	05
Figure 2 : Micrographie histologique (A) et composants cellulaires de granulôme (B)	08
Figure 3 : Mécanismes d'acquisition des facteurs de virulence chez <i>E. coli</i>	10
Figure 4 : Molécules de virulence bactériennes	11
Figure 5 : Facteurs de virulence du pathotype <i>UPEC</i> (<i>uropathogenic E.coli</i>).....	12
Figure 6 : Processus d'ancrage de <i>H. pylori</i> facilités par BabA et SabA.....	12
Figure 7 : Interaction entre <i>Bordetella pertussis</i> et l'épithélium respiratoire	13
Figure 8 : Mécanisme de pathogénicité de l'EPEC	14
Figure 9 : Etapes de constitution de biofilm bactérien	15
Figure 10 : Processus de phagocytose effectué par le macrophage.....	16
Figure 11 : Mécanisme de fermeture éclair (zipper)	17
Figure 12 : Mécanisme de la gâchette (trigger).....	17
Figure 13 : Marqueurs de maturation des endosomes	18
Figure 14 : Mécanisme d'échappement vers le cytosol utilisé par <i>Listeria monocytogenes</i>	19
Figure 15 : Cycle intracellulaire de <i>Legionella pneumophila</i>	21
Figure 16 : Rôle des effecteurs de <i>Chlamydia trachomatis</i> dans la manipulation des processus cellulaires	21
Figure 17 : Cycle de vie intracellulaire de <i>Brucella</i> et modification de la vacuole contenant la bactérie.....	22
Figure 18 : Stratégies de sortie des bactéries intracellulaires de leurs cellules hôtes	23
Figure 19 : Localisation et structure de lipopolysaccharide	25
Figure 20 : Effets des endotoxines sur l'organisme.	27
Figure 21 : Mécanisme d'action de la toxine cholérique.....	28
Figure 22 : Structure et fonction de la tétanospasmine	29
Figure 23 : Mode d'action de la tétanospasmine.....	30
Figure 24 : Complexe SNARE	30
Figure 25 : Mécanisme d'action de la toxine botulique	31
Figure 26 : Structure de la toxine de charbon.....	32
Figure 27 : Mode d'action de la toxine de charbon.....	33
Figure 28 : Voies d'activation et de régulation de complément.....	34
Figure 29 : Effet inhibiteur des protéines de virulence de <i>Borrelia burgdorferi</i> sur le complément.	35
Figure 30 : Mécanisme moléculaire de l'inhibition de la phagocytose utilisé par <i>Yersinia</i>	36
Figure 31 : Réactions chimiques catalysées par les enzymes antioxydants	37
Figure 32 : Structure de <i>Plasmodium</i>	42
Figure 33 : Frottis sanguins issus de patient infesté par <i>Plasmodium</i>	42
Figure 34 : Cycle de vie de <i>Plasmodium falciparum</i>	43
Figure 35 : Marqueurs de surface des formes parasitaires chez l'Homme utilisés pour l'invasion des cellules hôtes et l'échappement au système immunitaire.....	44
Figure 36 : Mécanisme d'invasion des érythrocytes par le mérozoïte de <i>Plasmodium falciparum</i>	45

Figure 37 : Réponses immunitaires anti- <i>Plasmodium</i>	46
Figure 38 : Réponse immunitaire à médiation cellulaire (stade hépatique)	48
Figure 39 : Rôle des différents anticorps dans la lutte anti <i>Plasmodium</i>	49
Figure 40 : Formes parasitaires de <i>Leishmania</i>	51
Figure 41 : Cycle de vie de <i>Leishmania</i>	53
Figure 42 : Effet de la glycoprotéine 63 de <i>Leishmania</i> sur les voies de signalisation de macrophage.....	54
Figure 43 : Interactions de <i>Leishmania</i> avec les cellules immunitaires innées, modulant leur phénotype et leur fonction, ainsi que les réponses immunitaires adaptatives	58
Figure 44 : Formes parasitaires de <i>Trypanosoma</i>	59
Figure 45 : Cycle de vie de <i>Trypanosoma brucei</i>	60
Figure 46 : Photo de la glossine (Mouche tsé tsé).	60
Figure 47 : Schéma de <i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	60
Figure 48 : Modulation de la réponse immunitaire par les constituants de parasite et de la salive de la glossine	61
Figure 49 : Mécanisme d'échappement de <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	62
Figure 50 : Mécanisme moléculaire de l'induction de la mort de <i>Trypanosoma brucei</i> par les facteurs trypanolytiques	62
Figure 51 : Mécanisme d'échappement de <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	64
Figure 52 : Photo de punaise	64
Figure 53 : Cycle de vie de <i>Trypanosoma cruzi</i>	65
Figure 54 : Réponse immunitaire adaptative aux infections virales.....	69
Figure 55 : Aspects macroscopiques des lésions de col utérin.....	74
Figure 56 : Structure de l'HPV 16 et les protéines virales	75
Figure 57 : Structure de l'appareil génital de la femme.	76
Figure 58 : Développement de la dysplasie vers le cancer invasif	76
Figure 59 : Structure de Virus T-lymphotrope Humain de type 1 (HTLV-1).....	80
Figure 60 : Organisation génomique des HTLV-1 et HTLV-2	80
Figure 61 : Fonctions et signalisation induite par les protéines P12 et P8.	84
Figure 62 : Génération des lymphocytes T et B mémoire.....	85
Figure 63 : Construction d'un vaccin vivant recombinant	89
Figure 64 : Construction des vaccins génétiques.....	91
Figure 65 : Comparaison entre vaccination et sérothérapie	92

Liste de tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des groupes de risques infectieux	01
Tableau 2 : Facteurs de virulence impliqués dans l'échappement (sortie) des bactéries de la vacuole	19
Tableau 3 : Facteurs de virulence impliqués dans l'échappement (sortie) des bactéries de la cellule hôte	23
Tableau 4 : Comparaison entre endotoxine et exotoxine	27
Tableau 5 : Exemples sur les bactéries intracellulaires	37
Tableau 6 : Mécanismes moléculaires de détournement de l'inflammasome par certaines bactéries	39
Tableau 7 : Comparaison entre les cinq espèces pathogènes de <i>Plasmodium</i>	45
Tableau 8 : Facteurs de virulence de <i>Leishmania</i> et leurs effets.....	57

Cours 1 : Grandes classes d'agents infectieux

I. Introduction

Les maladies infectieuses sont déclenchées par des agents biologiques qui sont des micro-organismes susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.

Selon les arrêtés de la loi de travail, les agents biologiques se subdivisent en plusieurs groupes. Le groupe 1 comprend les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme. Le groupe 2 comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs; leur propagation dans la collectivité est peu probable; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace. Le groupe 3 comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs; leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace. Le groupe 4 comprend les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs; le risque de propagation dans la collectivité est élevé; il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace (**tableau 1**).

Tableau 1 : Caractéristiques des groupes de risques infectieux

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Possibilité de provoquer une maladie chez l'homme	Non	Oui	Grave	Grave
Danger pour les travailleurs	/	Oui	Sérieux	sérieux
Propagation dans la collectivité	/	Peu probable	Possible	Elevée
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace	/	Oui	Oui	Non
Exemples	Bactéries Pas de liste réglementaire	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
	Virus	Virus grippal	HIV	Virus Ebola
	Parasites	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Leishmania donovani</i>	

II. Agents infectieux et leurs relations avec l'hôte

Cinq types d'agents infectieux sont distingués : les bactéries, les virus, les parasites, les champignons et les prions. L'infection est une maladie occasionnée par une bactérie, un virus ou un champignon. Alors que, l'infestation est une maladie occasionnée par un parasite.

Selon Sender et ses collaborateurs (2016), les bactéries résidentes sont équivalentes aux cellules somatiques et germinales du corps humain et représentent, combinées, un métagénome dont le nombre de gènes est 100 fois supérieur à celui du génome humain. En effet, le génome bactérien moyen comporte 1 000 à 4 000 gènes codants. Étant donné la diversité du microbiote (200 à 250 espèces par individu), le métagénome microbien totalise plus de 3 millions de gènes non redondants.

La relation hôte pathogène est mieux connue avec les bactéries. Deux modes de vie sont distingués : le saprophytisme et le parasitisme

II.1. Saprophytisme

Les bactéries saprophytes ne se développent pas dans l'organisme vivant et se nourrissent des déchets générés au sein de celui-ci. En effet, les micro-organismes saprophytes vivent à l'état libre dans la nature (eau et sols). Ils puisent leurs éléments nutritifs en dégradant les matières organiques. Leur rôle est très important dans le cycle de la vie. Ils permettent la dégradation des déchets organiques et la fertilisation des sols par l'humus, le compost etc.

II.2. Parasitisme

Les bactéries parasites ne peuvent vivre qu'au contact d'un être vivant dit "supérieur". Elles sont rencontrées soit à la surface de la peau, soit au niveau des muqueuses, exp : les mycoplasmes. Les micro-organismes parasites pénètrent dans un hôte pour s'y développer. Il existe alors trois cas de figures suite au développement du micro-organisme.

II.2.1. Commensalisme

C'est un type d'association conduisant deux espèces différentes d'organismes à vivre ensemble, sans que l'une nuise à l'autre et où parfois l'une des espèces se procure de la nourriture, une protection ou d'autres avantages. Une bactérie est commensale lorsqu'elle vit au contact du revêtement cutané-muqueux d'un hôte sans entraîner de désordres. Les bactéries commensales proviennent soit de l'environnement (bactéries saprophytes), soit d'autres hôtes.

II.2.2. Symbiose

La relation de symbiose est une association durable entre deux êtres vivants et dont chacun tire bénéfice.

II.2.3. Parasitisme vrai

Dans cette relation, la bactérie est nuisible à l'hôte ; ce qui confère à la bactérie l'adjectif de pathogène. Les bactéries pathogènes sont des bactéries qui induisent la maladie. La bactérie parasite peut devenir pathogène stricte, ex : Rickettsies et Chlamydias, soit pathogène opportuniste, ex : Mycoplasmes. La bactérie parasite fait partie de la flore dite "résidente".

Relations hôtes - bactéries

Cours 2 : Immunité antibactérienne

I. Introduction

Les stratégies de défense développées par le système immunitaire pour combattre les agents pathogènes sont variées et peuvent être séparées en immunité innée et immunité acquise. L'immunité innée consiste en une série de systèmes de défense non spécifiques et représente la première barrière de défense, toujours active et sans mémoire immunologique. Cependant, l'immunité acquise est un système de défense spécifique capable de lutter contre des micro-organismes avec lesquels il a déjà été mis en contact. Ce système se caractérise par une réponse durable et évolutive dans le temps et grâce à sa mémoire immunologique permettant une protection à long terme. Cette immunité n'est pas transmise à la descendance.

L'immunité anti-infectieuse a pour but d'empêcher l'entrée des germes, de les éliminer le plus rapidement possible et de contrôler leur multiplication, et cela par trois moyens : les barrières cutané-muqueuses, la réaction inflammatoire et la réponse immunitaire adaptative. Les deux premiers correspondent aux mécanismes de l'immunité innée tandis que le dernier mécanisme correspond à l'immunité acquise.

I.1. Immunité non spécifique

L'immunité non spécifique est représentée par les barrières mécaniques (la peau, les muqueuses, les épithéliums ciliés et l'action de drainage par les sécrétions telles que les larmes), les barrières chimiques (lysozyme, acide chlorhydrique des sécrétions gastriques...). De plus, les polynucléaires et les monocytes qui sont des cellules phagocytaires agissent sur les germes après phagocytose en partie grâce à l'activité bactéricide des radicaux libres oxygénés. En effet, lors du processus de la phagocytose et la formation du phagosome, une oxydase de la membrane de celui-ci réduit une molécule d' O_2 en anion superoxyde $O_2^{\cdot -}$ par captation d'un électron et conduit à la production de radical hydroxyl $OH^{\cdot}$ (**figure 1**). La fusion avec le lysosome aboutit à la synthèse de produits toxiques. Les autres activités bactéricides dépendent de protéines cationiques, d'enzymes lysosomiaux (dont le lysozyme qui digère le peptidoglycane de la paroi bactérienne), et de la lactoferrine (qui capte les ions de fer et en prive les bactéries).

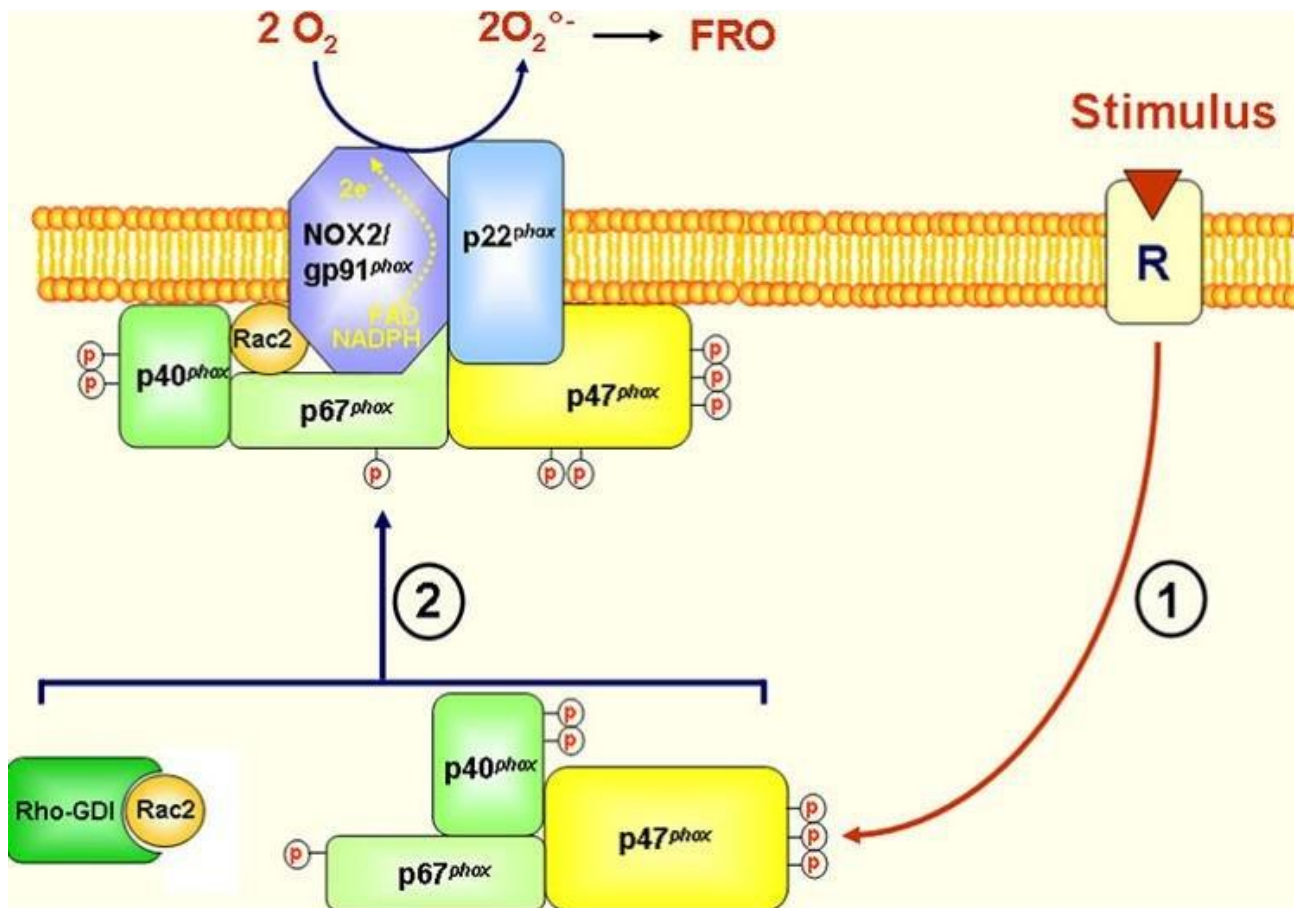


Figure 1: Assemblage et activation des sous unités cytosoliques et membranaires de NADPH oxydase.

La surface bactérienne, spécialement celle des Gram négatif active les voies alterne et des lectines du complément. Cette stimulation conduit à la destruction de ces bactéries. Les anaphylatoxines C3a et C5a résultant de l'activation du complément induisent une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire. De plus, C5a est un puissant chimioattractant pour les polynucléaires neutrophiles. Ces dernières reconnaissent les bactéries par l'intermédiaire des PRR (Pattern recognition receptors) et induisent leur englobement dans une vacuole de phagocytose où elles sont tuées par divers moyens.

Les dérivés de la protéine C3 du complément, C3b et C3bi jouent un rôle majeur dans l'opsonisation des bactéries Gram positif et Gram négatif en se déposant à leur surface et en se liant aux récepteurs correspondant présents sur les polynucléaires neutrophiles (CR1, CR3) facilitant la phagocytose des bactéries.

Les monocytes/macrophages interviennent dans un deuxième temps en assurant l'élimination des polynucléaires apoptotiques, et des débris cellulaires ou bactériens.

I.2. Immunité adaptative

I.2.1. Immunité humorale

La réponse immunitaire humorale est caractérisée par la production d'anticorps par les lymphocytes B. Elle défend l'organisme principalement contre les bactéries dites extracellulaire, les toxines présentes dans les liquides biologiques. Lorsque les agents pathogènes (bactéries, toxines...) pénètrent dans l'organisme (sang, lymphe), ils sont directement phagocytés et dégradés par les monocytes/macrophages. Les protéases au niveau des phagolysosomes dégradent les protéines en peptides qui vont se lier aux molécules de CMH classe II qui ensuite seront exprimés au niveau de la surface de la cellule phagocytaire. Un lymphocyte T auxiliaire est activé suite à sa reconnaissance spécifique du complexe antigène-CMH II. Le lymphocyte T auxiliaire activé reconnaît le même complexe Ag-CMH II sur le lymphocyte B. Le lymphocyte B est activé par le lymphocyte T auxiliaire. Une fois activé, le lymphocyte B se transforme en plasmocyte (cellule sécrétrice d'anticorps spécifiques à l'agent pathogène de départ). Malgré que l'immunité humorale soit basée sur les immunoglobulines, les lymphocytes Th2 jouent un rôle très important dans la commutation isotypique et la maturation d'affinité.

Les bactéries extracellulaires (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*...) sont responsables des affections aiguës causées par les toxines. L'organisme se protège contre ces bactéries par les anticorps, le complément et les LTh17. Ces bactéries selon leur voie de pénétration peuvent induire une réponse anticorps (IgM et IgA sécrétoires) soit générale, soit locale au niveau des muqueuses digestives et bronchiques principalement. Les anticorps ont un rôle de défense dans :

- Le cas des anticorps antitoxines (immunité antitoxique). Les anticorps neutralisants favorisent l'élimination accélérée des substances toxiques en se combinant avec elles. Ce type d'anticorps se lie aux structures responsables de la toxicité des toxines, notamment des exotoxines: diphtérie, tétanos, botulisme.

Corynebacterium diphtheriae est une bactérie strictement humaine responsable de la diphtérie. C'est un bacille Gram positif résistant à la phagocytose. Cette bactérie à croissance extracellulaire produit une exotoxine protéique responsable des signes de la diphtérie. L'inactivation de cette toxine (anatoxine) est la base de la vaccination anti-diphtérique.

- Le cas des bactéries extracellulaires, des anticorps dits opsonisants en favorisent la phagocytose par l'intermédiaire des récepteurs de surface pour le fragment Fc des Ig, leur action étant renforcée par la fixation secondaire du complément.

- Quant aux IgA sécrétoires, leur activité antibactérienne s'exerce surtout en inhibant l'adhésion des bactéries aux épithéliums de surface.
- Les LTh17 sont spécialisés dans l'immunité des barrières muqueuses notamment au niveau cutané, pulmonaire et intestinal. Ils assurent la défense de l'hôte contre les pathogènes extracellulaires bactériens (*Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* et *Citrobacter rodentium*). Dépourvus d'activité cytotoxique directe, les Th17 coordonnent la réponse inflammatoire via la sécrétion des IL-17, l'IL-22... L'IL-17 induit le recrutement et l'activation des neutrophiles par stimulation de la production de chimiokines CXCL1, CXCL2, CXCL8 par les cellules stromales. Tandis que, l'IL-22 agit sur les cellules épithéliales pour promouvoir la réparation tissulaire et induire l'expression de peptides antimicrobiens de la famille des défensines.

I.2.2. Immunité cellulaire

Les bactéries, parasites intracellulaires facultatifs (*Mycobacterium tuberculosis* responsable de la tuberculose, *Salmonella enterica* (typhi) induisant la fièvre typhoïde...) ou obligatoires (*Mycobacterium leprae* 'lèpre', *Rickettsia* sp (fièvre boutonneuse) ou typhus...), sont peu sensibles à l'effet protecteur des anticorps. De ce fait, la protection contre ce type de bactéries est assurée par les lymphocytes Th1 en collaboration avec les macrophages. Contrairement aux bactéries extracellulaires, ce type de bactéries induit des affections chroniques ; elles colonisent préférentiellement les cellules macrophagiques. Ces dernières possèdent une activité phagocytaire accrue et peuvent après phagocytose du germe l'empêcher de se multiplier dans leur cytoplasme et même le détruire par une augmentation de leur pouvoir bactéricide. Celui-ci est principalement en rapport avec des dérivés toxiques oxygénés ou nitrés résultant respectivement de l'intervention de la NADPH oxydase et de la NO synthase.

Les lymphocytes TCD4⁺ surtout les LTh1 spécifiques de l'Ag entrent en contact avec le germe et libèrent des lymphokines. Certaines de ces lymphokines ont un effet chimiotactique et d'autres un effet activateur sur les macrophages (les **MAF** = macrophage activating/arming factors). Ce sont l'IFN γ , le MIF, l'IL-3 et le GM-CSF. Ces cytokines activent les macrophages dont les propriétés bactéricide, fongicide, parasiticide et antitumorale (enzymes, les radicaux libres oxygénés et le NO) seront accrues d'où la destruction des bactéries réfugiés dans les macrophages. Le TNF α libéré par les macrophages active et incorpore les polynucléaires neutrophiles.

Les cellules infectées présentent un Ag d'origine bactérienne sur leur CMH de classe I. et par conséquent, le lymphocyte T cytotoxique s'active et libère la perforine, la granulysine, sFasL. La granulysine est une protéine cationique cytolytique ; elle lyse directement les bactéries. Le taux de granulysine est de 2 à 4 fois plus élevé que celui de la perforine, du granzyme B et du sFas-L. En

tuant ainsi les cellules infectées, les lymphocytes T cytotoxiques privent les agents pathogènes intracellulaires de l'endroit où se multiplier et les rendent ainsi accessibles aux Ac et aux macrophages activés. En effet, les lymphocytes T cytotoxiques peuvent lyser les macrophages abritant *L. monocytogenes*, *M. leprae*, *M. tuberculosis*, *M. bovis* ou *Rickettsies*, car les protéines de ces agents pathogènes sont libérées dans le cytosol et se lient ensuite aux CMH I du cytoplasme, puis s'expriment en surface et ceci selon la voie endogène.

Les cellules NK/LAK auraient une activité lytique directe vis-à-vis de certaines bactéries (*Salmonella*, *Shigella*...). De plus, les cellules infectées par les bactéries intracellulaires sont plus sensibles à l'action lytique des cellules NK/LAK que les cellules non infectées.

D'autres cellules sont spécifiques aux protéines du stress thermique. Les HSP (heat-shock proteins) sont des protéines, très conservées (au moins 50% d'homologie), produites par toutes les cellules bactériennes, végétales, fongiques ou animales subissant un stress notamment thermique. Chez les mycobactéries, deux familles d'HSP ont été identifiées : HSP60 et HSP70. La HSP 65, membre de la famille HSP60, est la cible moléculaire principale des lymphocytes T dont le TcR est composé des chaînes $\gamma\delta$. Ces lymphocytes $T\gamma\delta$ (double négatif), possèdent une activité cytotoxique pour les bactéries exprimant ces Ag et leur pourcentage dépasse les 5% lors des infections à mycobactéries. Compte tenu de leur localisation tissulaire, les lymphocytes $T\gamma\delta$ qui reconnaissent ces différentes HSP, seraient une première barrière contre les agressions bactériennes ou virales, au niveau de la peau et des muqueuses.

Le système immunitaire ne parvient pas à éliminer toutes les bactéries pénétrant dans l'organisme. Cependant, il arrive à isoler le foyer infectieux contenant les bactéries par une structure appelée : granulome. Un granulome est composé de cellules épithélioïdes (grandes cellules aplaties d'origine macrophagique) et de cellules géantes multinucléées. Ces cellules participent à l'encerclement et au contrôle de l'agent pathogène. Le granulome peut se former dans le tissu où celui-ci se trouve de façon prolongée (**figure 2**). Les lymphocytes TCD8+ et les NKT semblent jouer un rôle favorisant dans la formation de ce granulome. Les TNF seraient un des facteurs principaux à l'origine du granulome.

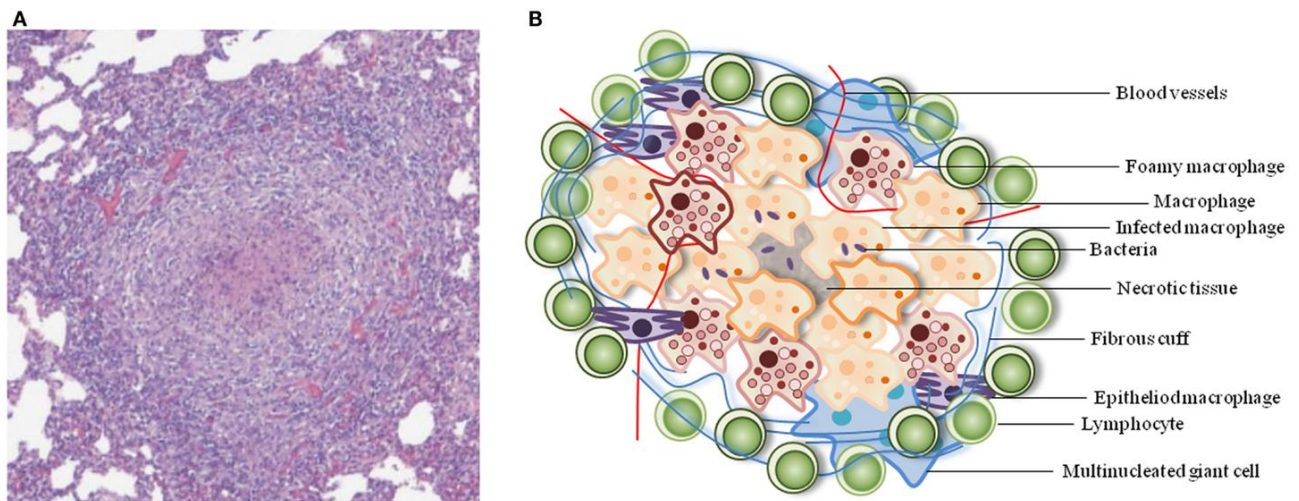


Figure 2 : A/ Micrographie histologique et B/ Composants cellulaires de granulôme.

Cours 3 : Infections bactériennes et mécanismes de pathogénicité

I. Définitions et notions générales

* Bactérie opportuniste/ occasionnelle

Les bactéries opportunistes sont des bactéries commensales (*E.coli*, *Staphylococcus epidermidis*) ou saprophytes de l'environnement (*Pseudomonas aeruginosa*) qui deviennent pathogènes ; s'ils changent de localisation au sein de l'organisme (ex : les bactéries du côlon colonisant les voies urinaires provoquent une infection urinaire) ou lorsque les défenses de l'hôte sont affaiblies suite à des agressions traumatiques, physiques, chimiques et biologiques spécialement suite à une infection virale et bactérienne (*Clostridies*, *Helicobacter*, *Campylobacter*). Généralement, les infections nosocomiales sont toutes dues à des bactéries pathogènes opportunistes.

* Bactérie pathogène "spécifique"

Une bactérie est dite pathogène, lorsqu'elle est capable ou possède la capacité d'engendrer une maladie chez les sujets dont les mécanismes de défense sont normaux. La pathologie doit être retrouvée chez un ou plusieurs hôtes dits "cibles", ex : fièvre typhoïde, tuberculose....Cependant, ces bactéries peuvent être hébergées sans provoquer des maladies (portage sain). Le pouvoir pathogène d'un micro-organisme dépend aussi de la résistance de l'organisme hôte.

* **Pouvoir pathogène** : Il correspond à l'aptitude à engendrer des troubles morbides.

* **Virulence** : Elle se définit comme étant l'aptitude d'un germe à se multiplier dans l'organisme hôtes.

* **Epidémie** : augmentation inhabituelle du nombre de cas d'une maladie infectieuse ou parasitaire dans un laps de temps court.

* **Endémie** : persistance d'une maladie infectieuse ou parasitaire dans une région où elle existe en permanence chez un nombre plus ou moins important d'individus.

* **Pandémie** : dissémination d'une maladie infectieuse ou parasitaire à la quasi totalité de la population du globe (ou d'une grande partie du globe).

II. Mécanismes de pathogénicité

Vibrio cholerae sauvage est non pathogène (bactérie saprophyte vivant dans l'eau), une fois infecté par le bactériophage CTX ϕ , elle devient pathogène. Donc, l'acquisition des gènes de virulence permet aux souches non pathogènes de devenir pathogène. Ces gènes de virulence peuvent être localisés sur le génome bactérien que ce soit sur un plasmide ou bien sur des îlots dispersés sur le chromosome bactérien (**figure 3**).

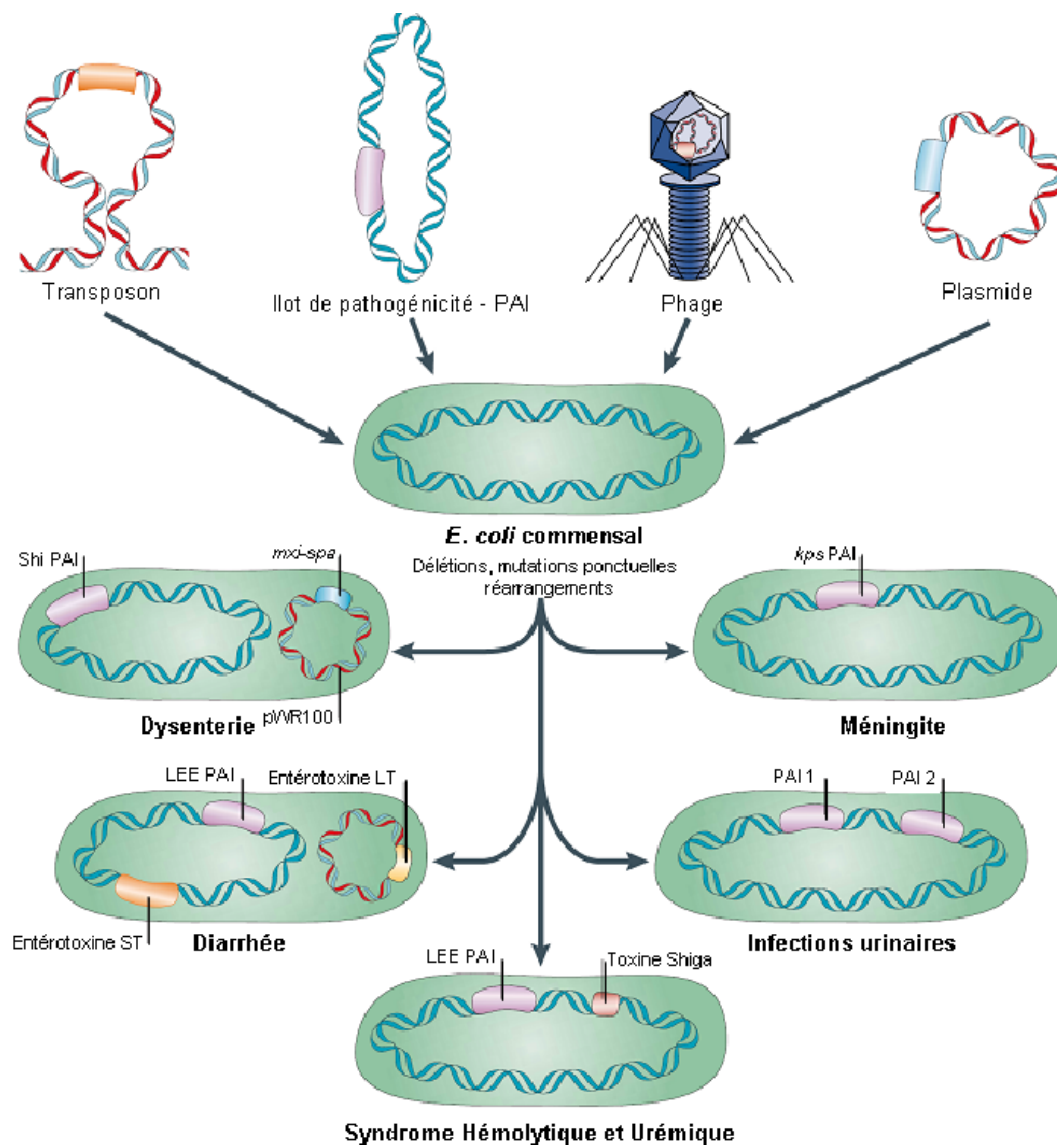


Figure 3: Mécanismes d'acquisition des facteurs de virulence chez *E. coli*

Les gènes précédemment cités codent pour les facteurs de virulence lesquels se subdivisent en deux types : les effecteurs et les toxines bactériennes. La toxine est sécrétée par l'agent pathogène à forte concentration et acheminé dans le cytoplasme de l'hôte par divers mécanismes, notamment l'endocytose ou via des pores protéiques formés par la toxine bactérienne elle-même. Tandis que, l'effecteur est une protéine qui est directement transférée de la bactérie vers la cellule hôte par des systèmes de sécrétion, en forme d'aiguille, de type III et de type IV (T3SS et T4SS, respectivement) (**figure 4**). Les effecteurs sont produits dans la bactérie, mais semblent inactifs en raison de leur association avec des protéines chaperonnes, de l'absence de substrat approprié et/ou de l'absence d'activateurs eucaryotes. Après leur transfert dans la cellule hôte eucaryote, les effecteurs déploient des activités très puissantes qui manipulent les voies de transduction des signaux.

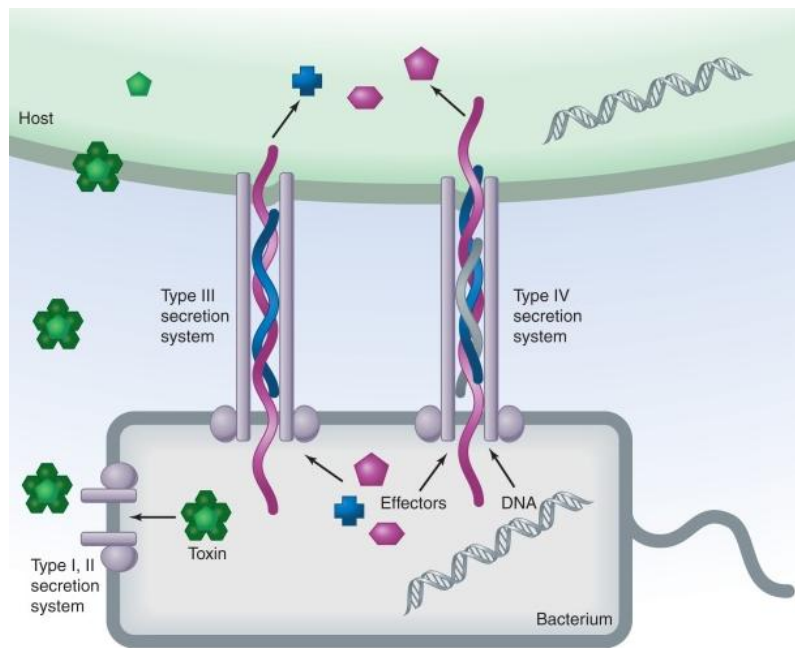


Figure 4: Molécules de virulence bactériennes

La virulence est le résultat des facteurs propres au germe et des moyens de défense que l'hôte développe pour se défendre contre cette agression. Pratiquement, la mesure de la virulence s'effectue par l'évaluation de l'effet d'une espèce bactérienne sur un lot d'animaux sensibles. Ainsi, la dose minima mortelle (d.m.m.) et la dose létale (DL50) à 50% sont définies ; où la d.m.m. correspond à la dose minimale responsable du décès de tous les animaux et la DL50 responsable du décès de 50% des animaux de l'expérience.

La virulence d'un micro-organisme dépend de son pouvoir invasif et de son pouvoir toxique. Le pouvoir pathogène des bactéries s'exerce par 3 groupes de moyens :

II.1. Adhésion

Certaines bactéries pénètrent au niveau des muqueuses et elles adhèrent grâce à des protéines localisées à l'extrémité des pili : les adhésines ; ainsi, ils ne sont pas chassés par la miction, la déglutition ou le transit intestinal. Ces adhésines agissent spécifiquement avec des récepteurs présents sur les cellules de l'hôte (partie osidique d'une glycoprotéine) ; cette interaction explique le tropisme de certaines bactéries pour un site donné ou une espèce animale donnée. D'autres bactéries se fixent sur des protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène et la fibronectine. Ce qui leur permet d'adhérer par la suite à des cellules ayant des récepteurs pour ces protéines.

Prenons l'exemple de la bactérie *Escherichia coli* qui peut ainsi coloniser les voies urinaires et occasionner une cystite.

- UPEC (*uropathogenic Escherichia coli*) est responsable de plus de 80% des infections urinaires.

Au niveau de la vessie et des reins, cette bactérie utilise son adhésine localisée à l'extrémité de

ses cils pour s'adhérer sur les cellules constituant ces deux organes (**figure 5**). En effet, l'adhésine interagit avec un disaccharide spécifique lié à un glycolipide membranaire.

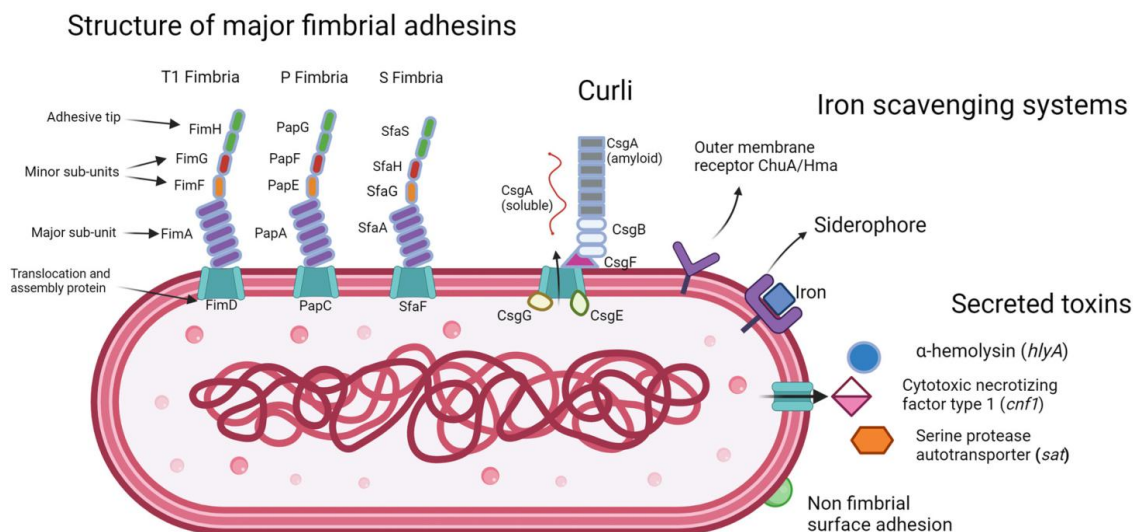


Figure 5 : Facteurs de virulence du pathotype UPEC (*uropathogenic E.coli*).

- *Helicobacter pylori* est responsable du développement de l'ulcère gastrique. Cette bactérie possède 5 adhésines différentes dont l'une interagit avec le Lewis b exprimé par l'épithélium de la muqueuse gastrique (**figure 6**). La bactérie sécrète l'uréase qui catalyse la transformation de l'urée en ammoniac et dioxyde de carbone. L'ammoniac a pour but de neutraliser le pH acide de l'estomac.

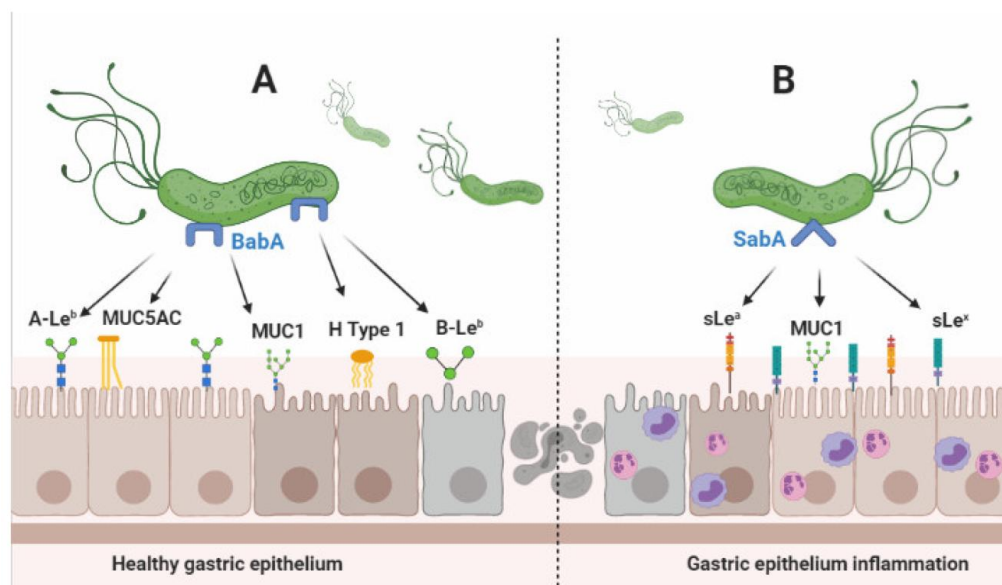


Figure 6 : Processus d'ancrage de *H. pylori* facilités par BabA et SabA.
(A) Cellule épithéliale gastrique saine. (B) Cellules épithéliales gastriques enflammées.

- En tant qu'agent pathogène respiratoire causant la coqueluche, *Bordetella pertussis* (bactérie Gram négatif) colonise les voies respiratoires supérieures à l'aide d'une série d'adhésines dont

les plus importants sont le filament d'hémagglutinine (FHA), pertactine, Fimbriae 2 et 3. Ces adhésines peuvent se fixer sur les glycolipides des cellules ciliées (**figure 7**). La toxine de pertussis et le lipooligosaccharide (LOS) induisent de manière synergique la production des espèces réactives de l'oxygène dont le, qui provoque des lésions ciliaires. qui tue les cellules hôtes empêchant ainsi l'organisme de s'en débarrasser de l'infection.

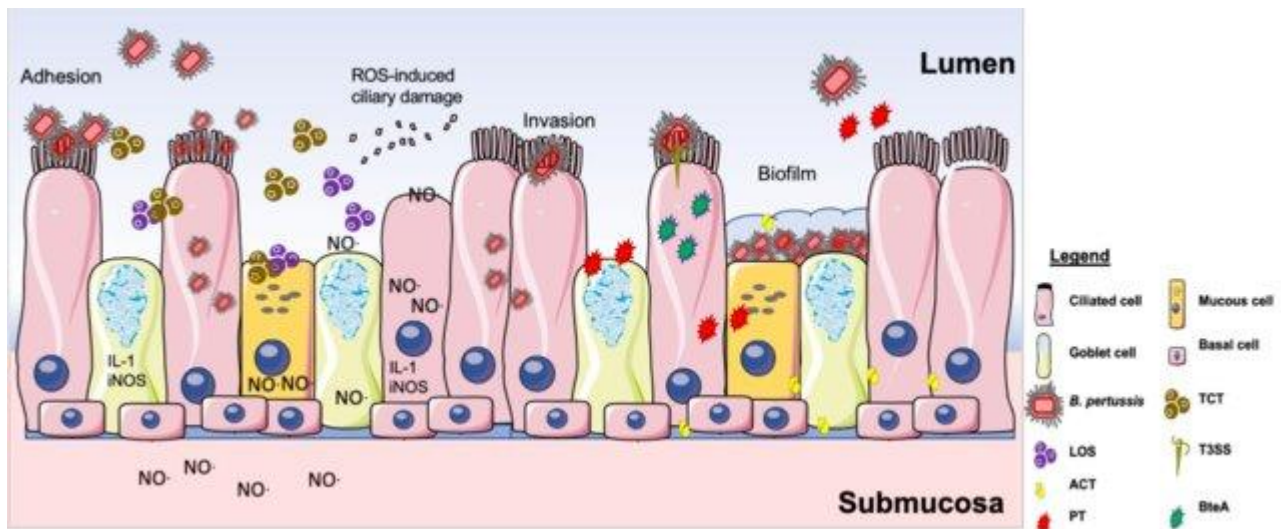


Figure 7 : Interaction entre *Bordetella pertussis* et l'épithélium respiratoire.

- *E. coli* est une bactérie commensale qui colonise le tractus intestinal. Cependant au cours de l'évolution, l'intégration d'éléments génétiques a permis la génération de nombreux pathogènes diarrhéiques dont *E. coli* entéropathogène (EPEC). Ces pathogènes ont acquis des facteurs de virulence capables de favoriser la colonisation et la survie des pathogènes dans de nouvelles niches, de contourner le système immunitaire de l'hôte et de perturber les fonctions normales de la cellule intestinale afin d'induire une diarrhée. EPEC (enteropathogenic *Escherichia coli*) colonise l'intestin grêle et cause des diarrhées aqueuses sévères chez l'homme et la mort de milliers d'enfants chaque année dans les pays en voie de développement. L'adhésine Intimine interagit avec le récepteur Tir (Translocated Intimin Recepteur), d'origine bactérienne. EPEC est en effet capable via le T3SS d'injecter son propre récepteur dans la cellule hôte, où celui-ci est intégré dans la membrane de la cellule hôte afin d'interagir avec son ligand Intimine. La phosphorylation s'effectue par la petite protéine G (Rho) modifiant ainsi le cytosquelette. Ce réarrangement induit la création d'un prolongement cytoplasmique : protrusion (**figure 8**).

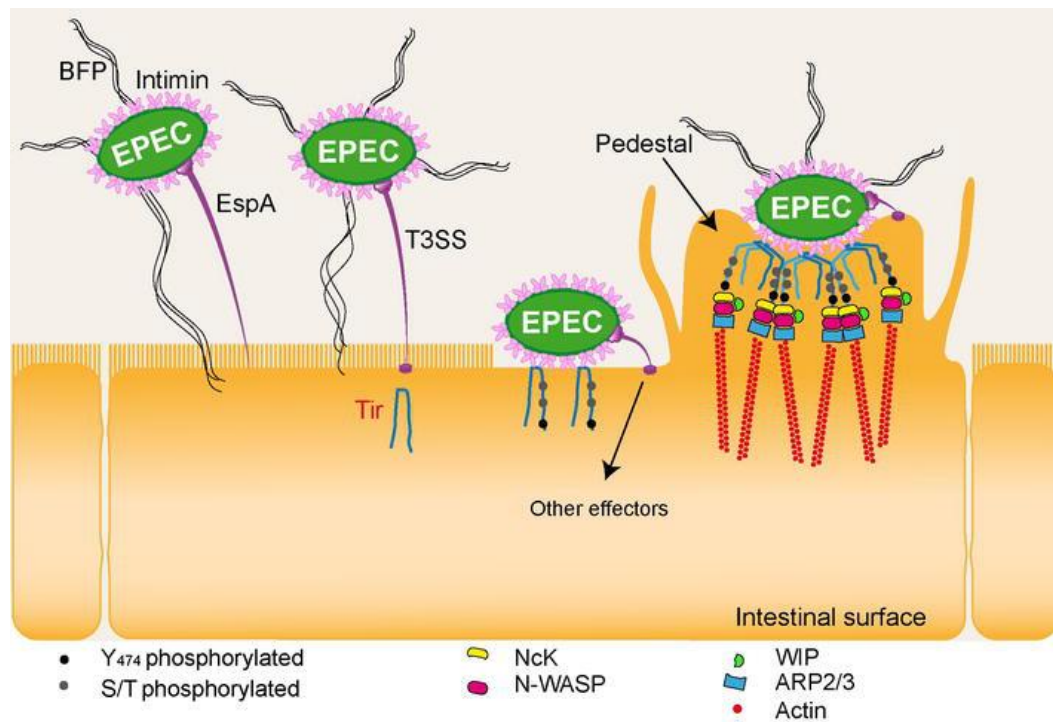


Figure 8 : Mécanisme de pathogénicité de l'EPEC.

• Formation de biofilm

Les biofilms sont définis comme des agrégats organisés de microorganismes pouvant contenir jusqu'à 100 millions (10^8) à 10 milliards (10^{10}) cellules par gramme de matière déshydratée. Au sein de ces structures, les cellules bactériennes sont entourées d'une matrice, produite par les bactéries elles-mêmes et qui joue un rôle majeur en assurant la cohésion de l'ensemble, voire la fixation à la surface du substrat. Les agrégats de microorganismes sont séparés par des espaces libres, dépourvus de bactéries et parcourus par des courants aqueux ; ceux-ci y assurent la circulation de fluides et permettent à la fois l'apport de nutriments aux bactéries et l'élimination de leurs produits de dégradation. Le développement de l'architecture des biofilms bactériens est en grande partie lié à la production de la matrice extracellulaire par les bactéries du biofilm. Elle est essentiellement composée d'eau (jusqu'à 97 %), de polymères polysaccharidiques sécrétés par les microorganismes, de produits de dégradation et de substances provenant du milieu extérieur. Néanmoins, d'autres composants, tels que de l'ADN, de l'ARN et des lipides peuvent également être trouvés.

Le développement tridimensionnel du biofilm conduit à la création de gradients physico-chimiques. Ainsi, le biofilm n'est pas un environnement homogène car il présente des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments, qui présentent des valeurs de pH différentes. Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou de l'interface entre le biofilm et le liquide sont mieux

oxygénées et plus riches en nutriments. Cette hétérogénéité physico-chimique s'accompagne d'une hétérogénéité métabolique qui permet la coexistence organisée d'espèces bactériennes aux propriétés métaboliques différentes et souvent complémentaires. Il en résulte une répartition biologique organisée de nombreux microorganismes dans le biofilm où peuvent cohabiter bactéries, champignons, algues et protozoaires. Les biofilms sont constitués en cinq étapes : adhésion réversible des bactéries de la phase planctonique à une surface, irréversibilité de l'adhésion correspondant à la synthèse de structures à la surface des bactéries, formation de microcolonies, puis développement de ces microcolonies traduisant le stade de maturation du biofilm et colonisation de nouvelles surfaces (**figure 9**).

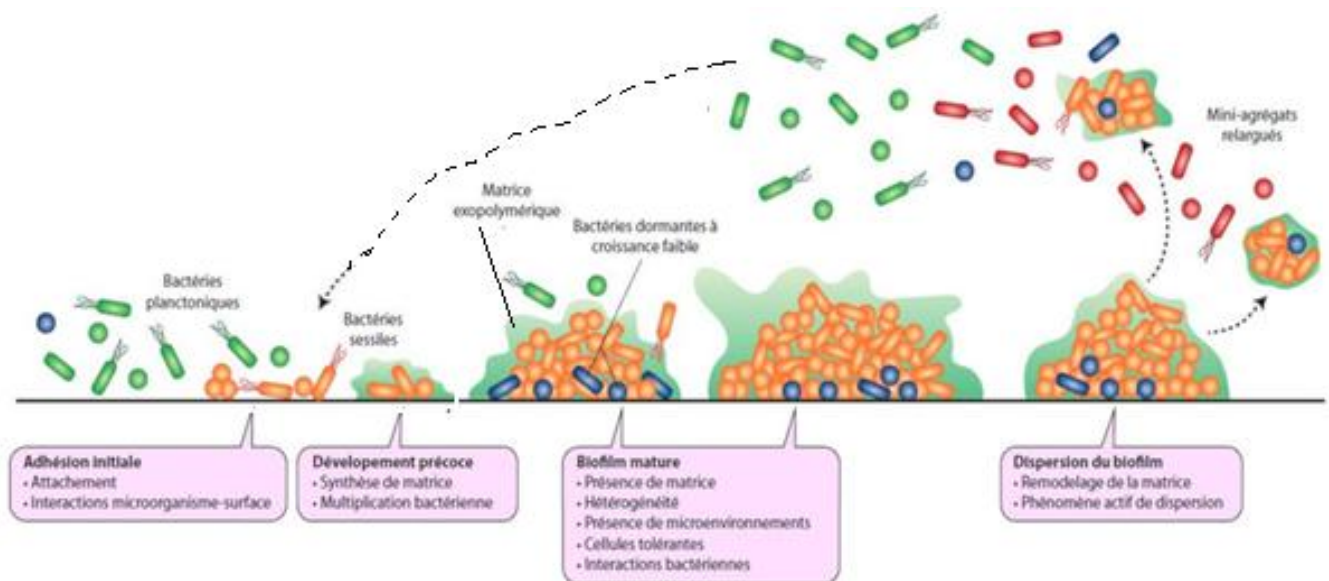


Figure 9 : Etapes de constitution de biofilm bactérien.

II.2. Invasion

Les bactéries intracellulaires exercent leur pathogénicité via la pénétration à l'intérieur des cellules. Cette invasion concerne les cellules phagocytaires et non phagocytaires.

II.2.1. Cellules phagocytaires

Les macrophages sont les cellules de la première lignée de défense de l'organisme. Ils ont l'aptitude de phagocytose des débris cellulaires et des pathogènes (**figure 10**). Entre autre, ils peuvent également présenter des antigènes aux lymphocytes T et induire une réponse immunitaire adaptée. Toutefois, le macrophage représente la cellule hôte de certaines bactéries telles que *Mycobacterium tuberculosis* et *Legionella pneumophila*. Ces deux bactéries résistent au pouvoir bactéricide exercé par le macrophage induisant ainsi la tuberculose et la legionellose qui sont deux affections pulmonaires.

La tuberculose représente l'un des plus graves problèmes de santé dans les pays en développement et, avec l'augmentation de la prévalence de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), elle est en train de devenir également un problème important dans les pays développés.

La légionellose a été identifiée pour la première fois en 1976 après une épidémie. *Legionella* est souvent présente dans le sol et l'eau douce. Les amibes présentes dans l'eau douce sont un réservoir naturel de ces bactéries. *Legionella pneumophila* peuvent être présentes dans les biofilms qui se forment à l'intérieur des conduites et des réservoirs d'eau. L'infection est habituellement contractée par l'inhalation d'aérosols provenant d'eau contaminée (fontaines décoratives, bains chauds ou des tours de refroidissement de climatisation...).

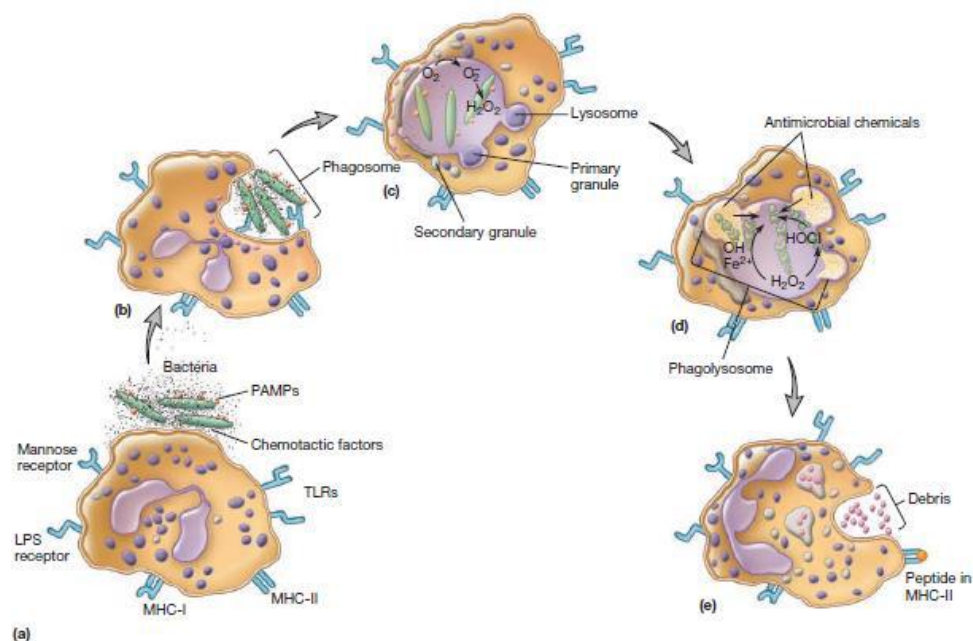


Figure 10 : Processus de phagocytose effectué par le macrophage.

II.2.2. Cellules non phagocytaires

Certaines bactéries peuvent pénétrer à l'intérieur de leurs cellules hôtes même si elles ne possèdent pas d'activité phagocytaire. En effet, ce type de bactérie oblige sa cellule hôte à former des pseudopodes selon deux mécanismes différents

A. Zipper mechanism

Les interactions moléculaires qui se suivent entre la paroi bactérienne et la membrane plasmique de la cellule hôte permettent la pénétration de la bactérie à l'intérieur de la cellule cible (**figure 11**).

Listeria monocytogenes possède deux types d'internaline qui interagissent avec les E-cadherines pour pénétrer dans les cellules épithéliales, notamment celles de la barrière intestinale. Les E-cadherines sont des protéines impliquées dans la formation des jonctions d'adhérence cellulaires.

Yersinia pseudotuberculosis possède l'invasine qui se fixe sur les récepteurs des intégrine $\beta 1$ des cellules épithéliales intestinales. Les intégrines constituent une grande famille de récepteurs hétérodimères $\alpha\beta$ transmembranaires qui interviennent dans les interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire.

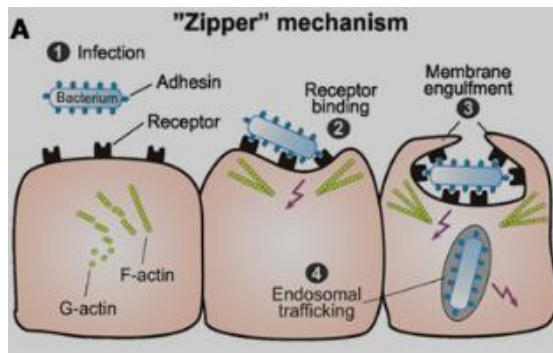


Figure 11 : Mécanisme de fermeture éclair (zipper).

B. Trigger mechanism

En utilisant un système de sécrétion de type III (T3SS), les effecteurs bactériens de *Salmonella* (SipA, SipC, SopB, SopE, SopE2) sont directement injectés dans les cellules eukaryotiques. SopE, SopE2 et SopB activent les RhoGTPases Rac/Cdc42/RhoG afin de permettre le remodelage du cytosquelette d'actine via des protéines cellulaires telles que WASP/Scar/WAVE/WASH, qui activent le complexe Arp2/3. En revanche, SipA et SipC se lient directement à l'actine. Les effecteurs SipC et SopE manipule le complexe protéique pour induire la formation de plis membranaires et l'internalisation (**figure 12**).

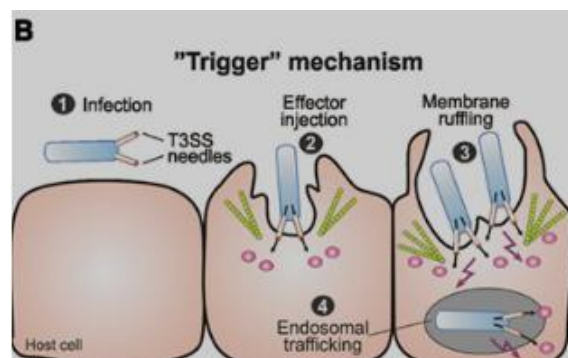


Figure 12 : Mécanisme de la gâchette (trigger).

II.3. Devenir des bactéries intracellulaires

Après l'internalisation d'un agent étranger, le phagosome formé va subir une maturation menant à la destruction de l'agent. Dans un premier temps, le phagosome fusionne avec les endosomes précoces et acquiert la petite GTPase Rab5 qui induit la fusion avec des endosomes précoces. A ce stade, le phagosome précoce est encore peu acide avec un pH 6-6.5. La protéine Rab5 recrute la kinase Vps34 (phosphatidylinositol-3 Kinase vacuolaire de classe III tri-protéine 34) et d'autres molécules qui entraînent l'accumulation de phosphatidylinositol-3 phosphate (PI3P) à

la membrane phagosome. Ce processus est essentiel à la progression de la maturation des phagosomes. Le PI3P intervient dans le recrutement de l'antigène endosomal précoce 1 (EEA1) à la membrane du phagosome, qui permet la fusion avec les endosomes. Progressivement, le phagosome perd Rab5 et acquiert la petite GTPase Rab7 qui favorise la fusion des phagosomes avec les endosomes tardifs et finalement avec les lysosomes. Rab7 permet ensuite le recrutement de protéines effectrices comme RILP (Rab7-interacting lysosomal protein), entraînant la fusion du phagosome tardif avec les lysosomes pour former le phagolysosome. Le phagosome tardif acquiert des marqueurs comme les protéines membranaires LAMP-1 qui facilitent sa fusion avec les lysosomes qui contiennent certaines hydrolases comme la cathepsine D. Tout au long de sa maturation, le phagosome s'acidifie grâce à l'accumulation de la pompe H^+ V-ATPase à la membrane, pour atteindre un pH de 4,5 (**figure 13**).

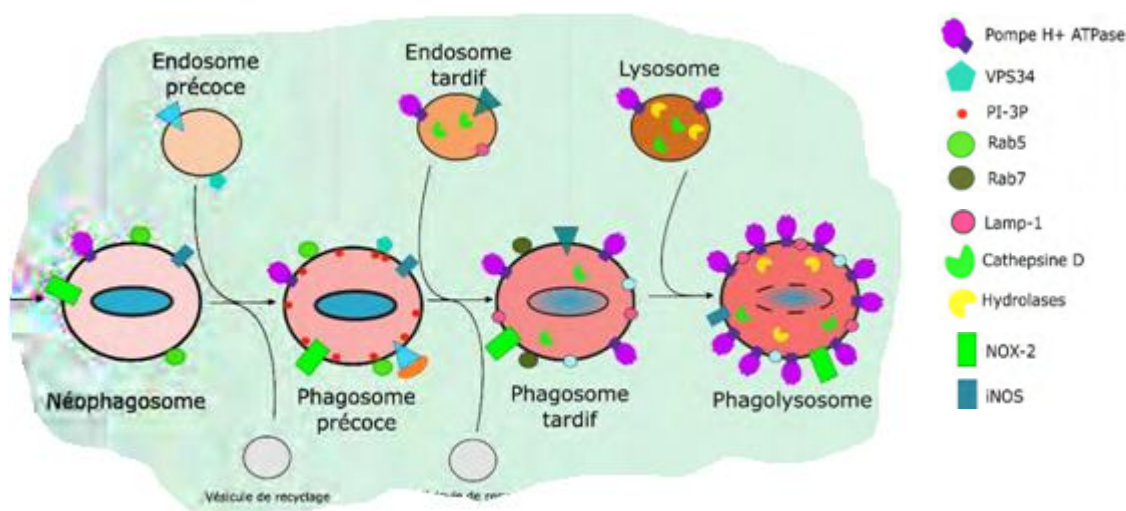


Figure 13 : Marqueurs de maturation des endosomes.

Les pathogènes intracellulaires utilisent des stratégies variées afin d'éviter la maturation de la vacuole en phagolysosome qui leur serait fatale. Ils favorisent ainsi l'élaboration d'une niche de survie et de réplication. Certaines de ces stratégies consistent à lyser la vacuole avant sa maturation permettant une multiplication dans le cytoplasme, ou à arrêter le processus de maturation de la vacuole, ou encore bloquer la voie endocytaire.

II.3.1. Echappement vers le cytosol

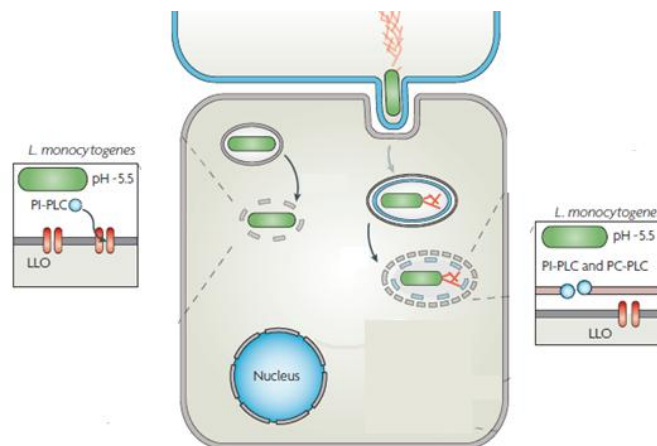
Après avoir envahi directement les cellules, *Listeria monocytogenes* échappe aux vacuoles acides en sécrétant la listeriolysine O (LLO) et la phosphatidylinositol-phospholipase C (PI PLC). La LLO s'insère dans la membrane de la vacuole et crée des pores qui permettent à la PI PLC d'accéder aux phospholipides membranaires et par conséquent *Listeria* s'échappe au cytosol (**tableau 2**).

Tableau 2 : Facteurs de virulence impliqués dans l'échappement (sortie) des bactéries de la vacuole

Stratégie	Nom	Organisme	Fonction d'échappement
Protéine formant des pores	Listériolysine	<i>Listeria monocytogenes</i>	Vacuole primaire : accès de la PI-PLC Vacuole secondaire : perforation et lyse de la membrane externe
	IpaB, IpaC	<i>Shigella flexneri</i>	Lyse de la vacuole
Phospholipase	PI-PLC		Lyse des vacuoles primaires et secondaire
	PC-PLC		Lyse de la vacuole secondaire

Dans un deuxième temps, et suite à la propagation de la bactérie de cellule en cellule, *L. monocytogenes* échappe aux vacuoles secondaires en deux étapes : la PI PLC et la phospholipase C à large spectre préférant la phosphatidylcholine (PC-PLC) dégradent la bicouche membranaire interne et la LLO perturbe la bicouche membranaire externe (**figure 14**).

La listériolysine renferme la séquence Pro- Glu-Ser-Thr, signal de protéine destinée pour la dégradation par le protéasome.

**Figure 14 :** Mécanisme d'échappement vers le cytosol utilisé par *Listeria monocytogenes*.

II.3.2. Modification de la voie endocytaire

Certaines bactéries intracellulaires qui ne s'échappent pas vers le cytosol peuvent modifier ou bloquer la voie endocytaire.

L'infection à *Mycobacterium* implique la formation d'une vacuole pathogène mycobactérienne (MPV) qui ne mûrit pas après le stade d'endosome précoce tout en étant associée aux marqueurs correspondants tels que EEA1 et Rab5. Cet arrêt au stade d'endosome précoce empêche la fusion de la MPV avec le phagolysosome et donc l'élimination de l'agent pathogène. De plus, il a été montré en 2017 que *M. tuberculosis* réprime l'acidification du phagosome en induisant la dégradation la pompe H⁺ V-ATPase. Le mécanisme n'est pas bien illustré, mais les auteurs

proposent que *M. tuberculosis* induit l'expression d'une protéine qui régule négativement la réponse cytokinique appelée CISH (Cytokin-Inducible SH2-containing protein). Elle favorise l'ubiquitination de la pompe H⁺ V-ATPase entraînant sa dégradation par le protéasome.

Un autre exemple est celui de *Salmonella enterica* qui quant à elle choisit l'option la plus couramment privilégiée, qui consiste à former une vacuole intracellulaire appelée vacuole contenant la salmonelle (SCV). Cette vacuole est caractérisée par la présence des marqueurs de l'endosome tardif, tels que les pompes H⁺ ATPases et la LAMP1 ; toutefois, le récepteur du mannose-6-phosphate et d'autres marqueurs de surface sont perdus, ce qui la différencie de l'endosome tardif. Par la suite, la SCV se juxtapose au noyau en utilisant le réseau de microtubules de la cellule hôte et tire sa nutrition de l'appareil de Golgi. Donc, *Salmonella* arrête la voie endosomale de l'hôte au stade de l'endosome tardif.

II.3.3. Mise à l'écart de la voie endocytaire

A/ Cas de *Legionella*

Les légionelles pénètrent dans la cellule soit par phagocytose conventionnelle soit par phagocytose par enroulement assez typique des légionelles (**figure 15**). Au cours de ce type de phagocytose, la cellule hôte vient enrouler la bactérie grâce à un pseudopode. La vacuole contenant *Legionella* (LCV) porte des marqueurs associés à l'autophagosome tels que Atg7 et Atg8 et mûrit ensuite pour former un organe semblable à un réticulum endoplasmique rugueux et se positionne finalement, entourée de ribosomes, dans la région périnucléaire. Les protéines Icm/Dot, impliquées dans la virulence bactérienne, élaborent un appareil de sécrétion de type IV assurant l'exportation de facteurs de virulence dans le cytoplasme des macrophages infectés. DotA, une protéine de la membrane interne de *Legionella* joue un rôle essentiel dans l'inhibition de la maturation de la vacuole en phagolysosome : en l'absence de DotA, la bactérie se situe en effet dans un compartiment enrichi en Rab7 et LAMP1, des marqueurs des membranes lysosomales.

B/ Cas de *Chlamydia*

Juste après son internalisation, *Chlamydia* qui est une bactérie intracellulaire stricte se localise dans une vacuole appelée inclusion de *Chlamydia*. Cette inclusion est complètement isolée de la voie endocytaire de la cellule hôte.

Les inclusions récentes s'associent aux microtubules et sont acheminées vers le centre d'organisation des microtubules (MTOC) de manière dépendante de la dynéine. Le cytosquelette de la cellule hôte est composé de microtubules polaires, dont l'extrémité négative est située au MTOC. Cette configuration permet au complexe moteur dyneine de transporter le fardeau endosomal le long des microtubules vers ce site central. Les vacuoles contenant la bactérie interagissent alors avec la chaîne légère de la dynéine via la protéine CT850 de *Chlamydia trachomatis* (**figure 16**).

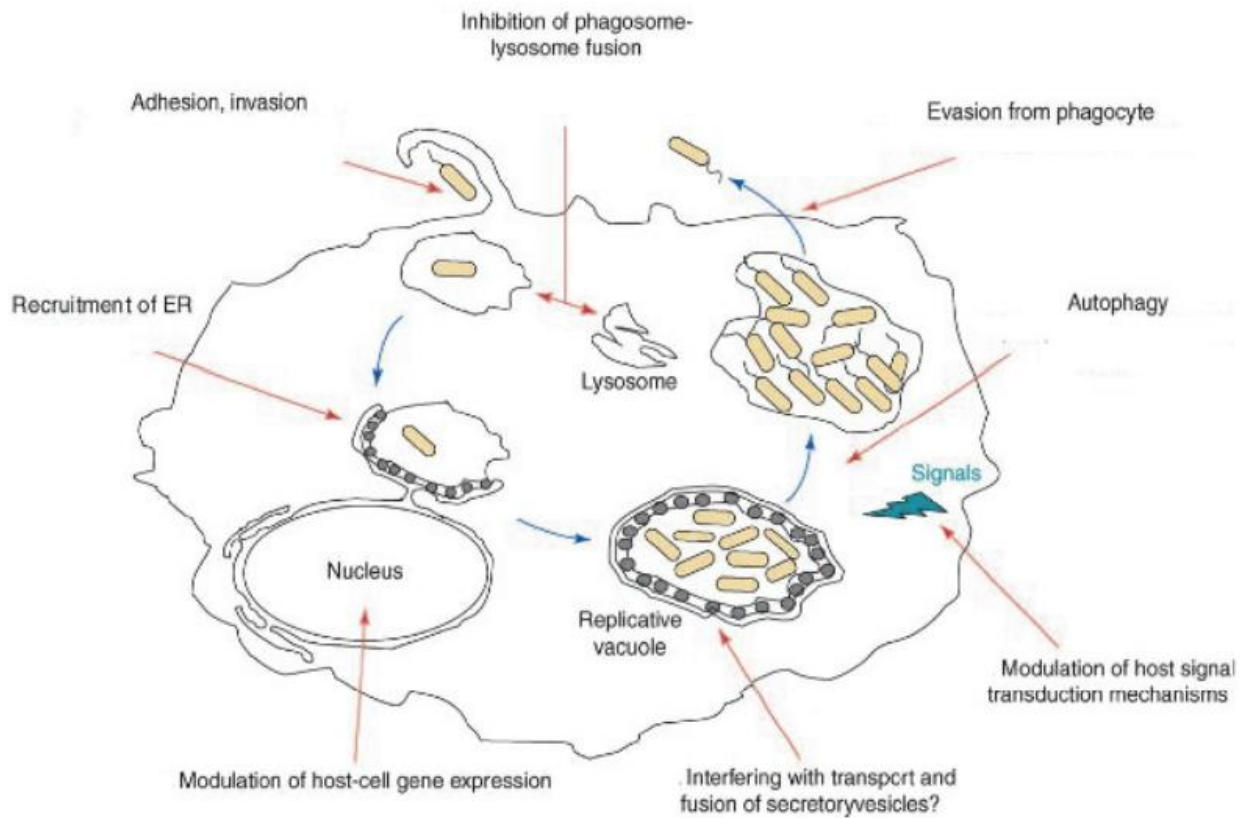


Figure 15 : Cycle intracellulaire de *Legionella pneumophila*

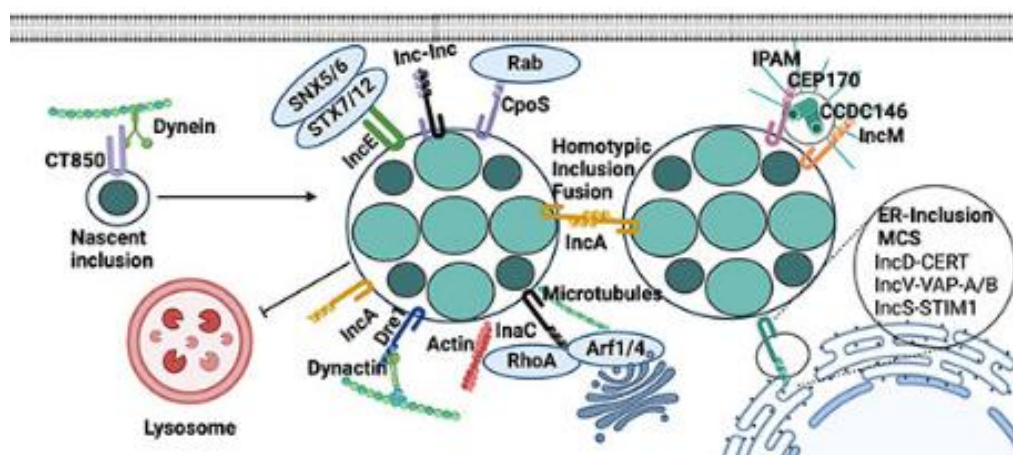


Figure 16 : Rôle des effecteurs de *Chlamydia trachomatis* dans la manipulation des processus cellulaires.

La protéine CT850 peut coordonner à la fois le cytosquelette et la signalisation dépendante des kinases de la famille Src afin de favoriser un transport efficace des inclusions. Au niveau de MTOC, la protéine d'inclusion pour l'assemblage de l'actine (InaC) (CT813) agit comme un régulateur important du positionnement des microtubules et de l'appareil de Golgi autour de l'inclusion. Certaines souches de *Chlamydia* s'associent quant à elles aux mitochondries dont elles pourraient tirer leur énergie.

C/ Cas de *Brucella*

Suite à leurs phagocytose par les macrophages, les Brucelles résident pendant les 8 à 12 premières heures suivant l'infection dans une vacuole (*Brucella*-containing vacuole ; BCV) liée à la membrane qui subit une maturation endosomale via des interactions séquentielles avec les endosomes précoces et tardifs et les lysosomes pour devenir un eBCV acidifié.

La petite GTPase Rab7 de l'hôte contribue à la maturation de l'eBCV, fournissant des signaux physicochimiques favorisant l'expression du T4SS VirB. Cet effecteur bactérien transloque les protéines effectrices responsables d'une part, des interactions de l'eBCV avec le réticulum endoplasmique et d'autre part, de l'acquisition des membranes dérivées de réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi. Ces événements conduisent à la biogenèse de BCV permissifs à la réplication, appelés rBCV dont des protéines de l'hôte (Sar1, IRE1 α , Yip1A, Atg9 ...) contribuent à la biogenèse de ces rBCV.

Les bactéries subissent ensuite une réplication intensive dans les rBCV entre 12 et 48 heures après l'infection, les rBCV sont capturées dans des structures de type autophagosomes d'une manière dépendante du VirB T4SS pour devenir des aBCV. La formation des aBCV nécessite les protéines cellulaires de l'hôte dites protéines d'autophagie (beclin1, ULK1 et Atg14).

Les aBCV présentent les caractéristiques des autolysosomes et sont nécessaires à la sortie des bactéries et aux nouveaux cycles d'infections intracellulaires (**figure 17**).

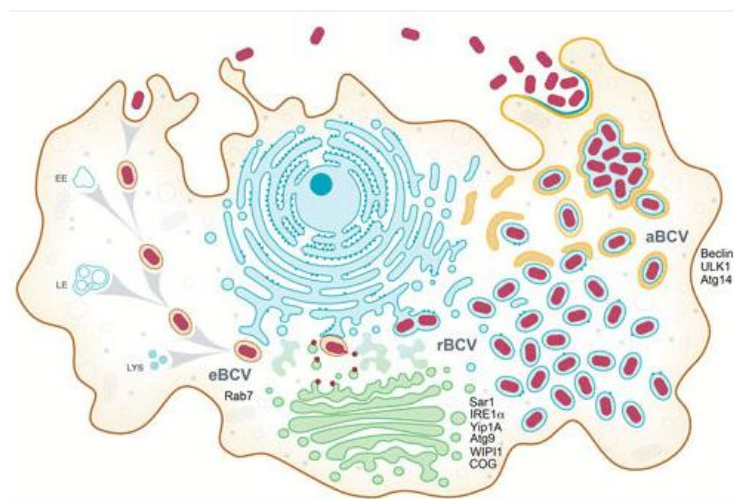


Figure 17 : Cycle de vie intracellulaire de *Brucella* et modification de la vacuole contenant la bactérie.

II.4. Stratégies de sortie utilisées par les bactéries intracellulaires

Une fois que les cellules hôtes sont épuisées, les bactéries intracellulaires quittent leurs cellules cibles pour réinfecter d'autres. Différentes stratégies de sortie sont décrites ci-dessous (figure 18, tableau 3) :

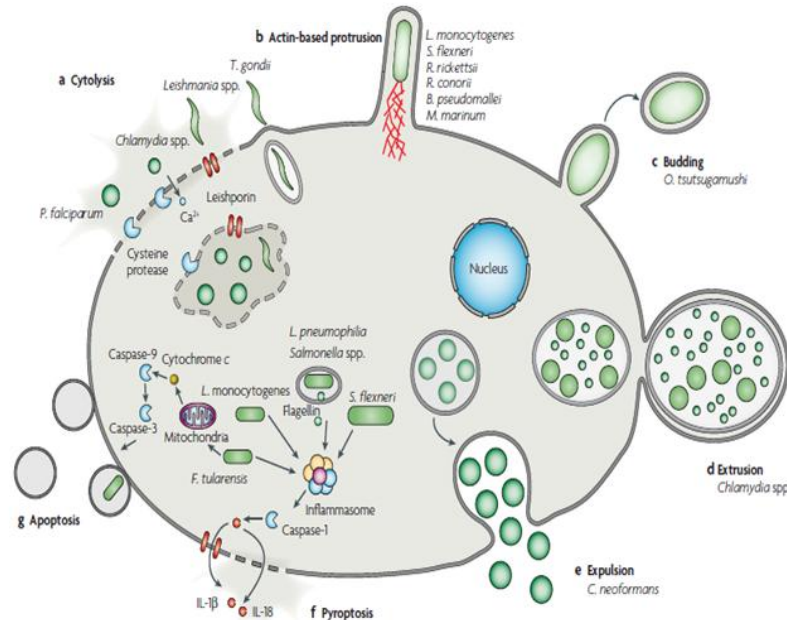


Figure 18 : Stratégies de sortie des bactéries intracellulaires de leurs cellules hôtes.

Tableau 3 : Facteurs de virulence impliqués dans l'échappement (sortie) des bactéries de la cellule hôte.

Stratégie	Nom	Organisme	Fonction d'échappement
Cytolyse	Cystéine protéase	<i>Chlamydia</i>	Lyse de la vacuole et de la cellule
Protrusion	ActA	<i>Listeria monocytogenes</i>	Imite le N-WASP ; Activation du complexe Arp2/3
	VirG (IcsA)	<i>Shigella flexneri</i>	Imite le Cdc42 ; Activation de N-WASP et de complexe Arp2/3
Extrusion	??	<i>Chlamydia</i>	Sortie des bactéries liées à la membrane
Bourgeonnement	??	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	Sortie individuelle d'une seule bactérie liée à la membrane
Expulsion	??	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Exocytose des phagosomes contenant le pathogène.
Pyroptose	IpaB Flagelline flagelline	<i>Shigella flexneri</i> <i>Salmonella</i> <i>Legionella pneumophila</i>	Activation de l'inflammasome IPAF
Apoptose	??	<i>Francisella tularensis</i>	Activation de la voie intrinsèque de l'apoptose

II.4.1. Cytolyse

La cytolysse correspond à la rupture destructrice et séquentielle, de la vacuole et des membranes cellulaires. Cette rupture est effectuée à cause des protéases et des protéines formant des pores.

II.4.2. Protrusion basée sur la polymérisation des filaments d'actine

Plusieurs bactéries, y compris *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* et *Mycobacterium marinum*, exploitent la protrusion à base d'actine qui conduit à la sortie d'une seule bactérie en utilisant la force de polymérisation de l'actine pour percer la membrane cellulaire et forcer son intrusion dans une cellule adjacente.

II.4.3. Bourgeonnement

Le bourgeonnement est une stratégie de sortie utilisé par *Orientia tsutsugamushi*, où une seule bactérie est entourée par la membrane plasmique.

II.4.4. Extrusion

La libération de *Chlamydia* spp. se produit lorsque la grande vacuole renfermant *Chlamydia* se contracte et se libère hors de la cellule ; la vacuole ainsi extrudée est entourée par le cytosol et la membrane plasmique.

II.4.5. Expulsion

L'expulsion phagosomale de *Cryptococcus neoformans* s'effectue par la fusion de la vacuole volumineuse avec la membrane plasmique par un mécanisme exocyttaire non spécifié.

II.4.6. Apoptose

L'apoptose est induite par certaines bactéries dont *Francisella tularensis* en utilisant la voie intrinsèque d'activation. Cette voie implique la libération du cytochrome c des mitochondries et l'activation de la caspase initiateur 9 et de la caspase effectrice 3. La molécule bactérienne (ou les molécules) responsable de l'induction apoptotique est inconnue.

II.4.7. Pyroptose

La pyroptose pro-inflammatoire est définie par la détection de molécules bactériennes (flagelline de *Legionella pneumophila* et *Salmonella* spp. et molécules inconnues de *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes* et *Francisella tularensis*) par l'inflammasome de l'hôte. L'inflammasome active la caspase 1 par protéolyse, conduisant à l'activation et à la sécrétion de l'IL-1 β et de l'IL 18. La sécrétion de ces cytokines se produit initialement par un pore dépendant de la caspase 1, puis est libérée lors de la lyse des cellules nécrotiques.

Cours 4 : Toxines bactériennes

I. Introduction

En plus de l'adhésion et de l'invasion, certaines espèces bactériennes exercent leur pouvoir pathogène en sécrétant des toxines. Le pouvoir pathogène peut être dû uniquement à l'effet de la toxine sans intervention du germe.

L'étude du mode d'action de ces molécules possède un double intérêt. Elle s'intègre d'abord à l'étude des interactions entre les bactéries et leur hôte. Par ailleurs, les toxines constituent des exemples spectaculaires de détournement du fonctionnement des cellules eucaryotes au profit des bactéries. Les toxines sont également plus ou moins immunogènes : elles sont capables d'induire une réponse immunitaire. Les toxines se subdivisent en deux catégories : les endotoxines et les exotoxines.

II. Endotoxines

II.1. Localisation et structure

Les endotoxines dont les lipopolysaccharides se localisent sur la face externe de la membrane externe des bactéries Gram (-) (**figure 19a**). Le lipopolysaccharide est constitué par une chaîne O-oligosaccharidique hautement variable, et qui est à l'origine de la spécificité sérologique. Cette partie constitue la cible principale pour les réponses immunitaires. Un noyau préservé renferme des sucres particuliers tels que le Kdo (3-désoxy-D-manno-oct-2-ulosonique). Enfin, la partie lipidique fortement conservée, représentée par le lipide A sert à l'ancrage de la molécule dans la membrane. Le lipide A est à l'origine de la toxicité (**figure 19b**).

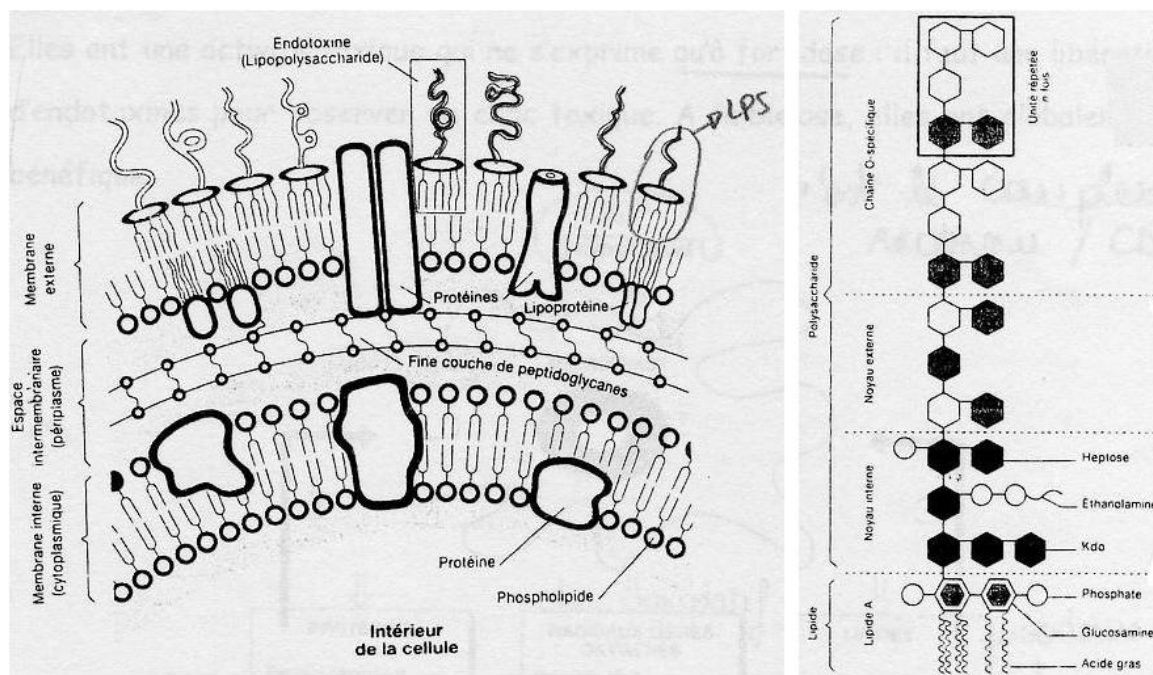


Figure 19 : (a) Localisation de lipopolysaccharide au sein de la paroi bactérienne. (b) Structure moléculaire de lipopolysaccharide .

II.2. Effets des endotoxines

Les endotoxines sont libérées suite à la lyse des bactéries qui peut intervenir lors d'une septicémie à bacille Gram négatif traitée massivement par des antibiotiques. Une fois les endotoxines sont libérées dans le sang, elles provoquent un choc toxique, (ou choc endotoxinique ou choc septique).

Les endotoxines sont très pyrétiques comme elles peuvent induire des atteintes vasculaires, avec vasodilatation et augmentation de la perméabilité des vaisseaux, d'où la formation d'œdème et une chute générale de la pression artérielle. Entre autre, des atteintes de l'hémostase telle que la dégranulation des plaquettes activée de façon anarchique dans les vaisseaux, provoquant une coagulation intravasculaire disséminée sont observées.

Les symptômes précédents sont la conséquence de l'hyperactivation des macrophages ; où l'endotoxine se lie à une protéine appelée LBP (pour Lipopolysaccharide Binding Protein) et ce complexe se fixerait sur le CD14 (co-récepteur de TLR4). Ceci aurait pour conséquence la libération de nombreux médiateurs de l'inflammation par le macrophage.

Les endotoxines ont une activité toxique qui ne s'exprime qu'à forte dose : il faut une libération massive d'endotoxines pour observer un choc toxique. A faible dose, elles ont globalement un effet bénéfique (**figure 20**).

III. Exotoxines

Une exotoxine est une toxine produite par une bactérie lorsqu'elle est encore vivante, contrairement à une endotoxine qui, elle, est produite lors de la croissance ou lors de la lyse cellulaire. L'exotoxine est de nature protéique, et n'est généralement produite que par les bactéries à Gram positif. L'exotoxine est pathogène et très immunogène pour des doses plus faibles (de l'ordre du µg/L) qu'une endotoxine (de l'ordre du mg/L) (**tableau 4**). Les gènes de virulence codant pour les exotoxines sont souvent portés par des plasmides. Ces exotoxines interagissent avec des récepteurs membranaires localisés sur les cellules cibles eucaryotes ; où elles peuvent induire une lyse cellulaire, une perturbation des fonctions cellulaires et ce même à distance du foyer infectieux.

III.1. Classification des exotoxines

Les exotoxines sont classées en trois types selon leur localisation ; il s'agit d'exotoxines vraies, d'exotoxines cytoplasmiques et d'exotoxines mixtes. Les exotoxines vraies: elles sont sécrétées hors de la bactérie telles que les toxines diphtériques, staphylococciques.... Tandis que, les exotoxines cytoplasmiques sont quant à elles localisées dans le cytoplasme et libérées uniquement lors de la lyse de la bactérie, c'est le cas de la toxine cholérique. Finalement, le dernier type d'exotoxines sont présentes dans le cytoplasme et sécrétées hors de la bactérie. L'exemple de ce type d'exotoxine est les toxines des *Clostridium*.

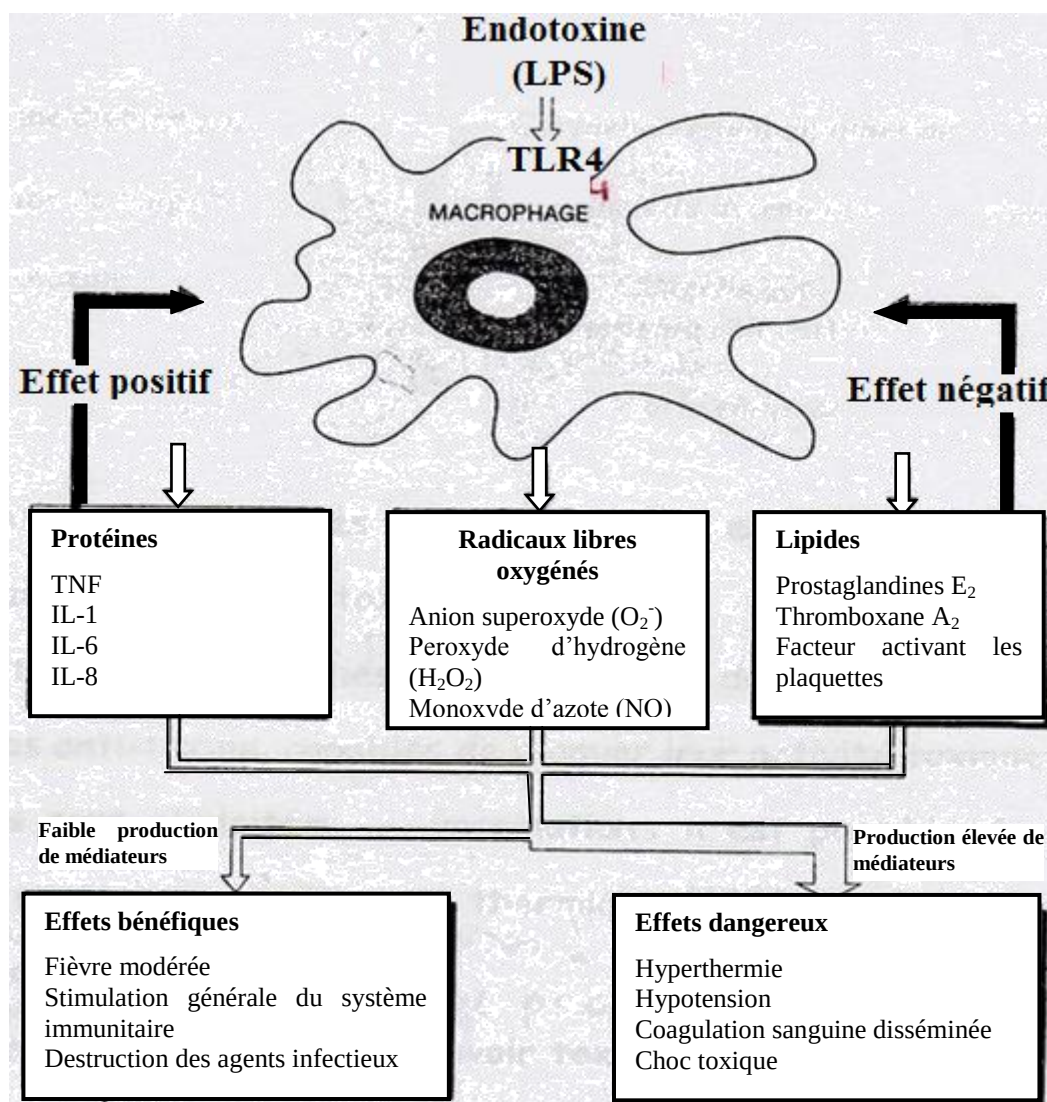


Figure 20 : Effets des endotoxines sur l'organisme.

Tableau 4 : Comparaison entre endotoxine et exotoxine

	Endotoxine	Exotoxine
Nature	Lipidique (lipide A du LPS)	Protéique
Effet de la chaleur	Peu sensible (pas d'inactivation)	Thermosensibles (facilement dénaturées)
Immunogénicité	Peu immunogènes (pas d'anticorps anti endotoxines)	Très immunogènes (anticorps anti-toxine) anatoxines : par traitement thermique (40°C, pendant 2 semaines) ou chimique (formol ou glutaraldéhyde)
Source de la toxine	Uniquement Gram négatif	Gram positif et négatif
Localisation de la toxine	Membrane externe de la bactérie	Extracellulaire (plutôt Gram positif) Intracellulaire (plutôt Gram négatif)
Dose	Pour être active : forte dose	Pour être active : faible dose

Les exotoxines peuvent également être classées selon le tissu ou la cellule qu'elles altèrent en neurotoxines (toxine botulinique ou tétanique) ou en entérotoxines (toxine cholérique, toxine staphylococcique)... Comme elles peuvent être classées selon leur effet biologique en toxines dermonécrotiques, toxines œdémogènes (cas de la toxine de *Bacillus anthracis*) et cytolysines ou hémolysines. Une dernière classification peut être effectuée selon leur mécanisme d'action au niveau moléculaire. En effet, il s'agit de toxines désorganisant les membranes, toxines à activité ADP-ribosyltransférase, des métallo-protéases et des superantigènes...

III.2. Mécanismes d'actions moléculaires des exotoxines

III.2.1. Toxine cholérique

La toxine cholérique est une toxine sécrétée par *Vibrio cholerae*. C'est une entérotoxine de type AB ; elle est formée par 5 sous unités B responsable de la reconnaissance du Glycolipide membranaire ganglioside GM1 ; et 1 sous unité A avec deux domaines A1 et A2 dont le domaine A1 est douée d'activité toxique. Une fois la toxine interagit avec son récepteur, le complexe protéique subit l'endocytose ; et est ensuite transporter vers le réticulum endoplasmique où la sous unité A1 est libérée dans le cytoplasme. Cette protéine A1 (la toxine proprement dite) est douée d'une activité ADP- ribosyltransferase ; elle active d'une façon inappropriée la sous unité alpha de la grande protéine G par ADP-ribosylation. Ainsi la sous unité alpha activée incite l'adenylatecyclase à synthétiser une grande concentration du second messenger AMPc. Ce dernier se fixe sur la protéine kinase A qui a pour conséquence l'ouverture des canaux membranaires faisant sortir les ions Cl^- . La sortie de Cl^- est associée avec la sortie de H_2O induisant ainsi une diarrhée sévère (**figure 21**).

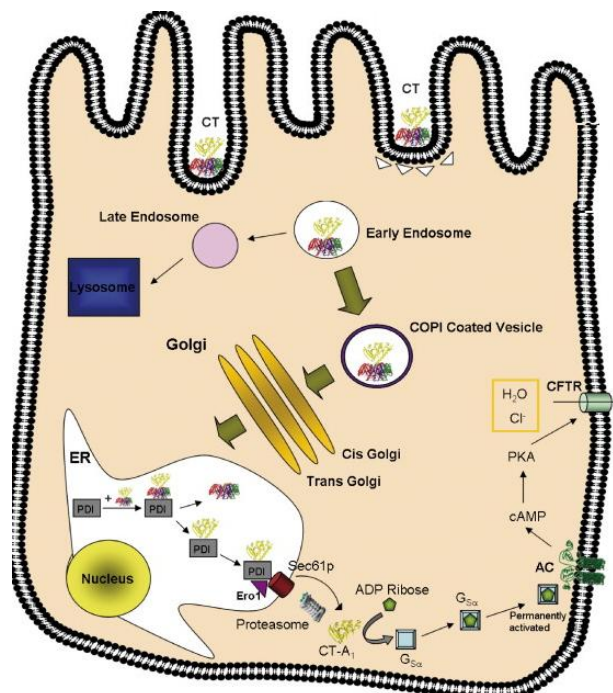


Figure 21 : Mécanisme d'action de la toxine cholérique.

III.2.2. Toxine tétanique

a/ Structure

La toxine tétanique est sécrétée par *Clostridium tetani*, qui est une bactérie Gram positif anaérobie stricte. La tétanospasmine est constituée de deux chaînes polypeptidiques : une chaîne légère et une chaîne lourde reliées entre elles par un pont disulfure. La chaîne légère (la toxine proprement dite) possède une activité enzymatique endopeptidasique. Tandis que la chaîne lourde est renferme deux domaines (domaine N-terminal (HN) et domaine C-terminal (HC)) (**figure 22**). Le premier domaine assure la libération de la chaîne légère ; tandis que le deuxième domaine assure quant à lui la reconnaissance de récepteur localisé sur les cellules hôtes.

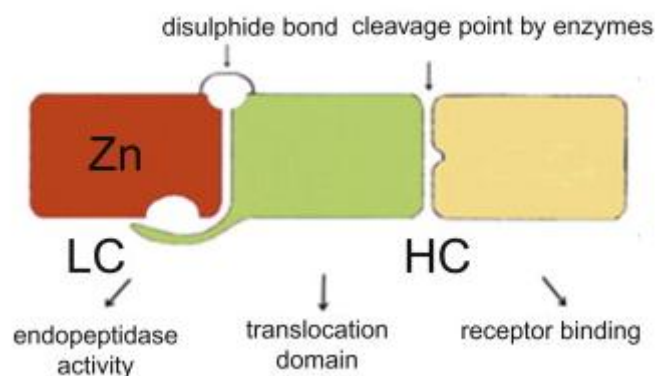


Figure 22 : Structure et fonction de la tétanospasmine.

b/ Mécanisme d'action

La tétanospasmine agit au niveau de deux cellules hôtes : le motoneurone et la cellule de Renshaw. Cette toxine se lie à un ganglioside membranaire de type GTb1 au niveau de la membrane plasmique de la terminaison axonale d'un motoneurone par l'intermédiaire de son fragment HC. Par la suite la toxine associée à son récepteur est internalisée par endocytose. Elle se retrouve dans une vésicule qui migre dans l'axone du motoneurone, par transport rétrograde, vers le corps cellulaire. La toxine est ensuite libérée par exocytose dans le milieu interstitiel du centre nerveux, la moelle épinière.

La tétanospasmine libérée dans la moelle épinière peut alors se fixer à la membrane plasmique d'une terminaison axonique d'un neurone de Renshaw par l'intermédiaire de son fragment HC. La toxine fixée est ensuite internalisée par endocytose et se retrouve dans le compartiment endosomique de la cellule de Renshaw. L'acidification pourrait induire un changement de conformation de la molécule qui deviendrait alors capable par l'intermédiaire de son domaine HN de participer au transfert de sa chaîne L vers le cytosol du neurone (**figure 23**). Une fois dans le cytosol du neurone de Renshaw, la chaîne L catalyse l'hydrolyse, via son activité endopeptidasique, d'une liaison peptidique de la synaptobrevine 2. Cette dernière est une petite protéine intégrée à la membrane de la vésicule synaptique. Ainsi coupée, la synaptobrevine 2 ne peut plus s'associer avec

la syntaxine et la snap-25 pour former le complexe impliqué dans le rapprochement vésicule/membrane présynaptique (**figure 24**). La formation de ce complexe est indispensable pour permettre ensuite l'exocytose des neurotransmetteurs inhibiteur tels que la glycine et l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) au niveau de la jonction synaptique.

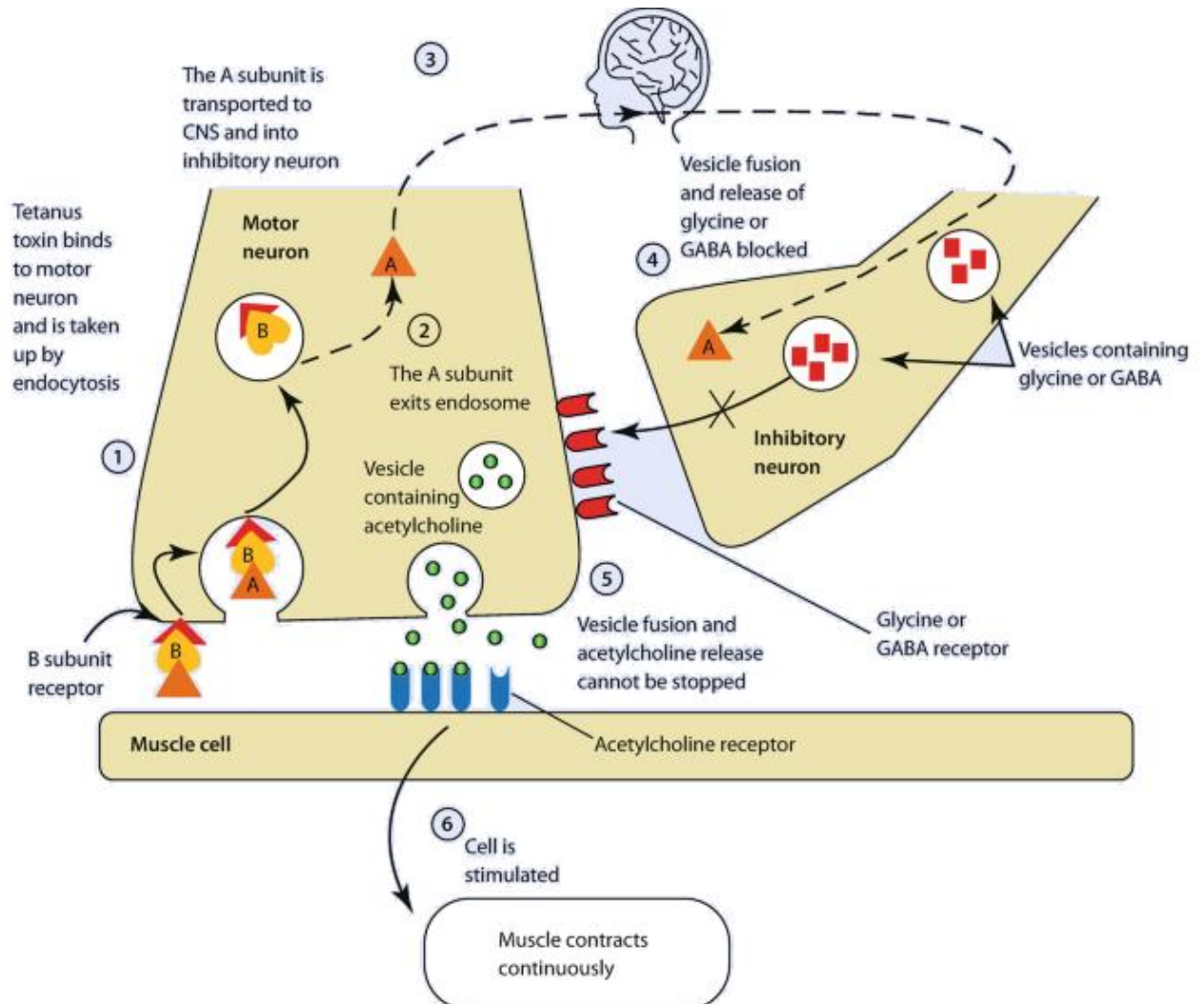


Figure 23 : Mode d'action de la tétanospasmine.

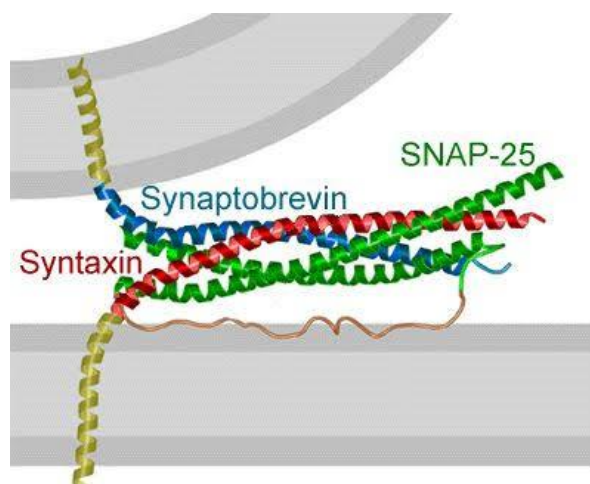


Figure 24 : Interactions moléculaires de complexe SNARE.

La levée d'inhibition entraîne une hyperactivité des motoneurons α , traduite par une rigidité musculaire généralisée et une paralysie spastique. La toxine altère complètement la commande motrice de la contraction des muscles induisant des spasmes, des convulsions dont les effets peuvent conduire au décès, le plus souvent à cause de troubles respiratoires.

III.2.3. Toxine botulique

La toxine botulique est une neurotoxine produite par *Clostridium botulinum* qui est une bactérie anaérobie. L'ingestion de cette neurotoxine provoque une intoxication alimentaire grave parfois mortelle : le botulisme (paralysie généralisée). 7 sérotypes de cette neurotoxine (A à G) sont décrits mais seuls les sérotypes A et B sont actuellement utilisés en clinique. Le botulisme humain est essentiellement associé aux toxinotypes A, B, E et F.

Les toxines botuliques sont des polypeptides neurotropes thermolabiles composées d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère. Indépendamment du mode de contamination, la toxine diffuse par voies hématogène et lymphatique puis se fixe de manière irréversible sur les neurones pré-synaptiques au niveau des jonctions neuromusculaires.

La toxine botulique est constituée d'une seule chaîne polypeptidique, qui ne devient biologiquement active qu'une fois scindée en une chaîne lourde et une chaîne légère liées entre elles par un pont disulfure. Contrairement à la tétanospasmine, la toxine botulique clive la protéine SNAP-25 bloquant ainsi la libération d'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques (**figure 25**). Ce blocage se traduit par une paralysie flasque des muscles.

La durée de demi-vie intracellulaire des neurotoxines est de l'ordre de plusieurs semaines à plusieurs mois en raison de leur capture par les terminaisons nerveuses, et ainsi de leur protection des mécanismes extracellulaires d'élimination et de neutralisation par les anticorps.

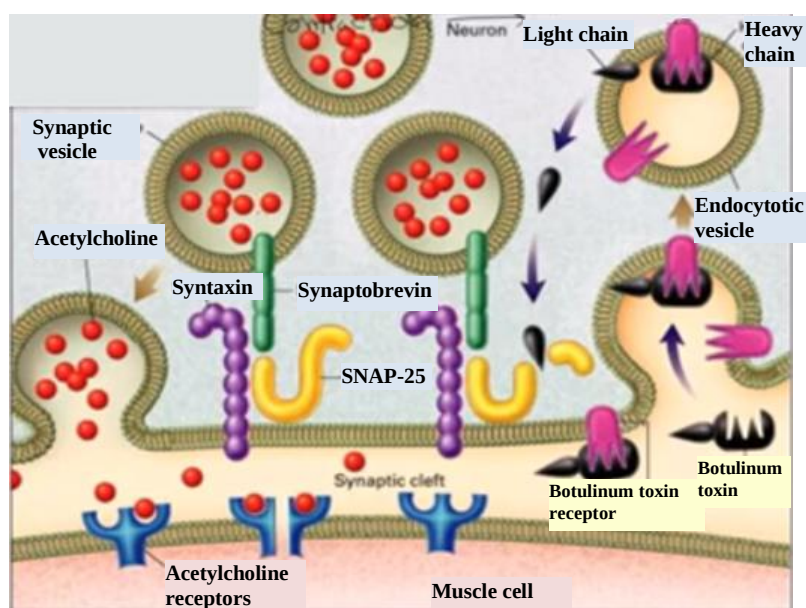


Figure 25 : Mécanisme d'action de la toxine botulique.

III.2.4. Toxine du charbon

Lors d'une infection par voie pulmonaire, *Bacillus anthracis* induit en quelques jours une toxémie associée à un état septique avec détresse respiratoire d'évolution rapide vers la mort en l'absence de traitement. *Bacillus anthracis* sécrète trois protéines et donnent par combinaison binaire deux toxines, l'une œdémogène et l'autre létale (**figure 26**). Les trois gènes sont portés par le plasmide pXO1.

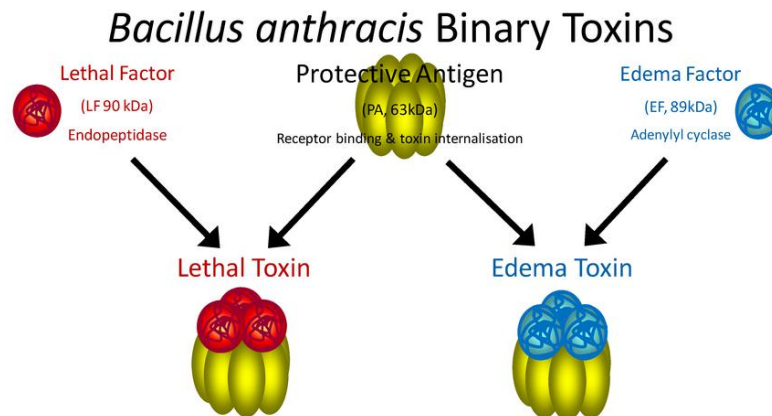


Figure 26 : Structure de la toxine de charbon.

L'antigène protecteur (PA) est le composant commun ; il se fixe sur un récepteur spécifique, protéine ubiquiste située à la surface de toutes les cellules de l'hôte. Après fixation, PA est clivé par la furine, étape nécessaire à l'association de sept molécules de PA en un heptamère permettant son interaction avec chacun des deux autres composants, eux-mêmes doués d'activités enzymatiques : le facteur œdémogène (EF) et le facteur létal (LF). Le complexe toxique est alors internalisé dans la cellule atteinte via une vésicule d'endocytose, puis un changement de conformation de l'heptamère de PA conduit à la translocation de EF et/ou LF dans le cytosol de la cellule hôte.

La toxine EF est une adénylate-cyclase dont l'activité dépend d'une protéine exclusivement eucaryote, la calmoduline. L'activité intracellulaire de cette toxine se traduit par une élévation incontrôlée du taux d'AMP cyclique, entraînant de nombreux désordres, dont une modification de la perméabilité cellulaire. Cela conduit à la formation d'œdèmes.

LF est une métalloprotéase à zinc qui hydrolyse spécifiquement des protéines cellulaires impliquées dans des cascades de signalisation telles les MAPKK, MKK...aboutissant à la nécrose (**figure 27**). Les macrophages se sont révélés sensibles à l'action de cette toxine *in vitro*. Par ailleurs, les deux toxines agissent de manière synergique dans l'hôte en potentialisant leurs effets respectifs

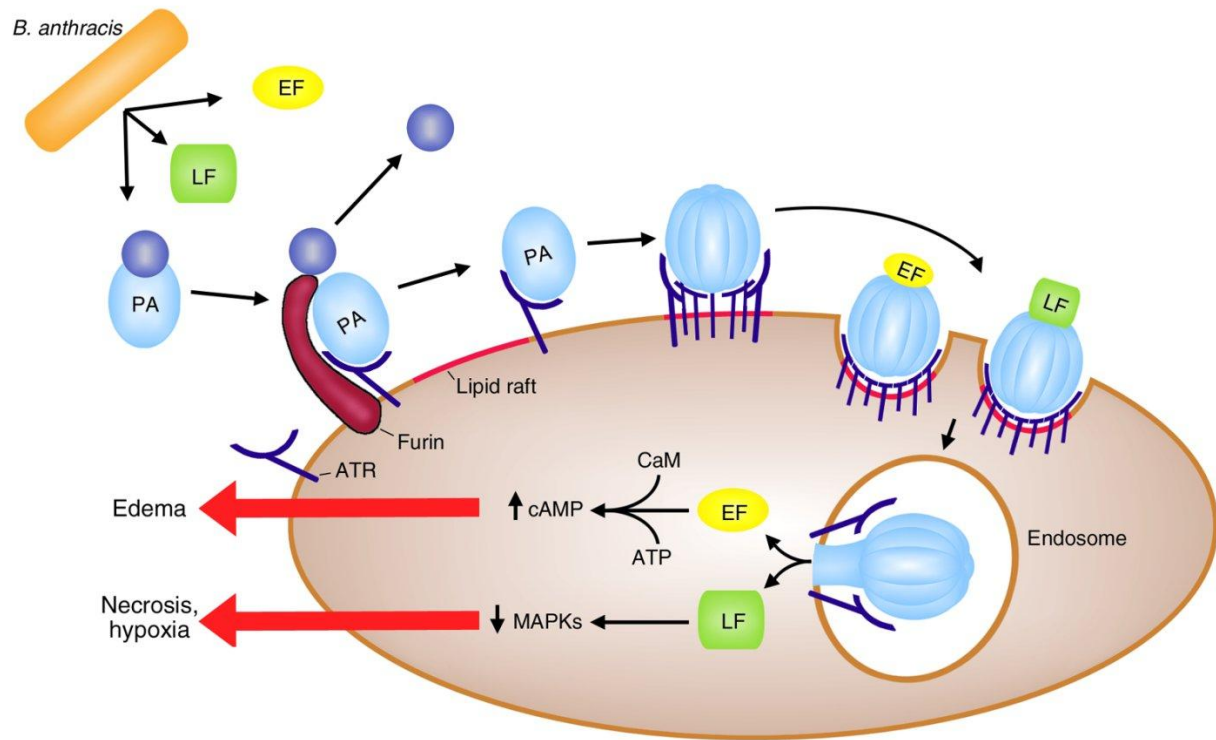


Figure 27 : Mode d'action de la toxine de charbon.

Cours 5 : Mécanismes d'échappements bactériens

L'infection bactérienne résulte du déséquilibre entre les facteurs de virulence de la bactérie et l'efficacité de la réponse immunitaire. Pour pouvoir survivre et persister dans l'organisme hôte, les bactéries ont développé plusieurs mécanismes d'échappement :

I. Echappement à l'immunité naturelle

I.1. Echappement au complément

Certaines bactéries peuvent s'échapper à l'action lytique du complément (**figure 28**) ; et ceci à travers plusieurs mécanismes y compris : l'inactivation du complément, la prévention de son action et encore l'utilisation des composantes du complément pour faciliter leur pénétration à l'intérieur des cellules hôtes.

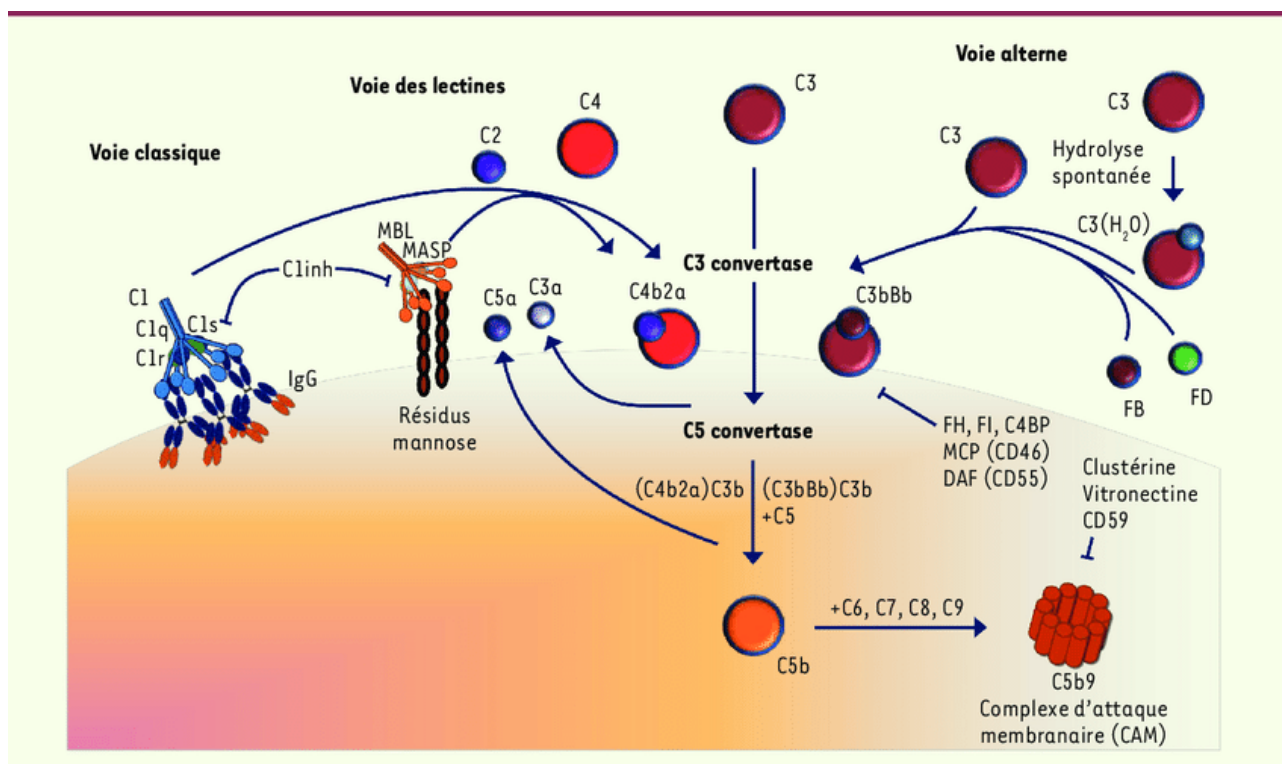


Figure 28 : Voies d'activation et de régulation de complément.

L'inactivation du complément est assurée par la capsule bactérienne formée le plus souvent par des polysaccharides. Cette capsule protège la bactérie de l'action du complément en inhibant l'activation de la voie alterne. En effet, les entérobactéries inhibent la formation de la C3 convertase. De même, la protéine M de *Streptococcus* et la protéine Erp de *Borrelia* sont capables de fixer le facteur régulateur H et ainsi d'inactiver le facteur B. *Borrelia burgdorferi* exprime sur sa membrane une protéine "CD59-like" qui se lie à C8b et C9 en complexe et inhibe la formation de complexe d'attaque membranaire (**figure 29**).

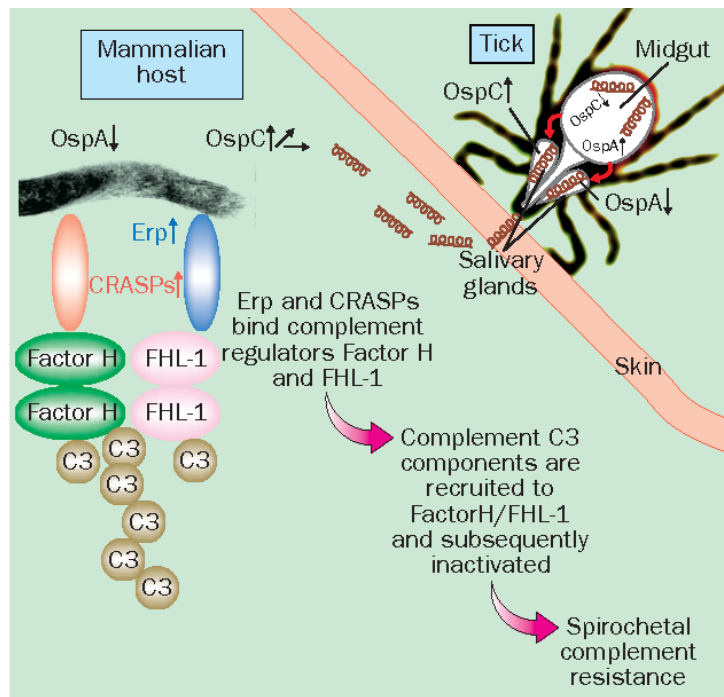


Figure 29 : Effet inhibiteur des protéines de virulence de *Borrelia burgdorferi* sur le complément.

Le deuxième mécanisme est la prévention de l'action du complément. Les pneumocoques qui sont des bactéries Gram + et possédant une couche épaisse de peptidoglycan ont la capacité de gêner la fixation du complexe d'attaque membranaire C5b-9. Alors que *Neisseria* qui est une bactérie Gram - a la capacité de fixer l'acide sialique sur le lipopolysaccharide bactérien (LPS) ; empêchant ainsi la formation de C3 convertase et par conséquent l'activation du complément. Pour comprendre l'effet de l'acide sialique et son utilité à empêcher la formation de la C3 convertase ; il est nécessaire de discuter la relation entre les facteurs du complément de la voie alterne (B et H). Il existe en effet une compétition pour la liaison à C3b entre B et H, protéine inhibitrice plasmatique qui empêche la formation de la C3 convertase. Le caractère activateur ou non activateur d'une surface dépend donc de l'affinité du facteur H pour le C3b déposé sur cette surface. Certaines caractéristiques chimiques comme une forte teneur en acide sialique renforcent l'affinité de cette interaction et confèrent un caractère non activateur à la surface considérée.

Les bactéries intracellulaires exploitent le fait que les composantes du complément ont des récepteurs sur la membrane plasmique pour envahir leurs cellules hôtes.

I.2. Echappement aux phagocytes

Certaines bactéries développent des stratégies pour contourner l'effet des cellules phagocytaires ; lesquelles jouent un rôle primordial dans l'immunité antibactérienne. Ce contournement s'effectue à travers plusieurs mécanismes :

I.2.1. Inhibition du chimiotactisme

La plupart des bactéries extracellulaires sécrètent des toxines. Ces toxines bactériennes ont la capacité d'inhiber le processus du chimiotactisme. La toxine cholérique, la toxine pertussique et la toxine de *Streptococcus* (streptolysine O) représentent l'exemple typique des toxines ayant un effet inhibiteur sur le recrutement des phagocytes.

Les bactéries Gram + dégradent l'anaphylatoxine C5a dont la fonction est le recrutement des cellules phagocytaires.

I.2.2. Évitement de la phagocytose

Certaines bactéries extracellulaires qui ne peuvent pas inhiber le chimiotactisme forment des agrégats bactériens qui les protègent de la phagocytose (ex : *Actinomyces*). D'autres bactéries telles que le genre *Yersinia* empêchent la phagocytose en modulant le signal phagocytaire induisant la dépolymérisation des filaments d'actine.

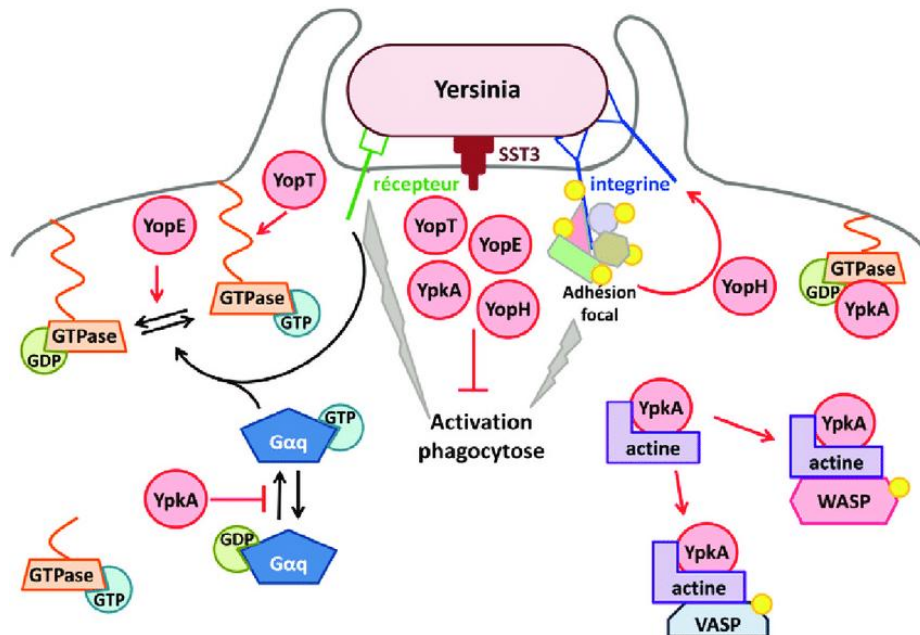


Figure 30 : Mécanisme moléculaire de l'inhibition de la phagocytose utilisé par *Yersinia*.

I.2.3. Peu ou pas de phagocytose/phagocytose inefficace

Quelques bactéries comme *Pseudomonas aeruginosa* induisent la mort des macrophages qui les ont phagocytés. Les facteurs de virulence bactériens MgtC et OprF interfèrent dans ce processus en modulant l'expression du système de sécrétion de type 3 (T3SS) et de son effecteur ExoS, qui ont un rôle clé dans la destruction du macrophage par les bactéries internalisées. D'autres bactéries peuvent même induire l'apoptose des macrophages avant le déroulement du processus de phagocytose. *Salmonella typhi* et *Coxiella burnetii* modulent le cytosquelette des cellules présentatrices d'Ag.

I.2.4. Phagocytose non efficace

Les bactéries intracellulaires sont des bactéries qui ont développé des mécanismes pour pouvoir survivre à l'intérieur des cellules (**tableau 5**).

Tableau 5 : Exemples sur les bactéries intracellulaires

Bactérie	Localisation intracellulaire	Cellule(s) hôte(s)
<i>Coxiella brunetti</i>	Vacuole	Macrophages
<i>Legionella pneumophila</i>	Vacuole	Macrophages
<i>Listeria monocytogenes</i>	Cytosol	Macrophages, hépatocytes
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Vacuole	Macrophages alvéolaires
<i>Salmonella typhi</i>	Vacuole	Cellules épithéliales, Macrophages
<i>Shigella flexneri</i>	Cytosol	Cellules épithéliales

La modulation de la fonction des phagosomes et la neutralisation des radicaux libres représentent les deux mécanismes majeurs utilisés par les bactéries intracellulaires pour survivre à l'intérieur des cellules.

A / Modulation de la fonction des phagosomes

Listeria, *Shigella* et *Rickettsia* provoquent la lyse de la vacuole et s'échappent au cytosol. Tandis que, *Legionella* et *Brucella* bloquent la maturation des phagosomes de telle sorte que la fusion entre phagosome et lysosome ne s'effectue pas. *Coxiella* quant à elle, peut survivre dans le phagosome à pH acide.

B/ Neutralisation des mécanismes antibactériens

Les bactéries intracellulaires peuvent neutraliser l'action des radicaux libres générés au niveau des lysosomes. *Coxiella*, *Legionella* et *Listeria* synthétisent la superoxyde dismutase responsable de la conversion de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (moins agressif que le premier radical). De même, *Staphylococcus*, *Coxiella*, *Listeria* synthétisent la catalase qui est une enzyme antioxydante responsable de la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau (**figure 31**).

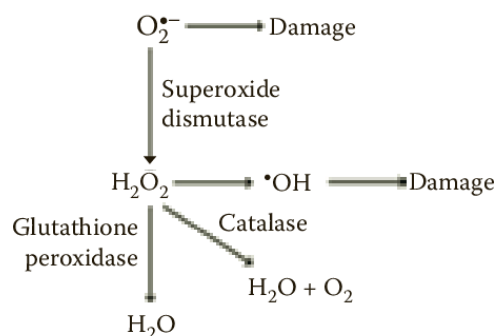


Figure 31 : Réactions chimiques catalysées par les enzymes antioxydants.

I.3. Modulation de l'inflammasome

L'inflammasome, complexe protéique de l'immunité innée, détecte les infections et déclenche la pyroptose ainsi que la libération de cytokines inflammatoires (IL-1 β et IL18). Pour empêcher cette défense, certaines bactéries ont développé des mécanismes d'échappement visant à bloquer, détourner ou suractiver ce complexe à leur propre avantage (**tableau 6**).

Tableau 6 : Mécanismes moléculaires de détournement de l'inflammasome par certaines bactéries.

Stratégie d'échappement	Mécanisme	Molécules /cellules cibles	Exemples de bactéries	Mode d'action
Camouflage	Modification de la flagelline	Récepteur NLRC4	<i>S. typhimurium</i> , <i>L. pneumophila</i>	Répression de l'expression du flagelle en phase intracellulaire.
	Altération de LPS	Caspases-4/5	<i>Yersinia pestis</i>	Réduction de l'acylation du LPS
Inhibition directe via les effecteurs bactériens	Blocage des récepteurs cytosoliques	Récepteur NLRP3	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Empêchement de l'oligomérisation de NLRP3.
	Ciblage des protéines adaptatrices	Protéine ASC	<i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Yersinia spp.</i>	Interférence avec la formation des "specks" d'ASC.
	Inhibition des caspases	Caspase-1	<i>Yersinia spp</i>	Blocage de la maturation de la caspase-1 et l'IL-1 β .
		Caspase-4	<i>Shigella flexneri</i>	Liaison spécifique et blocage de l'auto-activation (anti-pyroptose).
	Modification post-traductionnelle	Protéines à domaine DD	<i>E. coli</i> entérohémorragique	N-glycosylation des protéines de l'hôte pour bloquer la signalisation.
Blocage de la pyroptose	Inactivation de la Gasdermine	Protéine GSDMD	<i>Shigella spp.</i>	Action ubiquitine ligase : ciblage et destruction de la GSDMD via le protéasome.
	Stabilisation membranaire	Flux ioniques (K ⁺)	Diverses bactéries	Réparation des pores ou inhibition des flux de potassium déclencheurs de NLRP3.
Stratégie inverse (stimulation de la pyroptose)	Création de niches et dissémination	Macrophages	<i>Salmonella spp.</i>	Induction d'une pyroptose précoce pour s'échapper, détruire les tissus et écarter le microbiote.

II. Echappement à l'immunité acquise

Les bactéries peuvent échapper à l'immunité acquise par plusieurs stratégies :

II.1. Empêchement de la reconnaissance

Certaines bactéries ont l'aptitude d'empêcher leur reconnaissance via deux mécanismes : variation antigénique et inhibition de l'expression de CMH.

La variation antigénique, mécanisme utilisé par *Salmonella typhi* possédant la capacité de modifier ses antigènes flagellaires, par inversion de segment d'ADN en utilisant une recombinaison. Cette inversion change l'orientation du segment d'ADN, modifiant ainsi le gène qui sera exprimé.

La modification de l'expression de CMH est utilisée par les bactéries intracellulaires.

* *Mycobacterium tuberculosis* inhibe l'expression des molécules du CMH classe II sur les CPA ; de plus *Mycobacterium tuberculosis* inhibe l'activation de NF- κ B, un facteur de transcription central de la réponse immunitaire innée, la production de cytokines pro-inflammatoires et l'expression de molécules de co-stimulation impliquées dans la communication entre les macrophages et les lymphocytes.

* *Listeria monocytogenes* diminue l'expression des molécules du CMH classe I rendant la cellule hôte 'invisible' aux lymphocytes T cytotoxiques. Paradoxalement, la diminution du CMH classe I peut activer d'autres cellules immunitaires, comme les cellules NK, qui peuvent alors détruire la cellule infectée. Cependant, *Listeria* a développé des mécanismes pour se protéger également de cette réponse.

II.2. Modulation de la réponse humorale

Borrelia burgdorferi et *Treponema pallidum* s'échappent à la réponse immunitaire adaptative en exprimant des Ag de surface peu immunogènes ; ce qui retarde la réponse des LB.

Certaines bactéries résistent à l'immunité acquise humorale en dégradant les anticorps. A titre d'exemples : *Pseudomonas* possède des protéases dégradant les IgG. De même, *Neisseria*, *Haemophilus* et *Streptococcus* dégradent les IgAs. Ces deux isotypes (IgG et IgAs) sont dégradés par les bactéroïdes et les capnocytophaga.

II.3. Modulation de la réponse cellulaire

La modulation de la réponse cellulaire est importante pour les bactéries à développement intracellulaire. Certaines bactéries induisent un déséquilibre entre les deux phénotypes majeurs de lymphocytes T helper (Th1 et Th2). De plus, l'infection des macrophages par *Mycobacterium tuberculosis* incite la production des cytokines anti-inflammatoires (IL-10 et TGF β). Ces deux cytokines exercent une activité suppressive sur les LT.

Relations Hôtes- parasites

Cours 6 : Immunité anti-parasitaire

I. Introduction

Les parasites sont des êtres vivants, animaux ou fongiques, passant une partie ou la totalité de leur vie à la surface ou à l'intérieur d'un autre être vivant: l'hôte. Les parasites se classent selon quatre critères majeurs : localisation, taille, degré de dépendance métabolique et complexité de leur cycle biologique. Selon leur localisation, les parasites peuvent être soit des ectoparasites, qui vivent à la surface de l'hôte comme les poux et les tiques, ou des endoparasites qui colonisent l'intérieur du corps comme le *Taenia* ou *Plasmodium*. La taille des parasites distingue les microparasites unicellulaires à multiplication rapide chez l'hôte, tels que les virus et protozoaires, des macroparasites pluricellulaires comme les helminthes. Le degré de dépendance métabolique divise les parasites obligatoires incapables de survivre sans hôte, les facultatifs pouvant vivre libres mais devenant parasites de façon opportuniste, et les temporaires qui n'ont qu'un contact bref avec l'hôte. Enfin, la complexité de cycle biologique différencie les parasites monoxènes à cycle direct sur un seul hôte, comme l'oxyure, des hétéroxènes qui requièrent plusieurs hôtes ou un vecteur, comme *Plasmodium*.

La majorité des infections parasitaires évoluent sur le mode chronique en raison de l'étroite adaptation du parasite à son hôte, ce qui suppose une relative inefficacité de la réponse immunitaire. De nombreuses raisons peuvent expliquer la non efficacité de l'immunité antiparasitaire: mosaïques complexes d'Ag, produits inhibiteurs d'origine parasitaire, variation antigénique sous l'influence de la réaction immune etc... Ainsi dans la grande majorité des cas la réponse immunitaire ne permet pas l'élimination complète du parasite mais entraîne une résistance acquise à la réinfestation (leishmaniose, schistosomiase, paludisme). Dans d'autres cas, il n'apparaît pas de résistance acquise, le parasitisme persistant pendant de très longues périodes (leishmaniose viscérale, ankylostome). Dans certains cas enfin l'immunité est efficace et aboutit à l'élimination complète du parasite (leishmaniose cutanée).

II. Immunité antiparasitaire

II.1. Immunité humorale

Les anticorps jouent surtout un rôle pour les parasites extracellulaires

- Les anticorps lytiques en présence de complément éliminent le *Plasmodium*, les *Trypanosoma* et les vers intestinaux.

- Inhibition de la fixation du parasite par des anticorps neutralisants ayant la capacité de protéger les cellules cibles en camouflant le site d'attachement du parasite à la cellule (anticorps anti-mérozoïtes de *Plasmodium*).
- Les anticorps inhibant les capacités d'échappement du parasite phagocyté: ils empêchent le passage du parasite de la vacuole dans le cytoplasme ou favorisent la fusion du phagosome et des lysosomes (*Toxoplasma*, *Trypanosoma*).
- Activation de la phagocytose du *Plasmodium* et de *Trypanosoma brucei* par les anticorps opsonisants.
- Les anticorps induisant une cytotoxicité Ac-dépendante: la membrane plasmique des macrophages est pourvue de récepteurs pour le fragment Fc des IgG et des IgE, tandis que les neutrophiles (pour les IgG) et les éosinophiles (pour les IgG et les IgE). Les parasites suivants: *Trypanosoma*, *Schistosoma*, sont éliminés par ces cellules. Les éosinophiles agissent plus sur les larves de trichines et les macrophages sur les microfilaires.
- Le récepteur Fcε présent sur les macrophages, les éosinophiles mais aussi sur les plaquettes interagit avec l'IgE complexée entraîne la libération de médiateurs (enzymes lysosomiales, ions superoxydes, monoxyde d'azote, protéines basiques etc.)
- Activation mastocytaire (IgE) pour les parasites intestinaux, hypersécrétion de mucus et augmentation du péristaltisme.

II.2. Immunité cellulaire

L'importance de l'immunité cellulaire varie d'un parasite à l'autre, dépendant de la localisation de l'agent pathogène dans l'organisme, de son cycle évolutif et des caractéristiques de ses antigènes périphériques.

Une immunité cellulaire particulière a été décrite au niveau de l'intestin. Ainsi, les cellules T de l'intestin stimulées par les Ag vont produire des lymphokines accroissant la sécrétion muqueuse des cellules caliciformes de l'épithélium intestinal. Le résultat est une expulsion accélérée hors de l'intestin des parasites (nématodes) grâce au flot de mucus.

L'immunité cellulaire conduit généralement à la destruction des parasites présents dans les macrophages ou à leur voisinage (*Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma Gondii*, *Leishmania*, *Plasmodium*, *Schistosoma*).

Les LTc jouent un rôle quand les Ag parasitaires sont exposés par CMH classe I sur la membrane plasmique des cellules qui cachent l'agent pathogène. De même, l'immunité cellulaire contre les hématozoaires du paludisme dans leur phase pré-érythrocytaire, a pour support les LT CD8+ ; lesquelles seraient directement cytotoxiques pour *Toxoplasma*, *Schistosoma*, des amibes. Certains lymphocytes Tγδ pourraient inhiber la réplication extracellulaire du *Plasmodium*

falciparum. Les NKT sont également actifs sur les infections à plasmodium. Dans le cas des infections par *Leishmania*, *Toxoplasma* ou *Trypanosoma*, l'immunité cellulaire dépend, chez la souris, des LTh1 sécrétant l'IFN γ . En revanche les LTh2 produisant l'IL-3 et l'IL-4, peuvent accroître la susceptibilité des souris à ces infections.

Comme dans le cas des bactéries, le système immunitaire participe à la formation d'une encapsulation. Il se forme autour des parasites une infiltration par des macrophages, puis il y a constitution d'un granulome dont les cellules vont sécréter des substances fibrogènes sous l'influence des lymphokines des lymphocytes T. Le résultat est une capsule fibreuse enfermant le parasite (par exemple: œufs de *Schistosoma*). Le TNF et l'IFN γ seraient très importants comme initiateurs de ces phénomènes.

Les mécanismes effecteurs associent, de façon variée en fonction des parasites, la production d'IgE, l'activation et le recrutement de mastocytes, d'éosinophiles et de lymphocytes. Dans certains cas, des mécanismes Th1 peuvent être impliqués aboutissant à une lyse des larves.

III. Conséquences pathologiques de l'immunité antiparasitaire

Malgré l'intensité de la réponse IgE, une hypersensibilité immédiate n'est que rarement apparente et entraîne exceptionnellement des manifestations graves (choc anaphylactique lors de la rupture du kyste hydatique). Beaucoup plus fréquente est l'apparition d'auto anticorps et de manifestations liées à l'existence de complexes immuns circulants.

Cours 7 : Infestation par *Plasmodium falciparum*

I. Introduction

Le paludisme (malaria en anglais) est une parasitose due à des protozoaires unicellulaires du genre *Plasmodium*, transmise par des moustiques du genre *Anopheles* (femelle en période d'ovulation). Il existe de très nombreuses espèces de *Plasmodium* (plus de 140), touchant diverses espèces animales mais seulement cinq de ces espèces sont retrouvées en pathologie humaine. Il s'agit de *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium knowlesi*, parasite habituel des singes (macaques) d'Asie qui vient de passer chez l'homme (**tableau 7**).

II. Structure de *plasmodium falciparum*

Plasmodium falciparum contient un génome d'ADN de 22.8 Mb de longueur et est disposés en 14 chromosomes. Comme il contient un complexe apical, qui correspond à un regroupement d'organites au niveau du pôle apical de la cellule (microtubules, vacuoles, ainsi que des organites sécréteurs spécialisés, les rhoptries, les micronèmes et les granules denses) (**figure 32**).

Ses caractéristiques morphologiques varient considérablement selon l'étape du cycle de vie. Les formes les plus pertinentes sur le plan clinique sont les formes de l'étape sanguine de *P. falciparum*, notamment les mérozoïtes, les trophozoïtes de forme annulaire et les gamétocytes. Les mérozoïtes ont un diamètre d'environ 1.5 μm sur 1 μm et produisent une grande vacuole, ce qui donne aux cellules une apparence circulaire lorsqu'elles se développent en trophozoïtes (**figure 33**). Les gamétocytes sont allongés et en forme de croissant, mesurant environ de 8 à 12 μm par 3 à 6 μm .

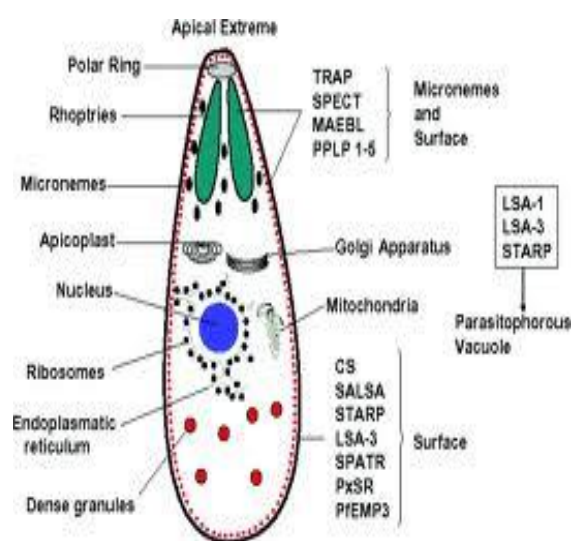


Figure 32: Structure de *Plasmodium*

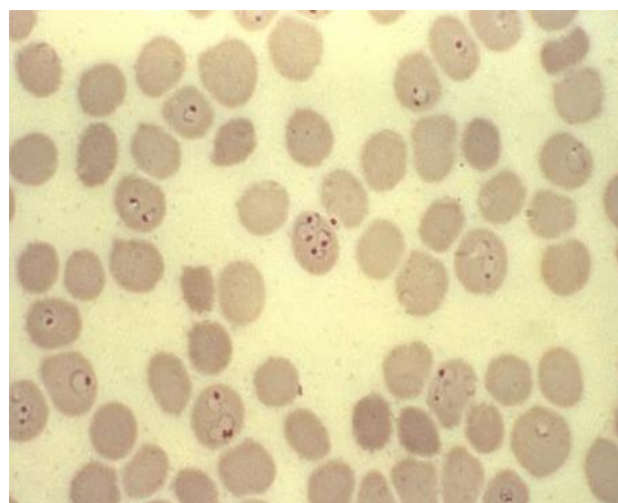


Figure 33: Frottis sanguins issus de patient infesté par *Plasmodium*

Tableau 7 : Comparaison entre les cinq espèces pathogènes de *Plasmodium*.

	Phase hépatique	Incubation	Formes cliniques	Nombre de mérozoïtes libérés chaque cycle
<i>Plasmodium falciparum</i>	5.5 j	7-12 j.	Fièvre tierce (48h) (neuropaludisme)	de 16 à 32
<i>Plasmodium vivax</i>	8 à 9 j	11 - 13 j.	Fièvre tierce (48h)	de 16 à 20
<i>Plasmodium ovale</i>		15 j - 4 ans	Fièvre tierce (48h)	de 8 à 16
<i>Plasmodium malariae</i>	15 j	15 – 21 j.	Fièvre quarte (72h)	de 6 à 12
<i>Plasmodium knowlesi</i>	/	/	Fièvre quotidienne	/

III. Cycle de vie

Le cycle de *Plasmodium falciparum* fait intervenir deux hôtes : moustique anophèle femelle et Homme (**figure 34**). Durant la prise d'un repas de sang, l'anophèle femelle (en période d'ovulation) injecte à l'Homme de la salive (empêchant la coagulation du sang) et des sporozoïtes : si le moustique est infesté.

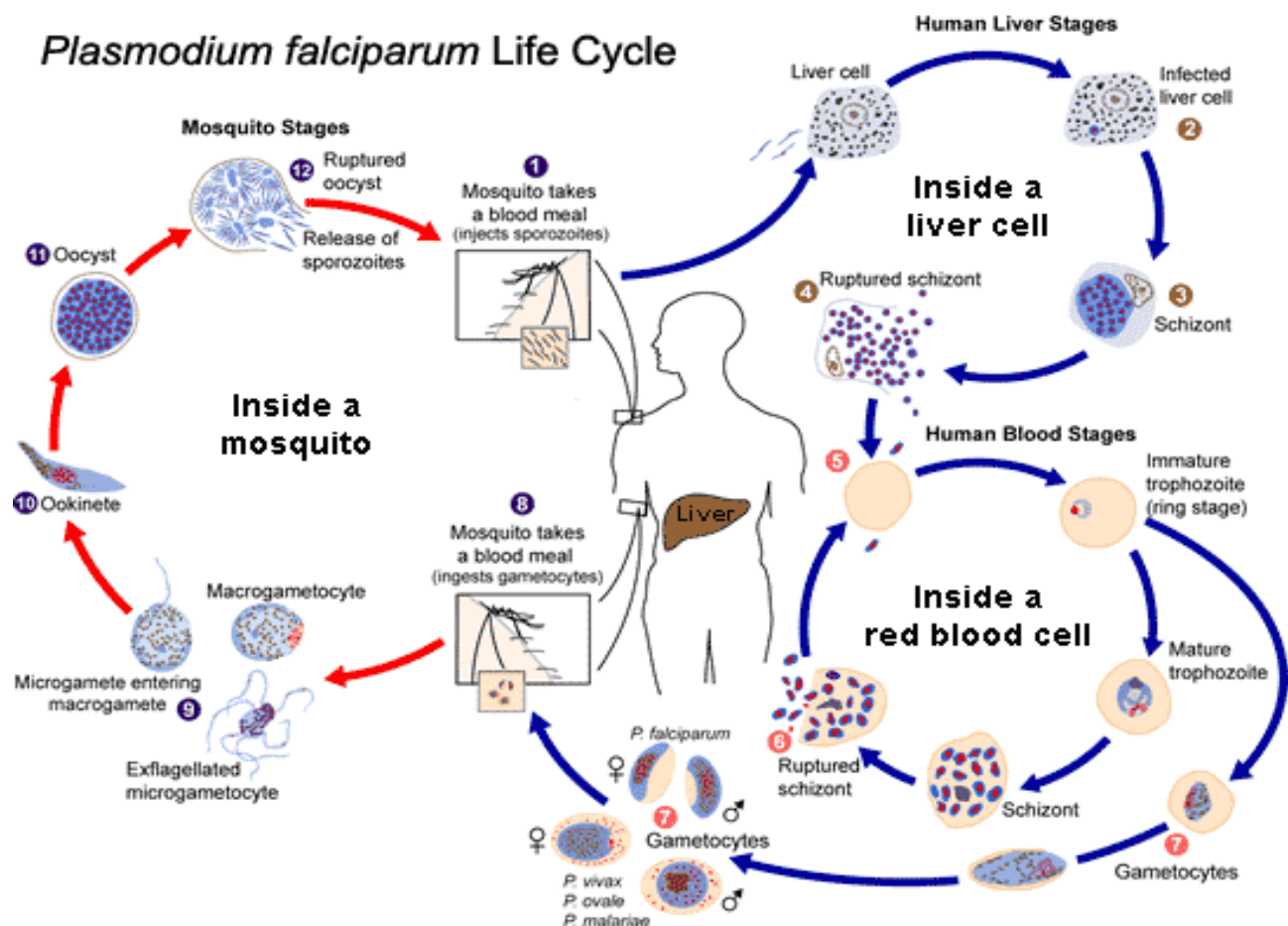


Figure 34 : Cycle de vie de *Plasmodium falciparum*.

III.1. Schizogonie exo-érythrocytaire (hépatique)

D'abord présents dans le derme, les sporozoïtes rejoignent le sang puis le foie et pénètrent à l'intérieur des hépatocytes. Le sporozoïte peut utiliser plusieurs molécules pour reconnaître ses cellules hôtes dont la Thrombospondin – Related Anonymous Protein TRAP et la CSP (Circumsporozoïte protein). Cette dernière interagit avec l'héparan sulfate proteoglycans des cellules endothéliales, des cellules de Kupffer et des hépatocytes. Une autre molécule 'phospholipid scramblase' interagit avec le carbamoylphosphate synthetase 1 situé sur la membrane des hépatocytes (**figure 35**). Ces interactions permettent par la suite de libérer les molécules de l'invasion dont la thrombospondin-related adhesive protein et les protéines associées aux rhoptries.

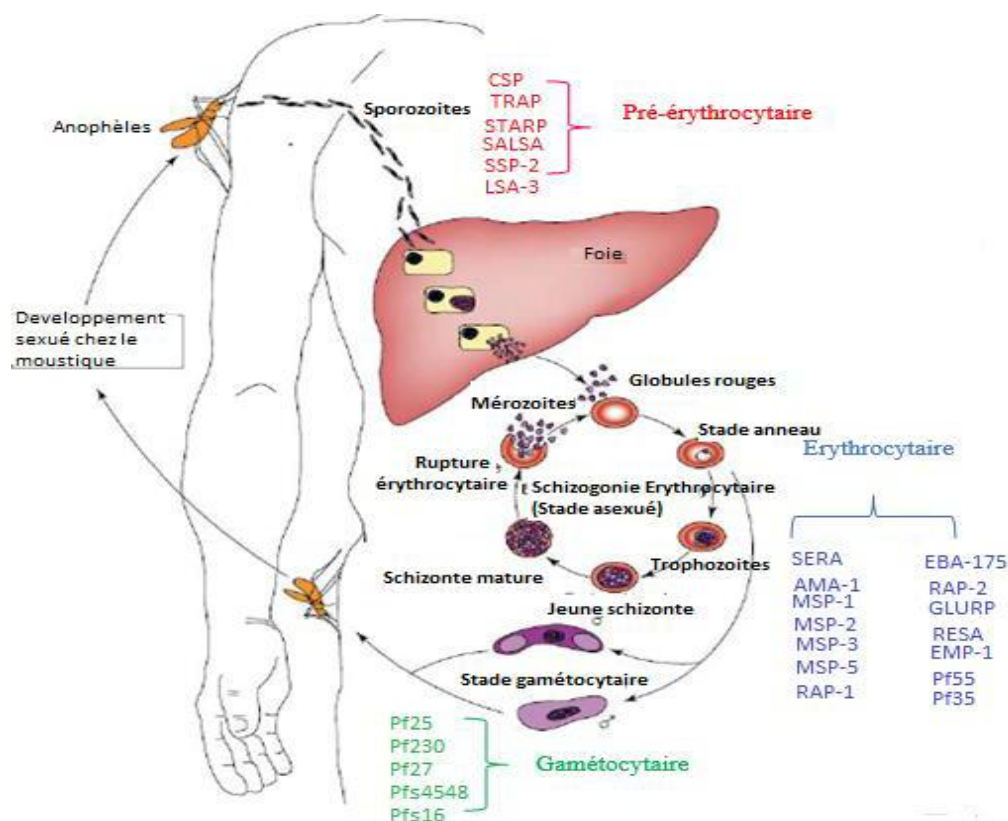


Figure 35 : Marqueurs de surface des différentes formes parasites chez l'Homme utilisés pour l'invasion des cellules hôtes et l'échappement au système immunitaire.

Suite à l'invasion hépatocytaire, s'ensuit alors un processus de reproduction asexuée par schizogonie. Le noyau subit de nombreuses divisions, sans qu'il y ait accroissement de la taille de la cellule. La forme multinucléée qui en résulte subit alors une division du cytoplasme. Cela aboutit à la formation de mérozoïtes uninucléés à l'intérieur de l'hépatocyte. La structure résultante est appelée schizonte.

III.2. Schizogonie érythrocytaire

La rupture du schizonte libère les mérozoïtes dans le sang, qui infestent les érythrocytes. Les hématies infestées se transforment en trophozoïtes immatures (stade de l'anneau). Cette infestation

dure environ 30 secondes et s'effectue en 5 phases qui se terminent par la formation de la vacuole parasitophore ; Ça correspond à la maturation de trophozoïte où une reproduction asexuée par schizogonie se déroule (**figure 36**).

Phase de contact

Merozoïte Surface Protein 1 (MSP1) et la surface de l'hématie (heparin-like proteoglycans)

Phase de réorientation

Région apicale du merozoïte

Libération d'une sérine protéase « merozoïte surface sheddase (MESH) et invagination de l'hématie

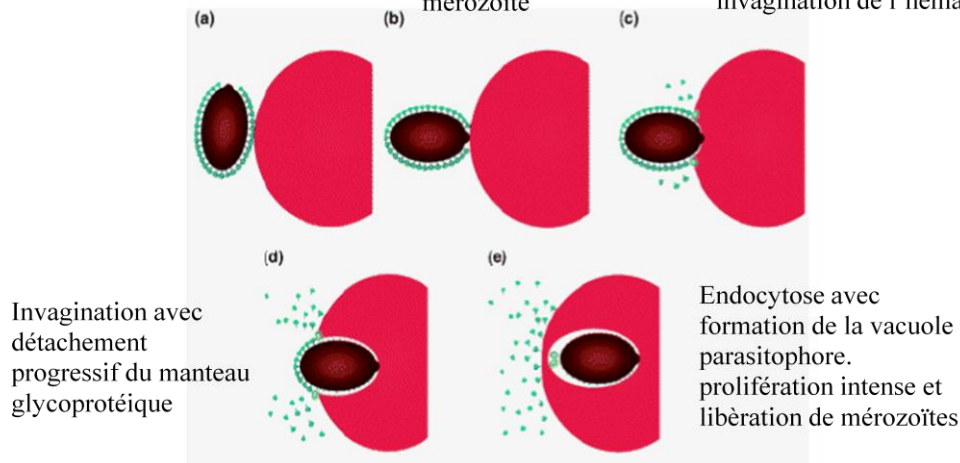


Figure 36 : Mécanisme d'invasion des érythrocytes par le merozoïte de *Plasmodium falciparum*.

En l'absence de traitement, tous les parasites évoluent progressivement au même rythme, tous les schizontes érythrocytaires arrivent à maturation au même moment, entraînant la destruction d'un grand nombre de globules rouges de manière périodique. La périodicité de ces cycles dépend de l'espèce de parasite en cause, et coïncide avec la multiplication des parasites et l'éclatement des globules rouges : c'est l'accès palustre. Ce dernier correspond aux cycles typiques alternant fièvre, tremblements avec sueurs froides et transpiration intense.

Les cellules libérées peuvent alors participer à un nouveau cycle érythrocytaire entraînant des épisodes de fièvre avec une périodicité de 48 h (fièvre tierce). Une partie des parasites au stade anneau (en général environ 2 %) peut également subir un processus de différenciation, aboutissant à la formation de cellules à potentiel de gamétocytes mâles et femelles. Ces dernières restent en circulation sanguine pendant 10 à 15 jours.

Dans certains cas, les globules rouges infectés peuvent obstruer les vaisseaux sanguins irriguant le cerveau : c'est le neuropaludisme, souvent mortel. En effet, les hématies parasitées par les stades trophozoïtes âgés et schizontes de *P. falciparum* ont, contrairement aux autres espèces, la capacité de se fixer aux cellules endothéliales des capillaires (cerveau, avec risque de coma par neuropaludisme, mais aussi reins, foie, poumons...). Ces formes matures sont donc absentes de la circulation sanguine périphérique. Cette séquestration est due à des phénomènes d'adhérence

cellulaire entre les hématies parasitées et les cellules endothéliales de ces capillaires. Cette cyto-adhérence s'établit sous l'effet d'interactions entre des récepteurs moléculaires plasmodiaux présents à la surface des hématies parasitées (PfEMP1) et des récepteurs spécifiques des cellules endothéliales (ICAM1) (**figure 35**).

Dans les régions où le paludisme est hautement endémique, une partie de la population est porteuse asymptomatique. Suite à de nombreuses années d'infection chronique par le parasite, certains individus tolèrent sa présence et développent un état de prémunition.

III.3. Gamogonie

Lors d'une prise de sang, l'anophèle femelle peut être contaminée par les cellules à potentiel de gamétocytes mâles et femelles. Ceux-ci vont, dans l'intestin de l'animal, se transformer en gamètes. Suite à la fécondation, le zygote obtenu devient un oocinète (ou ookinète), une forme mobile capable de franchir l'épithélium intestinal. Au niveau la lame basale de cet épithélium, un ookyste à paroi épaisse se forme. C'est à l'intérieur de ce dernier que se déroule la méiose, puis une série de mitoses par sporogonie (divisions nucléaires rapides, suivies d'une division du cytoplasme), qui donne naissance aux sporozoïtes. Ces derniers, mobiles, migrent vers les glandes salivaires.

IV. Réactions immunitaire anti-plasmodium

La pénétration de *Plasmodium falciparum* active le système immunitaire ; lequel répond par le développement des réactions immunitaires humorale et à médiation cellulaire (**figure 37**). Ces réactions immunitaires sont déclenchées dans des endroits bien précis : la peau, le foie et la circulation sanguine (hématies).

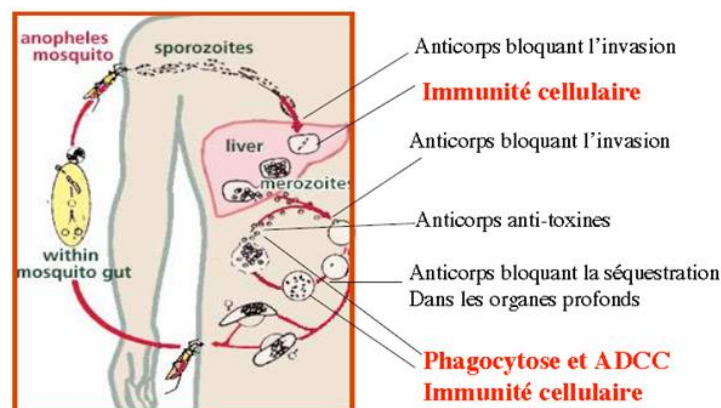


Figure 37 : Réponses immunitaires anti-*Plasmodium*

IV.1. Au niveau de la peau

Chez un individu immuno-compétent, l'endommagement cutané infligé par une piqûre d'un moustique stimule la dégranulation des mastocytes, entraînant le recrutement des neutrophiles et plus tard des monocytes dans le derme et l'épiderme. Le taux de ces cellules est maintenu longtemps

si la salive du moustique contient des sporozoïtes. Bien que les neutrophiles puissent phagocyter les sporozoïtes, la destruction des sporozoïtes par les neutrophiles dans la peau pourrait ne pas être très significative ; et ceci à cause de l'agaphéline. Cette dernière est une protéine inhibitrice de l'activité des neutrophiles et est présente dans la salive de moustique. Il s'est avéré que suite à l'infection par *Plasmodium falciparum*, la production de cette protéine augmente.

Les sporozoïtes se déplacent à une vitesse de 1 à 2 $\mu\text{m/s}$ à travers la peau, bien plus rapide que les 0,1 $\mu\text{m/s}$ des cellules immunitaires de l'hôte. Ainsi, le parasite peut même sortir de la peau avant l'infiltration des neutrophiles, en particulier chez les personnes n'ayant jamais contracté le paludisme.

Outre la dégranulation des mastocytes, les sporozoïtes augmentent la motilité des cellules T régulatrices cutanées et des cellules dendritiques, ce qui amène ces dernières à les phagocyter. Dans ce processus, les cellules T naïves CD4^+ et CD8^+ . Les cellules T CD4^+ produisent des cytokines pro-inflammatoires (IL-12, $\text{IFN-}\gamma$ et l'iNOS) pour détruire les sporozoïtes ; entre autre, elles coopèrent avec cellules T CD8^+ et les LB pour produire les anticorps spécifiques aux antigènes des sporozoïtes. Les cellules T CD8^+ quant à elles, attaquent les sporozoïtes et/ou les cellules infectées par la sécrétion de cytokines ($\text{IFN-}\gamma$ et $\text{TNF-}\alpha$), la libération de granules cytotoxiques, ou par l'activation de la cascade de caspases médiée par Fas/FasL. Cependant, la fréquence élevée de paludisme, surtout chez les nourrissons, suggère que la phagocytose par les DCs et l'activation initiale des cellules T CD4^+ et CD8^+ ne sont pas assez rapides ou efficaces. Les adultes résidents dans des zones endémiques de paludisme sont naturellement exposés à plusieurs infections, ce qui conduit à l'acquisition d'une immunité. Cela est dû à la présence principalement des cellules T CD8^+ et CD4^+ acquises lors d'infections précédentes.

Chez un adulte ayant subi une infection sévère (habituellement dans une région endémique de malaria) ou ayant été vacciné avec des vaccins à base de sporozoïtes, les anticorps IgG1 et IgG3 prédominent dans les réponses immunitaires médiées par les anticorps. Ces anticorps identifient et se lient à la protéine circumsporozoïtique (CSP) des sporozoïtes qui ont quitté le derme. La neutralisation de ces protéines empêche l'invasion des cellules cibles. De plus, l'opsonisation des sporozoïtes par ces Ac facilite la phagocytose et la destruction principalement par les neutrophiles; cela réduit donc le nombre de sporozoïtes pouvant infecter le foie.

IV.2. Au niveau de foie

Bien que la phase hépatique de l'infection soit asymptomatique, l'hôte répond à la présence des parasites en exprimant des interférons de type I et II. Les facteurs de transcription (IRF3 et IRF7), issus suite à l'activation de plusieurs voies de signalisation y compris les TLR endosomales, activent la transcription et l'expression de l' $\text{IFN-}\alpha$ et de l' $\text{IFN-}\beta$ (IFNs de type I). Ces deux IFN se

lient ensuite à leurs récepteurs localisés au niveau des hépatocytes et des leucocytes pour activer les gènes stimulés par l'interféron dont le iNOS (**figure 38**).

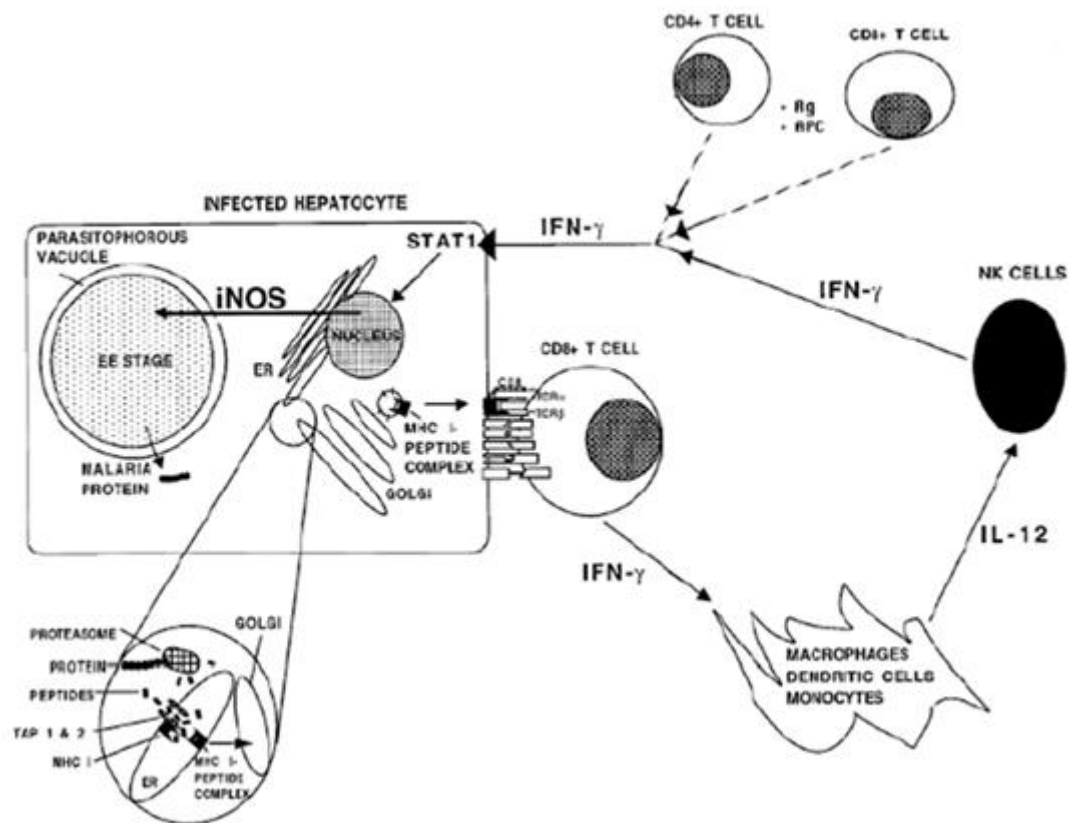


Figure 38 : Réponse immunitaire à médiation cellulaire (stade hépatique).

De nombreuses cellules dans le foie expriment les récepteurs pour les interférons de type I. Pourtant, seuls les hépatocytes semblent indispensables pour reconnaître les agents pathogènes, car la suppression spécifique de ces récepteurs sur les hépatocytes, mais pas sur les macrophages et les neutrophiles, a empêché l'induction des gènes stimulés par l'IFN type I. De plus, la multiplication des sporozoïtes est inhibée dans les hépatocytes stimulés par l'IFN- γ en initiant une autophagie non canonique, soulignant la contribution de l'IFN de type II et non seulement de l'IFN de type I dans les réponses immunitaires au stade hépatique.

Pendant l'infection au stade hépatique, la réponse médiée par l'IFN de type I entraîne le recrutement de lymphocytes, en particulier des cellules tueuses naturelles T (NKT), pour éliminer les sporozoïtes, surtout lors de l'infection secondaire par les sporozoïtes.

IV.3. Au niveau de la circulation sanguine

Les mérozoïtes, libérés suite à la lyse des schizontes et des hépatocytes, peuvent activer les cellules $LT\gamma\delta$, pour libérer des cytotoxines en particulier la granulysine. Il a été démontré que les mérozoïtes sont sensibles à l'effet de cette substance.

Les érythrocytes infestés libèrent les mérozoïtes ainsi que les métabolites produits par ces parasites (hémazoïne, hème, pyrophosphate de (E)-4-hydroxy-3-méthyl-but-2-ényle (HMB-PP) et le glycosyl phosphatidylinositol (GPI)) une fois éclatés. Outre l'activation par des cytokines (IFN- γ) produites par les cellules LT $\gamma\delta$, les monocytes (qui ont la capacité de se transformer en macrophages et en cellules dendritiques) peuvent aussi être stimulés par l'hémazoïne (fréquemment associée à de l'ADN et de l'ARN plasmodiaux) et le GPI (pouvant également activer les cellules NKT), via des TLR et des récepteurs à lectine. Cela conduit à la phagocytose, à la présentation d'antigènes et à la sécrétion du facteur d'activation des cellules B.

Les neutrophiles activés peuvent également répondre aux infections par la phagocytose dépendante du complément, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la formation de pièges extracellulaires de neutrophiles. Suite à l'activation des LB et des LT, les protéines des parasites exprimées sur les mérozoïtes et/ou les érythrocytes infestés deviennent reconnaissables par des anticorps spécifiques pour l'opsonisation et la destruction. De plus, les hématies infestées exprimant les protéines des parasites ont une flexibilité membranaire et une viscosité cytoplasmique altérées et sont ainsi piégés dans la rate et éliminés par les phagocytes, en particulier les macrophages (**figure 39**).

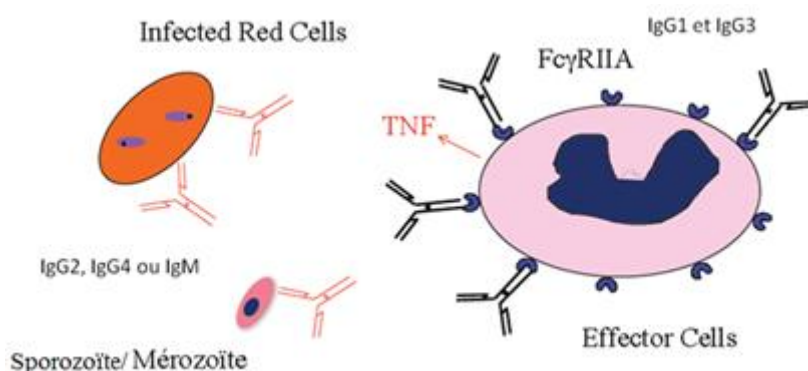


Figure 39 : Rôle des différents anticorps dans la lutte anti *Plasmodium*.

V. Stratégies d'échappement de *Plasmodium* à la réponse immune

Deux processus génétiques participent à l'échappement des parasites de *Plasmodium* au système immunitaire : il s'agit de la variabilité génétique et de polymorphisme génétique. Le premier concerne les protéines exprimées à la surface des érythrocytes (ou variants de surface antigénique (VSA)) qui sont codés par des gènes ayant plusieurs copies au sein d'un même génome et induisant ainsi une variabilité intense (le taux de mutation estimé varie entre 2 et 18% par génération). Le deuxième mécanisme ou le polymorphisme génétique concerne quant à lui les gènes représentés en une seule copie dans le génome et dépend de l'étendue des allèles disponibles et de

la reproduction sexuée. Il contribue également au phénomène d'échappement immunitaire mais dans une moindre mesure que les VSA.

Les sporozoïtes possèdent la SPECT-1 et 2 (protéine micronème des sporozoïtes essentielle pour la traversée cellulaire) et la PLP1 (protéine 1 de type perforine) responsable de la motilité facile de *Plasmodium* à travers la barrière cutanée. Il a été rapporté que les sporozoïtes dépourvus de ces deux protéines étaient bloqués dans la couche dermique de la peau et, ensuite, ingérés par les phagocytes. Comme il a été démontré que les parasites du paludisme envahissent les cellules hôtes et augmentent l'expression de microARN polymorphes induisant l'apoptose des lymphocytes. Ils suppriment également la réponse immunitaire de l'hôte en inhibant la phosphorylation de la kinase N-terminale c-Jun (JNK) dans la voie de signalisation des TLR 2 des macrophages.

Cours 8 : Infestation par *Leishmania*

I. Introduction

Les leishmanies sont des protozoaires intracellulaires obligatoires qui infectent les phagocytes mononucléaires. Ce parasite induit 3 formes principales de la leishmaniose : la leishmaniose viscérale, la leishmaniose cutanée et la leishmaniose cutaneo-muqueuse.

La leishmaniose cutanée, le plus souvent bénigne, se caractérise par des lésions ulcérées ou ulcéro-croûteuses, parfois très nombreuses, localisées sur les parties découvertes du corps et qui guérissent en général spontanément en laissant des cicatrices. Selon l'espèce infectante la leishmaniose cutanée peut évoluer vers une forme cutanéomuqueuse ou cutanée diffuse.

La leishmaniose viscérale, la forme la plus grave, se manifeste par de la fièvre, de l'anémie, un amaigrissement, un gonflement du foie et de la rate et des ganglions lymphatiques. Elle est mortelle en l'absence de traitement.

La forme et la gravité de la maladie dépendent de l'espèce de *Leishmania* infectante et du statut immunitaire de l'hôte. En Algérie, les leishmanioses cutanée et viscérale sont les plus répandues chez l'Homme.

II. Epidémiologie

Six espèces majeures de *Leishmania* (*L. tropica*, *L. major*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. braziliensis* et *L. mexicana*) existent à travers le monde. Cependant, en Algérie uniquement *L. major*, *L. infantum* et *L. killicki* sont présentes. L'Algérie est le deuxième pays endémique de la leishmaniose cutanée après l'Afghanistan, avec 299 725 cas recensés entre 1982 et 2023. Les foyers les plus importants se situent à M'sila, Biskra et batna. Le taux d'incidence de la leishmaniose est passé de 115,40 cas pour 100.000 habitants en 2022 à 170,45 cas pour 100.000 habitants en 2023 à M'sila.

III. Structure

Leishmania possède au moins deux types de morphologies différentes qui sont adaptés à l'hôte ou au vecteur. En effet, l'amastigote est la forme aflagellée intracellulaire ; laquelle se retrouve chez les hôtes vertébrés (Homme, chiens, lézards ou rongeurs). Tandis que, le promastigote flagellé mobile est la forme qui se retrouve chez le vecteur invertébré (phlébotome). Toutefois, ce parasite réserve la même disposition cellulaire de base avec un kinetoplaste antérieure au noyau et un flagelle s'étend à partir de base de corps (**figure 40**).

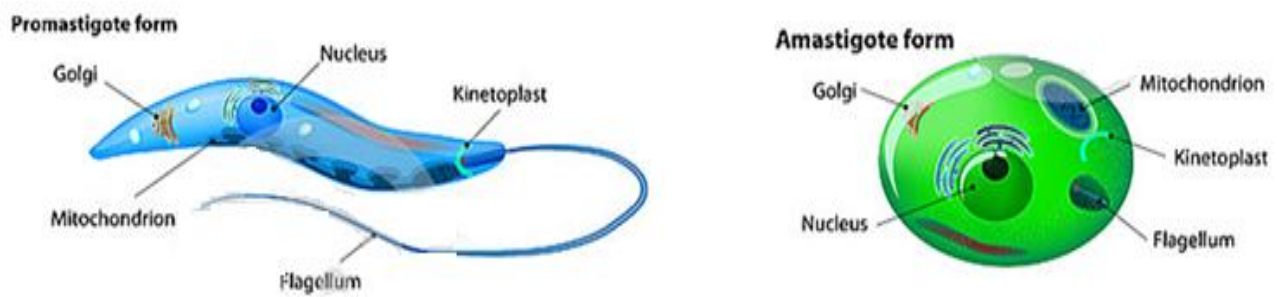


Figure 40 : Formes parasitaires de *Leishmania*.

IV. Cycle de vie

IV.1. Cycle de vie de *Leishmania* chez l'Homme

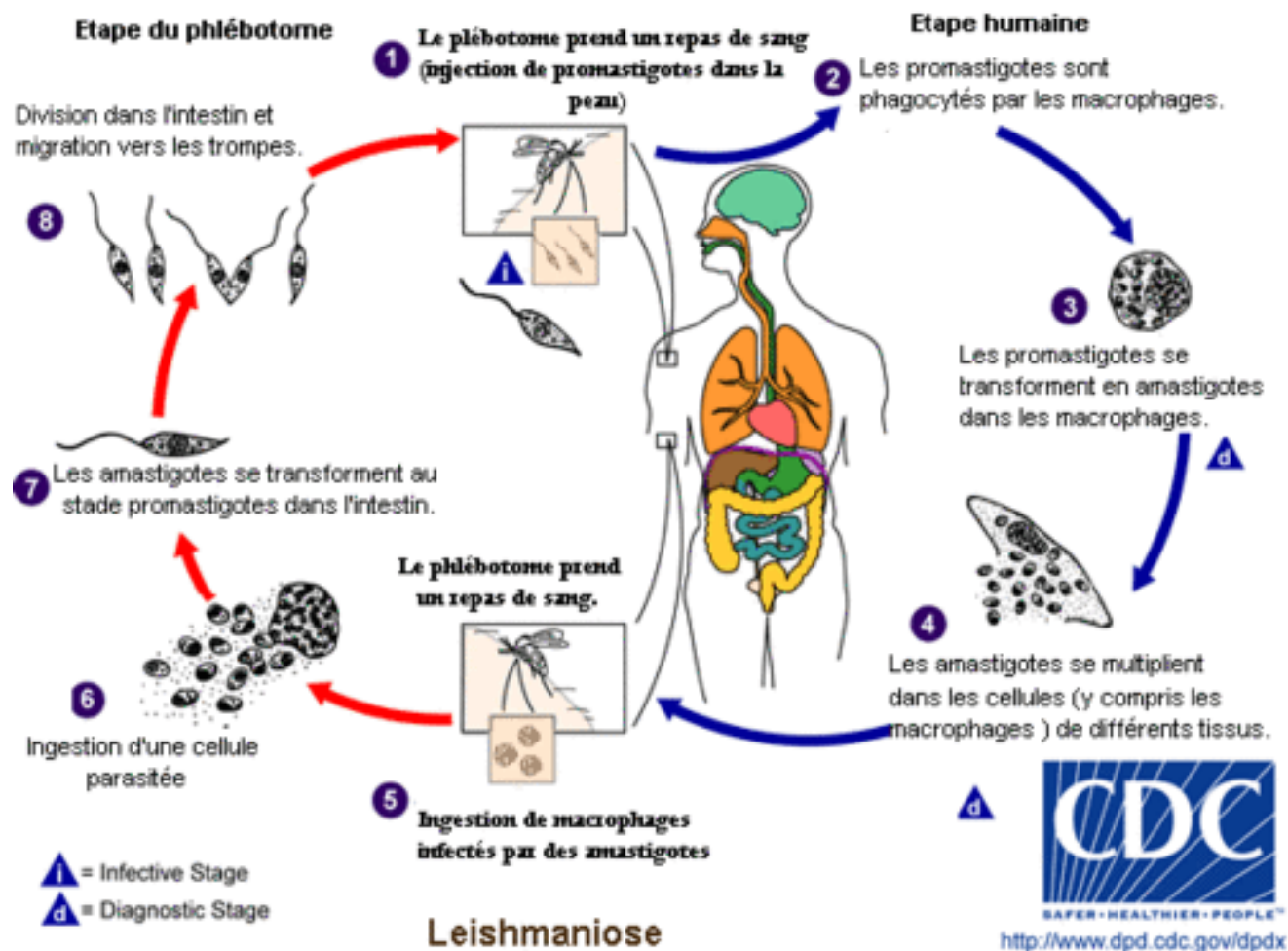
Lors de la prise d'un repas sanguin, les promastigotes metacycliques de *Leishmania* sont introduits par voie intradermique dans la circulation sanguine de l'hôte vertébré par le phlébotome infesté. Dans un court laps de temps, les neutrophiles sont recrutés sur le site de la piqûre de phlébotome, où ils englobent les promastigotes en leur fournissant un abri temporaire. Les neutrophiles infestés ou parasites libres sont alors captés par des phagocytes professionnels (cellules dendritiques et macrophages) qui migrent hors du site d'inoculation. Les promastigotes de *Leishmania* survivent dans les vacuoles parasitophores où ils se transforment en amastigotes et se répliquent, finissant par surcharger la cellule infestée conduisant à la rupture. Les amastigotes extracellulaires réinfectent les phagocytes locaux, entraînant des cycles d'infection ultérieurs (**figure 41**).

IV.2. Cycle de vie de *Leishmania* chez le phlébotome

Les amastigotes de *Leishmania* ingérés par le phlébotome se différencient en promastigotes procycliques multiplicatifs, situés dans l'intestin moyen de l'insecte. Ils se différencient en promastigotes nectomonades, un stade migratoire non-divisant se déplaçant de la partie postérieure de l'intestin moyen vers la partie antérieure ; où ils se différencient en formes leptomonades, qui reprennent la réplication. Les promastigotes leptomonades subissent ensuite la métacyclogenèse, un processus impliquant différentes étapes de modifications biochimiques et morphologiques qui aboutissent à l'émergence de formes promastigotes métacycliques non répliquatives, hautement infectieuses pour l'hôte vertébré dont l'Homme.

Les promastigotes leptomonas sécrètent un gel qui forme une obstruction physique dans l'intestin, forçant le phlébotome à régurgiter des promastigotes métacycliques dans le derme de l'hôte pendant le repas sanguin, ce qui joue un rôle clé dans la transmission du parasite aux mammifères.

Le cycle de transmission n'est complet que lorsque les promastigotes métacycliques sont introduits à l'hôte via la pique de phlébotome infesté.

Figure 41 : Cycle de vie de *Leishmania*.

V. Mécanismes d'échappements

Leishmania a la capacité d'entrer en toute sécurité dans les macrophages de l'hôte et de se répliquer à l'intérieur des mêmes phagocytes qui ont été recrutés pour le détruire. L'incapacité des macrophages à tuer le parasite et à activer les cellules du système immunitaire adaptatif est le résultat de l'aptitude du parasite à altérer plusieurs voies de signalisation clés chez l'hôte. Ces altérations rapides des voies de signalisation sont responsables premièrement de l'inhibition des mécanismes de destruction des macrophages qui sont déclenchés lors de la phagocytose de particules étrangères (par exemple, la production d'espèces réactives de l'oxygène); et deuxièmement de l'inhibition des fonctions leishmanicides qui peuvent être déclenchées en réponse à des stimuli tels que les lipopolysaccharides (LPS) ou l'interféron- γ (IFN- γ) (par exemple, la production d'oxyde nitrique).

V.1. Échappement au complément

La glycoprotéine de surface gp63 abondamment exprimée au stade de promastigotes métacycliques, favorise la protéolyse de C3b et sa conversion en molécule inactive C3bi, favorisant ainsi l'opsonisation et l'internalisation du parasite via le CR3. De même, le lipophosphoglycan (LPG), qui est fortement exprimé à la surface des promastigotes métacycliques, gêne l'insertion du complexe d'attaque membranaire (CAM). De plus, plusieurs autres effets ont été attribués à la gp63 (figure 42).

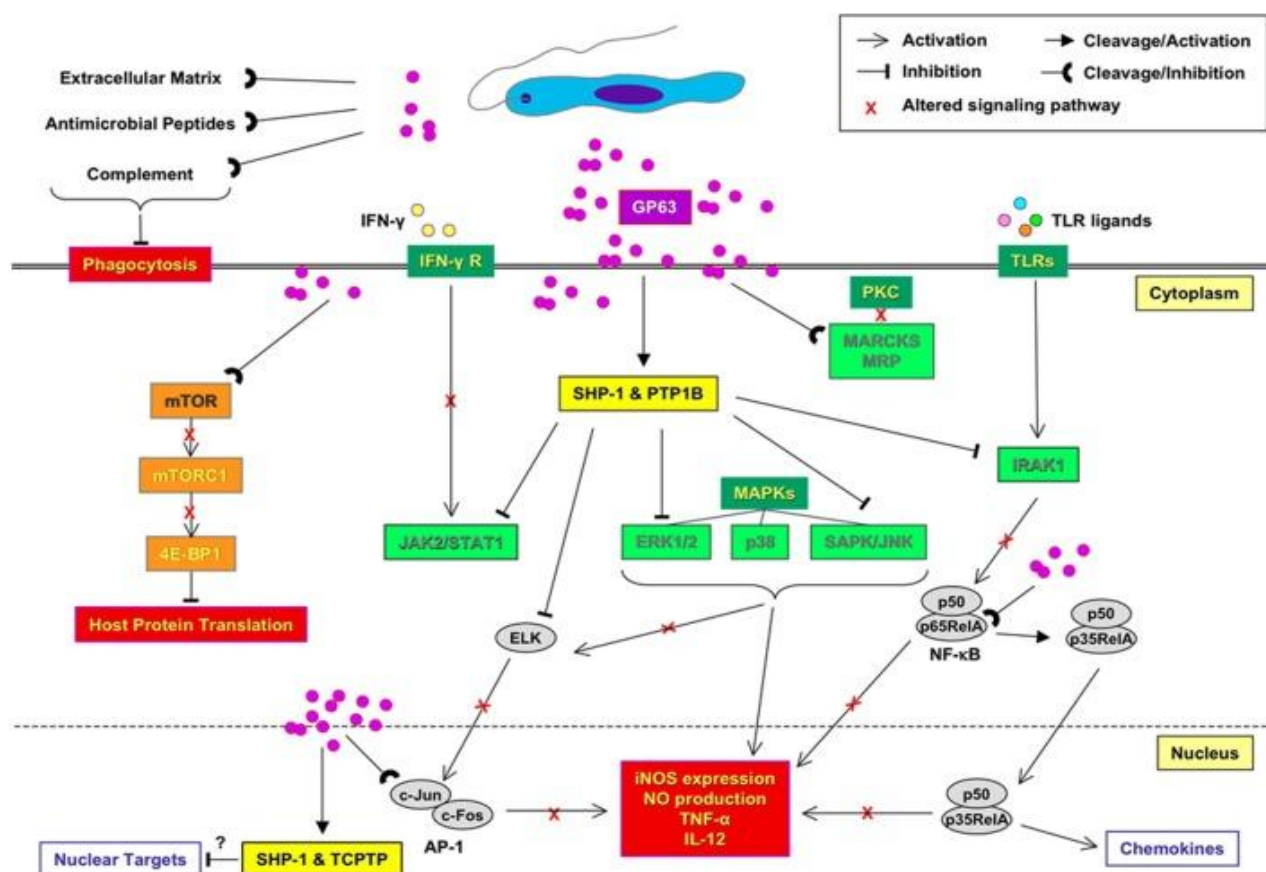


Figure 42 : Effet de la glycoprotéine 63 de *Leishmania* sur les voies de signalisation de macrophage.

L. donovani, possède sur la face externe de sa membrane plasmique des protéines kinases capables d'inactiver C3 et C3b par phosphorylation.

V.2. Résistance à la lyse intracellulaire

Le Lipophosphoglycan et la tartrate-résistante acid phosphatase présentes à la surface des promastigotes de *Leishmania* retardent la fusion des phagosomes avec les lysosomes, inhibent la flambée respiratoire et la production de l'anion superoxyde dans les neutrophiles. Le LPG prévient l'acquisition de la cathépsine D et la pompe proton-ATPase nécessaire à la maturation des vésicules

de l'endocytose. De même, le recrutement de LAMP-1 et Rab7 est retardé; par conséquent, la maturation du phagosome est retardée.

Les promastigotes et les amastigotes de *Leishmania* sont également capables de résister partiellement aux espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. En effet, l'expression de la superoxyde dismutase, de la catalase est associées à la survie des leishmanies dans les macrophages.

V.3. Répression de la présentation antigénique

- séquestration intracellulaire des antigènes parasite apprêtés
- internalisation et la dégradation des molécules du CMH de classe II
- augmentation de la fluidité membranaire et la perturbation consécutive des radeaux lipidiques des macrophages

VI. Mécanismes moléculaires des facteurs de virulence de *Leishmania*

Leishmania possède plusieurs une dizaine de molécules de virulence, et chacune d'entre elle joue des rôles distincts (**tableau 8**).

Tableau 8 : Facteurs de virulence de *Leishmania* et leurs effets

Name	Description	Role in host-parasite interactions
LPG	Lipophosphoglycan	Activates MAPK, disrupts lipid rafts, ↑ TNF, ↑ IL-1β, ↑ IL-6, ↓ TLR9, ↓ recruitment of Syntrophin V, NADPH oxidase and V-ATPase to PV, scavenges ROS, ↑ HO-1
GP63	Zinc-dependent metalloprotease	Activates PTPs, p130Cas, Cortactin, Caspase 3 ↓ miRNA-122, ↓ TNF, ↓ IL-12, ↓ NO, ↓ mTOR, ↓ AP-1
PKC-like	Protein Kinase C ortholog	↑ Parasite phagocytosis
ISCL	Inositol phosphosphingolipid phospholipase C-like	↑ Survival and replication
Aldolase	Fructose-bisphosphate aldolase	Activates SHP-1, ↓ acidification
MsrA	Methionine sulfoxide reductase A	↑ Resistance to ROS/RNI
ALO	Arabino-1,4-lactone oxidase/vitamin C biosynthesis	↑ Resistance to ROS/RNI, ↓ IL-12, ↓ TNF
TXNPx	Tryparedoxin peroxidase	Detoxifies ROS/RNI, ↓ NRAMP-1, Fe redistribution
Thioredoxin	ROS scavenging enzyme	Stabilizes PTPs, ↓ proinflammatory pathways
CPB	Cysteine protease	Activates PTPs, ↓ activation, ↓ NO
MIF	Macrophage migration inhibitory factor ortholog	Activates MAPK, ↓ apoptosis

VI.1. Détournement de la voie de signalisation induite par la PKC

La voie de signalisation de la PKC est connue pour son rôle clé dans la régulation des fonctions activatrices de macrophage (exp IFN-γ et TNF-α, production de NO et la flambée oxydative).

Le LPG de promastigote métacycliques bloque l'activité de la PKC. Cette inhibition est obtenue grâce à la liaison du LPG au domaine régulateur de la PKC qui contient les sites de liaison pour le diacylglycérol (DAG), le calcium et les phospholipides. Les amastigotes, dépourvus de LPG, sont également capables d'inhiber l'activité de la PKC dans les monocytes, suggérant que d'autres molécules que le LPG peuvent également jouer un rôle dans cet effet inhibiteur.

VI.2. Détournement de la voie de signalisation induite par JAK/STAT

La voie JAK/STAT est impliquée dans la prolifération, la différenciation, la migration et l'apoptose cellulaires, ainsi que dans l'activation immunitaire. Cette voie est initiée par la multimérisation des récepteurs, suivie de la transphosphorylation et de l'activation des JAK, conduisant finalement à la phosphorylation de STAT (un facteur de transcription).

Leishmania bloque également cette voie déclenchée en réponse à la stimulation par l'IFN- γ , évitant ainsi l'induction de NO. En effet, il a été rapporté que l'infection par les amastigotes de *L. donovani* était capable de bloquer la phosphorylation de JAK1, JAK2 et STAT-1 induite par l'IFN- γ dans les monocytes humains. La phagocytose des promastigotes de *Leishmania donovani* par les macrophages naïves n'entraîne l'activation d'aucune des trois MAPK (Erk1/2, JNK, p38). De plus, il a été démontré que l'activation de plusieurs MAPK en réponse au LPS était inhibée dans les cellules infectées.

VI.3. Effet sur la flambée respiratoire

Il a été démontré que *L. donovani* inhibe la flambée respiratoire dans les macrophages infectés, et cette inhibition était en partie médiée par les molécules de surface du parasite, LPG et gp63, impliquant l'inactivation de la PKC. En effet, le LPG des promastigotes de *L. donovani* est également capable de bloquer l'assemblage de la NADPH oxydase à la membrane du phagosome sans interférer avec la phosphorylation de p47(phox) et sa capacité à former des complexes avec p67(phox). Cependant, les amastigotes de *L. donovani* ont montré qu'ils bloquent efficacement la libération de l'anion superoxyde en inhibant la phosphorylation de la p47(phox), ce qui entraîne un recrutement défectueux de p47(phox) et p67(phox) vers le phagosome.

Un autre mécanisme de détournement exercé par *Leishmania* est représenté par son aptitude de dégrader les facteurs de transcription (NF- κ B et STAT – 1) responsable de la production des cytokines.

VII. Immunité anti-*Leishmania*

Au cours de la réponse immunitaire contre *Leishmania*, plusieurs cellules peuvent intervenir dont les mastocytes, les cellules phagocytaires (neutrophiles, macrophages, cellules dendritiques), et les NK.

VII.1. Réponse immunitaire innée à l'infection par *Leishmania*

La réponse immunitaire est déclenchée au point d'entrée de l'agent pathogène. Lors de l'inoculation de *Leishmania* dans le derme, les promastigotes interagissent avec les composants sériques, activant le système du complément, à la fois par la voie classique et par la voie alternative. L'opsonisation des formes promastigotes métacycliques par le complément est rapide et efficace, entraînant la lyse d'environ 90% des parasites inoculés.

La salive des phlébotomes contient des exosomes, des microbes intestinaux et des molécules qui ont diverses activités, notamment la vasodilatation, l'inhibition de la coagulation et des effets immunomodulateurs. De plus, les promastigotes métacycliques de *Leishmania* induisent la sécrétion de MCP-1, CXCL1 et CXCL2, qui attirent à la fois les monocytes et les neutrophiles (rôle essentiel dans l'établissement de l'infection). Les neutrophiles recrutés éliminent les parasites *Leishmania* par phagocytose, production de radicaux libres oxygénés et libération de pièges extracellulaires de neutrophiles (NET). *Leishmania* peut survivre transitoirement à l'intérieur des neutrophiles en inhibant : la voie endocytaire et le stress oxydatif, et en retardant l'apoptose des neutrophiles. Les neutrophiles infectés sécrètent également de l'IL-8 et du MIP-1 β , qui attirent d'autres neutrophiles et d'autres cellules phagocytaires, favorisant la survie de *Leishmania* et la pathologie (**figure 43, section 2**).

Les cellules résidentes, telles que les macrophages, les kératinocytes, les mastocytes et les cellules de Langerhans, appelées sentinelles et présentes sur le site d'inoculation, expriment une variété de récepteurs dont les TLR et déclenchent la phagocytose des micro-organismes et des particules opsonisées. Ces cellules expriment également plusieurs récepteurs de cytokines et, avec d'autres cellules tissulaires, produisent plusieurs chimiokines, déclenchant des cascades d'activation de la réponse immunitaire innée et acquise. Entre autre, les macrophages peuvent se différencier en macrophages M1 stimulant les réponses Th1 et favorisant le contrôle de la maladie ou en macrophage M2 favorisant la réponse Th2 et la progression de la maladie (**figure 43, section 3**).

Les cellules activées subissent plusieurs changements morphologiques et fonctionnels qui conduisent à la phagocytose des parasites et au stress oxydatif. Après leur rencontre initiale avec les neutrophiles, les parasites *Leishmania* sont phagocytés à la fois par les monocytes et les macrophages, et les cellules dendritiques. De plus, les cellules dendritiques (DC) régulent les réponses immunitaires contre *Leishmania* en migrant vers les ganglions lymphatiques de drainage pour présenter l'antigène dérivé de *Leishmania* aux lymphocytes T naïfs. Les DC peuvent induire la différenciation Th1 par la sécrétion d'IL-12 et d'IL-27, ou Th2 par le blocage de la sécrétion d'IL-12 (**figure 43, section 4**).

Les mastocytes participent à la progression de la leishmaniose en sécrétant de l'IL-4 et de l'IL-13, favorisant ainsi les réponses Th2 et la survie du parasite (**figure 43, section 1**).

Les cellules NK jouent un rôle protecteur dans la leishmaniose en sécrétant de l'IFN pour stimuler la réponse Th1 (**figure 43, section 5**).

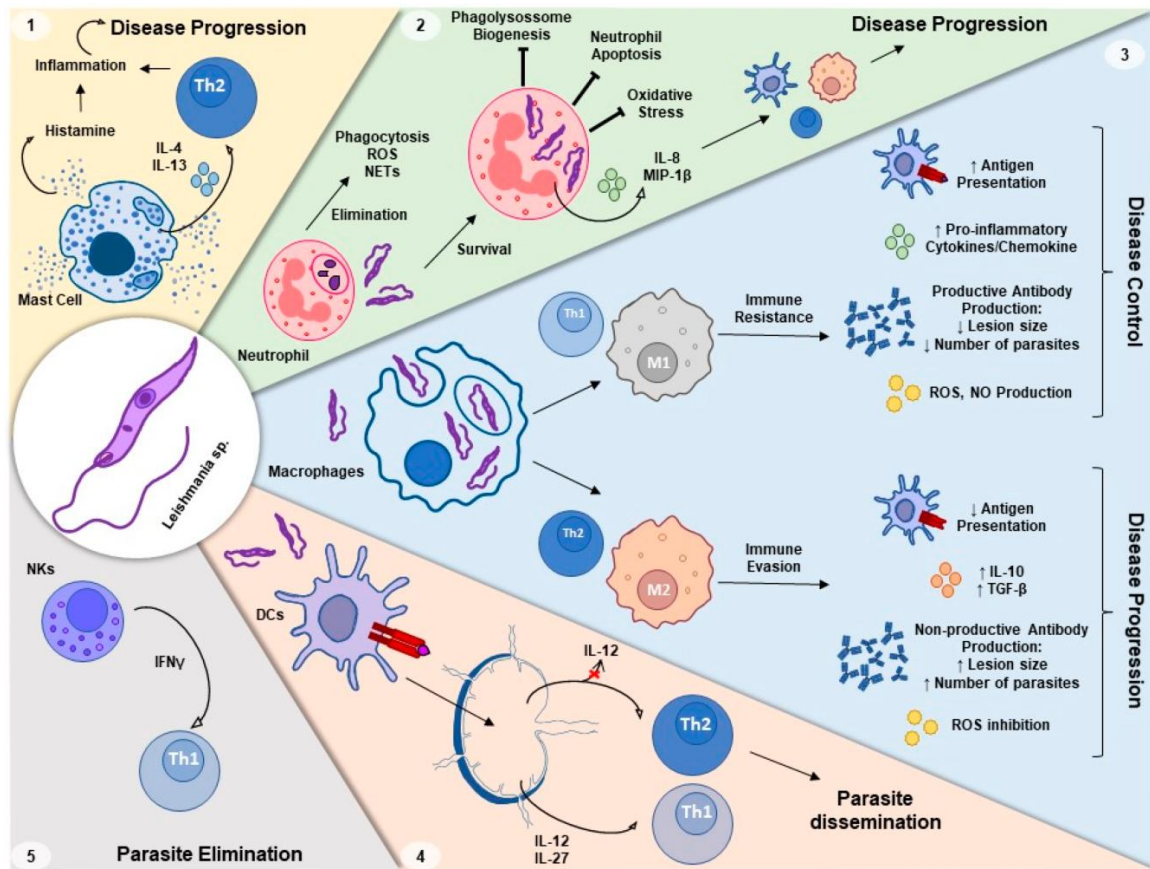


Figure 43 : Interactions de *Leishmania* avec les cellules immunitaires innées, modulant leur phénotype et leur fonction, ainsi que les réponses immunitaires adaptatives.

VII.2. Réponse immunitaire adaptative à l'infection par *Leishmania*

L'immunité cellulaire générée par une réponse Th1/Tc1 est considérée comme un important médiateur de la résistance à *Leishmania*. L'infection sous-cutanée par les promastigotes de *L. major* favorisent une réponse protectrice, conduisant au développement de petites lésions qui guérissent spontanément, au contrôle de la réplication du parasite et à l'immunité contre la réinfection. D'autre part, une réponse de type 1 mal modulée et exacerbée peut entraîner de graves lésions tissulaires et la manifestation clinique de la leishmaniose. La leishmaniose cutanée causée par *L. tropica* et la leishmaniose cutaneo-muqueuse causée par *L. braziliensis* et *L. amazonensis* se caractérisent par des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IFN et le TNF.

Cours 9 : Infestation par *Trypanosoma*

I. Introduction

Le genre *Trypanosoma* peut induire deux types de trypanosomiasés : il s'agit de la trypanosomiasé africaine (maladie de sommeil) causé par *T. brucei*, et la trypanosomiasé américaine (maladie de Chagas) causée par *T. cruzi*.

II. *Trypanosoma brucei*

II.1. Cycle de vie

Suite à une pique d'une mouche tsé-tsé infestée, les trypomastigotes métacycliques sont injectés dans la peau. Ces parasites se déplacent dans les circulations lymphatique et sanguine; et ils se transforment en trypomastigotes lesquels migrent vers les organes et les tissus dans tout l'organisme, y compris le liquide céphalorachidien. Ces protozoaires se multiplient par division binaire dans la circulation sanguine et dans les autres liquides biologiques. Lors d'une pique ultérieure par le vecteur, les trypomastigotes de la circulation sanguine sont ingérés. À l'intérieur de la mouche, ces parasites subissent une transformation en trypomastigotes procycliques lesquels se multiplient par fission binaire dans l'intestin moyen. Les trypomastigotes procycliques quittent l'intestin moyen et se transforment en épimastigotes (**figure 44**). Ces derniers subissent une multiplication dans les glandes salivaires et se transforment en trypomastigotes métacycliques (**figure 45**).

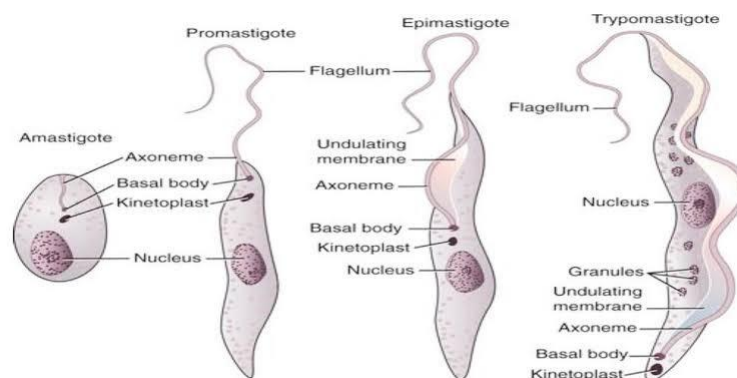


Figure 44 : Formes parasitaires de *Trypanosoma*

II.2. Maladie de sommeil

La trypanosomiasé africaine humaine (HAT), aussi appelée maladie du sommeil est une parasitose transmise par un insecte vecteur : la mouche tsé-tsé ou glossine (**figure 46**). Elle est causée par deux parasites : *Trypanosoma brucei gambiense* et *Trypanosoma brucei rhodesiense* (**figure 47**).

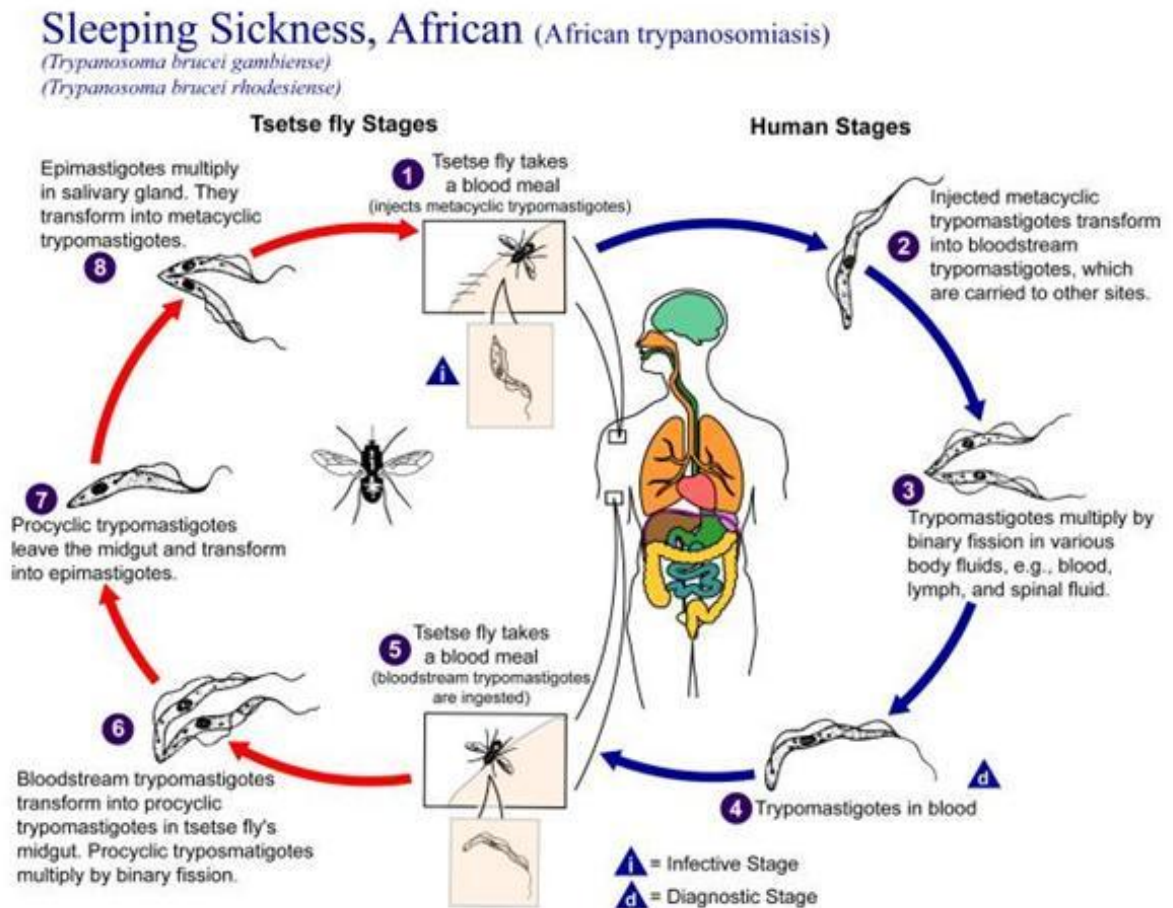


Figure 45 : Cycle de vie de *Trypanosoma brucei*

Le premier parasite est responsable de 92-97% des cas ; il se trouve dans l'Afrique de l'Ouest et le centre de l'Afrique. En revanche, le deuxième parasite est localisé dans l'Afrique de l'Est et le sud de l'Afrique ; et est responsable de 3-8% des cas de trypanosomiase africaine humaine. *Trypanosoma brucei gambiense* provoque la forme aiguë de la maladie ; tandis que *Trypanosoma brucei rhodesiense* provoque la forme chronique.

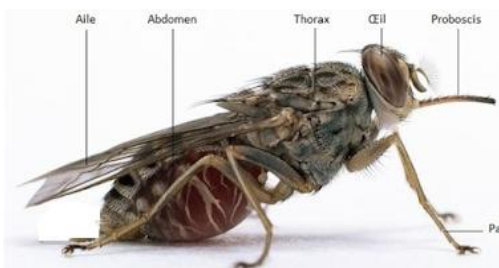


Figure 46 : Photo de la glossine (Mouche tsé tsé).

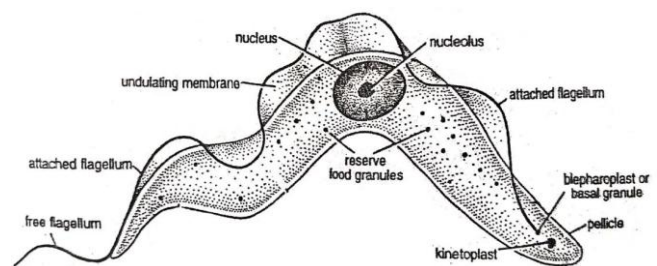


Figure 47 : Schéma de *Trypanosoma brucei gambiense*.

Durant la première phase (lymphatico-sanguine) de la maladie, les trypomastigotes métacycliques transmis par la glossine infectée se multiplient dans le système sanguin et

lymphatique de l'hôte. Les signes cliniques correspondant à cette phase sont la fièvre, les céphalées et les douleurs articulaires.

Lors de la deuxième phase (neurologique), les Trypomastigotes de la circulation sanguine franchissent la barrière hémato-encéphalique et envahissent le système nerveux central. Le patient présente alors des polyadénopathies, d'hépatosplénomégalie, des troubles du comportement, de la coordination et du sommeil. Le cycle du sommeil est perturbé, ce qui entraîne des accès de fatigue le jour et des insomnies la nuit. Sans intervention, cette maladie s'avère mortelle. Effectivement, le décès survient en raison d'une cachexie fébrile. Une personne peut être infectée pendant des mois, voire des années sans présenter de symptômes graves. Quand les symptômes sont attribués à la maladie, celle-ci est souvent déjà à un stade avancé et le système nerveux central est atteint.

II.3. Immunité anti *Trypanosoma brucei*

La co-injection des trypomastigotes métacycliques avec la salive de la glossine déclenche une réaction immunitaire ; qui a pour but de prévenir le développement des parasites. Où les cellules dendritiques, les macrophages, les kératinocytes et d'autres cellules et via leurs récepteurs TLR détectent à la fois les molécules PAMPS et DAMPS aboutissant à la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires, les interférons de type I, les chimiokines, les radicaux libres oxygénés et les peptides antimicrobiens.

Certains constituants de la salive de la glossine tel que Tsetse Antigen5 (TAg5) induit une réaction d'hypersensibilité aiguë (**figure 48**).

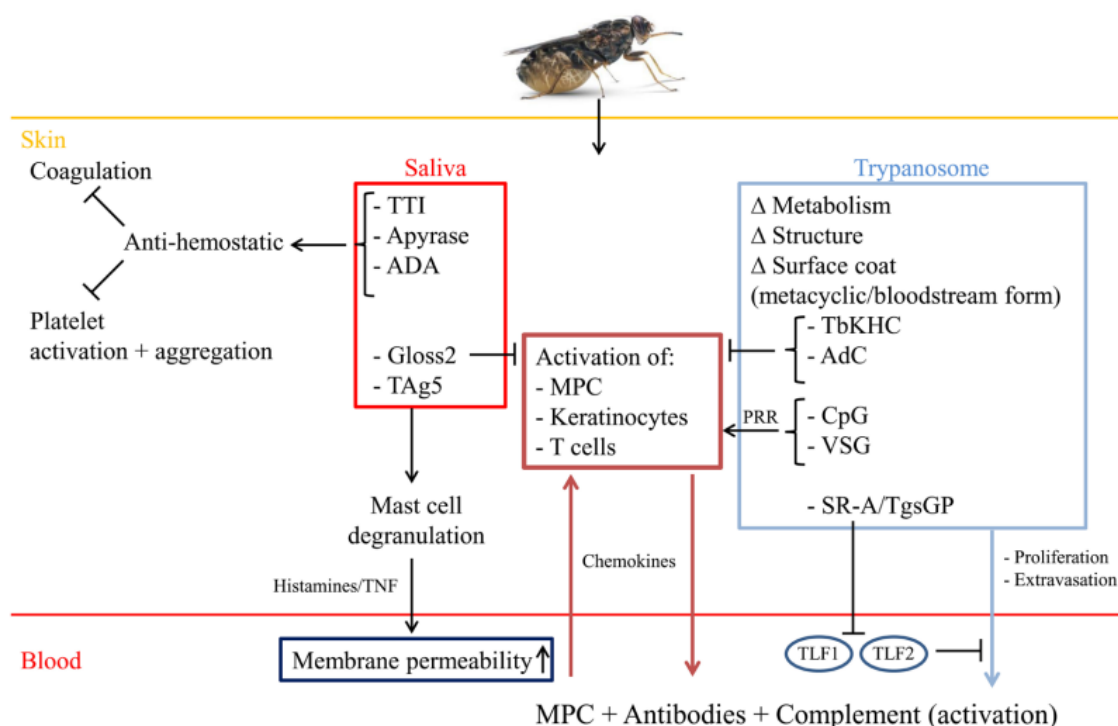


Figure 48 : Modulation de la réponse immunitaire par les constituants de parasite et de la salive de la glossine.

Au niveau du sérum immun, l'immunité innée anti *Trypanosoma* est assurée par un complexe protéique semblable au complément ; il s'agit de facteurs trypanolytiques (TLF). Les complexes TLF possèdent les protéines HRP (haptoglobin-related protein) et APO-L1 (apolipoprotein L1). HRP permet la liaison à l'hémoglobine (Hb) ce qui assure l'entrée de TLF-1 dans les trypanosomes via l'interaction avec le récepteur TbHpHbR. En effet, Étant donné que les trypanosomes présentent un déficit en biosynthèse de l'hème et que l'hème ne peut pas diffuser à travers la membrane des parasites, ils ont besoin d'absorber de l'hème exogène par le récepteur haptoglobine (Hp)-hémoglobine (Hb) (HpHbR) situé dans la poche flagellaire des parasites. Après la libération de l'Hb par les érythrocytes détruits, celle-ci se lie à l'Hp, formant un complexe Hp-Hb, qui peut être reconnu par les cellules phagocytaires myéloïdes (cellules dendritiques, macrophages/monocytes, neutrophiles) via CD163 et par le HpHbR trypanosomal. Cela permettra aux parasites d'acquérir et d'incorporer l'hème dans les hémoprotéines intracellulaires nécessaires à une croissance optimale des parasites et à leur résistance à la flambée respiratoire des cellules hôtes (figure 49).

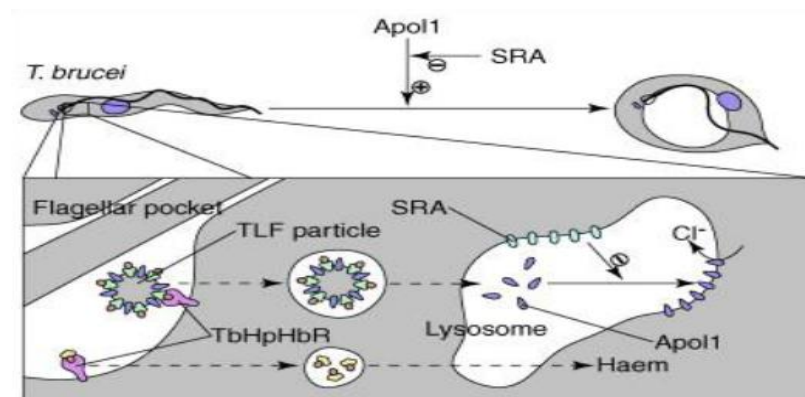


Figure 49 : Mécanisme d'échappement de *Trypanosoma brucei rhodesiense*

L'entrée de TLF-2 est indépendante de ce récepteur. Une fois les TLF entrés, l'APO-L1 génère des pores dans la membrane lysosomale, ce qui entraîne l'entrée d'ions chlorure et d'eau du cytosol vers le lysosome.

Pour compenser le déficit en ions chlorure dans le cytosol, une importation d'ions chlorure depuis le milieu extracellulaire est mise en place, conduisant à une augmentation de la pression intracellulaire et au gonflement lysosomal induisant ainsi la mort du parasite. Ainsi, ApoL1 confère une immunité innée contre ce parasite (figure 50).

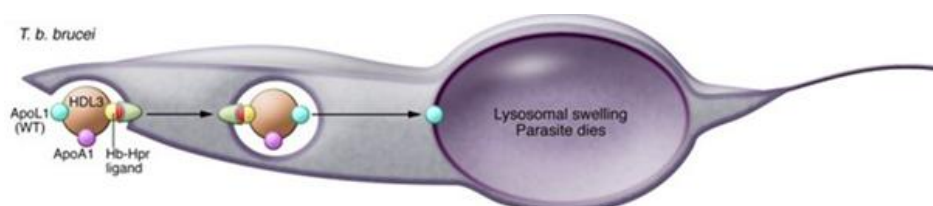


Figure 50 : Mécanisme moléculaire de l'induction de la mort de *Trypanosoma brucei* par les facteurs trypanolytiques.

* Conséquences pathologiques de l'immunité anti *Trypanosoma*

Les trypanosomes possèdent une glycoprotéine de surface variable (VSG) qui induit l'apparition d'auto-anticorps anti-tryptophane *like* par réaction croisée et la synthèse de TNF α . Celui-ci favorise la différenciation des lymphocytes B et le passage des anticorps dans le système nerveux central (SNC). Les anticorps anti-galactocérébroside (Galc) et anti-neurofilaments (NF) sont dirigés contre les constituants du SNC, respectivement la myéline et le neurone. Ils causeraient spécifiquement l'atteinte neurologique. Il en résulte la méningo-encéphalite ou pan-encéphalite trypanosomienne ou leucoencéphalite démyélinisante par rupture de la barrière hémato-encéphalique.

II.4. Mécanismes d'échappements

L'organisation de la membrane superficielle est particulièrement importante pour contrecarrer à la fois les réponses immunitaires innée et adaptatives de l'hôte.

Les trypomastigotes ont la capacité de sans cesse modifier le manteau de glycoprotéines qui recouvrent leur surface par le processus de variation antigénique. Ce manteau est constitué d'environ 10^7 copies identiques d'une glycoprotéine de surface appelée VSG (Variant Surface Glycoprotein). *Trypanosoma brucei* possède un répertoire de plus de 1500 gènes et pseudo-gènes codant pour les VSG (80-90% sur les 11 grands chromosomes, le reste sur les chromosomes intermédiaires et les minichromosomes) et peut donc changer le variant exprimé à sa surface grâce à des remaniements dans le génome. Un seul variant de VSG est exprimé à la surface du parasite. De plus, le VSG est une protéine très immunogène, où son domaine N-terminal est très variable et contient les épitopes reconnus par les anticorps de l'hôte. Ces VSG à la surface sont recyclées toutes les 12 minutes environ, ce qui permet d'internaliser et détruire les complexes VSG-anticorps et de redistribuer des VSG libres à la surface. Des pics de parasitémie corrélés avec l'apparition d'un nouveau variant à la surface des parasites sont alors observés. En effet, la nouvelle population n'étant pas encore reconnue par les anticorps circulants, le parasite peut se multiplier.

Cependant ce processus n'est pas suffisant pour s'échapper au système immunitaire de l'hôte. Effectivement, *Trypanosoma* a développé des mécanismes de résistance aux facteurs trypanolytiques TLF-1 et TLF-2 présents dans le sérum humain.

Le Gloss2, peptide immunorégulateur se trouvant dans la salive de la mouche Tsétsé, inhibe la sécrétion des facteurs trypanolytiques et des cytokines pro-inflammatoires (IFN- γ et IL-6). De plus, *Trypanosoma brucei rhodesiense* possède une protéine de résistance au sérum humain (SRA, serum resistance-associated protein). Le complexe contenant l'ApoL1 est absorbé par *T. b. brucei* via un récepteur qui lie l'hémoglobine et la protéine apparentée à l'haptoglobine (Hb-Hpr). Ensuite, l'ApoL1 circule jusqu'au lysosome du trypanosome, où le pH acide provoque un changement de

conformation, conduisant à l'activation de la fonction de canal anionique dans l'extrémité N de l'ApoL1. Finalement, la protéine SRA permet la neutralisation de APO-L1 en interagissant avec cette dernière, ce qui entraîne la survie du parasite dans le sang de l'hôte (**figure 51**).



Figure 51 : Mécanisme d'échappement de *Trypanosoma brucei rhodesiense*.

Quant à *Trypanosoma brucei gambiense*, il exprime une glycoprotéine spécifique : TgsGP (*T. b. gambiense* specific glycoprotein). Cette protéine exerce un mécanisme de résistance différent. En effet, la protéine TgsGP renforce les membranes lysosomales en interagissant avec les lipides ce qui empêche l'incorporation de APO-L1 dans ces dernières.

III. *Trypanosoma cruzi*

III.1. Cycle de vie

Au cours d'un repas de sang, la triatomine (punaise) infectée libère des trypomastigotes métacycliques dans ses selles près du site de la morsure; lesquels pénètrent dans l'hôte par une plaie ou par des muqueuses intactes (conjonctive) (**figure 52**).



Figure 52 : Photo de punaise

À l'intérieur de l'hôte, les trypomastigotes envahissent les cellules proches du site d'inoculation, où ils se différencient en amastigotes intracellulaires. Les amastigotes se multiplient par fission binaire. Ensuite ils se différencient en trypomastigotes, puis sortent de la cellule et entrent dans la circulation sanguine. Les trypomastigotes sanguins peuvent infecter les cellules de divers tissus; là, ils se transforment en amastigotes intracellulaires et provoquent une infection symptomatique. Dans la circulation sanguine, les trypomastigotes, contrairement aux trypanosomes africains, ne se multiplient pas. La multiplication ne reprend que lorsque les parasites pénètrent dans une autre cellule ou sont ingérés par un autre vecteur (**figure 53**).

Trypanosomiasis, American (Chagas disease) (*Trypanosoma cruzi*)

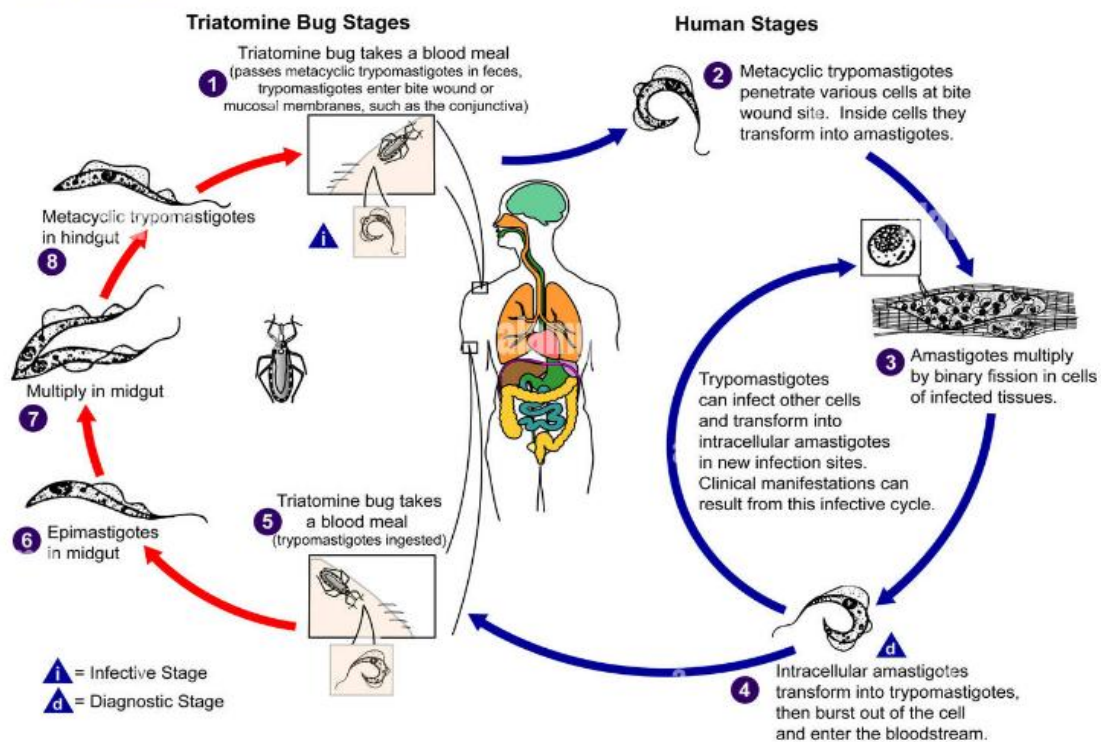


Figure 53 : Cycle de vie de *Trypanosoma cruzi*

La punaise s'infecte en se nourrissant de sang humain ou animal contenant des parasites circulants. Les trypomastigotes ingérés se transforment en épimastigotes et se multiplient dans l'intestin moyen du vecteur. Au niveau de l'intestin postérieur, ils se différencient en trypomastigotes métacycliques infectieux, qui sont excrétés dans les selles.

III.2. Maladie de Chagas

L'infection à *Trypanosoma cruzi* est caractérisée par une phase aiguë qui dure quelques semaines, suivie d'une phase chronique le plus souvent asymptomatique et qui peut durer plusieurs années. En effet, après une phase aiguë suivant l'infection, la maladie évolue vers la chronicité chez plus d'un tiers des personnes infectées. La phase chronique apparaît après 10 à 20 ans d'infection. Des lésions irréversibles peuvent toucher le cœur, l'œsophage, le colon, et le système nerveux périphérique. Selon des études épidémiologiques 30% des personnes infectées souffrent de symptômes cardiaques (cardiopathies chroniques), qui peuvent conduire à la mort subite. Environ 10% des individus sont atteints de lésions chroniques de l'appareil digestif et 3% des personnes infectées ont des atteintes du système nerveux périphérique (troubles neurologiques).

Les traitements actuels provoquent des effets secondaires non négligeables et ne sont pas efficaces pendant la phase chronique

III.3. Immunité anti *Trypanosoma cruzi*

L'immunité innée, composée de phagocytes, en particulier de macrophages, de neutrophiles et de cellules dendritiques, constitue la première ligne de défense à laquelle *T. cruzi* est confronté lorsqu'il envahit un hôte vertébré. En effet, ces cellules sont pourvues de TLR et de NLR, qui en interagissant avec les molécules PAMP et DAMP aboutissent à la production de cytokines impliquées dans la promotion de l'inflammation et dans l'activation d'autres cellules de défense au niveau du site d'infection. Ces dernières jouent un rôle important dans la défense de l'hôte.

Après une infection par *Trypanosoma cruzi*, les cytokines pro-inflammatoires et l'IFN γ produits par les NK, ainsi que les LT effecteurs, influencent l'état d'activation des macrophages. En effet, l'IFN γ peut activer les macrophages par la voie classique induisant ainsi la production des intermédiaires microbicides et des espèces réactives de l'oxygène qui peuvent tuer *Trypanosoma cruzi*, déclenchant une réponse polarisée de type I. Plusieurs antigènes parasitaires induisent l'activation classique des macrophages: les glycoprotéines de type mucine ancrées au glycophosphatidylinositol sont capables d'induire les macrophages stimulés par l'IFN- à produire du NO. En revanche, l'IL-4 et l'IL-13 libérées dans les réponses de type II induisent l'activation des macrophages d'une manière alternative.

Un autre élément important de l'immunité innée est le complément responsable de l'opsonisation des agents pathogènes, de recrutement des cellules phagocytaires vers le site de l'infection et de la destruction de l'agent infectieux.

L'inflammasome se compose généralement de trois éléments : des caspases inflammatoires telles que la caspase-1, une molécule adaptatrice telle que l'ASC et une protéine capteur telle que la NLRP3. L'inflammasome induit la sécrétion des cytokines inflammatoires IL-1 et IL-18 et dirige la cellule hôte vers des programmes spécifiques de mort inflammatoire programmée appelés pyroptose. Ces événements favorisent l'élimination des agents pathogènes dans les tissus infectés et endommagés, induisent une immunité adaptative et rétablissent l'homéostasie tissulaire. Dans le cas de l'infestation par *Trypanosoma cruzi*, la reconnaissance de ce parasite se fait par les TLR, qui sont activés à la suite de leur interaction avec des molécules pathogènes, et conduit à l'activation de NOD1. Ce processus aboutit à l'assemblage et à l'activation du complexe inflammasome NLRP3 / ASC / caspase-1, qui détermine le clivage de la caspase-1 et le processus de libération de la pro-IL-1 vers la cytokine mature.

III.4. Mécanismes d'échappements

La surface du parasite est recouverte de glycoprotéines de mucine, essentielles à la protection contre la reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte, contribuant ainsi à l'établissement de l'infection. Les amastigotes et les trypomastigotes sanguins expriment une

mucine variable appartenant à la famille des mucines de *T. cruzi* (TcMUC). Ces mucines sont des accepteurs de résidus d'acide sialique, qui sont transférés des glycoconjugués de l'hôte par trans-sialidase.

En utilisant des glycoprotéines de surface, les trypomastigotes sanguins résistent à l'action lytique du complément en empêchant son activation. En effet, la CRP 160 (complement regulatory protein 160 Kda) bloque les deux voies d'activation du complément (classique et alternative). Cette protéine se lie à C3b et C4b, interférant ainsi avec l'assemblage de la C3 convertase. Une autre protéine : la claréticuline (TcCRT), inhibe la lyse induite par l'activation de la voie classique. Cette protéine se fixe sur C1q et peut entrer en compétition avec les anticorps. La TcCRT inhibe de manière compétitive la liaison du complexe (C1r-C1s) aux queues de C1q.

Trypanosoma cruzi induit la production des deux phénotypes Th1 et Th2 chez les individus infectés. Le taux de l'ARNm de l'IL-10 est élevé chez les individus infectés par *Trypanosoma cruzi*, ce qui suggère qu'un taux élevé d'IL-10 pourrait contribuer à la persistance du parasite, puisque l'IL-10 est une cytokine suppressive capable d'inhiber les réponses immunitaires protectrices Th1.

Relations Hôtes- virus

Cours 10 : Immunité antivirale

I. Introduction

Les virus se développent dans les cellules de l'hôte qu'ils infectent dont ils détournent le métabolisme à leur profit. Les virus produits par ces cellules vont être libérés par celles-ci, avec ou sans lyse cellulaire, et vont infecter d'autres cibles cellulaires. En général, une ou plusieurs périodes de virémie se produisent favorisant la dissémination de l'infection. Les phases initiales des réponses immunitaires antivirales sont en conséquence similaires à celles dirigées contre les bactéries à répllication intracellulaire. De plus les virus déclenchent la production massive d'interférons qui inhibent notamment la répllication virale.

II. Immunité innée

Ce type d'immunité fait intervenir les interférons, substances glycoprotéiques capables d'inhiber la multiplication intracellulaire des virus. La production des interférons de type I est induite par l'interaction moléculaire entre les PRR dont les TLR, NLR, RLR avec les virus. Tandis que, les interférons de type II (interféron γ) est induite par l'interaction entre les Ag et les TCR des lymphocytes T.

Les interférons protègent les cellules de l'infection virale en inhibant la synthèse des protéines virales, en bloquant l'initiation de la traduction des protéines virales et en inhibant la pénétration, le bourgeonnement et la libération des nouveaux virions. Les interférons ont une activité immunologique puisque ces molécules stimulent l'activité des NK et stimulent la synthèse et l'expression des molécules de CMH classe I. Enfin, l'activité anti-proliférative des interférons est assurée par l'inhibition de la croissance cellulaire.

Les interférons agissent également en augmentant l'activité des cellules NK qui sont cytotoxiques pour les cellules infectées par les virus.

III. Immunité adaptative

III.1. Immunité adaptative humorale

Les virus engendrent une réponse immunitaire humorale caractérisée par la production d'anticorps :

Les anticorps neutralisants s'opposent au pouvoir infectieux du virus, soit par combinaison avec les sites du virus responsable de sa fixation sur la cellule cible, puis de sa pénétration dans celle-ci (exp : hémagglutinine du virus de la grippe). Ces anticorps ne sont pas actifs sur les virus ayant déjà infecté les cellules. Donc, comme leur apparition en réponse primaire demande plusieurs jours, ils n'ont au maximum qu'un effet de prévention de la dissémination du virus du site de

primo-infection à d'autres cellules. Les virus enveloppés sont sensibles à l'action lytique des anticorps en présence de complément. De même, les cellules hébergeant les virus constituent la cible de système de complément ; qui peut être activé soit par la voie alterne ou bien par la voie classique en utilisant des anticorps cytotoxiques. Dans le même contexte, les anticorps responsables de la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps implique la présence des cellules NK. Toutefois, les anticorps opsonisants ont un effet néfaste en favorisant le parasitisme des phagocytes par le virus (**figure 54**).

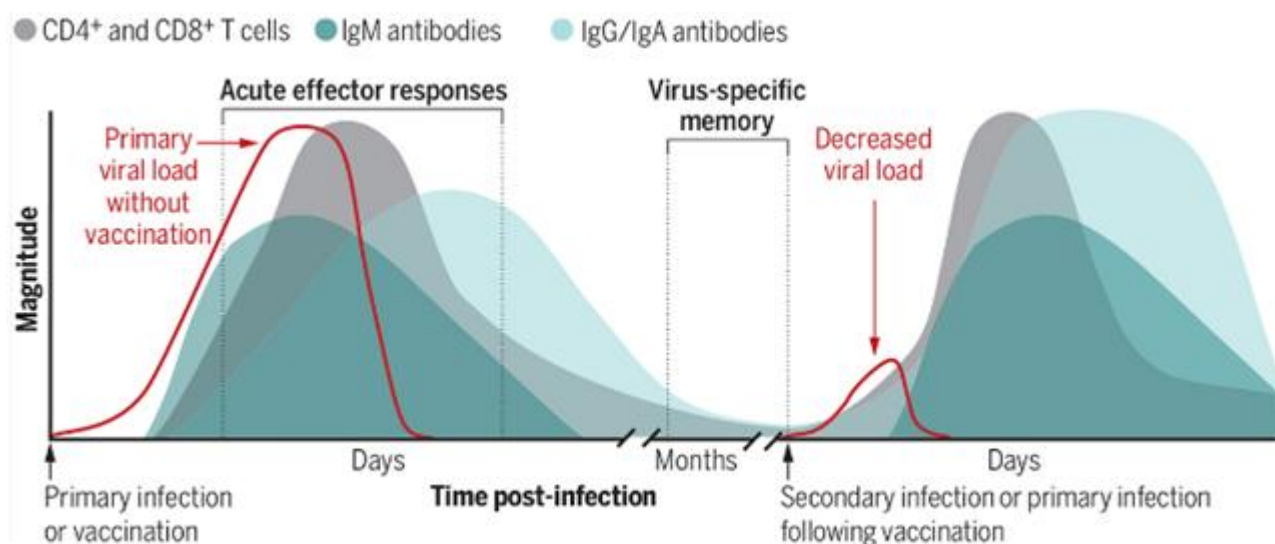


Figure 54 : Réponse immunitaire adaptative aux infections virales

III.2. Immunité adaptative Cellulaire

Généralement, l'immunité cellulaire contre les virus a un effet bénéfique pour l'organisme, mais peut parfois conduire à des effets indésirables. Elle fait intervenir les lymphocytes Th1, sécrétant en particulier de l'IFN γ et du TNF α qui augmentent l'expression des molécules de CMH et activent les lymphocytes NK. L'interféron γ synthétisé par les lymphocytes Th1 se fixe sur son récepteur à la surface des cellules cibles des virus. Cette fixation induit la synthèse de protéines qui brisent l'ARNm bloquant ainsi la synthèse des protéines virales lorsqu'un virus pénètre dans la cellule. Chez la souris, il a été montré que l'IFN γ agirait en induisant la synthèse d'une protéine dénommée Mx, inhibitrice de la réplication virale des virus A et B de la grippe par action au niveau de l'ARN viral. Entre autre, les lymphocytes Th1 aident de plus les lymphocytes B à se différencier en plasmocytes sécrétant des anticorps spécifiques. Ils participent également à la différenciation des lymphocytes T CD8 $^{+}$ en lymphocytes cytotoxiques qui tuent les cellules infectées par des mécanismes requérant un contact étroit avec leur cible. En effet, la reconnaissance des peptides antigéniques associés aux molécules CMH de classe I exprimés à la surface des cellules infectées entraîne une mobilisation rapide de granules contenus dans les LTc vers leur membrane. Après fusion de ces granules avec la membrane plasmique, la perforine libérée du contenu granulaire crée

des pores dans la membrane de la cellule cible. Les granzymes des granules pénètrent dans la cible par ces pores et entraînent une activation de l'apoptose et la mort de la cellule infectée.

Une voie alternative de lyse consiste en l'induction de l'expression de Fas Ligand par les LTc, consécutive à la reconnaissance par leur récepteur T du complexe CMH classe I/peptide antigénique. L'interaction de Fas Ligand avec les molécules Fas exprimées sur les cellules infectées entraîne la mort de ces dernières également par activation de l'apoptose.

Les lymphocytes Tc sont très efficace mais présente l'inconvénient de libérer des particules virales matures lors de la lyse des cellules infectées et de détruire des cellules de l'hôte. Les anticorps neutralisants empêchent les virus ainsi libérés de pénétrer dans de nouvelles cellules. La perte des cellules infectées est compensée par les capacités de l'hôte à renouveler son patrimoine tissulaire.

Cours 11 : Mécanismes d'échappement viral aux réponses immunitaires

I. Introduction

La coexistence des virus et des hôtes exerce une pression évolutive sur le système immunitaire. L'hôte a développé un système immunitaire capable de répondre aux virus et aux cellules infectées par ceux-ci. D'autre part, les virus ont développé plusieurs mécanismes d'évasion immunitaire pour échapper au système immunitaire de l'hôte.

II. Mécanismes d'échappement

II.1. Mutations

Les cellules infectées par un virus sont normalement reconnues et éliminées par le système immunitaire. L'une des étapes clés de ce processus consiste à présenter les peptides viraux associés avec les protéines de CMH classe I, ce qui permet aux cellules infectées d'être détectées et détruites par les lymphocytes T cytotoxiques (LTc).

Les mutations ponctuelles sont dues à l'absence d'activité correctrice de la polymérase virale chez les virus à ARN. Ces mutations sont à l'origine de l'adaptation à des hôtes d'espèces différentes, et à l'évolution de la virulence des souches. Les mutations dans les gènes de l'hémagglutinine et, dans une moindre part de la neuraminidase chez l'influenza virus sont à l'origine d'une dérive antigénique, à l'origine des épidémies annuelles de grippe. Ainsi, l'immunité acquise au cours d'une grippe n'est pas efficace sur les souches des années suivantes du fait de cette dérive antigénique, ce qui explique les réinfections successives au cours de la vie d'un individu.

Le réassortiment génétique est un échange d'ARN entre deux virus lors d'une infection mixte dans une cellule. Ce phénomène résulte en la production de nouveaux virions avec des segments d'ARN provenant des deux virus parentaux, ce qui peut entraîner une cassure antigénique. Cette cassure, impliquant des gènes de l'hémagglutinine et de la neuramidase, introduit de nouveaux virus sous-types dans la population humaine, rendant celle-ci susceptible à des pandémies de grippe.

II.2. Interférence avec l'immunité innée

II.2.1. Echappement au complément

Certains virus expriment des protéines virales qui imitent les fonctions des protéines régulatrices de complément. La glycoprotéine C du virus Herpes simplex – 1 entraîne la dissociation de la convertase C3 ; et la protéine de contrôle de complément sécrétée par le virus de la vaccine et présentant une homologie avec les protéines régulatrices de complément est capable d'interagir avec les protéines constituant la C3 convertase dont C3b et C4b.

D'autres virus enveloppés tels que le virus de la maladie de Newcastle et le virus de la vaccine sont capables d'incorporer les protéines régulatrices de complément dans leur enveloppe en bourgeonnant à travers la membrane plasmique ou à travers les vacuoles intracellulaires.

Les cellules infectées peuvent également être lysées le mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps. Certains virus produisent alors des molécules qui se lient à la région Fc des immunoglobulines de l'hôte. De tels récepteurs codés par le virus (v-FcRs) peuvent empêcher les IgGs de neutraliser les virus libres et d'engager une activité dépendante des anticorps contre les cellules infectées.

II.2.2. Echappement au NK

Les cellules NK sont généralement activées aux premiers stades d'une infection virale, avant la génération d'anticorps et des LTC spécifiques au virus. Le ligand le plus important reconnu par les cellules NK est le HLA-A et HLA-B associé au peptide antigénique. Cependant, lors de l'infection virale, le complexe HLA classe I classique présente les peptides antigéniques viraux, entraînant l'élimination de la cellule infectée par les cellules NK. Ainsi, les virus réduisent l'expression de HLA-A et B à la surface des cellules infectées pour échapper à la réponse antivirale.

Les virus peuvent échapper aux réponses des cellules NK en augmentant l'expression de l'HLA-E (molécule de CMH classe I non classique). Un épitope immunodominant dérivé de la protéine p24 du VIH présenté par le HLA associé au HLA-E interagit avec des KIRs pour inhiber la fonction des cellules NK. Les épitopes dérivés de la glycoprotéine UL40 du cytomégalovirus humain, présentés aux cellules NK par les molécules HLA-E via le récepteur CD94/NKG2A, protègent également les cellules infectées contre la destruction médiée par les cellules NK.

II.3. Interférence avec l'Immunité Adaptative

II.3.1. Inhibition de la présentation antigénique

Le cytomégalovirus humain exprime la protéine US6 dans la phase initiale de l'infection, ce qui inhibe le transporteur TAP localisé au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique ; et sa présence dans la phase tardive de la réplication virale limite la présentation des antigènes viraux structurels tels que la glycoprotéine B.

Les HSV 1 et 2 encodent la protéine cytoplasmique ICP47, qui obstrue le site de liaison des peptides dans TAP, bloquant ainsi la présentation des peptides viraux au CMH de classe I.

II.3.2. Induction de l'apoptose ou suppression des cellules immunitaires

Les virus ont plusieurs stratégies distinctes pour empêcher la mort des cellules hôtes infectées, y compris la production d'inhibiteurs de caspase, d'homologues de Bcl-2 ...

Les virus peuvent également interférer dans la signalisation de la mort cellulaire au niveau des récepteurs. À titre d'exemple, une protéine adénovirale est responsable de l'internalisation de Fas présent à la surface des cellules infectées et sa destruction dans les lysosomes.

II.4. Évasion de la réponse immunitaire par la latence

L'état d'une infection virale non productive dans les cellules hôtes est appelé latence. Les virus peuvent échapper aux réponses immunitaires de l'hôte, devenant latents et invisibles pour le système immunitaire. Pendant la latence, les virus peuvent infecter des cellules hôtes non permissives ou semi-permissives et persister dans des tissus, tels que le cerveau, la rétine et les reins. Ces cellules ne possèdent pas les facteurs de transcription nécessaires à la réplication du virus. Ainsi, le virus peut rester dans le cerveau, où il est protégé par la barrière hémato-encéphalique contre l'infiltration des lymphocytes. Ces cellules et tissus servent de réservoirs pour les virus, qui sont résistants aux traitements.

Exemple : le virus Herpes simplex, responsable des boutons de fièvre, infecte et se réplique dans les cellules épithéliales, mais il peut également persister sous forme d'infection latente, avec une faible expression génique virale dans les cellules nerveuses qui expriment peu le CMH. Après certains stimuli, tels que l'immunosuppression, un traumatisme, le virus peut être activé et migrer à travers les axones des neurones pour infecter les cellules épithéliales.

Cours 12 : Infection par le Papilloma virus humain

I. Introduction

Le Papilloma virus humain (HPV) est un virus strictement épithéiotropes à tropisme cutané/muqueux. Plus de 200 génotypes de HPV ont été identifiés au cours du dernier siècle et regroupés en différents genres (Alpha-, Nu-/Mu-, Beta- et Gamma-papillomavirus) selon la structure du génome viral et le tropisme pour les tissus épithéliaux humains. Le genre Alpha comprend des génotypes qui ont été décrits comme causant le cancer, tandis que les infections par les papillomavirus Bêta et Gamma sont généralement asymptomatiques, mais les états d'immunosuppression (greffe d'organe, infection par le VIH...) peuvent déclencher ces types pour produire des papillomes cutanés ou augmenter la prédisposition au cancer de la peau.

Deux types d'HPV : faible et haut risque. Les HPV à faible risque (HPV6, 11) provoquent des atteintes dermatologiques (verrues cutanées, condylomes génitaux, dysplasie cervicale) ; tandis que les virus HPV à haut risque (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, et 59) induisent des lésions malignes (cancer du col utérin, cancer de l'anus, cancer du pénis). En effet, les verrues cutanées (verrues vulgaires, verrues plantaires ou verrues planes) et les condylomes génitaux sont causés par des HPV à bas risque. Ces verrues peuvent apparaître sur les bras, le visage, les pieds, les mains et les jambes à tout âge, mais plus communément pendant l'enfance. Par contre, le développement de lésions précancéreuses (néoplasies intraépithéliales) pouvant évoluer vers un cancer invasif résulte d'une infection persistante par un HPV à haut risque. En effet, le cancer du col utérin, du pénis et d'anus sont causés par les HPV 16 et 18 qui sont des virus à haut risque.

L'infection par l'HPV peut aboutir soit à une infection transitoire qui se termine par la clairance virale en quelques mois (12 à 24 mos) ; soit à une infection persistante qui peut durer plusieurs années et qui est le résultat de l'incapacité de système immunitaire à éliminer le virus. Généralement, la persistance de l'infection aboutit au développement des lésions de bas grade (dysplasie cervicale) qui peuvent évoluer à des lésions de haut grade et enfin à un carcinome invasif (figure 55).

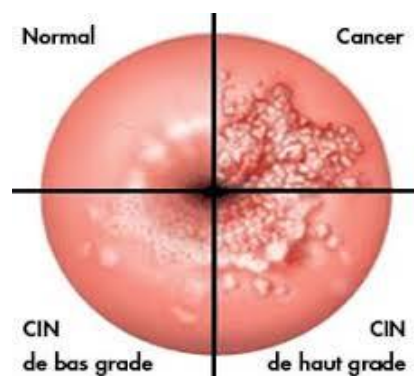


Figure 55 : Aspects macroscopiques des lésions de col utérin

II. Structure de Papillomavirus humain

Les HPV sont des petits virus de 55 nm ; et ils sont les seuls représentants de la famille des Papillomaviridae. Le génome de ces virus est protégé par une capsid protéique de symétrie icosaédrique (72 capsomères) non enveloppée. C'est un ADN double brin circulaire d'environ 8000 paires de bases, enroulé sur lui-même, et structuré en trois régions (**figure 56**):

* La région précoce (E) encode des gènes nécessaires au cycle viral et jouant un rôle important dans la transformation cellulaire (E1, E2, E4, E5, E6 et E7). L'expression de E6 et E7, ainsi que de E1, E2, E4 et E5, est essentielle pour la réplication du génome viral et la synthèse et la libération des virions, mais ils jouent également un rôle clé dans la transformation cellulaire

* La région tardive (L) encode les protéines de la capsid L1 et L2 qui sont les constituants de la capsid. La protéine L1, à fort potentiel immunogène, est utilisée dans le développement des vaccins.

* La région de contrôle longue (LCR), est une région non codante contenant l'origine de réplication et les sites de liaison des facteurs de transcription qui contribuent à réguler la réplication de l'ADN en contrôlant la transcription des gènes viraux.

Le virus est très résistant aux modifications de pH et de température, ce qui favorise sa persistance dans le milieu extérieur.

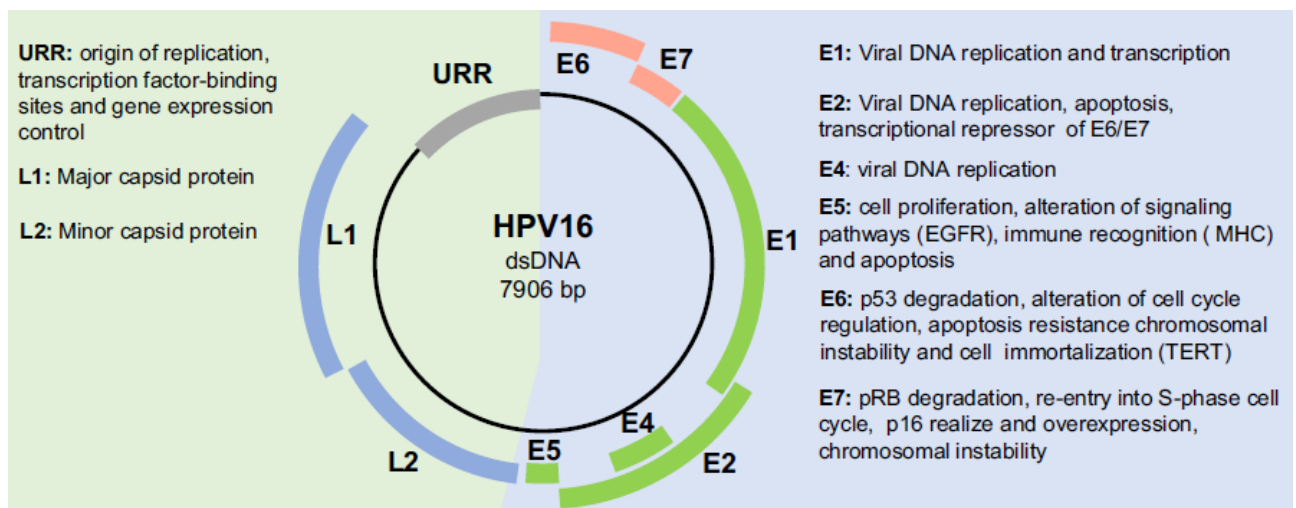


Figure 56 : Structure de l'HPV 16 et les protéines virales.

III. Cycle d'infection

Le cycle de vie de l'HPV commence par l'infection de la couche basale à travers des microtraumatismes qui compromettent la barrière épithéliale.

Suite à un microtraumatisme générant une brèche dans l'épithélium cutané ou muqueux, le virus pénètre dans l'organisme puis se multiplie dans les cellules basales de l'épithélium. Au niveau du col utérin, la cible préférentielle du virus est la zone de jonction entre épithélium malpighien et

épithélium glandulaire située à l'orifice du col (**figure 57**). Cette région est particulièrement sensible à l'infection chez les femmes jeunes car les cellules s'y répliquent activement.

Le génome du HPV est maintenu à un faible nombre de copies dans les cellules basales de l'épithélium, de l'hôte infecté. Il peut soit se multiplier, soit persister sous forme épisomale, ou s'intégrer au génome cellulaire. Lors de la différenciation des cellules épithéliales, le virus se réplique à un nombre élevé de copies et la multiplication virale suit la différenciation des cellules de l'épithélium au cours de leur ascension vers la surface : seules les cellules des couches superficielles, très différenciées, contiennent des virions complets exprimant les gènes de la capsid (L1 et L2). La desquamation et la lyse de ces cellules vont permettre la diffusion du virus (**figure 58**).

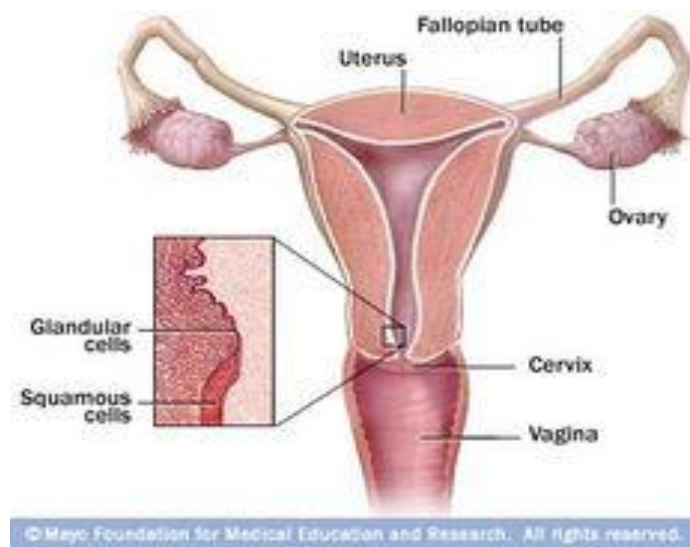


Figure 57 : Structure de l'appareil génital de la femme.

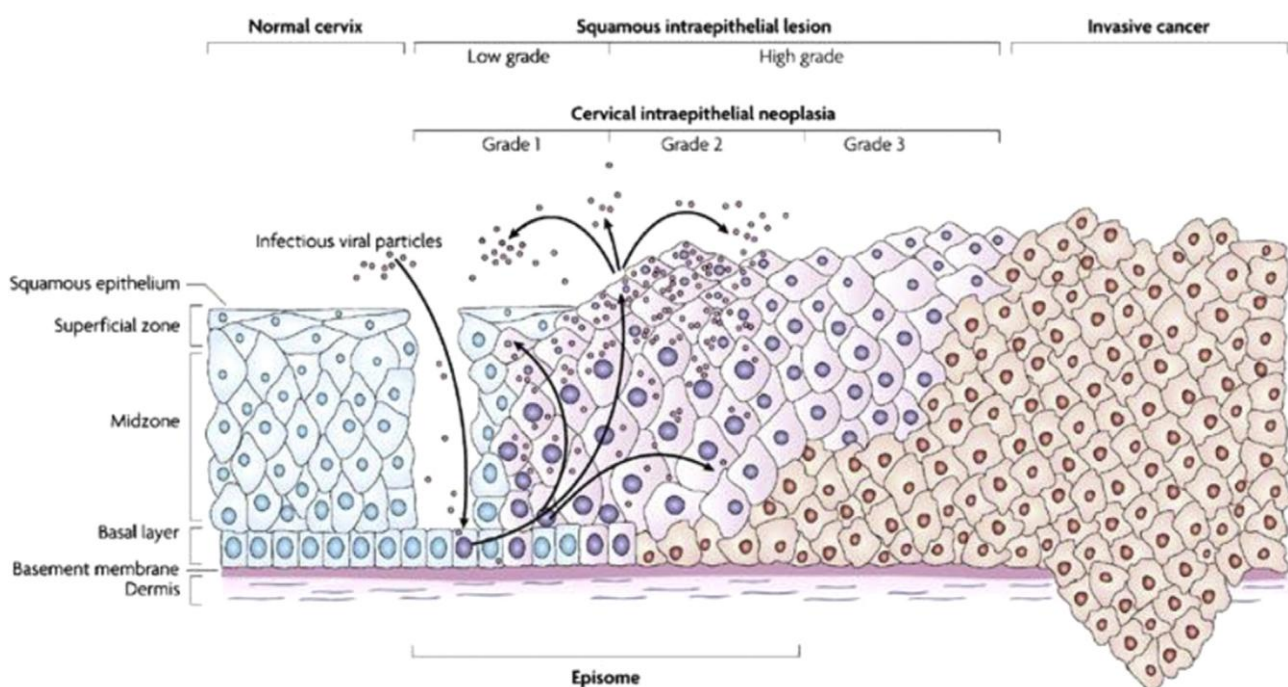


Figure 58 : Développement de la dysplasie vers le cancer invasif.

Les cellules sont modifiées par la présence du virus, avec un noyau de grande taille et une vacuole contenant les particules virales. Cet effet cytopathique est appelé koilocytose. Il est caractéristique de l'infection à papillomavirus. Les papillomavirus sont présents dans 80 à 100% des cancers du col de l'utérus.

IV. Réponses immunitaires aux infections au Papilloma virus humain

Le rôle des réponses immunitaires, cellulaires et humorales, est crucial pour déterminer si une infection par le HPV progresse vers des lésions précancéreuses ou un cancer. Le HPV stimule très peu le système immunitaire pour plusieurs raisons dont les plus principales sont :

- pas d'infection ni de multiplication dans les cellules présentatrices d'antigènes situées dans l'épithélium (Les HPV sont strictement épithéliotropes. Ils infectent les cellules basales, mais les particules virales, fortement immunogènes ne sont produites que dans les couches les plus externes de l'épithélium, à distance des cellules pouvant présenter les antigènes viraux aux cellules immunocompétentes).
- pas de lyse des kératinocytes
- pas de virémie (La majorité des protéines virales synthétisées dans la cellule infectée sont des protéines nucléaires, non sécrétées et ne stimulant donc pas le système immunitaire).
- Dans l'épiderme, ce sont les cellules de Langerhans qui peuvent capter les particules virales et présenter les antigènes viraux aux cellules immunocompétentes. Or, il a été démontré que, contrairement aux cellules dendritiques situées dans le derme ou le chorion, les cellules de Langerhans ne sont pas activées par les particules virales de HPV 16;
- La protéine E6 inhibe l'interaction entre les cellules de Langerhans et les cellules épithéliales, ce qui pourrait contribuer à la déplétion en cellules dendritiques observée dans les épithéliums infectés par HPV.
- Les protéines E6 et E7 bloquent la production d'IFN de type I et la réponse à celui-ci par les cellules infectées
- La protéine E5 inhibe le processus de présentation de l'antigène.

IV.1. Immunité innée

Les cellules impliquées dans la réponse immunitaire innée contre le HPV sont les cellules NK, qui sont généralement présentes dans les lésions associées au virus et les lésions pré-néoplasiques. Cependant, une résistance des cellules des lésions cancéreuses aux NK et une diminution d'activité de ces dernières sont observées.

IV.2. Immunité adaptative

Les LT, en particulier les LT cytotoxiques, dont le rôle est l'élimination des cellules infectées par le virus et la régression des lésions causées par l'infection. L'activation des LTh1 permet une meilleure réponse contre l'infection virale. Cependant, dans les infections avancées chez les femmes, l'activation des Th1 peut être neutralisée par l'augmentation de la sécrétion du récepteur de l'IL-2 ou par une réorientation vers les LTh2. Bien que chez les hommes, la réponse cytokinique médiée par les cellules Th1 (INF- γ et IL-2) était associée à l'élimination naturelle du virus. De même, le taux de LTh et de LTc dans les lésions cervicales utérines est plus faible par rapport à celui observé dans le cancer ; qui à son tour présente un taux bas de ces deux cellules par rapport au contenu de l'épithélium normal (lésions cervicales utérines < cancer <épithélium normal).

La progression de la maladie cervicale est associée à une augmentation du nombre des LT régulateurs (FoxP3, CD25+) et une diminution des LT (CD8+, CD4+). Cependant, il n'y a pas de données concernant la présence des LT régulateurs au cours de développement des cancers anal, oral et pénien chez les hommes.

Au cours de l'infection naturelle, les anticorps neutralisants, spécifiques de type, n'apparaissent que chez environ la moitié des sujets infectés ; ils sont produits de manière retardée, de quatre mois à cinq ans après l'infection, et les titres d'anticorps restent faibles. De plus, les anticorps anti-protéines précoces de l'HPV sont générés lors de l'infection virale, et ces anticorps sont suggérés comme étant importants en tant que marqueurs du degré des lésions du col de l'utérus. À cet égard, chez les femmes, les anticorps anti-E6 et E7 sont associés au cancer du col utérin (CC), les anticorps anti- E4 et E7 sont associés au néoplasie intraépithélial cervical de grade 3 et au cancer du col utérin (CIN3/CC), et les anticorps anti-E4 sont associés au CIN1-2. Il existe peu d'informations sur les anticorps anti-protéines précoces de ce virus chez les hommes. Cependant, une forte présence d'anticorps anti-E4 est détectée dans l'urètre et liée à la présence de l'ADN de l'HPV16. D'autre part, le taux des anticorps anti-E7 est considérable lorsque l'infection par le VPH16 est présente dans le pénis.

La réactivation de virus peut survenir dans des situations modérées (état ménopausique, vieillissement) à des situations immunosuppressives pertinentes (greffe d'organe) avec ou sans influence hormonale.

Cours 13 : Infection par le virus T-lymphotropique humain

I. Historique

Quatre sous-types principaux de virus T-lymphotropique humain (HTLV) ont été identifiés : HTLV-1, HTLV-2, HTLV-3 et HTLV-4. Le virus HTLV-1, premier oncorétrovirus exogène découvert chez l'Homme, a été isolé aux États-Unis, dans le laboratoire de R. Gallo en 1980 à partir d'une culture de lymphocytes T CD4+. Ces cellules provenaient du sang périphérique d'un patient souffrant de leucémie/lymphome T de l'adulte (ATLL), considérée initialement comme un lymphome T cutané avec une phase leucémique. De façon indépendante, un virus identique fut isolé en 1982 par Yoshida et ses collaborateurs au Japon. Par la suite, et 2005, les deux virus HTLV-3 et HTLV-4 ont été isolés dans l'Afrique.

II. Transmission

La transmission de ce virus s'effectue principalement par voie sanguine ; cependant, l'infection est faible du fait d'une charge virale circulante très basse, et d'une transmissibilité associée uniquement aux cellules. Le plasma et ses dérivés ne sont pas contaminants. En transfusion, la transmission est directement liée à la survie des lymphocytes dans le produit sanguin, avec 87% de transmission quand le dérivé est conservé moins de 4 jours, et 0% après 14 jours. La transmission sexuelle a été mise en évidence par la détection du HTLV-1 dans les cellules T du liquide séminal de porteurs du virus. Le risque est plus important pour la femme (50%) que pour l'homme (0,1%). Enfin, la transmission verticale de la mère à l'enfant est essentiellement liée à l'allaitement. Le risque de transmission est de 20% après 6 mois d'allaitement, mais varie avec la charge virale maternelle et avec la durée de l'allaitement.

III. Structure

Le HTLV est un virus enveloppé de 80 à 110 nm de diamètre. Il contient deux molécules d'ARN monocaténaire identiques d'environ 9 kb associées à des nucléoprotéines (p15) et des enzymes virales (transcriptase inverse, RNase H, protéase, intégrase). Ces molécules sont recouvertes par la capside (p24) elle-même entourée par la matrice (p19). L'enveloppe est constituée d'une bicouche lipidique d'origine cellulaire à laquelle deux glycoprotéines virales externes, gp46 de surface (SU) et gp21 transmembranaire (TM), sont associées (**figure 59**).

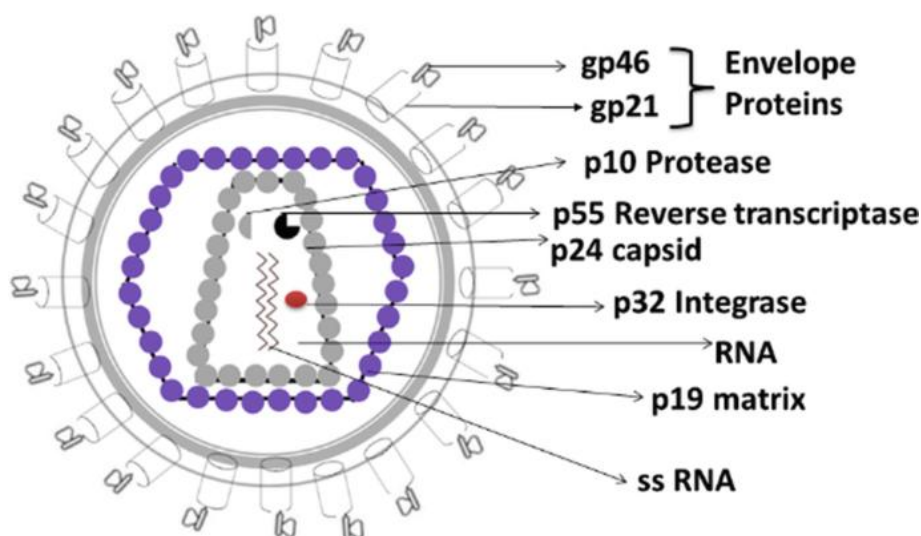


Figure 59 : Structure de Virus T-lymphotrope Humain de type 1 (HTLV-1).

La séquence du provirus HTLV-1 contient un promoteur dans sa partie 5' et des cadres ouverts de lecture (ORF) permettant de coder les protéines de structure (Gag, Env) ou possédant une activité enzymatique (Pol, Pro). Cependant, HTLV-1 possède aussi dans la partie 3' de son génome plusieurs ORF permettant de coder des protéines régulatrices (Rex, Tax) ou auxiliaires (p12, p13, p30). Le LTR3' constitue aussi un promoteur viral qui permet de transcrire, à partir d'une ORF dite « antisens », l'ARNm codant une protéine régulatrice, HBZ (**figure 60**).

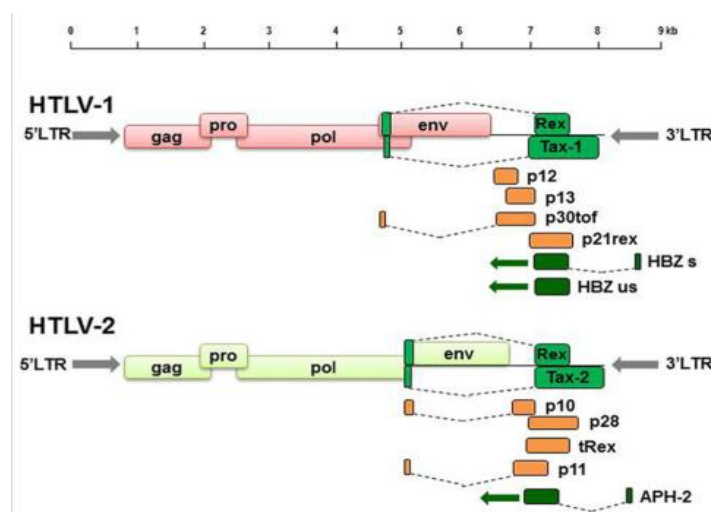


Figure 60 : Organisation génomique des HTLV-1 et HTLV-2.

IV. Cycle et mécanisme moléculaire de la transmission viral

IV.1. Cycle viral

Le HTLV-1 infecte principalement les LT CD4+, mais aussi les LT CD8+, les lymphocytes B, les cellules endothéliales et les fibroblastes. Le HTLV-2 cible préférentiellement les LT CD8+. Le HTLV-1 se lie aux protéoglycanes héparane sulfate (HSPG) et à la neuropiline-1 (NRP1) pour la fixation initiale, tandis que le transporteur de glucose 1 (GLUT1) facilite la fusion membranaire et

l'entrée. Le HTLV-2, bien qu'il dépende également de la NRP1 et du GLUT1, n'utilise pas les HSPG.

IV.2. Mécanisme moléculaire de la transmission viral

Après l'entrée du virus dans la cellule hôte, l'ARN viral est rétrotranscrit en ADN double brin, qui s'intègre dans l'ADN chromosomique de l'hôte. Le HTLV-1 se transmet principalement par contact direct de cellule à cellule plutôt que par la diffusion de particules virales libres ; et ceci suite à l'établissement du contact cellule à cellule. Les protéines structurales de HTLV-1 (Gag et Env) sont redistribuées au sein de la cellule infectée, conduisant à la formation d'une interface spécialisée pour la transmission virale connue sous le nom de synapse virologique. La formation de cette dernière est facilitée par les interactions entre la molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1) et son ligand, l'antigène-1 associé à la fonction lymphocytaire (LFA-1). L'engagement de l'ICAM-1 active la voie de signalisation MEK/ERK, favorisant la polarisation du centre organisateur des microtubules (MTOC) vers la synapse virologique. La protéine régulatrice virale Tax joue un rôle crucial dans ce processus en améliorant la polarisation du MTOC et en modulant l'expression de l'ICAM-1.

La protéine p12 se fixe aux sous unités β et γ du récepteur de l'IL-2 au niveau de réticulum endoplasmique (ER), empêchant leur transport à la membrane plasmique. Cela conduit à la phosphorylation de STAT5, favorisant la prolifération cellulaire. De plus, la p8 issu du clivage de la p12 migre vers la surface cellulaire où elle augmente l'adhésion des cellules T par le regroupement de marqueur de surface (LFA-1) et favorise la formation de contacts intercellulaires.

Le HTLV-1 ne médie pas la fusion directe de la membrane plasmique au niveau de la synapse virologique. Au lieu de cela, les particules virales bourgeonnent de la cellule infectée et fusionnent ensuite avec la cellule cible à travers cette interface.

En plus de la transmission directe de cellule à cellule médiée par les synapses virologique, le HTLV-1 s'accumule au sein de structures extracellulaires de type biofilm à la surface des cellules infectées. Ces agrégats riches en glucides, composés de collagène et d'autres molécules peuvent servir à concentrer les particules virales dans une zone confinée, augmentant ainsi la probabilité d'infecter des cellules cibles susceptibles.

V. Maladies associées à l'HTLV- 1

L'infection par le HTLV-1 est associée à deux pathologies : la leucémie T de l'adulte (ATL) et la paraparésie spastique tropicale (TSP) ou myélopathie associée à HTLV-1 (TSP/HAM). Ces pathologies peuvent apparaître 20 à 60 ans après la contamination. Le HTLV-1 est également impliqué dans diverses maladies inflammatoires, y compris l'uvéite, la polymyosite et l'alvéolite.

Des cas de TSP/HAM ont été décrits chez des patients infectés uniquement par HTLV-2, et de très rares cas de proliférations CD8 ont été associés à HTLV-2 chez des patients coinfectés par le VIH. Aucune pathologie n'a pour le moment été rattachée aux virus HTLV-3 et HTLV-4.

V.1. Leucémie T de l'adulte

La leucémie T de l'adulte (ATL) correspond à une prolifération monoclonale des LTCD4+ activés. Elle n'est observée que chez 1 à 5 % des sujets infectés par le virus HTLV-1, avec une prédominance masculine et un âge moyen de 40 à 60 ans. Les symptômes sont variables, et souvent compliqués de lésions de la peau, d'une hypertrophie des ganglions lymphatiques, du foie ou de la rate.

Quatre formes cliniques sont décrites :

- forme aiguë leucémique (50 % des cas) de très mauvais pronostic avec une survie inférieure à 1 an. C'est un cancer très agressif, d'évolution rapide, résistant à la chimiothérapie, qui emporte généralement le malade en moins d'un an.
- forme lymphomateuse (25 %),
- forme chronique (20 %) et,
- forme atténuée ou indolente dite *smoldering*, caractérisée par des lésions cutanées d'évolution lente mais pouvant évoluer vers une forme chronique ou aiguë.

V.2. Myélopathie/paraparésie spastique tropicale associée au HTLV-1

La myélopathie/paraparésie spastique tropicale associée à l'HTLV-1 (HAM/TSP) affecte < 2% des porteurs de HTLV-1 ; et elle est plus fréquente chez la femme. Cette maladie est caractérisée par une faiblesse des membres inférieurs, des troubles urinaires et des problèmes sensoriels. L'HTLV-2 peut causer un trouble similaire.

Le virus colonise les LT sanguins et les LT du liquide céphalorachidien et les macrophages. Ces cellules infiltrant les zones périvasculaires et le parenchyme médullaire induisant ainsi une inflammation de la moelle épinière ; laquelle évolue pendant plusieurs années après le début de symptômes neurologiques, provoquant une dégénérescence des cordons latéraux et dorsaux. La myéline et les axones des cordons ventraux sont également atteints.

VI. Réponse immunitaire anti-HTLV et mécanisme d'échappement

L'infection par le HTLV induit une dérégulation du système immunitaire. En effet, l'ATL est souvent associée à une suppression immunitaire sévère et à des infections opportunistes. Ceci est attribué à l'augmentation de la fonction des cellules Treg en synergie avec la production d'IL-10 et de TGF- β . Tandis que la HAM/TSP est accompagnée d'une inflammation chronique due d'une part, à l'expression de FoxP3 ainsi que le taux des deux cytokines anti-inflammatoires sont diminués ;

d'autre part à la prolifération spontanée avec une production accrue de cytokines pro-inflammatoires et neurotoxiques telles que l'IFN γ , le TNF- α et l'IL-1, qui se trouvent en concentrations élevées dans le liquide céphalo-rachidien. Le pronostic des ATL est toujours péjoratif, avec des médianes de survie respectivement de 6, 10 et 24 mois pour les formes aiguës, lymphomateuse et chronique.

L'infection par le HTLV-1 réduit la phosphorylation des facteurs de transcription dans la cascade de signalisation de l'IFN, et les protéines virales Tax et p30 peuvent réguler des facteurs de transcription cellulaires inhibant la réponse à l'interféron.

Le titre d'anticorps dirigés contre les protéines virales est significativement plus élevé chez les sujets ayant une myélopathie progressive démyélinisante que chez les patients asymptomatiques ou atteints d'ATL. Les principaux épitopes reconnus par les IgG et les IgM sont portés par les protéines codées par les gènes *gag*, *env* et *tax*.

La réponse cellulaire T cytotoxique est importante chez les sujets atteints de TSP/HAM. Au cours de cette maladie, l'épuisement en LTc est associé à l'activation immunitaire chronique. Ainsi la déplétion des LTc accélère l'infection primaire par le HTLV-1. La principale cible des LTc est la protéine virale Tax, mais d'autres épitopes peuvent être reconnus notamment au niveau de l'enveloppe virale.

Le HTLV-1 persiste principalement par la prolifération des cellules infectées. En effet, la P12 se lie au récepteur de l'IL2 dans une région critique pour le recrutement de JAK1 et JAK3, et l'interaction de p12/p8 avec l'IL-2R immature entraîne une augmentation de la phosphorylation du facteur de transcription (STAT5) et de l'activité de liaison à l'ADN et diminue les besoins cellulaires en IL-2. De plus, la liaison de p12 à l'IL-2R permet aux cellules T de proliférer non seulement avec une quantité moindre d'IL-2, mais aussi avec une stimulation antigénique sous-optimale, offrant un avantage prolifératif aux cellules infectées par le HTLV-1. De plus, la p12 interagit avec les chaînes α de CMH-I, et empêche leur interaction avec la β 2 microglobuline (β 2m) conduisant à sa dégradation par le protéasome et à une diminution de l'expression de CMH-I à la surface cellulaire. D'autre part, la p12 induit également la libération de calcium du RE en se liant à la calréticuline et à la calnexine. La libération de Ca^{2+} inhibe la liaison de la calcineurine au facteur de transcription NFAT, empêchant sa déphosphorylation, sa translocation nucléaire, l'induction de l'expression de l'IL-2 et l'activation des cellules T. et par conséquent, la p12 module une variété de processus, y compris la prolifération des cellules T, la réplication virale et la propagation virale. De plus, la p12 peut inhiber la voie NFAT en se liant à la calcineurine (**figure 61**).

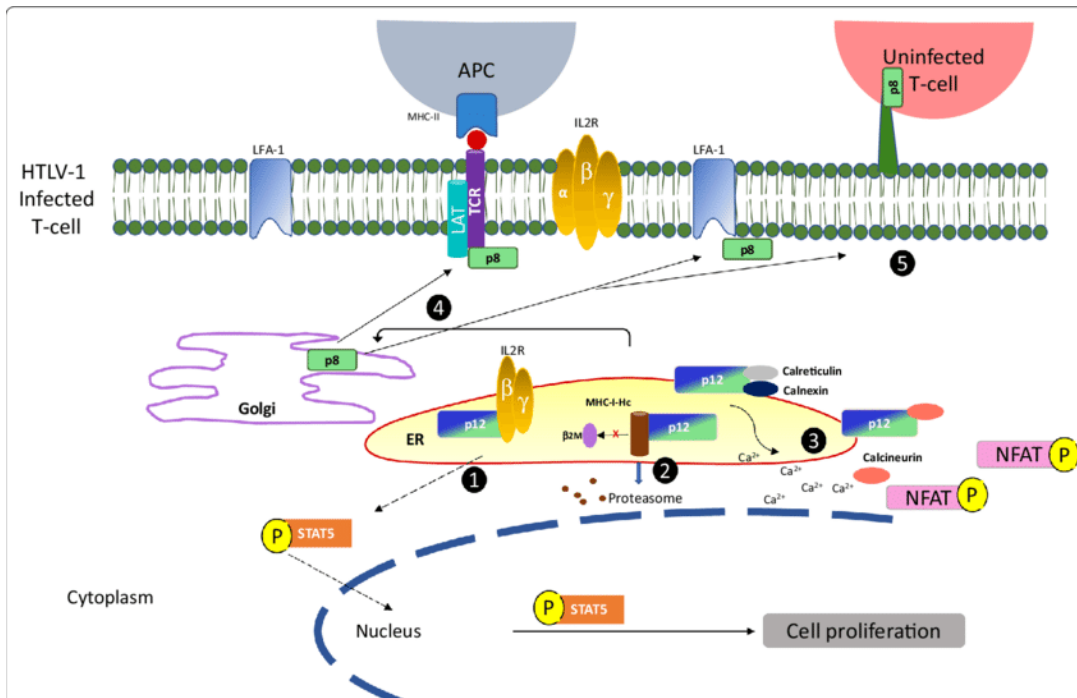


Figure 61 : Signalisation et fonctions des protéines P12 et P8.

Cours 14 : Vaccination et sérothérapie

I. Introduction

Depuis les travaux d'Édouard Jenner sur la variole et de Louis Pasteur sur le choléra et la rage, la vaccination se pratique largement dans le monde. Le rôle majeur de la vaccination dans la lutte contre les infections a conduit au développement de nombreux vaccins et à la mise en place de politiques vaccinales nationales et internationales. La vaccination s'agit d'une :

- Thérapeutique prophylactique basée sur une immunité active;
- Génération d'une immunité protectrice durable chez les individus contre un agent pathogène donné;
- Protection collective dont le but est de limiter le portage d'un pathogène et les risques d'épidémie.

Contrairement à la vaccination, la sérothérapie consiste en une immunisation passive à but thérapeutique. Il s'agit de fournir des anticorps à un individu malade. Cette pratique découle des expériences historiques de E. Von Behring et S. Kitasato qui administraient des sérums d'animaux poly-immunisés à des patients ayant des affections graves pour leur conférer une protection immédiate mais momentanée.

II. Bases et principe de la vaccination

Les vaccins reproduisent en toute innocuité la réponse immunitaire provoquée par une infection bactérienne ou virale, induisant une mémoire spécifique du système immunitaire qui sera activée lors d'un contact avec l'agent pathogène virulent 'sauvage'. La vaccination vise à générer des cellules mémoire par un premier contact avec un agent infectieux dont la virulence a été abolie mais l'antigénicité conservée, et des rappels vaccinaux qui ont pour objectif de restimuler ces cellules mémoire.

II.1. Mémoire immunologique

Le principe de la vaccination consiste à déclencher une réponse immunitaire de manière à engendrer une mémoire immunitaire qui fournisse, lors du contact avec le pathogène, une immunité protectrice basée sur la réponse secondaire. Les cellules mémoire générées au cours d'une réponse immunitaire (**figure 62**) sont capables de persister longtemps dans l'organisme. La persistance de l'antigène dans l'organisme ou les contacts répétés avec le même pathogène contribuent à renforcer cette mémoire.

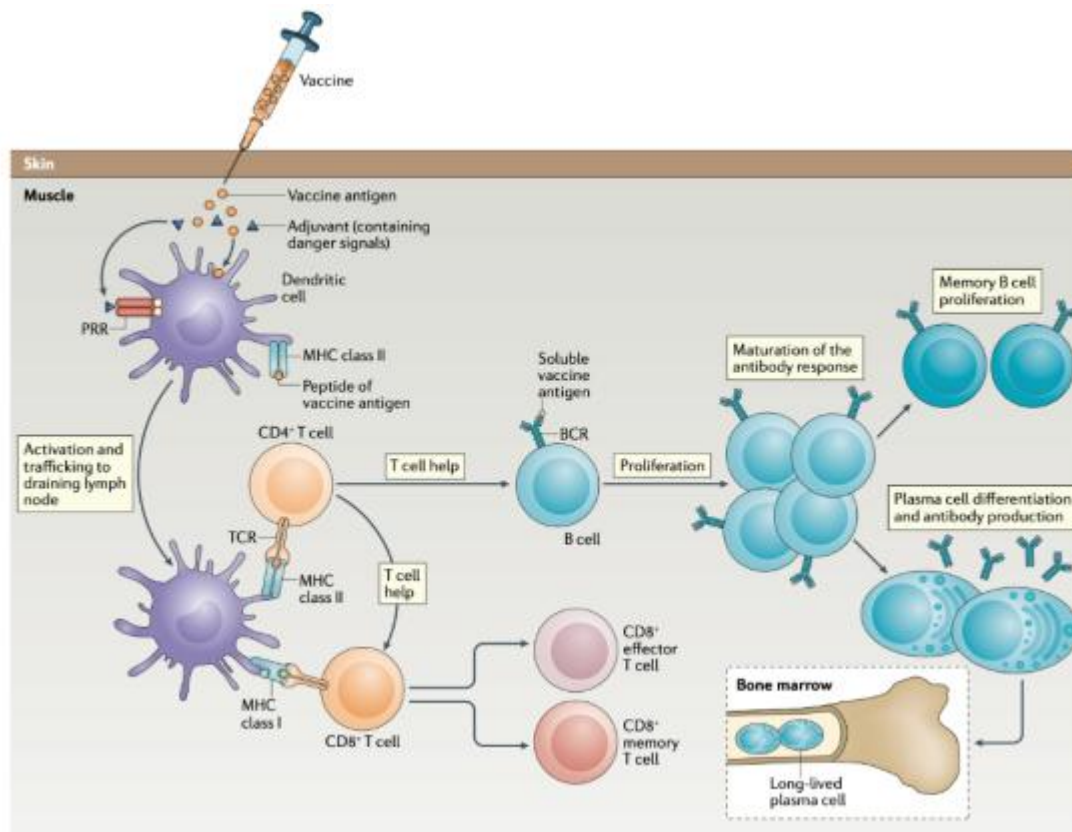


Figure 62: Génération des lymphocytes T et B mémoire.

Cependant, même en absence de l'antigène, les cellules mémoire persistent longtemps. Leur durée de vie est très variable, avec une durée en général plus courte pour les lymphocytes T que pour les lymphocytes B (qui avoisine les 5 à 10 ans en moyenne). Certaines études ont même montré que la mémoire immunitaire humorale en absence de l'antigène pouvait persister plus de 60 ans (dans le cas de la rougeole, de la variole et de la fièvre jaune).

La mémoire immunologique s'explique par la plus grande fréquence des précurseurs T et B. Les cellules mémoire sont en outre qualitativement différentes des lymphocytes naïfs qui opèrent en réponse primaire: pour les lymphocytes B les anticorps de réponse secondaire ont une affinité plus élevée pour l'antigène, et pour les lymphocytes T ils migrent préférentiellement dans les sites de l'infection.

II.2. Paramètres influençant la réponse immunitaire

Le but d'un vaccin est de déclencher une réponse la plus efficace possible, génératrice d'une forte mémoire immunitaire en injectant le pathogène ou ses antigènes de manière inoffensive. Tous les types de réponses (humorale et cellulaire) peuvent être déclenchés par la vaccination. Plusieurs paramètres influencent qualitativement et quantitativement cette réponse. Il faut ainsi prendre en compte:

- La nature de l'antigène à injecter (contient des épitopes les plus immunogènes possibles) ;
- La dose qui doit être optimale (une trop faible ou une trop forte dose induit une tolérance) ;
- La voie d'administration (les voies sous-cutanée et intramusculaire sont les plus immunogènes mais les voies orale et nasale, induisant habituellement une tolérance, pourraient être intéressantes face à des pathogènes utilisant ces portes d'entrée) ;
- L'utilisation d'adjuvants pour stimuler notamment le système immunitaire inné sans toutefois causer d'effets secondaires ;
- Le nombre d'injection et le calendrier vaccinal. Ce nombre dépend du type de vaccin et du pathogène visé ;
- Compte tenu des autres paramètres vaccinaux, on doit prendre en considération la durée de la mémoire immunologique, pour fixer les échéances des rappels (inoculations répétées du vaccin).

Certains individus ne génèrent pas de réponse protectrice suite à la vaccination. L'efficacité des vaccins n'atteint jamais 100% et varie selon le type de vaccin. Cependant, la vaccination systématique induit une protection collective.

III. Types de vaccins

Les pathogènes sont très différents les uns des autres avec des modalités d'infection, des cinétiques de multiplication et des pouvoirs pathogènes variés. La stratégie vaccinale doit prendre en compte ces paramètres de manière à stimuler le type de réponse acquise la plus adaptée au pathogène. Ainsi, contre une bactérie intracellulaire comme *Mycobacterium tuberculosis*, il est intéressant de déclencher une immunité cellulaire de type Th1, alors que contre des bactéries dont le pouvoir pathogène repose sur des toxines, il est préférable de générer une immunité humorale. En prenant en compte la voie de pénétration orale de certains pathogènes, des vaccins oraux peuvent se révéler efficaces (ils sont intéressants du fait de leur facilité d'administration). En outre, certains pathogènes mutent rapidement comme le virus de la grippe; il est alors obligatoire de produire chaque année un nouveau vaccin.

Plusieurs types de vaccins sont fabriqués et utilisés (conventionnels), d'autres sont en cours d'essai ou de recherche (nouveaux vaccins).

III.1. Vaccins conventionnels

III.1.1. Vaccins vivants atténués

Ce sont des bactéries et surtout des virus qui ont subi une atténuation de leur pouvoir pathogène grâce à des passages répétés sur des milieux de culture. Ces souches vaccinales doivent être stables et conférer une protection équivalente à l'agent pathogène 'sauvage'.

Le micro-organisme est atténué par différents procédés expérimentaux (certains virus sont atténués en les cultivant dans des cellules non humaines ce qui permet de générer des mutations occasionnant la perte de leur pouvoir pathogène après plusieurs cycles de multiplication ex. Le poliovirus est ainsi atténué par culture sur cellules de rein de singe puis purifié pour donner le vaccin de type Sabin. Le BCG (Bacille de Calmette Guérin), utilisé comme vaccin contre la tuberculose, est issu du repiquage (200 fois sur 13 ans) de *Mycobacterium bovis* (espèce voisine de *Mycobacterium tuberculosis* sur un milieu riche en bile lui faisant perdre sa virulence).

Le micro-organisme vivant atténué mime parfaitement le micro-organisme à combattre. Une fois injecté, il est capable de faire quelques cycles de multiplication et produit ainsi une très forte immunisation (cellulaire et humorale), avec maturation suffisante de la réponse anticorps notamment.

L'inconvénient des vaccins vivants atténués donc non virulents est la possibilité de réversion du vaccin vers la forme pathogène. Ce cas est très rare. Le vaccin oral de type Sabin contre la poliomyélite provoque la maladie dans $(1/4 \times 10^6)$ d'individus vaccinés. De même, le mode de préparation de ces vaccins n'écarte pas à 100 % la présence de virus contaminant (par exemple les cultures de cellules de rein de singe peuvent être contaminées par le virus SV40).

III.1.2. Vaccins inactivés

L'agent bactérien ou viral est entier et inactivé par un procédé chimique ou physique qui le rend non infectieux mais capable de produire une protection immunitaire efficace. La structure des épitopes doit être conservée au cours de l'inactivation qui dans la majorité des cas est réalisée par le formaldéhyde. L'immunité induite est souvent de type humoral, mais la mémoire est moins persistante (pas de survie ou de début de prolifération du micro-organisme) ce qui impose des rappels. Ces vaccins présentent des risques dus au mode de préparation: risque de ne pas totalement inactiver les pathogènes (cas ancien du vaccin Salk contre la poliomyélite) et risque d'effets secondaires par injection d'un mélange complexe d'antigènes présents dans le micro-organisme entier. L'exemple typique des vaccins inactivés est les vaccins contre la poliomyélite, l'hépatite A et la rage.

III.1.3. Vaccins sous-unité ou purifiés

a/ Anatoxines

Certaines bactéries doivent leur pouvoir pathogène à la sécrétion de toxines responsables des symptômes de la maladie, comme *Clostridium tetani* (tétanos) et *Corynebacterium diphtheriae* (diphthérie). Les anatoxines sont des vaccins protéiques obtenus en traitant les toxines par le formaldéhyde qui les transforme en anatoxines immunogènes mais non pathogènes. Elles induisent dans l'organisme la production d'antitoxines, neutralisant les toxines.

b/ Macromolécules purifiées

Le principe de ces vaccins consiste à injecter certains antigènes clés purifiés à partir du pathogène. De nombreux vaccins sont à base de polysides de surface des bactéries (antigènes T-indépendants). De tels vaccins sont utilisés actuellement contre la pneumonie (Prevenar) ou contre la typhoïde (Typherix). Ils induisent cependant une faible mémoire et une protection limitée (pas d'activation des lymphocytes Th). D'autres vaccins contiennent un mélange d'antigènes protéiques et osidiques (fractions antigéniques) comme les vaccins contre la méningite (Menomune). Le fait de conjuguer un ose à une protéine est intéressant car il rend l'antigène T-dépendant très immunogène et assure ainsi la génération d'une forte mémoire.

c/ Antigènes recombinants

Les outils de génie génétique ont permis la production et la purification des composants d'un pathogène afin de les utiliser dans un vaccin.

Le premier vaccin de ce type est le vaccin contre l'hépatite B, composé de l'antigène de surface du virus (HBs) produit en culture cellulaire ou de levure modifiée. Cette protéine a l'avantage de s'auto-assembler pour former des pseudoparticules virales VLPs (viral-like particles) qui sont hautement immunogènes grâce à la présence de motifs répétés dans leur structure.

Un deuxième exemple est le vaccin contre les papillomavirus humains (HPV) ; où de la même manière la protéine principale de capsid L1 s'auto-assemble aux VLPs très immunogènes.

*** Adjuvants**

Ils sont souvent nécessaires pour augmenter et prolonger la réponse immunitaire de certains vaccins. L'adsorption de sels d'aluminium est utilisée afin d'amplifier la réponse immunitaire induite par les vaccins inactivés, moins immunogènes que les vaccins vivants atténués. Ces adjuvants peuvent induire des réactions locales modérées et sans gravité: persistance possible d'aluminium au point d'injection, inflammation musculaire diffuse. De même, les sous-unités vaccinales glycosidiques, qui induisent une réponse immune de courte durée et d'efficacité faible chez les enfants de moins de 2 ans, sont le plus souvent conjuguées à une protéine porteuse (ex: protéine tétanique, diphtérique) permettant de produire une réponse plus intense et plus durable.

III.2. Nouveaux vaccins**III.2.1. Vaccins vivants recombinants**

Il s'agit de construire par génie génétique un micro-organisme recombinant exprimant en grande quantité le ou les antigènes immunodominants (**figure 63**). Le micro-organisme servant de base pour la production du vaccin ne doit pas être pathogène. Il doit aussi être bien connu médicalement pour éviter les interactions néfastes avec l'organisme. L'injection du virus induit une

immunité contre cet antigène à la fois cellulaire et humorale. De nombreux essais sont réalisés sur ce principe en créant des virus recombinants exprimant des antigènes de *M. tuberculosis*, d'*Echinococcus granulosus* et du virus de la rage. Certains problèmes sont à envisager comme la stabilité du génotype et du phénotype du vaccin recombinant, le niveau d'expression du trans-gène et sa capacité à générer une réponse et les risques d'interactions chez des personnes immunisées contre le micro-organisme porteur.

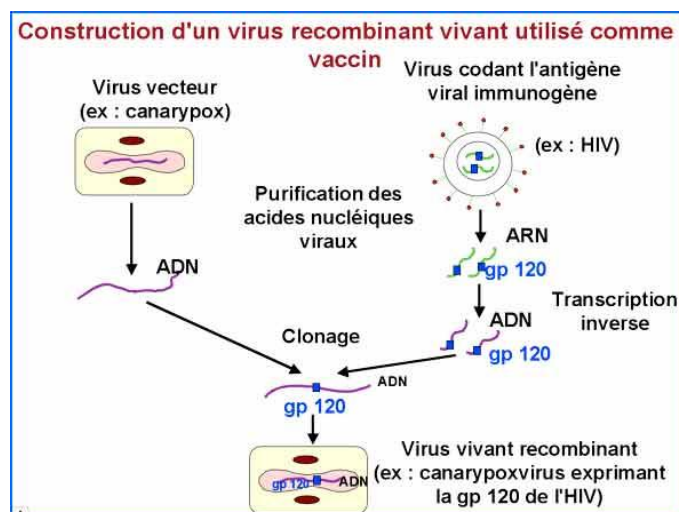


Figure 63 : Construction d'un vaccin vivant recombinant

III.2.2. Vaccins vivants modifiés

Ce type de vaccin est construit par génie génétique, à partir de la souche virulente de base, une souche vaccinale atténuée par délétion des gènes de virulence. Cette stratégie impose donc de connaître les gènes de virulence et leur emplacement sur le génome du pathogène. Des essais ont été menés avec le virus de l'herpès dont on a supprimé les gènes de virulence.

III.2.3. Vaccins peptidiques ou synthétiques

Les vaccins peptidiques consistent à injecter des peptides, épitopes immunodominants connus dans certaines pathologies. Ces peptides sont synthétisés chimiquement à partir des séquences des gènes d'intérêt du pathogène. Ils peuvent ainsi directement être chargés dans les molécules de classes I et II du CMH et activer des lymphocytes T ou être aussi reconnus par les BCR des lymphocytes B (sous forme d'haptènes couplés à des protéines du soi) et générer des réponses humorales. Ce sont en général des épitopes séquentiels, car les épitopes conformationnels font appel à la structure tertiaire de la protéine entière.

Les peptides peuvent être injectés couplés à des protéines porteuses (*carrier*) en présence d'adjuvants. Cette pratique a permis de vacciner avec succès des bovins contre la fièvre aphteuse. Cette stratégie pose cependant des problèmes car les épitopes fournis ne sont pas toujours

compatibles avec les poches à peptides des CMH des différents individus. Ils présentent un risque de ne protéger qu'une frange de la population.

III.2.4. Vaccins génétiques

a/ Vaccins à vecteur viral

Les vaccins à vecteur viral utilisent un virus modifié, rendu non pathogène ou incapable de se répliquer, pour introduire dans les cellules de l'hôte du matériel génétique codant un antigène spécifique du pathogène ciblé. Le premier vecteur vaccinal viral autorisé a été le vaccin vivant atténué contre la fièvre jaune (YFV17D) comme vecteur d'expression des protéines prM et E du virus de l'encéphalite japonaise. D'autres vecteurs viraux sont couramment utilisés basés sur les adénovirus (Ad), parmi lesquels on trouve les adénovirus Ad5, Ad26 humains qui sont rendus incapables de se répliquer par délétion des gènes E1/E3 constituent l'un des principaux vecteur viral utilisés.

Après administration intramusculaire, le vecteur pénètre dans les cellules où son ADN ou ARN est transcrit puis traduit par la machinerie cellulaire, ce qui conduit à la production endogène de l'antigène viral ou bactérien. Cet antigène est ensuite présenté à la surface de la cellule via les molécules du CMH de classe I et II aboutissant à l'activation simultanée de la réponse immunitaire humorale (production d'anticorps neutralisants) et de la réponse immunitaire à médiation cellulaire (lymphocytes T CD8+ cytotoxiques capables d'éliminer les cellules infectées) (**Figure 64**).

Les avantages de ces vaccins sont l'immunogénicité élevée, l'effet auto-adjuvant, rapidité de conception surtout concernant le vaccin élaboré contre le CoV-19 ; par contre l'immunité anti-vecteur préexistante constitue un des risques de ce type de vaccin. En effet, de 30 à 40% de la population a des anticorps contre Ad5, ce qui peut réduire l'efficacité de vaccin. Cependant, l'utilisation des vecteurs rares (Ad26, ChAdOx1) ou schéma hétérologue prime-boost peut résoudre ce problème.

b/Vaccin à ARNm

L'épidémie de COVID-19 a permis l'essor d'une nouvelle technologie vaccinale : les vaccins à ARN messager. L'ARNm modifié par addition de la N1-méthylpseudouridine est encapsulé dans des nanoparticules lipidiques (LNP) protectrices ; c'est le cas des vaccins à ARNm développés contre la COVID-19. Après endocytose et échappement endosomal, l'activation prématurée des récepteurs Toll-like par l'ARNm est limitée en raison de la présence de la molécule précédemment citée. L'ARNm est traduit dans le cytoplasme en protéines antigéniques. Le grand intérêt immunologique de cette technologie réside dans sa double voie de présentation : l'antigène synthétisé *in situ* est dégradé par le protéasome pour charger le CMH de classe I, tout en étant apprêté par la voie exogène du CMH de classe II pour activer les LTCD4+. Cette synergie

cellulaire, soutenue par l'effet adjuvant intrinsèque des LNP qui stimule l'immunité innée locale, orchestre une différenciation robuste des lymphocytes B dans les centres germinatifs, aboutissant à la production pérenne d'anticorps neutralisants et de cellules mémoires hautement protectrices.

Cette technologie à ARNm présente des avantages importants dont les plus importants sont :

- * le procédé de production est rapide et peut être facilement amplifiable et adaptable ;
- * l'absence de risques biologiques liés à leur production, car ils sont produits dans des systèmes acellulaires ;
- * l'immunité induite est à la fois humorale et cellulaire, en mimant une infection cellulaire, comme c'est le cas pour les vecteurs viraux.

Cependant le désavantage principal de ces vaccins est leur instabilité, car ils nécessitent le maintien de la chaîne de l'ultra-froid afin de s'assurer de sa conservation à long terme (-80°C).

III.2.5. Rappels

Les rappels de vaccination (rappels homologues) assurent une amplification de la réponse humorale, mais n'amplifient que très peu la réponse cellulaire du fait d'une mauvaise présentation de l'antigène (immunité existante contre le vaccin élimine trop rapidement l'antigène). Pour éviter ce problème, on réalise non pas un rappel classique avec le même vaccin, mais une seconde injection avec un vecteur différent (rappel hétérologue).

Cette stratégie a été testée à partir de deux vaccinations consécutives avec des vaccins vivants recombinants basés sur des virus vecteurs différents (poxvirus et adénovirus) contre la tuberculose. On a constaté un effet de synergie entre les deux vaccinations, avec une augmentation des lymphocytes T spécifiques du pathogène, à la fois CD4 et CD8, et de forte avidité.

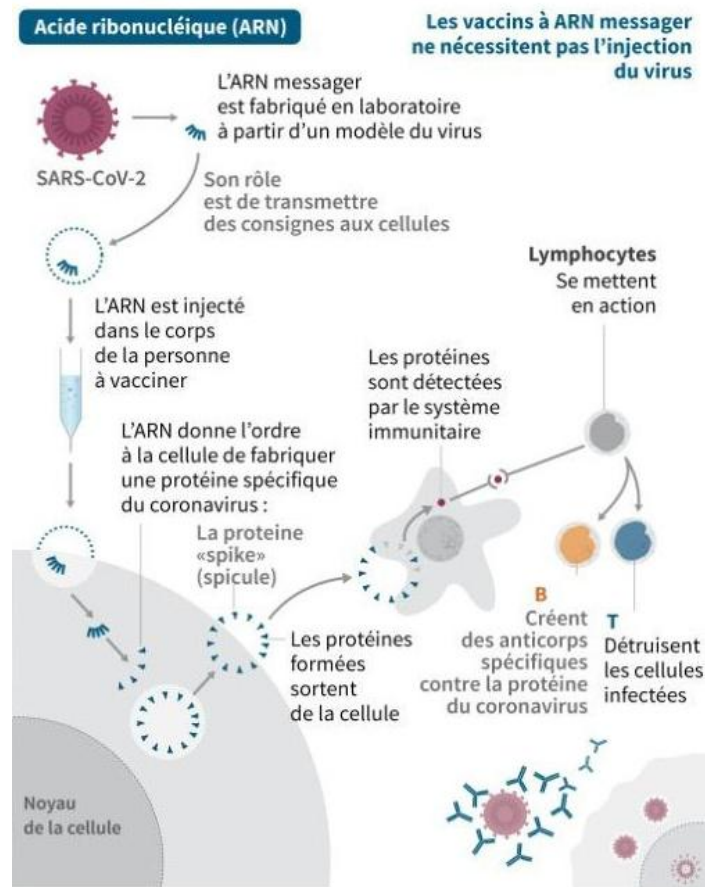


Figure 64 : Construction des vaccins génétiques.

L'impact de la vaccination a été particulièrement bénéfique par rapport à certaines pathologies infectieuses (variole, rougeole, rage, diphtérie) mais certaines maladies redoutables pour l'Homme n'ont toujours pas trouvé de vaccin, notamment celles où l'immunité cellulaire est primordiale (paludisme, parasitoses, SIDA...).

IV. Sérothérapie

Cette immunisation passive (injection par voie intraveineuse de quelques centaines de mg d'anticorps par kg) était largement utilisée contre de nombreuses infections dans les années 1930-1940, avant l'utilisation généralisée des antibiotiques. Ces sérums administrés rapidement réduisaient la mortalité jusqu'à 30% dans les cas de pneumonie à pneumocoque. La protection est de courte durée (les anticorps sont rapidement catabolisés) et aucune mémoire immunologique n'est générée. Cette immunisation passive peut être utilisée à but prophylactique (séroprophylaxie) pour prévenir certaines affections chez des sujets à risque (immunodéprimés principalement) ou dans des situations d'urgence. La protection ne dure que quelques semaines (**figure 65**).

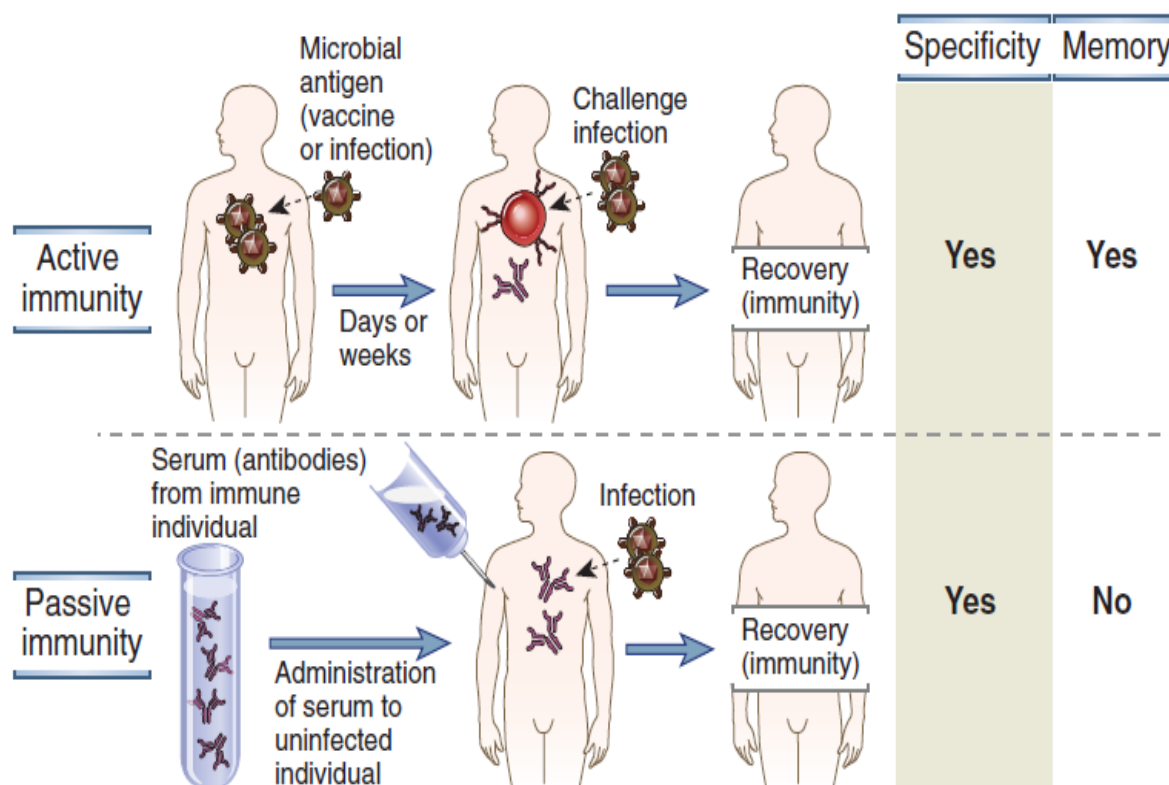


Figure 65 : Comparaison entre vaccination et sérothérapie

IV.1. Immunsérums animaux

Les chevaux et les lapins sont inoculés plusieurs fois avec l'Ag d'intérêt afin d'obtenir des immunsérums riches en anticorps de spécificité recherchée. Ces antisérums sont notamment utilisés dans le cas de morsures venimeuses et la protection suite à l'injection ne dure que deux semaines. Des effets secondaires peuvent se manifester (hypersensibilités de type I, II et III) et l'usage doit se faire en milieu hospitalier; la maladie sérique (dépôts de complexes immuns), plus ou moins forte, est la plus fréquemment observée une semaine après la sérothérapie (maladie du 9^{ème} jour). Cette thérapie est déconseillée une deuxième fois du fait d'une immunisation contre les immunoglobulines de cheval la première fois.

IV.2. Gammaglobulines humaines

Les gammaglobulines sont principalement des IgG polyclonales purifiées à partir de sérum ou de plasma humain. On distingue deux types de gammaglobulines humaines:

- Les gammaglobulines polyvalentes (ou sérums polyvalents ou IVIG de *IntraVeinuous ImmunoGlobulins*) sont issues de sérums de donneurs (7000 à 10000) regroupés par la suite. Les différents donneurs fournissent des anticorps dirigés contre la plupart des pathogènes couramment rencontrés par l'Homme.
- Les gammaglobulines spécifiques (sérums spécifiques ou SIG de *Specific Immuno-Globulins*) sont issues de sérums d'individus après rémission de la maladie.

En thérapie, on utilise des gammaglobulines humaines spécifiques:

- Dans le cas d'infections par des bactéries produisant des toxines (diphthérique, tétanique, botulique) chez des individus non vaccinés. On a recours à l'immunisation passive, du fait de la rapidité avec laquelle ces toxines causent des dommages irréparables. Chez l'Homme, suite à une plaie souillée avec risque tétanique (patient non vacciné), on doit injecter rapidement un sérum anti-tétanique purifié et concentré et de l'anatoxine tétanique (primo-vaccination).
- Dans le cas d'infections virales pouvant occasionner un danger important (rage, rougeole virulente, hépatite, rubéole en cas de grossesse).
- Dans le cas de risque de la maladie hémolytique du nouveau-né. On injecte à la mère des gammaglobulines spécifiques anti-rhésus pour prévenir l'allo immunisation fœto-maternelle.
- Dans le cas d'immunodéficiences. Les IVIG sont prescrites lors de déficits immunitaires humoraux et de déficits immunitaires secondaires liés à une pathologie (leucémie ou VIH chez l'enfant).
- Dans le cas de maladies auto-immunes comme le purpura thrombopénique, les myosites et la myasthénie aiguë.

Les gammaglobulines ont l'avantage de présenter que rarement des effets secondaires comparés aux sérums animaux. Cependant, Ces sérums sont présentent des effets secondaires importants, notamment l'induction de réactions d'hypersensibilité néfastes par alloréactivité. De plus, ces sérums ne sont pas standardisables et de grandes différences d'efficacité sont observées selon les donneurs.

IV.3. Anticorps monoclonaux

Afin d'éviter les variabilités des Ac polyclonaux, les Ac monoclonaux sont utilisés suite à la mise au point de la technique des hybridomes par Milstein et Kohler. Cependant, ces anticorps sont toujours perçus comme des antigènes par le receveur et donnent lieu à des hypersensibilités. Pour éviter ce phénomène, les anticorps sont modérés:

- Utilisation de souris transgéniques qui expriment les locus humains des immunoglobulines. Les hybridomes produisant des anticorps humains sont ainsi obtenus.
- Utilisation d'anticorps monoclonaux obtenus par génie génétique (anticorps humains produits chez *E. coli*: anticorps coliclonaux).
- Production d'anticorps chimériques par clonage des gènes codant les parties variables. Les anticorps produits comportent la partie variable murine et la partie constante humaine.

L'utilisation des anticorps monoclonaux est connue sous le nom de l'immunothérapie et non pas de la sérothérapie. Leur utilisation n'est pas encore généralisée, mais est activement développée

en recherche. Des essais cliniques sont réalisés en utilisant des anticorps monoclonaux contre les cancers, les rejets de greffe, l'arthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn et en prophylaxie antivirale. A l'heure actuelle, un seul anticorps monoclonal humanisé (Palivizumab) a été approuvé dans la lutte anti-infectieuse contre le virus du syncytium respiratoire (RSV) responsable de la bronchiolite des nourrissons. Il est le seul anticorps monoclonal antiviral efficace en usage clinique. D'autres anticorps monoclonaux sont utilisés contre différentes formes de cancers.

Références bibliographiques

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2024). Cellular and molecular immunology (11e éd.). Elsevier.
- Bai, Y., Dai, Y., Lu, Z., & Yu, L. (2026). Targeting innate immunity to overcome immune evasion in HPV-associated cancers. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2026.1456789>
- Bogdan, C. (2024). The immunomicrotope of *Leishmania* control and persistence. *Trends in Parasitology*, 40(5), 385–399. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2024.03.002>
- Branda F., Romano C., Pavia G., Bilotta V., Locci C., Azzena I., Deplano I., Pascale N., Perra M., Giovanetti M., Ciccozzi A., De Vito A., Quirino A., Marascio N., Matera G., Madeddu G., Casu M., Sanna D., Ceccarelli G., Ciccozzi M., Scarpa F. (2025). Human T-Lymphotropic virus (HTLV): Epidemiology, genetic, pathogenesis, and future challenges. *Viruses*: 17. 664. <https://doi.org/10.3390/v170506644>
- Canoui E., Launay O. (2019). Histoire et principes de la vaccination. *Revue des Maladies Respiratoires*, 36 (1) : 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2018.02.015>
- Carosella ED, Rouas-Freiss N, LeMaout J. *Immunologie médicale*. Paris: Elsevier Masson; 2017.
- Chandley P., Ranjan R., Kumar S., Rohatgi S. (2023). Host-parasite interactions during *Plasmodium* infection: Implications for immunotherapies. *Frontiers in immunology*, 13, 1091961. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1091961>
- Chatenoud L, Bach JF. *Immunologie fondamentale et clinique*. Paris: Médecine-Sciences Flammarion; 2008.
- De Sanjosé, S., Brotons, M., & Pavón, M. A. (2017). The natural history of human papillomavirus infection. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 47, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2017.08.015>
- Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology*. 14th ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell; 2023.
- Doorbar, J., Quint, W., Banks, L., Bravo, I. G., Stoler, M., Broker, T. R., & Stanley, M. A. (2012). The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, 30(Suppl. 5), F55–F70. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083>
- Engwerda, C. R., Kaye, P. M., & Stäger, S. (2026). Lymphocyte-mediated immune responses to *Leishmania* infection. *Nature Reviews Immunology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1038/s41577-026-01294-2>
- Ezema, C. A., Okagu, I. U., & Ezeorba, T. P. C. (2023). Escaping the enemy's bullets: an update on how malaria parasites evade host immune response. *Parasitology Research*, 122(8), 1715–1731. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07868>
- Gamba, J. C., Pérez, A. R., Poncini, C. V., Poveda, C., Marcipar, I., & Cabrera, G. (2026). Towards a map of the immune system manipulation network by *Trypanosoma cruzi*. *Frontiers in Immunology*, 17, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2026.1548902>
- Gao, Z., Chen, X., Wang, C., Song, J., Xu, J., & Liu, X. (2024). New strategies and mechanisms for targeting *Streptococcus mutans* biofilm formation to prevent dental caries: A review. *Microbiological Research*, 278 <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127526>
- Garvey, G. J., Anderson, J. K., Goodrum, P. E., Tyndall, K. H., Cox, L. A., Khatami, M., Morales-Montor, J., Schoeny, R. S., Seed, J. G., Tyagi, R. K., Kirman, C. R., & Hays, S. M. (2023). Weight of evidence evaluation for chemical-induced immunotoxicity for PFOA and PFOS: Findings from an independent panel of experts. *Critical Reviews in Toxicology*, 53(5), 261–289. <https://doi.org/10.1080/10408444.2023.2194914>
- Gomes, P. S., Bhardwaj, J., Rivera-Correa, J., Freire-De-Lima, C. G., & Morrot, A. (2016). Immune escape strategies of malaria parasites. *Frontiers in Microbiology*, 7, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01617>

- Gonzales, S. J., Reyes, R. A., Braddom, A. E., Batugedara, G., Bol, S., & Bunnik, E. M. (2020). Naturally acquired humoral immunity against *Plasmodium falciparum* malaria. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.594653>
- Guey B., Bodnar M., Manié S.N., Tardivel A. et Petrilli V. (2014). Caspase – 1 autoproteolysis is differentially required for NLRP1b and NLRP3 inflammasome function. *Proc Natl Acad Sci* 2;111(48):17254-9. <http://doi: 10.1073/pnas.1415756111>
- Huang, C. J., Hsieh, M. S., Teng, W. M., Chen, C. Y., & Wu, M. H. (2024). Coordinated Th1- and Th17-related responses support antibody- and neutrophil-mediated protection against pneumococcal pneumonia. *Pathogens*, 13(8), 682. <https://doi.org/10.3390/pathogens13080682>
- Hybiske K, Stephens R. 2015. Cellular exit strategies of intracellular bacteria. *Microbiol Spectrum* 3(6):VMBF-0002-2014. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
- Isnard, A., , Shio, M. T., Olivier, M. (2012). Impact of *Leishmania* metalloprotease GP63 on macrophage signaling. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00072>
- Isokallio, M. A., Choi, J., & Lambert, P. F. (2024). Human papillomavirus and the stroma: Bidirectional crosstalk during the virus life cycle and carcinogenesis. *Viruses*, 16(5). <https://doi.org/10.3390/v16050676>
- Kühn S., Bergqvist J., Gil M., Valenzuela C., Barrio L., Lebreton S., Zurzolo C., Enninga J. (2020). Actin Assembly around the *Shigella*-Containing Vacuole Promotes Successful Infection. *Cell reports*, 12;31 (6):107638 <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107638>
- Liu J, Cao Q, Ewing M, Zuo Z, Kennerdell JR, Finkel T, et al. (2025). ATP depletion in anthrax edema toxin pathogenesis. *PLoS Pathog* 21(4): e1013017. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1013017>
- Liu S., Moayeri M., Leppla S. H. (2014). Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis. *Trends in Microbiology*, 22 (6): 317-325. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.02.012>
- Lodi, L., Voarino, M., Stocco, S., Ricci, S., Azzari, C., Galli, L., & Chiappini, E. (2024). Immune response to viscerotropic *Leishmania*: A comprehensive review. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1402539>
- Mookherjee, N., Anderson, M.A., Haagsman, H.P. et al. (2020). Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential. *Nat Rev Drug Discov* 19, 311–332. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0058-8>
- Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology*. 10th ed. New York, NY: Garland Science; 2022.
- Murphy, K., & Weaver, C. (2023). *Janeway's immunobiology* (10e éd.). W. W. Norton & Company.
- Okagu, I. U., Ezema, C. A., & Ezeorba, T. P. C. (2023). Escaping the enemy's bullets: An update on how malaria parasites evade host immune response. *Parasitology Research*, 122(8), 1715–1731. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07869-5>
- Pérez-Muñoz, A. C., Monroy-García, A., Mora-García, M. L., & Lizano-Soberón, M. (2025). Role of E5 from HPV16 in the evasion of the immune response. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(4). <https://doi.org/10.3390/ijms26041985>
- Pise-Masison C.A. and Franchini G. (2022). Hijacking Host Immunity by the Human T-Cell Leukemia Virus Type-1: Implications for Therapeutic and Preventive Vaccines. *Viruses*: 14, 2084. <https://doi.org/10.3390/v14102084>
- Portugal, A. B., DaMatta, R. A., Cunha Júnior, E. F., & Wanderley, J. L. M. (2026). Mechanisms of immune evasion, dissemination, and persistence in *Leishmania amazonensis* infection. *Parasite Immunology*, 48(1). <https://doi.org/10.1111/pim.70044>

- Pyeon, D., Lambert, P. F., & Ahlquist, P. (2021). A new cell culture model to genetically dissect the complete human papillomavirus life cycle. *PLoS Pathogens*, 17(5). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009585>
- Rodrigues E., Marzook N. B., Pallett M.A, Sateriale A. (2025). Convergent mechanisms of epithelial cell structure manipulation by intestinal pathogens. *PLoS Pathog* 21(7): e1013367. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1013367>
- Rodriguez-Paredes, M., Esteller, M., & Bosch, F. X. (2023). Epidemiology, molecular pathogenesis, immuno-pathogenesis, immune escape mechanisms and vaccine evaluation for HPV-associated carcinogenesis. *Biomedicines*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123128>
- Rooijackers SH, van Strijp JA. (2007). Bacterial complement evasion. *Mol Immunol*, 44: 23 – 32. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.06.011>
- Sender R, Fuchs S, Milo R (2016) Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol* 14(8): e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Serrano-Coll H., Aristizábal-Parra L. K. (2025). *Plasmodium* and Host Immunity: Evasion Strategies and Advances in Malaria Vaccination. *Scandinavian Journal of Immunology*, 101(6), e70034. <https://doi.org/10.1111/sji.70034>
- Serrano-Coll, H., & Aristizábal-Parra, L. K. (2025). *Plasmodium* and host immunity: Evasion strategies and advances in malaria vaccination. *Scandinavian Journal of Immunology*, 101(6), <https://doi.org/10.1111/sji.70034>
- Shio, M. T., Hassani, K., Isnard, A., Ralph, B., Contreras, I., Gomez, M. A., Abu-Dayyeh, I., & Olivier, M. (2011). Host cell signalling and *Leishmania* mechanisms of evasion. *Journal of Tropical Medicine*, Volume 2012, 14. <https://doi.org/10.1155/2012/819512>
- Simon N., Aktories K., Barbieri J. (2014). Novel bacterial ADP-ribosylating toxins: structure and function. *Nat Rev Microbiol* 12: 599–611. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3310>
- Sülzen, H., Began, J., Dhillon, A., Kereiche, S., Pompach, P., Votrubova, J., Zahedifard, F., Šubrtova, A., Šafner, M., Hubalek, M., Thompson, M., & Zoltner, M. (2023). Cryo-EM structures of *Trypanosoma brucei gambiense* ISG65 with human complement C3 and C3b and their roles in alternative pathway restriction. *Nature Communications*, 14. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37988-7>
- Surana S., Tosolini A.P., Meyer I.F.G., Fellows A.D., Novoselov S.S., Schiavo G. (2018). The travel diaries of tetanus and botulinum neurotoxins. *Toxicon*, 147: 58 -67. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2017.10.008>
- Teixeira-Nunes, M., Retailleau, P., Comisso, M., Deruelle, V., Mechold, U., & Renault, L. (2022). Bacterial Nucleotidyl Cyclases Activated by Calmodulin or Actin in Host Cells: Enzyme Specificities and Cytotoxicity Mechanisms Identified to Date. *International Journal of Molecular Sciences*, 23 (12), 6743. <https://doi.org/10.3390/ijms23126743>
- Thakur A., Mikkelsen H., Jungersen G. (2019). Intracellular Pathogens: Host Immunity and Microbial Persistence Strategies. *Journal of immunology research* Volume 2019, 24 pages <https://doi.org/10.1155/2019/1356540>
- Thawornpan, P., Kochayoo, P., Salsabila, Z. Z., & Chootong, P. (2024). Development and longevity of naturally acquired antibody and memory B cell responses against *Plasmodium vivax* infection. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 18(10), Article e0012600. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012600>
- Thomson, R., & Raper, J. (2021). Innate immunity against African trypanosomes: The role of trypanolytic factors. *Annual Review of Microbiology*, 75, 231–250. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020321-114040>
- Tran, T. M., Li, S., Doumbo, S., Doumtabe, D., Huang, C.-Y., Dia, S., Bathily, A., Sangala, J., Kone, Y., Traore, A., Niangaly, M., Dara, C., Kayentao, K., Ongoiba, A., Doumbo, O. K., Traore, B., & Crompton, P. D. (2023). Immune response and evasion mechanisms of *Plasmodium falciparum* parasites. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1152431>
- Tshabalala, M., & Williamson, A. L. (2024). High-risk HPV oncoproteins E6 and E7 and their interplay with the innate immune response: Uncovering mechanisms of immune evasion and therapeutic prospects. *Journal of Medical Virology*, 96(1). <https://doi.org/10.1002/jmv.29384>

- Vargas, M. C., & Saraiva, E. M. (2023). Immune response to viscerotropic *Leishmania*: A comprehensive review. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1270839>
- Vieira, L. R., Magalhães, L. M., Horta, M. F., & de Almeida, I. C. (2021). Mechanisms of infectivity and evasion derived from microvesicles cargo produced by *Trypanosoma cruzi*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.712347>
- Wang, Y., Zhang, L., Liu, J., & Chen, X. (2025). Cervical cancer immune microenvironment: Mechanisms of HPV-mediated immune evasion and advances in immunotherapy. *Oncology Letters*, 29(4). <https://doi.org/10.3892/ol.2025.15375>