

**LE CERCLE DE RÉFLEXION SUR LE PROCESSUS DE PATHOGÉNIE**

**Présente un recueil**

RÉFLEXIONS AUTOUR DU CONCEPT  
D'INFECTION\*

Rédacteurs : Morris Goldner, Jean-Philippe Émond, Alain Dublanchet

\* Voir auteurs a sources, p. 140, numero 1 - 11

2008

## ***Table des matières***

1. Concepts sur les infections : contexte historique .....	3
2. Roger Stanier : L'écodiversité, clé d'une nouvelle ère en biologie .....	13
3. Du rôle des bêta-lactamases dans le métabolisme bactérien.....	24
4. La pathogenèse microbienne vue sous un angle thermodynamique .....	37
5. 'Modulations' Antigénique : flux d'énergie et microenvironnement .....	53
6. Evaluation des facultés métaboliques de <i>Streptococcus mutans</i> en relation avec la carie dentaire .....	64
7. Aspects biologiques de la pathogénicité buccale .....	89
8. Note d'introduction sur la corrélation entre les aspects moléculaires et cliniques des infections .....	1011
9. Théorie du modulon de virulence de la pathogenèse .....	107
10. De l'infection à la microbiologie : réflexions et expériences du Professeur Mark Pallen.....	116
11. L'épopée de la phagothérapie .....	126

## **Point de départ**

# **1. CONCEPTS SUR LES INFECTIONS : CONTEXTE HISTORIQUE**

### *Introduction*

Jusqu'à ce jour, le décryptage du processus de l'infection constitue un fascinant témoignage de la persévérance et de l'ingéniosité humaine. D'abord intimement lié aux superstitions et aux mœurs relatives à l'hygiène et à la santé publique, ce progrès a atteint son sommet par l'établissement d'étiologies spécifiques des maladies infectieuses. De telles avancées, souvent difficiles à concrétiser, ont amené au soulagement d'incalculables souffrances. À première vue, il peut paraître simple de comprendre les événements qui ont conduit au contrôle des maladies infectieuses mais il ne faut pas perdre de vue les importantes questions qui restent en suspens quant à la causalité, l'étiologie, la prévention et, plus récemment, la résurgence de maladies que l'on était parvenu à contrôler<sup>1, 2</sup>. Explorer les bases de ce progrès et de son évolution devrait nous permettre de définir les processus intellectuels en cause et peut-être nous aider à formuler les mesures nécessaires pour faire face aux exigences de l'avenir.

À l'époque classique, on ne se préoccupait apparemment que de considérations esthétiques, rationnelles et religieuses<sup>3</sup> et on était donc peu enclin à développer le concept d'infection. Cependant, le développement des idées sur l'infection suppose que le progrès de la lutte contre les maladies infectieuses soit basé sur une approche beaucoup plus large<sup>4</sup>. En rétrospective, ce progrès supposait d'abord la théorie des germes dont Fracastoro<sup>5</sup> fut le premier à le concevoir clairement ; il supposait ensuite son interprétation pratique comprise intuitivement par Semmelweis et Lister, mais finalement, sa base expérimentale fut brillamment élucidée par des chercheurs tels Pasteur et Koch. En fait, l'avancée majeure a été essentiellement le résultat de recherches effectuées au milieu du dix-neuvième siècle, lorsque Pasteur, Koch, Lister et Tyndall eurent compris que l'infection était

causée par des entités biologiques distinctes et douées d'une capacité de reproduction et de transmission<sup>6, 7</sup>.

Comme la conceptualisation de l'infection reposait sur un ensemble d'idées et sur les notions qui en découlaient, il fut établi clairement que la maladie suit l'infection, et qu'en raison de la théorie des germes, il devait y avoir une interaction entre l'entité biologique (le germe) et l'organisme récepteur (l'hôte). Ces notions devaient répondre à la difficile question, mais combien fondamentale : quelle serait l'interrelation qui existe entre la capacité perçue de l'agent infectieux et l'état de maladie qui s'ensuit? En d'autres termes, quel serait le lien qui existerait entre le potentiel génétique du micro-organisme pathogène et l'influence qu'il a au sein de l'hôte? Pour établir un tel lien entre le génome et l'environnement, on doit admettre qu'un micro-organisme générateur de maladie, c'est-à-dire pathogène, se développe en trois stades pour en aboutir à une maladie chez l'hôte. Ces stades sont *la sélection, l'adaptation et la modulation*. Une vue d'ensemble dérivée des époques classiques et modernes doit orienter la pensée vers la recherche de leur niveau d'influence respectif. D'une manière générale, il convient de noter que l'on n'a pas énoncé ces définitions en pensant précisément au mode de développement d'une maladie, mais qu'elles ont néanmoins éclairé cette question, comme cela se produit fréquemment en recherche scientifique.

### ***L'époque classique***

L'étude historique démontre que le concept initial d'infection était dénué de tout fondement scientifique. Toutefois, comme l'avait noté Klebs, historien de la médecine, le concept d'infection retenait la notion de lien avec la maladie en ce sens qu'il impliquait un acte d'insertion ou d'inclusion en tant que point de départ de l'existence d'une telle relation. Cette relation persistante entre l'infection et la maladie apparaissait tout aussi fondamentale que celle qui existe entre l'ingestion et la croissance ou la fertilisation et la propagation<sup>3</sup>. Un certain degré de

superstition existait et, tant au niveau public que personnel, on appliquait des mesures conscientes d'hygiène par la pratique d'une vie saine<sup>8</sup> ; toutefois, en dépit de la croyance gréco-romaine selon laquelle la maladie se devait d'avoir une cause naturelle, il n'était pas certain que l'on fût arrivé à une intervention consciente par approche prophylactique. Par conséquent, la notion selon laquelle l'infection est causée par un germe est un concept vraiment moderne. À compter de cette époque, Fracastoro, Pasteur et Koch révélèrent toute l'importance qu'a un agent vivant comme étiologie d'une maladie.

La *loi mosaïque* avait imposé l'idée qu'il était impératif d'isoler les personnes affligées de maladies contagieuses chroniques ; par ailleurs, les rites de purification recommandés par le Lévitique pour ce que l'on appelait « les maisons infectées » sont à l'origine des mesures modernes de prévention des maladies épidémiques<sup>9</sup>. Plus tard, on réalisa un progrès considérable lorsque les dignitaires de l'Église catholique romaine, s'inspirant de l'Ancien Testament, recommandèrent l'isolement systématique des victimes d'infections. Éventuellement, à compter du milieu du quatorzième siècle, cela incita les pouvoirs publics d'Italie et du Sud de la France, Venise et Marseille en tête, à créer de toutes pièces un système de contrôle sanitaire des navires arrivants, sous la forme de maisons d'observation, d'hôpitaux d'isolement et de mesures de désinfection. Ceci aboutit à la pratique de la quarantaine<sup>10</sup>. Ces méthodes sont toujours imposées par l'hygiène moderne, quoique d'une manière mieux définie et plus rigoureuse, et on le doit en grande partie aux pratiques d'hygiène personnelle et publique établies sous la Grèce et la Rome antique.

Galien, à l'époque gréco-romaine, n'envisageait absolument pas que les processus de la maladie infectieuse puissent avoir une origine externe, puisqu'il n'y voyait qu'un processus spontané basé sur les notions hippocratiques d'humeurs et de qualités innées<sup>3, 11</sup>. Durant les siècles suivants, ces idées guidèrent le progrès

scientifique. Toutefois, depuis l'émergence du rôle des micro-organismes dans la maladie<sup>6, 7</sup>, la notion de source d'infection matérielle et discernable, dont la présence se traduit par l'apparition de la maladie, a exercé une influence centrale dans la compréhension du processus de l'infection<sup>3, 12</sup>. Ce fait a été mis en lumière lors de la grande expérience de variolisation prophylactique pratiquée du milieu du dix-huitième jusqu'au milieu du dix-neuvième siècle<sup>13</sup>. Depuis cette époque, on admet que la variole est le produit d'un agent entré de l'extérieur et la petite vérole, son effet constant, défini, strict et spécifique de sa transmission. Selon Klebs, l'acceptation de ces idées montrait à la fois l'extraordinaire viabilité du concept qui avait germé et la direction de son application. Par exemple, la variolisation consiste en la transmission contrôlée de la maladie par inoculation d'un virus modifié plutôt que de favoriser l'acquisition accidentelle du virus<sup>13</sup>. C'est ainsi qu'une idée de prime importance s'imposa, selon laquelle une porte d'entrée s'est installée comme point de départ dans l'organisme initiant la multiplication d'agents infectants capables de causer ultérieurement une maladie reliée spécifiquement à l'infectiosité appartenant à des espèces microbiennes bien définies. L'acceptation de ces faits laissait présager l'ouverture d'une vision plus large, pour aboutir à une compréhension plus générale de la pathogénicité.

### ***L'impact de la théorie de l'évolution des êtres vivants***

Il est probable que le pas décisif vers une conception moderne de l'infection n'est ni l'élucidation par Virchow (milieu du dix-neuvième siècle) de la théorie de la cellule, ni les expériences classiques de Pasteur et de Tyndall relatives à la biogenèse, mais bien le développement des idées relatives à l'évolution organique. La théorie de la cellule déboucha sur l'énoncé de Virchow selon laquelle toute cellule provient d'une cellule préexistante. La controverse entre Pasteur et Pouchet prit fin avec les expériences de Pasteur et de Tyndall qui enlevaient tout crédit raisonnable à la génération spontanée des micro-organismes. Par la suite, les expériences de Mendel sur les plantes<sup>14</sup> imposèrent graduellement la continuité génétique dans le contexte d'une base physique définie. Et pendant que celui-ci

appréciait l'importance de la probabilité aléatoire de la transmission de caractères phénotypiques parentaux, l'hypothèse de Sutton-Barin démontra que les chromosomes dans le noyau de la cellule véhiculaient l'hérédité.

Auparavant, Linnaeus avait perçu l'existence de dénominateurs communs à la diversité des formes biologiques montrant ainsi la direction à suivre pour leur classification. Cette prise de conscience donna une vision plus physique que sentimentale à la perception de la nature. Lorsque, combinée avec la théorie de Malthus sur la cinétique des populations et les études de Lyell sur l'évolution géologique, la sélection naturelle offrit à Darwin un indice sur l'agent du changement évolutif et une compréhension du facteur temps dans ce lent processus. Ces progrès dans l'évolution des organismes se cristallisèrent avec le traité de Darwin sur l'origine des espèces par la sélection naturelle<sup>15</sup>. Il en résulta que l'on se mit à examiner l'évolution des êtres vivants à la lumière d'un postulat voulant que la sélection naturelle soit l'agent du changement évolutif à l'origine de nouvelles espèces.

### *L'époque moderne*

Selon l'existence de systèmes chromosomiques ou extra chromosomiques de son ADN, un micro-organisme pathogène peut être perçu comme étant dans un constant processus d'émergence impliquant des éléments de l'ADN<sup>16</sup>. En ce sens, sa virulence peut croître ou décroître en fonction de différents facteurs. Le gain de virulence serait attribuable à un changement survenu au cours de la réplication ou bien à un gain d'information génétique provenant soit d'un autre pathogène ou même d'un commensal, soit encore de l'hôte ou bien d'un vecteur. La perte de virulence proviendrait aussi d'un changement durant la réplication, ou bien d'une perte de cette faculté lors d'un transfert, ou de la correction d'informations génétiques. Dans les limites de ces probabilités, on ne doit pas oublier que le pathogène vit dans l'hôte, c'est-à-dire, au sein d'un autre être vivant ; que l'hôte a tendance à maintenir un équilibre ou peut chercher à détruire le pathogène afin de

contrer l'infection ; que les probabilités des événements changent ; que le pathogène peut, à tout moment, être très virulent, peu ou assez peu virulent, voire avirulent.

### ***En quête de réponses***

Il est certain que les effets des conditions *in vitro* ou *in vivo* sur la constitution des micro-organismes ont soulevé beaucoup de questions<sup>17, 18</sup>. Des différences, initialement infimes entre des micro-organismes s'étant développées *in vitro* et *in vivo* aboutissent à des différences de fonctionnement. Ceci soulève la question suivante : comment des conditions environnementales fluctuantes ou stables peuvent-elles influencer le comportement d'un pathogène ou d'un pathogène potentiel ? L'état pathogène naturel devrait définir les événements susceptibles d'exercer une sélection et ceux auxquels les organismes s'adapteront. Devons-nous comprendre que ces pathogènes exercent une capacité inhérente à devenir virulents dans des circonstances qui imposent des conditions stressantes au micro-organisme ? Cela signifierait que les caractéristiques de ces organismes peuvent se moduler<sup>19, 20</sup>, impliquant ainsi l'existence de facteurs de virulence qui ne deviennent apparents que lorsqu'ils sont exprimés chez un hôte. De tels facteurs seront nécessaires pour passer d'une infection vers la maladie. Ces facteurs de cause à effet se retrouvent pour les infections dormantes, latentes, persistantes et celles qui présentent des caractéristiques mixtes<sup>2</sup>. Les relations se prêtent à l'examen en termes de sélection, d'adaptation et de modulation<sup>21, 22, 23</sup>. En ces matières, l'idéal pourrait être l'atteinte d'un « parfait équilibre » dans lequel les propriétés d'un pathogène ne lui permettraient ni gain ni perte. La compréhension de ces courants soulève des interrogations qui touchent à la fois à la biologie classique et à la biologie moderne.

### ***Conclusion***

La capacité d'un micro-organisme pathogène à produire une maladie paraît reposer sur une ligne d'action assez structurée à trois niveaux de développement ; la sélection, l'adaptation et la modulation ; selon laquelle l'organisme manœuvre par des cheminements complexes à l'intérieur des hôtes et entre eux, pour établir le processus infectieux.

## ***Bibliographies***

1. SPINK, W. W. *Infectious Diseases: Prevention and Treatment in the Nineteenth and Twentieth Centuries*, Minneapolis: Univ. Minnesota Press, 1978.
2. MIMS, C. A. *The Pathogenesis of Infectious Disease*, 3rd ed. London & New York: Academic Press, 1987.
3. KLEBS, A. C. The history of infection. *Ann. Med. Hist.* 1:159-173, 1917.
4. INGLE, D. J. *Life and Disease: New Perspectives in Biology and Medicine*, New York: Baric Books, 1963.
5. SINGER, C., and SINGER, D. The development of the doctrine of the *Contagium Vivum*, 1500-1750. *Proc. Int. Med. Congr. (Sect. Hist. Med.)* pp. 187-207, Berlin, 1913.
6. TYNDALL, J. *Essays on the Floating-matter of the Air in Relation to Putrefaction and Infection*, 2nd ed., London: Longmans, Green, 1883.
7. PENN, M., and DWORKIN, M. Robert Koch and two visions of microbiology. *Bacteriol. Rev.* 40:276-283, 1976.
8. SUDHOFF, K. The hygienic idea and its manifestations in world history. *Ann. Med. Hist.* 1:111-117, 1917.
9. SUDHOFF, K. Grundfragen der historischen Epidemiologie. *Verhandl. Ges. Deut. Naturforsch. Aerzte* 84. Versamml. 2:103-105, 1913 (Leipzig: F. C. W. Vogel).
10. SUDHOFF, K. *Infektion und Infektionsverhütung im Wandel der Zeiten und Anschauungen (Ausgewählte Abhandlungen von Karl Sudhoff zum 75. Geburtstage)*. *Sudhoffs Arch.* 21:207-218, 1929 (originally published in 1914).
11. TEMKIN, O. *An historical analysis of the concept of infection: Studies in Intellectual History*, Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1953.
12. TEMKIN, O. The scientific approach to disease: Specific entity and individual sickness. In *The Double Face of Janus and Other Essays in the History of Medicine*, edited by O. Temkin. Baltimore & London: The Johns Hopkins University Press, 1977.

13. KLEBS, A. C. The historic evolution of variolation. Johns Hopkins Hosp. Bull. 24:69-82, 1913.
14. GLASS, B. Evolution and heredity in the 19th century. In Medicine, Science and Culture: Historical Essays in Honour of Oswei Temkin, edited by L. G. STEVENSON and R. P. MULTHAUF. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1968.
15. DARWIN, C. On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life, London: Murray, 1859.
16. SO, M.; CRANDALL, J. F.; CROSA, J. H.; and FALKOW, S. Extrachromosomal determinants which contribute to bacterial pathogenicity. In Microbiology-1974, pp. 16-26, edited by D. SCHLESSINGER. Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 1975.
17. BROWN, M. R. W., and WILLIAMS, P. The influence of environment on envelope properties affecting survival of bacteria in infection. Ann. Rev. Microbiol. 39:527-556, 1985.
18. ELLWOOD, D. C., and TEMPEST, D. W. Effects of environment on bacterial wall content and composition. In Advances in Microbial Physiology, vol. 7, pp. 83-117, edited by A. H. ROSE and D. W. TEMPEST. London & New York: Academic Press, 1972.
19. LACEY, B. W. Antigenic modulation of *Bordetella pertussis*. J. Hyg., Camb. 58:57-93, 1960.
20. LACEY, B. W. Non-genetic variation of surface antigens in *Bordetella* and other microorganisms. In Microbial Reaction to Environment, Eleventh Symposium of the Society for General Microbiology, edited by G. G. MEYNELL and H. GOODER. Cambridge & London: Cambridge Univ. Press, 1961.
21. AVERY, O. T.; MACLEOD, C.; and MCCARTY, M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. J. Exp. Med. 79: 137-158, 1944.
22. STANIER, R. Y. Adaptation, evolutionary and physiological: or Darwinism among the microorganisms. In Adaptation in Microorganisms, Third Symposium

of the Society for General Microbiology, edited by R. Davies and E. F. Gale.  
Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1953.

23. MARETT, D.; LACEY, B.; and GOLDNER, M. Microbial pathogenesis: An energetic interpretation. *Specul. Sci. Technol.* 17: 301-307, 1994.

## **Cheminement**

## **2. ROGER STANIER : L'ÉCODIVERSITÉ, CLÉ D'UNE NOUVELLE ÈRE EN BIOLOGIE**

### ***Introduction***

Roger Stanier était un chercheur à l'esprit pénétrant dont les études, étalées sur plusieurs années, portaient sur les principes de base de l'évolution et de l'adaptation. Ce scientifique d'origine canadienne entreprit l'étude des micro-organismes, voici plus de 50 ans ; passa sa carrière de microbiologiste aux États-Unis et, plus tard, en France<sup>1</sup>. À ses débuts, la taxonomie présentait un défi constant et l'intérêt de Stanier pour le sujet l'attira dans le groupe qui travaillait à la rédaction du manuel de Bergey. Ce manuel devint le guide de référence auprès des chercheurs en matière de détermination des espèces. Stanier contribua beaucoup, à sa forme et à son contenu, ce qui lui valut une vue d'ensemble de la microbiologie. Ses centres d'intérêts évoluèrent dans une large perspective dès ses débuts et demeurèrent à ce niveau jusqu'à sa mort en 1982<sup>2</sup>. Avec l'aide de collaborateurs exceptionnels<sup>3-7</sup>, il écrivit un livre qui fut une source d'inspiration pour nombre d'étudiants du monde entier, *The Microbial World*, jusqu'à sa cinquième édition. La richesse de ses études enthousiasmait ses collègues chercheurs et ses idées influencèrent profondément la biologie moderne<sup>1, 2, 8</sup>. La qualité de sa pensée était impressionnante ; ses brillants efforts pour jeter des ponts sur les failles de nos connaissances d'un développement évolutif complexe nous aidèrent à saisir la spécificité du monde microbien et son œuvre exerce encore une influence immense et durable<sup>9</sup>.

## ***Orientation***

L'approche de Stanier eut une influence déterminante parce qu'il percevait l'étude des micro-organismes comme le thème central de la biologie, thème devant se situer dans le sens du progrès. Il étudia les micro-organismes dans le même contexte que les autres formes de vie<sup>3</sup>. Pour lui, les questions difficiles en biologie — la taxonomie, l'organisation, l'héritage, la structure, la fonction, l'économie, la survie, l'évolution et l'adaptation — devaient être abordées à tous les niveaux du monde naturel, incluant celui des micro-organismes. Stanier plaça l'emphase sur l'évolution et l'adaptation, expliquant le contrôle des voies métaboliques dans les organismes en termes d'économie et d'adaptation pour la survie<sup>10-14</sup>. Il perçut que l'environnement organique consistait en des manifestations à la fois systématiques et fluctuantes, permettant ainsi aux organismes d'évoluer par adaptations successives<sup>12</sup>.

Auparavant, Chatton avait attiré l'attention sur la « dichotomie taxonomique » des organismes, les divisant en *procaryotes* (formes élémentaires) et *eucaryotes* (formes complexes)<sup>15</sup>. Toujours aussi intuitif, Stanier élaborait un portrait de famille définitif de ces organismes, tout en évaluant l'importante discontinuité évolutive qui les différenciait<sup>3, 4, 12, 13</sup>. Toutefois, Stanier réalisa que l'emphase qu'il plaçait sur l'évolution et l'adaptation le conduisait à modifier et à diversifier la focalisation de son travail scientifique, s'éloignant de la taxonomie au profit des facettes biochimiques<sup>12</sup>. Essentiellement, Stanier reconnaissait dans son travail l'importance primordiale des diversités métaboliques dans un milieu en perpétuel changement. Bientôt, il évoqua la nécessité de systèmes de contrôle en tant que caractéristiques stables qui auraient tendance à se perpétuer avec les organismes<sup>16-18</sup>. Il comprit que la clé de l'adaptation résidait dans la disponibilité de l'énergie et dans la diversité des mécanismes pour la générer. Ensuite, il put étendre ce mode de pensée à des organismes autres que des procaryotes. Il eut l'intuition que dans leur développement évolutif, ces organismes canalisèrent leurs

nutriments et leur énergie dans une activité d'ingestion que l'on nomma endocytose ; il nota enfin que l'endocytose n'existait pas dans les formes procaryotes contemporaines. En décrivant le cheminement évolutif en termes d'endocytose efficace, Stanier attira l'attention sur les organites et sur leurs éventuelles relations symbiotiques. Dès lors, on pouvait envisager une compréhension claire de ces processus lointains servant de base à la théorie de Margulis sur l'origine symbiotique des organites eucaryotes<sup>19-21</sup>.

Stanier expliqua que la diversité des structures cytoplasmiques porteuses de pigments reflétait en réalité une diversification évolutive ancienne au niveau procaryotique<sup>13</sup>. De nos jours, le transport des électrons dans la mitochondrie, un organite producteur d'énergie chez les eucaryotes évolués, présente un air de famille, comparé aux divers systèmes de transport d'électrons des procaryotes pour la production d'énergie. La mitochondrie, comme nous le savons, n'a été reconnue que récemment en tant que structure de type organite dans la cellule eucaryote ; toutefois, la forme ancestrale que l'on nomme endosymbiote d'un point de vue évolutif, aurait connu une symbiose hâtive. Les processus de maturation des parois cellulaires (comme chez les champignons et les algues) feront peut-être davantage la lumière sur la question ; une bonne partie des connaissances actuelles au sujet de la maturation des parois cellulaires indique également une poussée de diversité dans le développement de ces organites<sup>13</sup>. À ce moment-là, l'organisation nucléaire bloqua la route de l'évolution aux co-symbiotes et les empêcha de se développer librement à leur façon.

Pendant ce temps, Stanier et son épouse Germaine, membres bien connus de l'Institut Pasteur de Paris, poursuivaient une nouvelle recherche sur un groupe particulier de micro-organismes alors classés sous le nom d'algues bleu-vert. Leur rapport reconnut l'origine bactérienne de ces organismes comme étant les cyanobactéries jusque là ignorées ; ils mirent en évidence les relations de structure et de fonction, recevant une corroboration écrasante des études au microscope

électronique en nombre croissant, lesquelles séparaient clairement les procaryotes des eucaryotes<sup>5, 6</sup>. Ils remarquèrent l'absence d'organites que l'on retrouve normalement chez les eucaryotes (tels les réticulums endoplasmiques et les lysosomes). Ils montrèrent que les cyanobactéries se conformaient à la définition des procaryotes parce qu'elles avaient une paroi cellulaire composée d'un hétéropolymère, le peptidoglycane, qui est le signe distinctif des parois cellulaires des bactéries. Il est évident que Stanier était préoccupé par son désir de bien définir les procaryotes et d'élucider leur extraordinaire capacité d'adaptation.

### *Adaptation simultanée*

Stanier s'était déjà intéressé à l'étude des *Pseudomonas* en tant que modèle de cellule, car ces dernières produisaient une batterie d'enzymes dans des suspensions de cellules au repos<sup>11</sup>. Ceci fut le point culminant de sa grande curiosité concernant l'adaptation par le phénomène dit de « l'adaptation simultanée des enzymes »<sup>10, 14</sup>. Sa théorie se basait sur le concept de l'adaptabilité des enzymes, concept mis au point par Karström, en vertu duquel certaines cellules s'adaptent simultanément pour attaquer le substrat primaire d'une voie métabolique ainsi que tous les intermédiaires formés au cours du métabolisme de ce même substrat<sup>22</sup>. La théorie de Stanier au sujet de l'adaptation multiple simultanée dans la formation des enzymes émanait d'un format systématique vers un niveau biochimique élémentaire. Toutefois, il s'avéra, à partir de ce phénomène, que la théorie des opérons de Monod satisfaisait bien les conditions requises pour les voies métaboliques. Monod démontra que l'induction d'une enzyme n'implique pas nécessairement son substrat puisque l'inducteur d'une voie stimule un opéron (une unité génétique opérationnelle) qui contient plusieurs gènes<sup>23</sup>. Dans certains cas, l'induction était hautement spécifique. Stanier et d'autres étudièrent des voies différentes (tryptophane, cétoadipate)<sup>24-28</sup>. Palleroni, un collègue de laboratoire, détermina que l'induction d'un métabolite dans l'oxydation du tryptophane chez les *Pseudomonas* est déclenchée par un des intermédiaires dans la voie (kyneurénine). Par la suite, le travail d'Ornston, un

autre collaborateur du laboratoire, sur la voie du bêta-cétoadipate chez les *Pseudomonas*, montra que la présence d'un mécanisme de contrôle peut être considérée comme une caractéristique stable. Ces événements montrèrent éventuellement que les voies métaboliques peuvent être régulées<sup>26, 27</sup> et que ce contrôle aurait à son tour tendance à être conservé à cette fin dans un groupe biologique particulier<sup>17, 18, 27</sup>.

Non seulement Stanier clarifia le concept de voies métaboliques, mais il fournit encore la base selon laquelle on pouvait envisager de le relier à d'autres variantes biochimiques. Cette base annonçait le concept de voies alternatives, permettant ainsi l'analyse de modèles d'adaptation enzymatique et fournissant des preuves détaillées de l'existence d'un comportement microbien adapté à une niche biochimique particulière.

### ***Progression évolutive***

Stanier s'intéressa ensuite à l'habitat naturel des micro-organismes pour expliquer les pressions sélectives dans un environnement naturel et pour prédire le lien entre les relations symbiotiques et l'écologie microbienne. Il craignait que l'on ne puisse reconnaître des changements réels à moins qu'ils ne se produisent dans des conditions environnementales authentiques qui assureraient des relations significatives dans le micro-environnement. En cherchant à clarifier les interactions entre le génome et son environnement<sup>12</sup>, Stanier définit les variations systématiques comme étant celles qui produisent un changement unidirectionnel graduel, les variations fluctuantes étant celles qui produisent des changements à court terme. Les événements systématiques avaient trait au modelage du génotype, permettant à un organisme d'être sélectionné pour satisfaire les conditions environnementales d'une époque géologique donnée. Les événements fluctuants étaient reliés au changement se produisant au cours d'une période d'observation donnée pour évaluer et repérer avec précision toute configuration de ces événements pouvant permettre une sélection possible de différents génotypes.

Toutefois, même avec l'adaptation successive dans la nature, Stanier reconnut que certaines mutations pouvaient se terminer en désastre si elles interféraient avec la compétitivité d'un organisme. Il en ressortait donc qu'un organisme doit conserver un certain agencement de gènes pour lui procurer l'adaptabilité optimale à survivre dans son milieu.

L'intuition exceptionnelle de Stanier le conduisit à élucider la signification en terme d'évolution de la photosynthèse bactérienne. C'est la base sur laquelle il a retracé l'adaptation d'organismes de la vie en l'absence d'oxygène (anaérobiose) à la vie en présence d'oxygène (aérobiose). Il se rendit compte que les pigments des micro-organismes avaient pour fonction importante de capter l'énergie de la lumière et que cela marquait un point décisif dans l'évolution. Il découvrit ensuite que des groupes microbiens partageant des caractéristiques physiologiques originales ont tendance à établir des relations privilégiées, dans le but d'accroître leurs chances communes de survie<sup>5, 6, 8</sup>. En permettant la coexistence de plusieurs organismes photosynthétiques dans un même habitat, les photopigments revêtent ainsi une grande importance en biologie. Leur capacité à absorber la lumière de certaines parties du spectre solaire bénéficiait au symbiote. De cette façon, Stanier formula les paramètres nécessaires pour l'analyse de la symbiose, selon le degré d'intimité, l'équilibre des avantages et le degré de dépendance de chaque symbiote.

Stanier mit l'accent sur l'endocytose pour expliquer le développement des eucaryotes<sup>12, 13</sup>. C'est l'endocytose qui déclencha l'évolution des procaryotes en eucaryotes. On peut présumer que des changements dans la paroi ou dans la membrane de la cellule permirent à un phénomène de prédation de se produire. Éventuellement, les procaryotes cessèrent d'être sélectionnés pour de nouveaux modes de métabolisme producteur d'énergie ; ensuite, la sélection dans la cellule eucaryote émergente se serait centrée sur une plus grande efficacité de la prédation. Ce résultat aurait pu être obtenu par une augmentation de la taille et de

la complexité de la cellule, produisant ainsi des innovations plus sophistiquées en matière de distribution des nutriments et de digestion intracellulaire.

En décrivant ce processus évolutif, les scientifiques ont tendance à concentrer leur travail sur les chloroplastes, les mitochondries et les parois cellulaires. Le chloroplaste vient appuyer la classification contemporaine des procaryotes photosynthétiques (algues bleu-vert) dans le système photopigmentaire. Selon cette théorie, des systèmes photopigmentaires de formes de vie indépendantes ont été préservés dans les organites photosynthétiques. Les précurseurs correspondant aux chloroplastes et aux mitochondries possédaient des éléments de matériel pariétal de cellules procaryotes ; on peut penser que les endosymbiotes acquièrent très tôt la capacité de synthétiser une composante importante de la paroi cellulaire des procaryotes. On peut en déduire que les endosymbiotes perdirent éventuellement ce statut lorsque la sélection naturelle implanta les organites dans les eucaryotes. Concurremment, le développement de la structure génétique conduisit à une composition génétique plus stable et l'organite devint bien intégré dans la forme cellulaire eucaryote.

### *Le jalon*

Stanier et Van Niel (le maître et son élève) consacrèrent beaucoup de temps et d'effort à la taxonomie des micro-organismes et se tournèrent vers les études biochimiques pour paver la voie du développement de la taxonomie phylogénétique. Plus tard, d'autres contributeurs<sup>29</sup> réussirent à établir un système simple permettant d'élaborer la phylogénie bactérienne en terme de séquences d'acide ribonucléique des ribosomes. À mesure qu'évoluait l'approche laborieuse de Stanier selon la classification de Bergey, Woese venait au secours des futurs chercheurs avec une technologie sophistiquée.

Stanier est responsable de l'avancement aussi bien grâce à ses idées sur l'évolution et l'adaptation qu'à son intuition au sujet de l'importance de la

symbiose pour les organismes dans la nature. Il a délibérément mis en lumière la juxtaposition des aspects morphologiques et écologiques sur les aspects biochimiques. Dans ses études sur l'adaptation enzymatique, Stanier a évalué avec justesse la possibilité d'existence de réseaux ; ainsi ses travaux ont mené éventuellement au développement de la biologie moléculaire moderne. Son travail extraordinaire a fourni une grande motivation à plusieurs de ses collègues et influencé l'ensemble de la microbiologie au cours de la deuxième partie du vingtième siècle. Pour Stanier, le succès signifiait une remise en question des grands courants de la biologie<sup>3,4</sup>, de mettre en lumière le contrôle métabolique<sup>11, 16, 17</sup> et de discerner l'adaptation successive<sup>12-14</sup>.

### ***Conclusion***

En rétrospective, on voit clairement que l'attention soutenue portée par Stanier aux *Pseudomonas* et aux cyanobactéries auparavant ignorées, eut un impact énorme. Il est aussi remarquable de constater que Stanier s'est tenu à l'écart de la plus récente percée en microbiologie — la génétique moléculaire — qui dépend de la manipulation génétique et de la biotechnologie. Plutôt que d'adopter une approche réductrice, il gravita vers la thèse synergétique de l'évolution et de l'adaptation et son intérêt pour cette réalité vue dans son environnement naturel. En dépit de cela, son attention au métabolisme intermédiaire révéla une information cruciale qui influença l'avenir de la régulation. Le choix de Stanier fut de se tenir près de l'objet de la biologie elle-même, en vertu de quoi le tout prend le pas sur la partie. En fait, la diversité démêle les perspectives scientifiques, réduit les populations à leurs éléments constitutifs et confirme le lien essentiel et naturel entre le génome et le milieu, un cercle vicieux qui a été scruté par un grand nombre de microbiologistes jusqu'à nos jours.

## ***Bibliographie***

1. STANIER, R. Y. The journey, not the arrival, matters. *Ann. Rev. Microbiol.* 34:1-48, 1980.
2. CLARKE, P. H. Roger Yate Stanier 22 October 1916-29 January 1982. In *Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society* 32:543-568, 1986.
3. STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; and ADELBERG, E. A. *The Microbial World*, 1st ed., Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1957.
4. STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; and ADELBERG, E. A. *The Microbial World*, 2nd ed., 1963.
5. STANIER R. Y.; DOUDOROFF, M.; and ADELBERG, E. A. *The Microbial World*, 3rd ed., 1970.
6. STANIER, R. Y.; ADELBERG, E. A.; and INGRAHAM, J. L. *The Microbial World* 4th ed., 1976.
7. STANIER, R. Y.; INGRAHAM, J. L.; WHEELIS, M. L.; and PAINTER, P. R. *The Microbial World*, 5th ed., 1986.
8. STANIER, R. Y.; and COHEN BAZIRE, G. The role of light in the microbial world: some facts and speculations. In *Microbial Ecology, Seventh Symposium of the Society for General Microbiology*, edited by R. E. O. Williams and C. C. Spicer. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1957.
9. STANIER, R. Y., and VAN NIEL, C. B. The concept of a bacterium. *Arch. Microbiol.* 42:17-35, 1962.
10. STANIER, R. Y. Simultaneous adaptation: A new technique for the study of metabolic pathways. *J. Bacteriol.* 54:339-348, 1947.
11. STANIER, R. Y. Enzymatic adaptation in bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 5:35-53, 1951.
12. STANIER, R. Y. Adaptation, evolutionary and physiological: or Darwinism among the microorganisms. In *Adaptation in Microorganisms, Third Symposium of the Society for General Microbiology*, edited by R. DAVIES and E. F. GALE. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1953.

13. STANIER, R. Y. Some aspects of the biology of cells and their possible evolutionary significance. In *Organization and Control in Prokaryotic and Eukaryotic Cells*, Twentieth Symposium of the Society for General Microbiology, edited by H. P. CHARLES and B. C. J. G. KNIGHT. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1970.
14. CLARKE, P. H. Adaptation: the fifteenth Marjory Stephenson Memorial Lecture. *J. Gen. Microbiol.* 126:5-20, 1981.
15. CHATTON, E. *Titres et Travaux Scientifiques (1906-1937)*, edited by E. SOTTANO. Paris: Sète, 1937.
16. STANIER, R. Y.; HEGEMAN, G. D.; and ORNSTON, L. N. The mechanism of so-called "sequential induction" in *Pseudomonas fluorescens*. In *Colloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique no. 124 (Mécanismes de Régulation des Activités Cellulaires chez les Micro-organismes, Marseille, 1963)*, edited by J. C. SENEZ. Paris: Editions du CNRS, 1965.
17. CANOVAS, J. L.; ORNSTON, L. N.; and STANIER, R. Y. Evolutionary significance of metabolic control systems. *Science* 156:1695-1699, 1967.
18. WHEELIS, M. L., and STANIER, R. Y. The genetic control of dissimilatory pathways in *Pseudomonas putida*. *Genetics* 66:245-266, 1970.
19. SAGAN, L. On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* 14:225-274, 1967.
20. MARGULIS, L. Evolutionary criteria in thallophytes: a radical alternative. *Science* 161:1020-1022, 1968.
21. MARGULIS, L. *Origin of Eucaryotic Cells*, New Haven: Yale Univ. Press, 1970.
22. KARSTROM, H. Enzymatic adaptation bei mikroorganismen. *Ergebn. Enzymforsch.* 7:350-376, 1937.
23. JACOB, F., and MONOD, J. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of protein. *J. Mol. Biol.* 3:318-356, 1961.
24. COHEN, S. S. Adaptive enzyme formation in the study of uronic acid utilization by the K-12 strain of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 177:607-619, 1949.

25. STANIER, R. Y., and TSUCHIDA, M. Adaptive enzymatic proteins in the bacterial oxidation of tryptophan. *J. Bacteriol.* 58:45-60, 1949.
26. KATAGIRI, M., and HAYAISHI, O. Enzymatic degradation of beta-ketoadipic acid. *J. Biol. Chem.* 226:439-448, 1957.
27. PALLERONI, N. J. General properties and taxonomy of the genus *Pseudomonas*. In *Genetics and Biochemistry of Pseudomonas*, edited by P. H. CLARKE and M. H. RICHMOND. London: John Wiley & Sons, 1975.
28. CLARKE, P. H., and ORNSTON, L. N. Metabolic pathways and regulation, Parts 1 & 2. In *Genetics and Biochemistry of Pseudomonas*, edited by P. H. CLARKE and M. H. RICHMOND. London: John Wiley & Sons, 1975.
29. WOESE, C. R. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51:221-271, 1987.

### **3. DU RÔLE DES BÊTA-LACTAMASES DANS LE MÉTABOLISME BACTÉRIEN**

#### ***Résumé***

La famille d'enzymes dénommés « bêta-lactamases » est reconnue depuis longtemps comme un facteur important de résistance bactérienne aux pénicillines et céphalosporines. En raison de leur importance clinique, on admet généralement que ces enzymes se seraient imposés face à la menace posée par ces mêmes antibiotiques quant à la survie bactérienne. Par contre, la détection difficile des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines en situation naturelle porte à croire que ces derniers ont joué un rôle négligeable ou nul dans le développement des bêta-lactamases. La présente étude se penche sur la controverse entourant la fonction réelle des bêta-lactamases.

#### ***Introduction***

Un des facteurs majeurs réduisant l'efficacité de la chimiothérapie antimicrobienne est l'incidence croissante de pathogènes résistants. La compréhension de l'inactivation des bêta-lactamines (pénicillines et céphalosporines) par les bêta-lactamases bactériennes est particulièrement préoccupante parce que des variants hautement actifs de ces enzymes peuvent être facilement propagés dans la population bactérienne via des éléments génétiques mobiles. L'efficacité même des bêta-lactamases en tant qu'inactivateurs de bêta-lactamines a poussé certains chercheurs à déclarer que ces enzymes n'avaient pas d'autres fins que de détoxifier les cellules par l'élimination de ces antibiotiques (*théorie de la détoxification*)<sup>1</sup>. Par ailleurs, il existe aussi un concept qui reconnaît un certain degré d'homologie entre ces enzymes et celles qui

synthétisent la paroi cellulaire (*théorie physiologique*)<sup>2</sup>. Nous allons maintenant examiner la controverse entourant la fonction des bêta-lactamases.

Koch énumère neuf mécanismes utilisés par les bactéries afin de résister aux défis que leur posent les antibiotiques<sup>3</sup>. Ces mécanismes vont de la simple modification de la molécule cible, telle la modification de la protéine ribosomique dans la résistance à la streptomycine, jusqu'à l'utilisation d'enzymes de détoxification des substances antibactériennes spécifiques. La plupart, sinon tous ces mécanismes résultent de modifications relativement simples de composants déjà présents dans le fonctionnement cellulaire. De simples modifications obviennent à la nécessité de développer des systèmes *de novo* pour s'attaquer spécifiquement à un agent antimicrobien. On présume que dans une population microbienne non agressée, de telles modifications sont déjà présentes pour une minorité de cellules. Au cours d'un épisode d'agression antibiotique, ces phénotypes naturellement résistants en viennent à prédominer, assurant ainsi la survie de la souche sans nécessiter de changements phénotypiques importants par rapport à la population globale. Les populations microbiennes font preuve d'efficacité dans le sens qu'elles évoluent de manière à favoriser la multiplicité des fonctions avec un contenu structural minimal. On en trouve un exemple dans les systèmes de détoxification des phénicolés et des aminoglycosides. Dans la résistance aux phénicolés, l'agent détoxifiant est une acétylase modifiée qui a une fonction normale dans la cellule<sup>4</sup>. De même, dans certaines formes de résistances aux aminoglycosides, les agents de détoxification sont des phosphorylases qui reconnaissent en la partie structurale de ces antibiotiques une structure commune à leur substrat habituel<sup>5</sup>. En cas de résistance, l'enzyme joue un double rôle ; premièrement, servir de médiateur pour certaines fonctions physiologiques et deuxièmement, conférer une possibilité d'échappement durant les périodes d'agression antibiotique.

### *Confrontation de la théorie de la détoxification et de la théorie physiologique*

Les bêta-lactamases ont-elles une double nature ou ont-elles fixé de façon permanente cette fonction secondaire ? Selon la théorie physiologique, les bêta-lactamases sont élaborées par la cellule lors des périodes d'agression antibiotique afin de lutter contre de tels composants. Les bêta-lactamases joueraient ainsi simultanément leurs rôles, à la fois physiologiques et protecteurs. Selon la théorie de la détoxification, l'évolution du système basé sur les bêta-lactamases serait indépendante des autres processus cellulaires, l'unique mission des bêta-lactamases étant d'être aussi efficaces que possible contre les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines. Pollock, un partisan de la théorie de la fonction bêta-lactamase, déclare : « La spécificité restreinte et la forte activité de détoxification de la plupart des pénicillinases (bêta-lactamases) suggère que leurs fonctions physiologiques et leurs modes d'évolution soient spécifiquement dirigés contre l'action antibactérienne des pénicillines et des céphalosporines »<sup>6</sup>. Ce type de réaction à l'agression antibiotique est différent de celui de la résistance aux phénicolés et aux aminoglycosides. La différence entre ces deux théories repose sur la perception de menace pour la survie microbienne que posent les bêta-lactamines dans le milieu. Selon la théorie physiologique, la pression évolutive occasionnée par la présence des bêta-lactamines dans le milieu ne serait pas suffisante pour produire un développement évolutif divergent du gène ancestral, ce qui signifierait que les deux fonctions seraient maintenues à l'intérieur d'une structure unique. Au contraire, selon la théorie de la détoxification, la pression sélective est suffisante pour imposer un développement évolutif divergent pour chaque fonction.

Les bêta-lactamases constituent une famille d'enzymes dont les propriétés physico-chimiques, physiologiques et génétiques diffèrent grandement, mais elles ont toutes en commun la capacité d'hydrolyser, à des degrés divers, la liaison bêta-lactame<sup>7,8</sup>. Les antibiotiques qui contiennent la liaison bêta-lactame, telles les

pénicilline et les céphalosporines et leurs dérivés respectifs, cessent toute activité lorsque cette liaison est hydrolysée. Certains traits saillants de ces enzymes sont :

- 1) les bêta-lactamases sont répandues autant chez les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif ;
- 2) la présence des bêta-lactamases accroît souvent la résistance de la bactérie qui les produit à des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines ;
- 3) il existe une seule cible connue pour ces enzymes : la liaison bêta-lactame ; toutefois, les bêta-lactamases peuvent hydrolyser aussi bien les pénicillines que les céphalosporines, bien que les préférences pour l'un ou l'autre substrat soient typiques ;
- 4) les variétés inductives et constitutives existent toutes les deux ; dans le cas de la variété inductive, la production des enzymes peut être stimulée par les bêta-lactamines elles-mêmes.

La théorie de la détoxification implique que le système bêta-lactamase ait évolué sous les pressions sélectives exercées par les producteurs de bêta-lactamines. Il en découle qu'une approche au problème de la fonction consiste à identifier les conditions permettant la cohabitation des producteurs de bêta-lactamines et des espèces sensibles. Les bêta-lactamases sont répandues chez nombre d'espèces bactériennes. Au moyen d'une méthode de détection sensible, on a découvert que plusieurs genres à Gram positif et à Gram négatif possédaient des bêta-lactamases d'origine chromosomique<sup>9</sup>. De fait, Matthew et Harris, comme d'autres, avaient postulé la possibilité que les bêta-lactamases fussent une composante universelle des bactéries<sup>9,10</sup>. Jusqu'à quel point les producteurs de bêta-lactamines se sont-ils adaptés dans les divers milieux occupés par les bêta-lactamases ? Les *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cephalosporium* existent dans les milieux terrestres et aquatiques ; les *Penicillium* peuvent aussi être un commensal dans la cavité buccale, et les

*Trichophyton*, de même que les *Epidermophyton*, sont capables de coloniser la surface de la peau. Les micro-organismes procaryotes du genre *Streptomyces*, sont présents dans le sol. Ainsi, les producteurs de bêta-lactamines occupent une grande variété de niches écologiques, de l'eau à la terre, en passant par des surfaces hôtes, tout comme le sont les producteurs de bêta-lactamases, conformément aux prédictions de la théorie de la détoxification. Toutefois, des difficultés surgissent lorsque l'on cherche à détecter des bêta-lactamines en conditions naturelles, en dépit de l'utilisation de méthodes ultra-sensibles permettant de détecter des concentrations de l'ordre du nanogramme<sup>2</sup>. De plus, on douterait de la possibilité pour des bêta-lactamines de demeurer actifs dans les conditions de pH dans le sol<sup>11</sup>. Il convient ici de remarquer qu'il est très difficile de forcer la production de bêta-lactamines dans les conditions que l'on rencontre dans le sol. Certains chercheurs expriment aussi un doute quant à la possibilité que le métabolisme secondaire, le processus supposé responsable d'engendrer la production des bêta-lactamines, puisse se produire dans les conditions naturelles, puisque le métabolisme secondaire suppose, au préalable, une période de croissance logarithmique, ce qui n'est peut-être pas fréquent<sup>12</sup>. Également est digne d'intérêt, la découverte récente de bêta-lactamases dans des cellules eucaryotes, telles les levures<sup>13</sup>. Puisque les cellules de levures ne contiennent pas de peptidoglycanes, elles ne sont pas affectées par les bêta-lactamines. Ainsi, bien que l'on ne connaisse pas l'importance des bêta-lactamases dans les levures, il est peu probable que ces enzymes jouent un rôle de protection de quelque nature que ce soit pour cet organisme.

Ce genre de preuve, aussi circonstancielle soit-elle, jette un doute quant à l'importance des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines sur l'écologie microbienne dans des milieux non cliniques. Existe-t-il des conditions qui rendraient peu probable la coexistence de producteurs de bêta-lactamines et celles de producteurs connus de bêta-lactamases ? Des bactéries qui vivent dans des conditions extrêmes de pH (*Thiobacillus* sp.) ou de température (*Bacillus* sp.)

n'auraient pas besoin de facteurs de résistance aux bêta-lactamines, puisque de telles conditions environnementales sont probablement des inhibiteurs de ces composants. Autant que nous le sachions, aucune tentative d'isoler des bêta-lactamases dans ces organismes n'a été faite.

La preuve d'une association entre la résistance et la production de bêta-lactamases est un caractère indiscutable de la théorie de la détoxification. Si l'évolution des bêta-lactamases s'est vraiment produite comme conséquence directe de la présence des bêta-lactamines dans le milieu, on peut inférer que les bêta-lactamases ont connu le succès en produisant une résistance, car sinon, ce mécanisme aurait été abandonné depuis longtemps. Selon la théorie physiologique, la reconnaissance d'un rôle défensif chez les bêta-lactamases est sans importance, puisque la théorie soutient que la détoxification est *fortuite*. Que les bêta-lactamases jouent vraiment un rôle dans la résistance est simplement la démonstration de la « politique » de modification que l'on retrouve pour tous les autres mécanismes de résistance.

### ***Relations entre la production de bêta-lactamases et la résistance***

Avant de procéder, il est bon de se rappeler certaines précautions énoncées par Pollock dans l'évaluation des facteurs de résistance<sup>1</sup>. Premièrement, seules sont valides les comparaisons entre des souches qui sont semblables, c'est-à-dire que leurs sensibilités intrinsèques soient semblables. Deuxièmement, on devrait aussi prendre en considération la détermination de l'efficacité relative de chaque enzyme, c'est-à-dire sa  $V_{\max}/K_m$  en fonction du milieu, chose qu'on ne fait pas d'habitude. En comparant des souches de type sauvage avec leurs mutants dérivés, on a démontré la résistance des bêta-lactamases chez *Bacillus cereus* et chez *Bacillus licheniformis*<sup>14</sup>. De manière similaire, on a démontré que *Staphylococcus aureus* doit sa résistance presque entièrement à l'action de bêta-lactamases<sup>15</sup>. Enfin, on retrouve plusieurs exemples de sensibilité accrue aux antibiotiques chez des mutants déficients en bêta-lactamases de bactéries à Gram négatif<sup>15</sup>.

On trouve des exceptions au mode de fonctionnement décrit ci-dessus. *Bacillus anthracis* est hautement sensible aux bêta-lactamines, bien qu'il produise de grandes quantités de bêta-lactamases<sup>16</sup>. Certaines souches de *S. aureus* ne présentent pas de corrélation positive entre la résistance et la production de bêta-lactamases<sup>17</sup>. Chez plusieurs espèces de *Streptomyces*, Ogawara n'a pas trouvé de relation entre la production de bêta-lactamases et une concentration inhibitrice minimale de bêta-lactamines ; des espèces dont la concentration inhibitrice est identique, affichent des taux de production respectifs de bêta-lactamases pouvant varier d'un facteur 12<sup>(18,19)</sup>. Fait intéressant, chez *Streptomyces*, la résistance est due non pas à l'effet des bêta-lactamases, mais à la faible affinité de la protéine de liaison de la pénicilline pour la bêta-lactamine<sup>10</sup>. Parmi les espèces à Gram négatif, le rôle protecteur des bêta-lactamases est plus régulier que dans les espèces à Gram positif, bien qu'il existe des anomalies à considérer. Richmond *et coll.* affirment que « *La production de bêta-lactamases confère fréquemment aux organismes à Gram négatif un haut degré de résistance aux bêta-lactamines ; dans certains cas, l'enzyme paraît moins puissant que ne l'indiquent les études où les cellules sont à l'état libre, tandis que dans d'autres situations, de très petites quantités de bêta-lactamases semblent produire des effets disproportionnés*<sup>20</sup>. »

Bien que les bêta-lactamases offrent un certain niveau de protection aux bactéries, il ne s'agit en aucune façon d'une condition *sine qua non*. Une des principales implications de la théorie de la détoxification est que des bêta-lactamases fonctionnelles doivent offrir un certain degré de protection contre les bêta-lactamines. Si les bêta-lactamases étaient inefficaces en tant qu'agent de protection contre les bêta-lactamines et si celles-ci posaient une menace si importante à la survie des bactéries, les bêta-lactamases auraient été rapidement dépassées par d'autres mécanismes de défense, ce qui aurait conduit à leur disparition au sein de la population bactérienne. La constatation que les bêta-

lactamases sont ubiquistes, alors que leur fonction protectrice ne l'est pas, plaide en faveur de la théorie physiologique.

### *Théorie du substrat « naturel » des bêta-lactamases*

Il en va de soi que si les modes de résistance des espèces où la distribution de la production de bêta-lactamines était la seule à prendre en considération, il y aurait très peu de raisons de s'intéresser à la théorie de la détoxification. Toutefois, la haute spécificité de cette enzyme pour les bêta-lactamines milite en faveur d'une évolution orientée par les bêta-lactamines elles-mêmes. Par ailleurs, l'élément capital du soutien de la théorie physiologique, à savoir un hypothétique substrat « naturel », n'existe pas. On a bien remarqué certaines similarités de configuration entre le noyau de la pénicilline et certains dipeptides. On en a donc conclu que l'enzyme était un type de peptidase. Toutefois, des séquences courtes d'acides aminés ont failli à la tâche en tant que substrats, alors que certains dipeptides ont vraiment inhibé la bêta-lactamase chez *S. aureus*<sup>21</sup>. Avant l'arrivée des nouvelles pénicillines (semi-synthétiques) qui pouvaient résister à l'action hydrolytique des bêta-lactamases<sup>22</sup>, une approche au problème de la résistance aux antibiotiques consistait à rechercher des inhibiteurs de bêta-lactamases<sup>23,24</sup>. Si l'on parvenait à trouver un inhibiteur convenable, on pourrait le combiner chimiquement à la pénicilline pour produire un antibiotique avec un inhibiteur de bêta-lactamases intégré. À cette fin, on mit à l'essai certains composés que l'on considérait comme des structures analogues au groupe caractéristique de la pénicilline. On utilisa de l'acide thiazolidyl carboxylique, de l'acide cystéique et un gamma-lactame d'acide homopénicilloïque<sup>24</sup>. Parmi ces composés, l'acide thiazolidyl carboxylique s'avéra un inhibiteur compétitif de bêta-lactamases. L'acide cystéique montra une inhibition non compétitive, alors que le gamma-lactame d'acide homopénicilloïque n'était pas inhibiteur. Un composé naturel, l'acide pyrrolidonyl carboxylique, qui est dérivé métaboliquement de l'acide D-glutamique<sup>25,26</sup>, peut être considéré comme étant structurellement similaire à l'inhibiteur compétitif. Remarquons que les formes D des acides aminés

n'existent que dans les parois cellulaires des bactéries<sup>27</sup>. Ceci soulève la possibilité d'une relation entre l'acide pyrrolidonyl carboxylique et l'acide thiazolidyl carboxylique en termes d'interaction avec les bêta-lactamases et présente un intérêt potentiel relativement au substrat naturel. L'acide pyrrolidinyl carboxylique, qui fait partie de la voie acide glutamique-proline, peut être considéré comme très similaire structurellement à l'acide thiazolidyl carboxylique. Ces composés, existant dans la nature, peuvent fournir des indices quant au type de substrat avec lequel les bêta-lactamases pourraient être appelées à fonctionner dans des conditions physiologiques.

Le mécanisme d'induction des bêta-lactamases fournit probablement un autre indice quant à sa fonction physiologique. Parmi les systèmes d'enzymes inductifs<sup>28</sup>, les bêta-lactamases sont particulières. L'intervalle de temps entre l'introduction (ou le retrait) de l'inducteur et l'effet sur la production de bêta-lactamases est beaucoup plus grand que dans tout autre système comparable. Après l'introduction de l'inducteur, plus d'un temps de génération est nécessaire pour obtenir la synthèse maximale de bêta-lactamases, alors qu'il suffit de quelques minutes dans le cas d'autres enzymes. De plus, l'inducteur, dans plusieurs systèmes, est le substrat métabolisé, contrairement à ce qui se passe dans l'induction des bêta-lactamases. Étant donné la nature du processus inductif dans les bêta-lactamases, d'aucuns croient que les bêta-lactamines agissent seulement comme intermédiaires et que le vrai inducteur est le peptidoglycane<sup>2,29</sup>. Conformément à cette idée, on pense que les bêta-lactamases sont des enzymes impliqués dans le métabolisme de la paroi cellulaire, alors que l'action de la pénicilline et de la céphalosporine sert uniquement à inhiber la synthèse de la paroi cellulaire, ce qui aurait pour résultat la production et l'accumulation de peptidoglycane inducteurs. En utilisant des extraits libres de cellules de *B. cereus*, Ozer *et coll.* trouvèrent une fraction de masse moléculaire égale à  $9-12 \times 10^3$  contenant des constituants de peptidoglycane qui produisent autant, sinon davantage d'activité inductive que la benzylpénicilline, sur une base molaire<sup>29</sup>. De

plus, l'induction peut se produire spontanément aussi bien chez *B. cereus* que chez *S. aureus*<sup>30</sup>, ce qui indique qu'un processus physiologique quelconque est responsable de l'induction. L'induction spontanée se produit vers la fin du cycle végétatif et au début de la sporulation chez *B. cereus*. De manière analogue, *S. aureus*, qui ne produit pas de spores, peut produire ses bêta-lactamases en plus grande quantité au cours de la fin du cycle exponentiel ou au début de la phase stationnaire (M. Goldner, travail non publié).

Il est intéressant de noter qu'Ozer et Saz ont démontré que des mutants des bêta-lactamases de *B. cereus* ont montré des formes altérées de sporulation, par rapport aux populations sauvages, et qu'il a suffi d'une addition exogène de bêta-lactamases pour corriger le défaut<sup>31</sup>. Ceci a constitué une preuve précoce d'une physiologie altérée chez les souches mutantes de bêta-lactamases, quoique des travaux subséquents effectués par une autre équipe chez *E. coli*, pour observer d'autres paramètres, n'ont pas confirmé cette observation<sup>32</sup>; toutefois, il se peut que cette difficulté ne fasse que souligner le fait que les changements recherchés soient très subtils. Les études chez *B. cereus* suggèrent que les bêta-lactamases jouent un rôle dans la sporogénèse et que le véritable inducteur de cet enzyme est un composant de la paroi cellulaire dont l'accumulation conduit à la dérégulation du gène des bêta-lactamases.

### ***Conclusion***

L'existence d'une double fonctionnalité des bêta-lactamases est plutôt typique des mécanismes de résistance en général. Les études d'homologie des acides aminés ont démontré une association entre les bêta-lactamases et une classe d'enzymes qui métabolisent la paroi cellulaire<sup>33,34</sup> et cela renforce la présomption que la fonction primaire ou physiologique des bêta-lactamases serait en fait leur

implication dans le métabolisme de la paroi cellulaire. La présence universelle potentielle des bêta-lactamases semblerait indiquer que leur substrat naturel doit être une substance produite de manière endogène au cours du cycle de croissance. Il est concevable que le substrat naturel, possiblement un composé en tout ou en partie de type bêta-lactamine, puisse agir comme le médiateur de la croissance de la cellule en combinaison avec les espèces particulières de bêta-lactamases.

## ***Bibliographie***

1. Pollock, M.R., Proc. R. Soc. Lond, Ser. B, 179, 385-401 (1971).
2. Saz, A.K., J. Cell Physiol., 76, 397-404 (1970).
3. Koch. A.L. Microbiol. Rev., 45, 355-378 (1981).
4. Davies, J., Brzezinska, M., and Beneviste, M.S., Ann. N.Y. Acad. Sci., 182, 226-233 (1971).
5. Shaw, W.V., Ann. N.Y. Acad. Sci., 182, 234-242 (1971).
6. Pollock, M.R., Br. Med. J., 4, 71-77 (1967).
7. Citri, N., in Boyer. P.D. (Editor), The Enzymes, Volume 4, pp. 23-46, Academic Press, London and New York (1971).
8. Hamilton-Miller, J.M.T. and Smith, J.T. (Editors), "Beta-lactamases". Academic Press, London and New York (1979).
9. Matthew, M., and Harris, A.M., J. Gen. Microbiol., 94, 55-67 (1976).
10. Desai, P., and Goldner. M., Can. J. Microbiol., 14, 601-603 (1968).
11. Jefferys, E.G., J. Gen. Microbiol., 7. 295-312 (1952).
12. Weinberg, E.D., Persp. Biol. Med., 14, 565-577 (1971).
13. Mehta, R.J., and Nash. C.H., J. Antibiot., 31, 239-240 (1978).
14. Pollock, M.R., Biochem. J., 94, 666-675 (1965).
15. Sykes, R.B., and Matthew, M., J. Antimicrob. Chemother., 2, 115-157 (1976).
16. Ratney, R.S., Biochim. Biophys. Acta, 101, 1-5 (1965).
17. Sawai, T., Hashimoto, H., Mitsuhashi, S., and Yamagishi, S., Jap. J. Microbiol., 11, 179-188 (1967).
18. Ogawara, H., Antimicrob. Agents Chemother, 8, 402-408 (1975).
19. Ogawara, H., Microbiol. Rev., 45, 591-619 (1981).
20. Richmond. M.H., and Curtis, N.A.C., Ann. N.Y. Acad. Sci., 235, 553-568 (1974).
21. Saz. A.K., Lowery, D.L., and Jackson, L.J., J. Bacteriol., 82, 298-303 (1961).
22. Nayler, J.H.C., Long, A.A.W., Brown, D.M., Acred, P., Rolinson, G.N., Batchelor, F.R., Stevens, S., and Sutherland. R., Nature, 195, 1264-67 (1962).

23. Abraham, E.P., in Sumner, J.B. and Myrback, K. (Editors), *The Enzymes, Chemistry and Mechanism of Action*. Volume 1, pp. 1170-1185, Academic Press, New York (1951).
  24. Goldner, M., and Wilson, R.J., *Can. J. Publ. Hlth.*, 50, 29-30 (1959).
  25. Ratner, S., *J. Biol. Chem.*, 152, 559-564 (1944).
  26. Wilson, H., and Cannan, R.K., *J. Biol. Chem.*, 119, 309-331 (1937).
  27. Strominger, J.L., Park, J.T., and Thompson, R.E., *J. Biol. Chem.*, 234, 3263-3268 (1959).
  28. Ismande, J., *J. Bacteriol.*, 101, 173-180 (1970).
  29. Ozer, J.H., Lowery, D.L., and Saz. A.K., *J. Bacteriol.*, 102, 52-63 (1970).
  30. Sachithanandam. S., Lowery, D.L., and Saz. A.K., *Antimicrob. Agents Chemother.*, 6, 763-769 (1974).
  31. Ozer, J.H., and Saz. A.K., *J. Bacteriol.*, 102, 64-71 (1970).
  32. Burman, L.G., Park, J.T., Lindstrom, E.B., and Boman, H.G., *J. Bacteriol.*, 116, 123-130 (1973).
  33. Spratt, B.G., *J. Gen. Microbiol.*, 129, 1247-1260 (1983).
- Waxman, D.J., Yocum, R.R., and Strominger, J.L., *Phil. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B*, 289, 257-271 (1980).

## **4. LA PATHOGENÈSE MICROBIENNE VUE SOUS UN ANGLE**

### **THERMODYNAMIQUE**

#### **Résumé**

On définit la pathogénicité comme un état résultant d'un mode de virulence propre aux micro-organismes et produit par la modulation antigénique. Un mode virulent particulier est déterminé par un ensemble de conditions environnementales présent pour une situation naturelle hôte-parasite. Les expressions différentes dépendront d'une boucle de rétrocontrôle comme on peut en observer dans un modèle de production d'enregistrement et de distribution basé sur les régimes de contrôle liés au flux d'énergie. Cette boucle ou circuit de rétrocontrôle s'appelle « modulon de virulence ». Ce modulon coordonne le flux d'énergie et l'expression de virulence, ce qui conduit à l'apparition de phénotypes de virulence. Le processus relie les changements du gradient électrochimique à l'équilibre ionique, le pH, le Eh et d'autres catégories importantes d'influx environnementaux.

#### ***Introduction***

Un micro-organisme peut être considéré comme pathogène, sans même que l'on soit certain de sa capacité de produire la maladie, s'il présente *in vitro* des facteurs que l'on croit capables de causer la maladie ou d'y être associés. Ce sont des facteurs de virulence. Des micro-organismes pathogènes peuvent, cependant, rapidement perdre leur virulence chez d'autres animaux hôtes ou lors d'un passage *in vitro*, tout en pouvant récupérer leur virulence originelle chez un hôte approprié. Ce phénomène s'appelle l'atténuation. En outre, beaucoup de commensaux ou parasites, c'est-à-dire des espèces qui se développent chez l'hôte de manière inoffensive, voire bénéfique pour lui, peuvent, dans des conditions favorables, devenir pathogènes opportunistes. De telles fluctuations de virulence

pour une espèce donnée, indiquent que la pathogénicité ou la capacité de produire la maladie, est en réalité un état dynamique.

Dans le rapport parasite-hôte, l'adaptabilité, aux sources d'énergie et aussi à l'effet de modulation, induite par l'environnement représente des atouts considérables pour ces micro-organismes ; en termes d'économie et de survie. Cette adaptabilité a tendance à s'appuyer sur le potentiel dynamique des agents pathogènes. Dans ce contexte, des populations microbiennes entières sont impliquées sans nécessité de division cellulaire ou si peu. Jusqu'à maintenant, on fait référence à la modulation antigénique pour démontrer qu'elle peut être entièrement réversible<sup>1,2</sup>. Donc, pour comprendre le processus pathogène, il faut avoir une vue plus large de la forme microbienne dans son environnement.

### ***Concept***

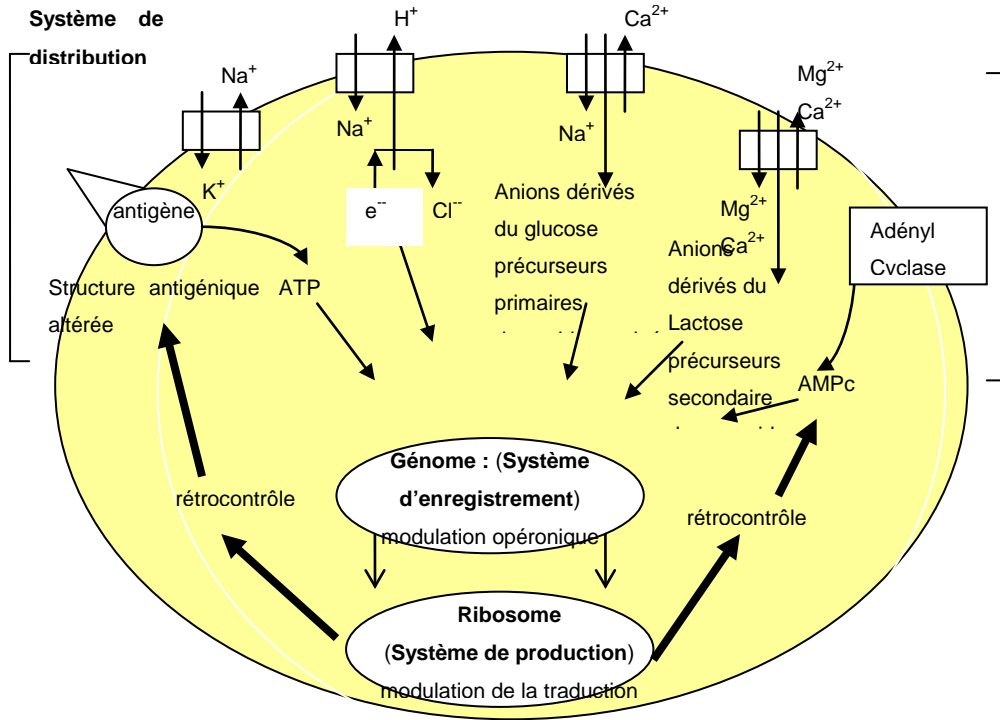
Pour la bactérie, le génome constitue un programme complexe capable d'une réponse différentielle à une multiplicité d'échanges environnementaux. Le micro-organisme peut seulement causer la maladie *in vivo* et chaque pathogène ou chaque pathogène en devenir trouvera sa niche en se conformant aux conditions de son micro-environnement. Les forces actives de sélection, en tant que programme, résident dans la disposition des protéines structurales et enzymatiques contrôlant la transcription et la traduction, dans lesquelles des cellules individuelles sont subordonnées à la *population entière* d'un micro-organisme, comme cela se passe *in vivo*. De cette façon, le phénomène de la modulation antigénique passe de sa signification non génétique classique à sa signification génétique moderne<sup>3-6</sup>. Ce phénomène se définit comme étant un *changement du phénotype de virulence se produisant dans tous ou presque tous les membres d'une population, en tant qu'expression d'un changement de métabolisme réversible, continu et dépendant du milieu*<sup>1,2</sup>. Le néologisme « modulon de métabolisme respiratoire aérobie » (ARC) a récemment été utilisée pour décrire

un système génétique chez *Escherichia coli*, système responsable de deux composés protéiques, détecteur et régulateur, qui aident ou gênent le métabolisme respiratoire par rapport au métabolisme fermentaire<sup>7-9</sup>. Toutefois, cette expression est utilisée ici pour décrire au sens large le modèle de **production**, **d'enregistrement** et de **distribution** dans des conditions responsables de la dynamique des phénotypes. En conséquence, le néologisme *modulon de virulence* s'applique pour le phénotype qui identifie l'état de ou des antigènes dans des conditions environnementales favorables à l'expression de la virulence et, de là, à son apparition dans un rapport parasite-hôte naturel.

La modulation antigénique dépend essentiellement des conditions jugées favorables aux processus réversibles. **Trois** niveaux d'influence environnementale peuvent être notés dans la cellule microbienne : la régulation allostérique générale des enzymes existants (*détermine « la distribution » d'ions, et d'autres facteurs influençant les enzymes allostériques*), la régulation opéronique de la transcription (*détermine « l'enregistrement »*) et la régulation ribosomique et allostérique de la traduction (*détermine « la production »*). Ils forment une boucle de rétroaction continue et leur influence se caractérise en fonction de ces trois régimes généraux d'organisation, c'est-à-dire la distribution, l'enregistrement et la production (fig. 1). Puisque le régime de distribution représente les enzymes existants et leurs structures associées (membranes, organites), c'est par elles que des échanges se font avec le milieu. Des conditions externes modifiées se traduisent par des expressions intra-cellulaires différentes. Cette propriété liée à la virulence fut découverte facilement à partir du moment où l'on découvrit que la présence de certains cations et anions de l'environnement de *Bordetella pertussis* produisait, en repiquage, des changements réversibles du phénotype de virulence affectant la population bactérienne entière<sup>1,2</sup>. On pense donc que des boucles de rétroaction continues forment un circuit pour l'expression particulière de facteurs de virulence ; circuit dans lequel des sources d'énergie appropriées sont nécessaires pour une

interaction donnée entre microbe et hôte. Compte-tenu de composantes significatives à la pathogénicité, la modulation antigénique peut alors établir un lien avec les influences pertinentes du micro-environnement. Des populations microbiennes entières modularaient sous l'influence de ces effets environnementaux et ces fluctuations seraient caractérisées par des expressions antigéniques différentielles.

**FIGURE 1. NIVEAUX D'ORGANISATION DE LA CELLULE MICROBIENNE**



AC, adénylcyclase ; AMPc, adénosine-monophosphate cyclique ; ATP, adénosine triphosphate ; aa, acides aminés.

L'infrastructure de distribution (l'équilibre ionique, le pH, le Eh, l'osmolarité, etc.) définit l'interface par laquelle les catégories principales de facteurs exogènes externes influencent le contrôle cellulaire. L'altération des conditions externes se reflète dans ces régimes de distribution, d'enregistrement et de production où le résultat net se traduit par une infrastructure de distribution modifiée qui convient mieux à la nouvelle expression antigénique. Dans des conditions plus favorables, cela évoluera vers une expression de virulence.

### *Synergie et atténuation environnementales*

Chez *Bordetella pertussis*, l'équilibre et la valence des anions et des cations influencent la modification du phénotype, de telle sorte que des populations entières modulent vers un mode virulent ou avirulent<sup>1,2</sup>. On peut expliquer ces effets différents par les mécanismes d'absorption d'ions et les effets allostériques séparés. Les membranes microbiennes ont un certain nombre de pompes de transport actif et d'échangeurs cationiques qui varient en complexité selon l'espèce, mais qui maintiennent de façon générale la fonction d'équilibre cationique<sup>10</sup>. Tel qu'illustré en Figure 1, au niveau de leur membrane, les bactéries utilisent d'habitude l'énergie de l'ATP ou l'exclusion de protons pour commencer le transport actif du  $K^+$  vers l'intérieur et du  $Na^+$  vers l'extérieur, ce qui se traduit par l'établissement d'un gradient électrochimique au travers de la membrane. Par conséquent, le rejet du  $Na^+$  à travers ce gradient est remplacé par des sucres essentiels et des acides aminés en provenance du milieu<sup>11</sup>. Ce gradient  $K^+/Na^+$  devient un réservoir interchangeable d'énergie grâce à la force motrice des protons produite par la pompe à protons avec l'échangeur  $Na^+/H^+$  ; en d'autres mots, lorsque l'ion  $Na^+$  circule vers le bas de son gradient, l'ion  $H^+$  est exclu<sup>12</sup>. Dans un mécanisme séparé, les cellules bactériennes rejettent vigoureusement les ions  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$ , les diffusant à travers leur membrane grâce à la pompe  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  ATPase ; ce système est un moyen secondaire ou alternatif de produire un afflux de sucres et d'acides aminés vers le bas du gradient  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  (11). La

distinction entre le gradient  $K^+/Na^+$  ATPase et le  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  ATPase est que le premier absorbe du glucose (la source d'énergie de base) et pour cela, jouit de la priorité, alors que le second absorbe d'autres sources d'énergie comme le lactose (une forme d'énergie de remplacement). Le point culminant de ces activités d'échange est l'établissement d'un haut niveau interne de  $K^+$  et d'un bas niveau interne d' $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$ . Il en résulte une grande force motrice des protons par exclusion de protons, couplée et interchangeable avec un gradient électrochimique  $K^+/Na^+$ . Ainsi, on peut considérer les effets différentiels cationiques comme une fonction de distribution, pendant que l'influx de cations monovalents augmente le transport de sucre primaire et d'acides aminés. Cela soutient le postulat selon que l'expression de virulence peut être une fonction du gradient électrochimique (régime de distribution).

On peut aussi s'attendre à ce que l'équilibre des cations divalents puisse affecter la virulence. Ceux-ci circulent vers le bas de leurs gradients et suscitent un gradient électrochimique réduit couplé grâce à l'échangeur  $Na^+/Ca^{2+}$ . Au fur et à mesure que des sources d'énergie moins efficaces sont favorisées à travers le gradient  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  ATPase, la capacité de flux d'énergie diminue et l'organisme évolue vers l'abolition de la virulence (avirulence). Ces flux cationiques ont des effets différentiels allostériques correspondants, tant au niveau opéronique (régime d'enregistrement), qu'au niveau ribosomique (régime de production). Le premier est médié principalement par l'enzyme associé à la membrane allostérique, à savoir l'adénylcyclase. Pendant que cette enzyme catalyse la production d'AMP cyclique (AMPc), de bas niveaux intracellulaires provoquent une grande production d'ATP et une utilisation de la source d'énergie primaire, à savoir le glucose ou bien, des acides aminés. Si le niveau d'AMPc commence à augmenter dans la cellule, des opérons inductibles, tel l'opéron du lactose, seront transcrits, ce qui signalera à la cellule que les réserves en énergie baissent et qu'elle pourrait être susceptible à utiliser d'autres sources d'énergie. Lorsque la concentration

d'AMPc s'élève au-dessus d'un certain niveau, ceci déclenche alors souvent le cycle lytique de virus lysogènes leur permettant de s'échapper de la cellule avant qu'elle n'entre en sénescence. L'activité de l'adénylcyclase peut être influencée sous forme de réactions allostériques par un certain nombre de cations monovalents  $K^+$  et  $Na^+$  qui inhibent la production d'AMPc, conformément à leur préférence pour les capacités de flux à haute énergie et les sources d'énergie primaire, pendant que  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  activent plutôt les adénylcyclases, en vertu de leurs effets relativement négatifs sur le flux d'énergie de la cellule, par induction de mécanismes d'assimilation de sources d'énergie secondaires. Les cations interviennent aussi directement dans la protéosynthèse, particulièrement  $K^+$  et  $Mg^{2+}$ , parce qu'ils sont absolument nécessaires à la formation du messager ribosomique du complexe ARN. Dans ce cas précis, le synergisme de ces cations contraste avec la divergence des effets monovalents et divalents, mais il faut remarquer que  $Mg^{2+}$  est relativement proche de ces effecteurs monovalents et a souvent des fonctions compatibles avec eux. Toutefois,  $Mg^{2+}$  antagonise bel et bien  $K^+$  dans certains systèmes, alors que  $Ca^{2+}$  est un inhibiteur bien connu de l'activité enzymatique dans la cellule bactérienne, l'adénylcyclase constituant une exception notable.  $Ca^{2+}$  est aussi un agent découpleur de phosphorylation oxydative compatible avec son action dans la réduction sélective du flux d'énergie d'une cellule lorsqu'il se trouve présent en trop grande quantité. Ainsi, l'expression de virulence devrait correspondre à une génération d'énergie accrue, mais à l'inverse des découpleurs de force motrice des protons et des découpleurs de phosphorylation oxydative feront baisser le gradient électrochimique. Toutes ces choses qui, de par leur nature même, reflètent des changements du milieu.

L'effet de concentration en ions d'hydrogène (pH) peut être étroitement corrélé avec l'effet des cations, puisque la pompe de protons est couplée à la pompe  $K^+/Na^+$  ATPase ; dans ce cas, la force motrice des protons est directement interchangeable avec le gradient électrochimique<sup>13,14</sup>. L'ajout d'acide devrait

accroître les ions  $H^+$  à l'intérieur des cellules et réduire la force motrice des protons. Cette réduction du gradient protonique a tendance à épuiser le gradient électrochimique  $K^+/Na^+$ , tout en rétablissant l'équilibre antérieur  $H^+$  ; en d'autres termes, le surplus de  $Na^+$  pompe les  $H^+$  par l'échangeur  $Na^+/H^+$  <sup>(12)</sup>. Par rapport à ces changements du gradient électrochimique, les niveaux optimums pour ce gradient peuvent être assurés par le pH et l'équilibre ionique du milieu, garants d'une production d'énergie cellulaire efficace, alors que les changements dans une ou l'autre direction peuvent sérieusement affecter la virulence.

Cela mène à l'influence cruciale de l'oxydoréduction ou potentiel rédox (Eh), en vertu de la force électromotrice, qui est l'*alter ego* de la force protomotrice; en terme simple, cela signifie que la direction du flux des protons est opposée à celle du flux des électrons. On peut extrapoler que cette force motrice des protons établit un flux net d'oxydants dans la cellule jusqu'au plus important, c'est-à-dire l'oxygène, et donc que l'on doit considérer le flux d'anions par rapport au gradient électrochimique, ou potentiel d'oxydoréduction. L'observation d'effets anioniques chez *Bordetella pertussis* a montré que les anions monovalents en tant qu'oxydants aboutissaient à une modulation vers la virulence<sup>1,2,15</sup>. Ceci s'accorde parfaitement avec une hausse correspondante de la force motrice des protons en raison d'un afflux de ces oxydants à travers la membrane bactérienne, mais au contraire, les réducteurs, dont beaucoup accroissent le taux d'acidité de la membrane, produiraient une modulation vers l'avirulence. De façon étonnante, les études sur certaines propionibactéries (corynéformes micro-aérophiles) ont démontré que leur immunogénicité impliquant leur virulence, dépendaient du potentiel oxydoréducteur de leur environnement<sup>16</sup>. Ainsi, sous l'influence de milieux au potentiel d'oxydoréduction différent, quelques micro-organismes anaérobies pourraient vraisemblablement exprimer une antigénicité et une réactivité tissulaire modifiées<sup>17</sup>. Il s'ensuit qu'en ce qui a trait à leur dépendance au potentiel d'oxydoréduction de leur milieu, certains organismes anaérobies

devraient aussi avoir des optimums définis pour leurs gradients électrochimiques et pour l'expression de leur virulence éventuelle. Pour les micro-environnements présents, par exemple, dans la cavité buccale ou dans les intestins, le Eh peut avoir, pour un même organisme, un effet prononcé soit dans la direction commensale, soit dans la direction pathogène, influençant peut-être la perturbation de sa membrane et des caractéristiques aussi opposées que l'agrégation ou la dissémination des bactéries<sup>18-20</sup>. De cette manière, il peut exister une dépendance avec le potentiel d'oxydoréduction du milieu<sup>21,22</sup>.

En plus de l'équilibre ionique, on doit prendre en compte le pH et le Eh, de même que l'osmolarité, la température et l'utilisation des sources primaires d'énergie plutôt que secondaires, dans les facteurs environnementaux affectant la virulence. Les exigences d'une espèce donnée sont souvent spécifiques et des sources d'énergie primaires se joignent à certains composés intrinsèques antigéniques dans l'expression de leur virulence, alors que des espèces différentes favoriseront plutôt des températures optimales différentes pour la virulence<sup>23</sup>. En effet, un des objectifs des études actuelles est de définir l'influence du milieu sur la virulence<sup>24,25</sup>. L'influence attribuée à un ensemble donné de conditions environnementales correspond vraisemblablement à un certain nombre de signaux transmis simultanément par le biais d'une régulation coordonnée<sup>24</sup>. En réalité, ceux-ci doivent être à l'œuvre dans tous les régimes (distribution, enregistrement et production) et ils peuvent même augmenter l'efficacité de l'enregistrement dans le micro-environnement<sup>26,27</sup>.

### ***Considérations théoriques et remarques***

Les bactéries pathogènes existent dans leurs micro-environnements et normalement, font face continuellement au danger d'être attaquées par les défenses de l'hôte. Lorsque leur survie est en danger imminent, leur plasticité permet à ces micro-organismes de présenter des masques différents à l'hôte,

entrant ainsi dans des modes successifs<sup>1,2</sup> de virulence accrue ou réduite, ce qui leur permet d'esquiver l'attaque de l'hôte dirigée contre leur expression antérieure. Puisqu'il est clair que la pathogenèse implique des étapes successives, l'existence de différents modes phénotypiques implique que plusieurs états adaptables existent, chacun jouant un rôle particulier, et que ces divers états s'adaptent à la nature de l'hôte, en commutant d'un mode phénotypique vers un autre. Cela pourrait être essentiel à la survie à cause des changements de l'équilibre environnemental de l'hôte. La formulation des relations entre les principales catégories d'influences environnementales et chacun des trois régimes d'organisation (Figure 1) semble correcte. Des changements de régime de croissance<sup>28</sup> influencent la topologie de l'ADN<sup>26</sup>. On retrouve une gamme d'influx environnementaux qui peuvent interagir directement<sup>3</sup> ou indirectement<sup>10</sup> avec les membranes et les organites. Cela présuppose un ajustement entre la distribution, l'enregistrement et la production, au cours duquel les systèmes de flux d'énergie entrent en jeu en même temps que des enzymes associés à la virulence, avec le résultat final de l'apparition de modes virulents. Cela n'exclut aucune phase particulière du pathogène, qu'il s'agisse de multiplication, de maintenance ou de processus non répétitifs : tous et chacun sont impliqués. À une étape particulière du processus pathogène, les conditions favoriseront un aspect particulier de virulence, pourvu que les exigences énergétiques particulières à ces conditions soient respectées. Le rapport qui s'établit dans la pathogenèse est celui de l'hôte et du microbe qui s'alertent mutuellement de changements survenus dans l'équilibre environnemental. Ainsi, l'hôte pourrait déclencher une alarme chez le micro-organisme, tandis que la naissance du nouveau phénotype devrait prévenir l'hôte d'une possible atteinte à son intégrité. Au bout du compte, le développement d'une interaction plus ou moins équilibrée peut être une tentative de préserver les deux partenaires, *c'est-à-dire d'essayer de faire d'un adversaire un ami et d'en arriver à une symbiose.*

On a cherché à définir le rôle de la modulation dans la pathogenèse de la maladie d'origine microbienne pour comprendre comment la plasticité en rapport au milieu peut contribuer, soit à la virulence ou pouvoir envahissant, soit à la capacité de survivre sous une forme relativement avirulente. Cependant, lorsque nous considérons l'effet prononcé attribué au milieu *in vivo*, il y a une lacune dans notre compréhension de la pathogénicité. Il est donc souhaitable de réconcilier les effets génétiques et les effets environnementaux en un tout, en avouant la complexité écrasante et les multiples facettes des rapports microbe-hôte.

Le modulon, en tant que modèle de production, d'enregistrement et de distribution, annonce l'apparition d'un phénotype particulier et les voies métaboliques classiques (Figure 1) deviennent, en réalité, le modulon de virulence responsable du phénotype de virulence correspondant. La découverte de la variabilité de virulence phénotypique a formulé une approche selon laquelle les régimes de distribution, d'enregistrement et de production pourraient être vus comme une boucle de rétroaction continue. Ainsi, le changement de gradient électrochimique et l'expression de virulence qui lui est inhérente pourraient s'établir sur une série de conditions particulières qui peuvent être caractérisées en termes d'équilibre ionique, de pH, de Eh et de même que d'autres groupes importants d'influences issus de l'environnement. En même temps, tout changement dans une direction ou dans l'autre peut sérieusement affecter la virulence pour chaque espèce considérée. Bien que les exigences énergétiques soient souvent spécifiques pour une espèce donnée, il faut se rappeler que des sources d'énergie et de température favorables s'additionnent aux effets des composés antigéniques intrinsèques dans l'expression de virulence de beaucoup d'antigènes (*pili*, flagelles, capsules). La modulation antigénique devrait donc provenir d'une intégration équilibrée, telle que décrite dans les régimes généraux de distribution, d'enregistrement et de production, permettant à un pathogène de s'adapter à son micro-environnement du moment. Au travers du modulon de

virulence, on peut établir un rapport direct, continu et réversible entre les opérations internes et externes qui constituent les systèmes de contrôle de la pathogénicité.

## ***Bibliographie***

1. Lacey, B.W. 1960. Antigenic modulation of *Bordetella pertussis*. J. Hyg. Camb., 58, 57-93.
2. Lacey, B.W. 1961. Non-genetic variation of surface antigens in *Bordetella* and other microorganisms. In: Meynell, G.G. and Gooder, H. (eds), Microbial Reaction to Environment, Symp. Soc. Gen. Microbiol. Vol. II, pp. 343-390. Cambridge University Press, Cambridge & London.
3. Albright, L.M., Huala, E. & Ausubel, F.M. 1989. Prokaryotic signal flux mediated by sensor and regulator protein pairs. Annul Rev. Genet., 23, 311-336.
4. Stock, J.B., Stock, A.M. & Mottonen, J.M. 1990. Signal flux in bacteria. Nature, 344, 395-400.
5. Coote, J.G. 1991. Antigenic switching and pathogenicity: Environmental effects on virulence gene expression in *Bordetella pertussis*. J. Gen. Microbiol., 137, 2493-2503.
6. Smith, V.H. 1993. Resource competition between host and pathogen. BioScience, 43, 21-30.
7. Iuchi, S. & Lin, E.C.C. 1988. arcA (dye), a global regulatory gene in *Escherichia coli* mediating repression of enzymes in aerobic pathways. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 85, 1888-1892.
8. Iuchi, S. & Lin, E.C.C. 1991. Adaptation of *Escherichia coli* to respiratory conditions: Regulation of gene expression. Cell, 66, 5-7.
9. Birkmann, A. & Böck, A. 1989. Characterization of a cis regulatory DNA element necessary for formate induction of the formate dehydrogenase gene (fdhF) of *Escherichia coli*. Mol. Microbiol., 3, 187-195.
10. Hellingwerf, K.J. & Konings, W.N. 1985. The energy flow in bacteria: The main free energy intermediates and their regulatory role. Adv. Microb. Physiol., 26, 125-154.
11. Skulachev, V.P. & Hinkle, P.C. 1981. Chemiosmotic Proton Circuits in

Biological Membranes. Addison-Wesley, London.

12. Mitchell, P. 1968. Chemiosmotic Coupling and Energy Flux. Glynn Research Ltd., Bodmin., Cornwall, England.

13. Booth, L.R. & Kroll, P.G. 1983. Regulation of cytoplasmic pH (pHi) in bacteria and its relationship to metabolism. *Biochem. Soc. Trans.*, 11, 70-72.

14. Bremer, W., Kooistra, J., Hellingwerf, K.J. & Konings, W.N. 1984. Role of the electrochemical proton gradient in genetic transformation of *Haemophilus influenzae*. *J. Bacteriol.*, 157, 868-873.

15. Wardlaw, A.C., Parton, R. & Hooker, M.J. 1976. Loss of protective antigen, histamine-sensitising factor and envelope polypeptides in cultural variants of *Bordetella pertussis*. *J. Med Microbiol.*, 9, 89-100.

16. Jayawardene, A. & Goldner, M. 1975. Level of redox potential as a possible contributing influence in the pathogenicity of oral anaerobes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 41, 553-568.

17. Jayawardene, A. & Goldner, M. 1977. Reagin-like activity of serum in human periodontal disease. *Infect. Immun.*, 15, 665-667.

18. Kolenbrander, P.E. & Andersen, R.N. 1986. Multigeneric aggregations among oral bacteria: A network of independent cell-to-cell interactions. *J. Bacteriol.*, 168, 851-859.

19. Bielecki, J., Youngman, P., Connelly, P. & Portnoy, D.A. 1990. *Bacillus subtilis* expressing a haemolysin gene from *Listeria monocytogenes* can grow in mammalian cells. *Nature*, 345, 175-176.

20. Goldner, M., Coquis-Rondon, M. & Carlier, J.P. 1993. Effect of growth of *Bacteroides fragilis* at different redox levels on potential pathogenicity in a HeLa cell system: Demonstration by confocal laser scanning microscopy. *Zbl. Bakt.*, 278, 529-540.

21. Ernst, R.K., Dombroski, D.M. & Merrick, J.M. 1990. Anaerobiosis, type I fimbriae and growth phase are factors that affect invasion of HEp-2 cells by *Salmonella typhimurium*. *Infect. Immun.*, 58, 2014-2016.

22. Schiemann, D.A. & Shope, S.R. 1991. Anaerobic growth of *Salmonella typhimurium* results in increased uptake by Henle 407 epithelial and mouse peritoneal cells in vitro and repression of a major outer membrane protein. *Infect. Immun.*, 59, 437-440.
23. Lathigra, R.B., Butcher, P.D., Garbe, T.R. & Young, D.B. 1992. Heat shock proteins as virulence factors of pathogens. In: Kaufmann, S.H.E. (Ed.), *Heat Shock Proteins and Immune Response*, *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* Vol. 167, pp. 125-143. Springer-Verlag, Berlin & New York.
24. Miller, J.F., Mekalanos, J.J. & Falkow, S. 1989. Coordinate regulation and sensory flux in the control of bacterial virulence. *Science*, 243, 916-922.
25. Mekalanos, J.J. 1992. Environmental signals controlling expression of virulence determinants in bacteria. *J. Bacteriol.*, 174, 1-7.
26. Ni Bhriain, N.A., Dorman, C.J. & Higgins, C.F. 1989. An overlap between osmotic and anaerobic stress responses: A potential role for DNA supercoiling in the coordinate regulation of gene expression. *Mol. Microbiol.*, 3, 933-942.
27. Tkachenko, A.G., Rosenblat, G.F., Chudinov, A.A. & Raev, M.B. 1991. The role of the cell energetic status and polyamines in phospholipid content of membranes in *Escherichia coli* in the course of aerobic-anaerobic transitions. *Curr. Microbiol.*, 22, 151-153.
28. Idigbe, E.O. 1987. Correlation between growth rate and loss of histamine-sensitizing factor during antigenic modulation in *Bordetella pertussis*. *Microbios*, 49, 79-89.

## **5. ‘MODULATIONS‘ ANTIGÉNIQUE : FLUX D’ÉNERGIE ET MICROENVIRONNEMENT**

Naguère, la matière vivante fut considérée dans sa globalité comme étant en équilibre avec n'importe quel changement (infection) venant de l'intérieur. Cela a été orienté dans le dessein de responsabiliser l'intimité de l'individu plutôt que le monde extérieur. Dans *De Contagione*, paru en 1546, Girolamo Fracastoro formula une hypothèse selon que le passage d'organismes de taille infime doués d'auto-multiplication de l'infectieux vers l'infecté (Singer et Singer, 1917), donc en faveur d'un processus de modification de l'extérieur vers l'intérieur. Plus de cent ans plus tard, Antonie Van Leeuwenhoek, ayant construit un microscope rudimentaire, découvrit un nouveau monde de vie dans l'eau, la terre et les liquides des organismes qui permit une description des micro-organismes initialement formulés par une hypothèse. Après quelques années d'observation des infections, on démontra clairement que des propriétés insoupçonnées jusqu'alors sont associées aux microorganismes en tant que responsables de propriétés virulentes.

Louis Pasteur a développé la théorie de microbe dans sa vocation de pharmacien au dix-neuvième siècle et son travail princeps différençia la fermentation de la décomposition par rapport à la levure, des bactéries et des moisissures. La fermentation fournit des produits utilisables tandis que la putréfaction détruit la matière biologique. Ces réactions nécessitaient une clarification eu égard aux maladies au sein de la population. Cependant, en cette période du milieu du 19<sup>ème</sup> siècle, les réactions de fermentation étaient des éléments en rapport avec la production d'énergie (l'anaérobiose et l'aérobiose). La compréhension des circuits énergétiques conduirait vers la biologie, mais avec des termes précis selon Szent-Gyorgyi (1963). L'énergie d'un système vivant peut être réduite au niveau

élémentaire par la considération que les molécules biologiques sont instables et véhiculent ainsi de l'énergie sous forme d'un état d'excitation aboutissant vers une stabilisation en terme énergétique. Étant donné que les constituants de la matière vivante, selon Prigogine (1967), sont des structures biologiques, elles peuvent être pérennisées par un approvisionnement constant en énergie grâce à un échange environnemental continu. À cet égard, les interactions énergétiques sont par nature, des échanges appropriés d'énergie entre ces constituants de la matière vivante avec leur environnement. Ainsi, ces interactions énergétiques sont par nature, un échange permanent avec l'environnement amenant vers un état d'équilibre qui est entretenu seulement au sein des organismes vivants en essayant d'atteindre un état stable. Ceci serait aussi fondamental pour des processus biologiques (Prigogine, 1979) qu'il en était de la perception de Pasteur sur les activités microbiennes. Mais, les organismes vivants en état de stabilité deviennent instables durant une adaptation. À partir de cette instabilité, les organismes vivants développeront des instabilités successives (Voir Figure A). Cependant, le transfert et la stabilisation énergétique amèneront à l'adaptation de ces systèmes, à ce que son environnement externe coïncide avec le concept selon que, l'origine des structures biologiques devrait être recherchée dans l'auto-organisation spontanée de structures physiques soumises à un flux d'énergie (Morowitz, 1968). Dans un environnement en perpétuel changement, des organismes vivants tels les micro-organismes sont orientés vers leur épargne en vue de leur survie grâce à des changements possibles de leurs surfaces (Stanier, 1970; Stanier et collaborateurs, 1976).

Dès le début du 20<sup>ème</sup> siècle, la maladie était généralement imputée, du point de vue énergétique, à l'échec de l'adaptation d'un organisme à son environnement externe (White, 1926; Warburg, 1927, Warburg et collaborateurs, 1927). Dans l'incapacité à s'adapter à des modifications énergétiques, l'organisme, au sens général, évoluerait alors vers un processus de maladie. Cette intuition précéda

l'époque actuelle et soutint que des organismes vivants convertissent de l'énergie au sein d'un écosystème. Comme le transfert et la stabilisation énergétique assurent l'organisation du monde vivant, il équilibre les échanges énergétiques. Étant donné qu'un état d'équilibre se caractérise par un état énergétique maximal d'un système, et donc lorsqu'il s'éloigne de l'équilibre, cet état stable redevient instable et subit alors un changement vers un nouvel état avec de l'énergie qui n'est plus utilisable. Si la relation de pathogènes (l'agent de la maladie) vers l'hôte (la cible de l'agent de la maladie) aboutit même à davantage d'énergie qui est non utilisable dans une part du système énergétique, alors l'énergie transférée liée à l'interaction entre le pathogène et l'hôte (la cellule infectée) devient vraisemblablement limitée. En situation naturelle, on peut s'attendre à ce que les propriétés et les caractéristiques des organismes pathogènes subissent une pression soit vers la virulence provoquant ainsi la maladie, soit une avirulence esquivant la maladie (Voir Figure B).

En termes de mécanisme, les premières études intuitives sur des variants cellulaires pneumococciques (Griffith, 1928) sont orientées vers une perception moderne d'infection. Cette étape fut initiée par la découverte au milieu du 20<sup>ème</sup> siècle qu'une préparation d'un variant pathogène d'un pneumocoque pourrait transformer un autre variant non pathogène (de cette même espèce) vers un pathogène de façon héréditaire stable (Avery et collaborateurs, 1944). Vint ensuite l'idée selon laquelle le support de cette hérédité dans la préparation est l'acide désoxyribonucléique ou ADN, juste après sa découverte au début des années 1950 par JD Watson et FC Crick (1953). Peu après, l'hypothèse selon que des informations génétiques puissent reposer sur sa séquence et constituer un programme, réglé de façon précise, des processus vitaux. (Chargaff, 1975).

Roger Stanier, en tant que remarquable microbiologiste et biologiste de l'évolution, avait invoqué la nécessité d'un système de commandement biologique

comme acteur stable pérennisé au sein des organismes. Stanier a souligné qu'un organisme doit conserver un certain patrimoine génétique transmis, compte tenu du schéma de Watson et Crick, pour lui conférer les aptitudes optimales à assurer sa survie dans l'environnement. Stanier a souligné que l'évolution a lieu par adaptations successives dans la nature, mais a admis que n'importe quelle mutation pourrait aboutir à un désastre s'il s'est heurté à l'avantage compétitif d'un organisme (1953). De cette manière, l'importance vitale des diversités métaboliques dans un environnement toujours changeant a été reconnue, telle l'adaptation de micro-organismes pathogènes à l'énergie disponible dans l'environnement et les divers mécanismes pour la disponibilité en énergie serait un préalable (Stanier et collaborateurs, 1965; Canovas et collaborateurs, 1967). Ou bien il est virulent ou bien il est moins virulent, la relation entre le micro-organisme et son environnement chez son hôte devrait entraîner intimité, privilège et dépendance. Ainsi, l'adaptabilité des pathogènes aux sources d'énergie et à l'influence de son environnement qui concernera le micro-organisme représentent un atout considérable. Dans ce contexte, lorsque des populations microbiennes entières sont impliquées sans le besoin de plus de quelques divisions cellulaires, cet effet a été mentionné sous le vocable de « variation (« modulation ») antigénique » et montré qu'il est entièrement réversible (Lacey, 1960, 1961). Ainsi, pour comprendre le processus infectieux, une recherche vers une meilleure compréhension du statut microbien dans son environnement est nécessaire.

Le micro-organisme peut seulement provoquer une maladie *in vivo* et chaque pathogène ou pathogène potentiel trouve sa niche en s'adaptant aux conditions du microenvironnement où il est initialement ou effectivement présent. La variation antigénique dépend essentiellement de ces conditions supposées pour permettre ces processus réversibles et représente les enzymes existantes et leurs structures associées (membranes et organites) par lequel le support des flux environnementaux est transmis (Marett et collaborateurs, 1994). Toute altération

de l'ambiance externe sera traduite par des expressions différentes. Cet aspect de la virulence apparut dès la découverte *in vitro* de la présence de certains cations et anions dans l'environnement de *Bordetella pertussis* qui amènent après repiquage, à des changements phénotypiques réversibles affectant la globalité de la population bactérienne (Lacey, 1960, 1961). La variation antigénique (signification « modulation ») se rapporte à tout ce qui influence significativement le microenvironnement et peut être caractérisé par une expression antigénique modifiée.

L'aptitude qu'a un agent pathogène dans sa niche à modifier sa virulence par accroissement ou réduction de son expression en tant que résultat d'une variation antigénique, fait que cette variation permettra d'esquiver aussi une défense de l'hôte qui était efficace contre une précédente expression de celle-ci. Étant placé dans une situation antagoniste du pathogène qui se niche ou s'établit dans son microenvironnement particulier chez l'hôte, la caractéristique particulière d'une telle relation pourrait impliquer l'existence d'un signal d'alarme (Marett et collaborateurs, 1994). Cela alerterait les micro-organismes et pourrait être critique à la survie du pathogène. L'initiation d'une telle alarme pourrait être la production d'énergie et sa disponibilité, compte tenu de la référence précitée de Stanier (1965, 1967), aboutissant soit à être à l'abri en restant inoffensif, soit à un comportement délétère. Afin d'améliorer la compréhension de l'infection, la distinction entre un pathogène capable de demeurer inoffensif de générer une maladie fournit un élément de réponse.

Tandis qu'un pathogène peut être considéré comme inclus dans un processus ininterrompu d'une possible survenue d'un état pathogène chez son hôte, des rajustements fréquents ont lieu en ce qui concerne le flux environnemental qui sous-tend la genèse de l'énergie nécessaire uniquement à sa pathogénicité. Chez les micro-organismes, un ensemble de récepteurs est capable de favoriser une

réponse rapide et coordonnée face à des modifications de l'environnement (Albright et collaborateurs, 1989; Miller et collaborateurs, 1989). Ceux-ci ajustent le milieu *in vivo*; en outre, cette faculté peut discerner l'éventualité d'un état pathogène. Le résultat sera une infection avec un pouvoir pathogène immédiat et subtil vis-à-vis des changements sous des conditions environnementales influençant son comportement chez l'hôte. Des systèmes régulateurs sont capables de réagir aux diverses alertes environnementales, à des signaux face aux récepteurs, à des mécanismes régulateurs et ceux-ci seraient évidemment importants pour le processus pathogène. Des signaux variés de l'environnement seront rencontrés durant le processus infectieux et le cheminement de l'information devrait influencer le niveau de la pathogénicité dans sa globalité (Voir Figure B). Afin de se concentrer davantage sur la dépendance des pathogènes *in situ* et la présence de facteurs de virulence associée, l'idée que ceux-ci seraient *a priori* exempts de n'importe quel effet néfaste ou protecteur, mais seulement, que leur aptitude à la virulence serait influencée lors de conditions favorables révélées par l'environnement *in vivo*. L'interaction entre l'influence de l'hôte avec le potentiel du pathogène permet à ce dernier à s'adapter temporairement à un microenvironnement donné où certains antigènes définis et facteurs pathogènes seront impliqués. Des conditions chez l'hôte (initiation du signal d'alarme) pourraient défavoriser la virulence en cas de net renversement lors d'une interruption de la réception de signaux d'échange d'énergie entre le pathogène et son microenvironnement.

## RÉFÉRENCES

Charles Singer and Dorothea Singer, The scientific position of Girolamo Fracastoro [1478?-1553]: with special reference to the source, character and influence of his theory of infection, *Annals of Medical History*, Spring 1917, **1**: 1-34.

Albert Szent-Gyorgyi, 'In search of new biological dimensions', in D J Ingle (ed), *Life and disease. New perspectives in biology and medicine*, New York, Basic books, 1963, pp. 415-24.

I Prigogine, 'Structure, dissipation and life' International Conference *Physique theorique et biologie*, Versailles, Institut de la Vie, 1967.

I Prigogine, *La nouvelle alliance : metamorphose de la science*, Paris, Gallimard, 1979.

H J Morowitz, *Energy flow in biology : Biological organization as a problem in thermal physics*, Academic Press, New York and London, 1968.

R Y Stanier, Some aspects of the biology of cells and their possible evolutionary significance. In: Charles H P, Knight BCJG (eds) *Organization and Control in Prokaryotic and Eukaryotic Cells, 20th Symposium of the Society for General Microbiology*, Cambridge: Cambridge University Press, 1970.

R Y Stanier, E A Adelberg and J L Ingraham, *The microbial world*, 4<sup>th</sup> ed, Englewood Cliffs N J, Prentice-Hall, 1976.

William A White, *The meaning of disease. An inquiry in the field of medical*

*philosophy*, Chapter VI, Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1926, pp. 110-20.

Otto Warburg, The present status of the carcinoma problem, *Naturwissenschaften*, **15**, 1-4, 1927.

O Warburg, F Wind and E Negelein, The metabolism of tumors in the body, *Journal of General Physiology*, **8**, 519-530, 1927.

Fred Griffiths, The significance of pneumococcal types, *Journal of Hygiene*, **27**, 113-56, 1928.

Oswald T Avery, Colin M MacLeod and Maclyn McCarty, Studies on the medical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types, *Journal of Experimental Medicine*, **79**, 137-57, 1944.

J D Watson and F Crick, Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid, *Nature*, **171**, 964-67, 1953.

Erwin Chargaff, Profitable wonders. A few thoughts on nucleic acid research, *The Sciences*, **Aug. / Sept.**, 21-6, 1975.

R Y Stanier, G D Hegeman and L N Ornston, 'The mechanism of so-called "sequential induction" in *Pseudomonas fluorescens*', in *Mecanismes de regulation des activites cellulaires chez les microorganismes*, *Colloques internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique* (Marseilles, 1963), Paris, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, 1965, pp. 227-36.

J L Canovas, L N Ornston and R Y Stanier, Evolutionary significance of

metabolic control systems, *Science*, **156**, 1695-99, 1967.

B W Lacey, Antigenic modulation of *Bordetella pertussis*, *Journal of Hygiene*, **58**, 57-93, 1960.

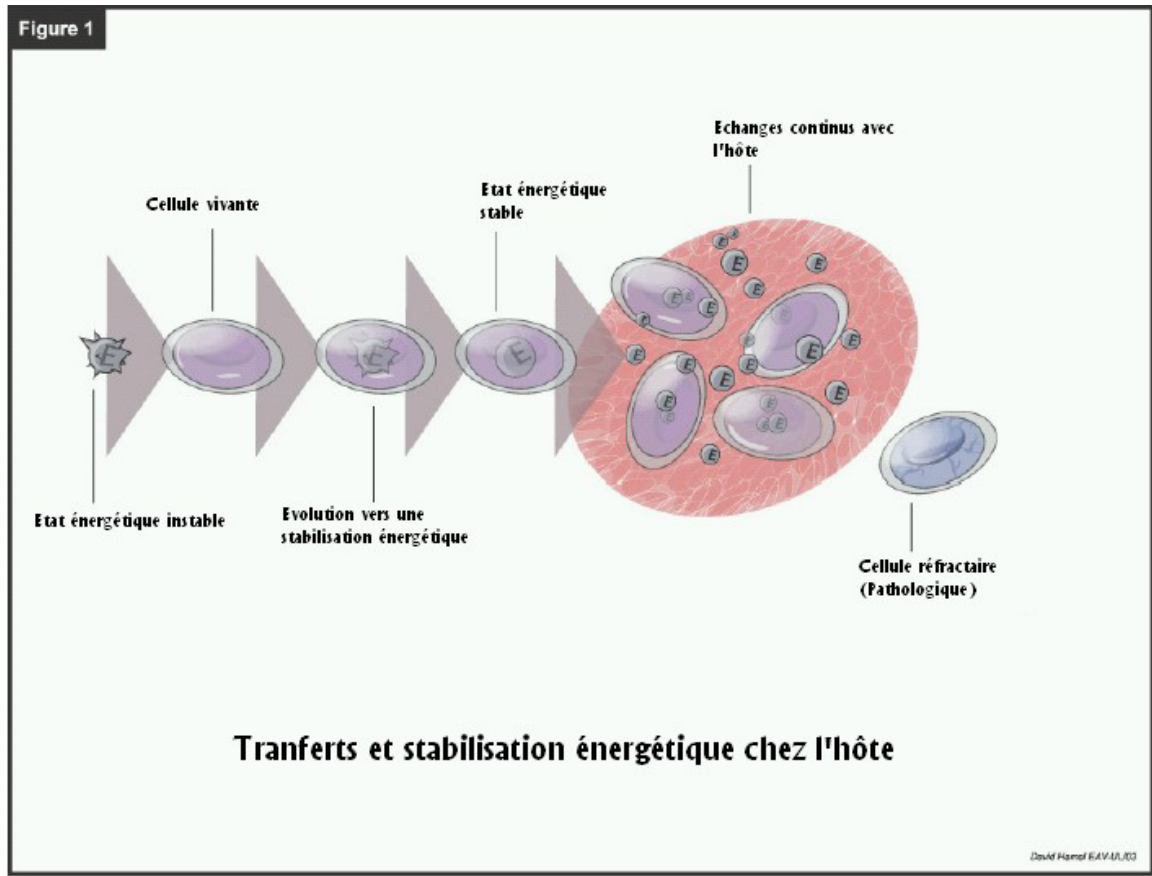
B W Lacey. Non-genetic variation of surface antigens in *Bordetella* and other microorganisms, in *Microbial reaction to environment, 11<sup>th</sup> Symposium of the Society for General Microbiology*, London, Cambridge University Press, 1961, pp. 343-90.

Douglas Marett, Brian Lacey and Morris Goldner, *Microbial pathogenesis : An energetic interpretation, Speculations in Science and Technology*, 17, 301-7, 1994.

L M Albright, E Huala and F M Ausubel, Prokaryotic signal transduction mediated by sensor and regulator protein pairs, *Annual Review of Genetics*, **23**, 311-36, 1989.

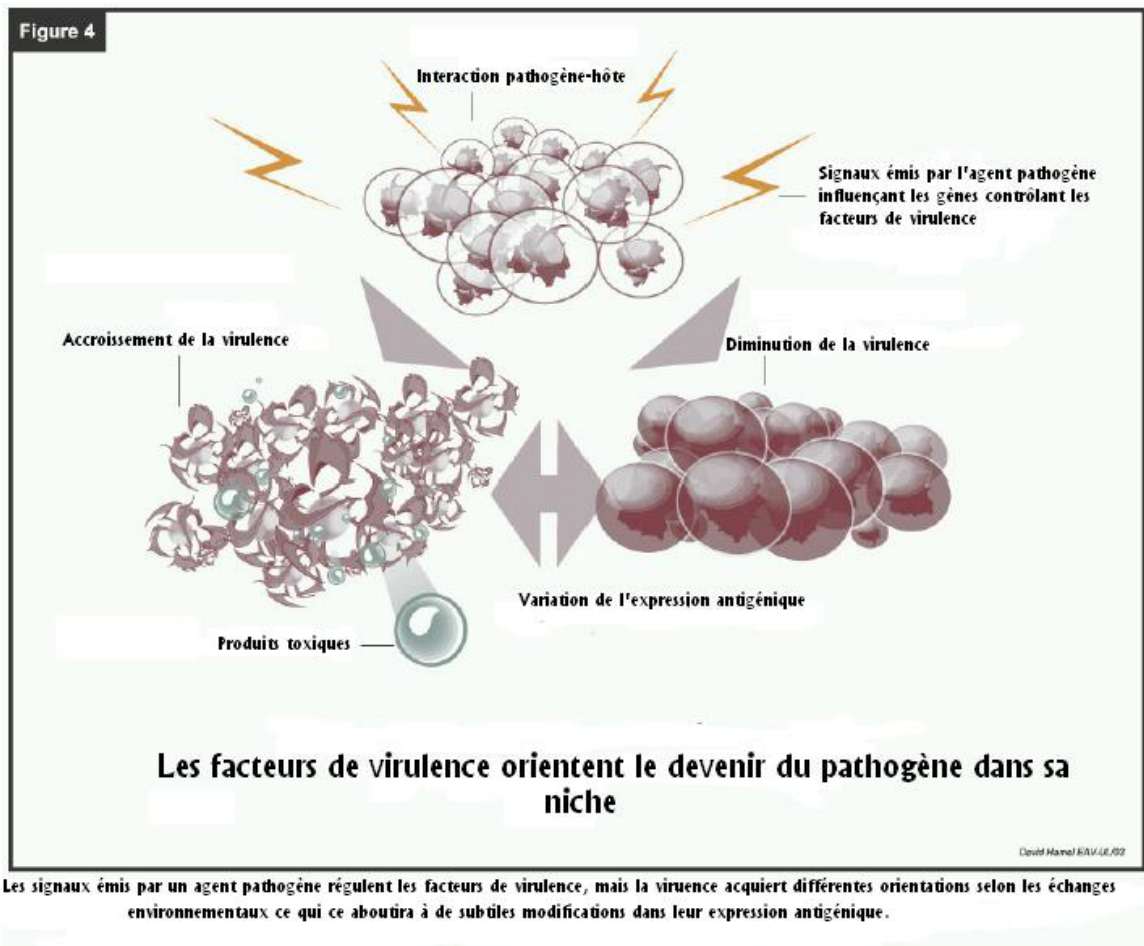
Miller, J. F., J.J. Mekalanos et S. Falkow ,  
Coordinate regulation and sensory flux in the control of bacterial virulence.  
*Science* 243:916-922, 1989.

**FIGURE A: TRANSFERTS ET STABILISATION ÉNERGÉTIQUE CHEZ L'HÔTE**



**L'Approvisionnement d'une reserve d'énergie sans cesse par les systemes biologiques, et l'échange continu de cette energie avec l'environnement, fonctionne comme un processus fondamental qui fut tenir compte de l'adaptation d'un systems vivant.**

Figure B : Les facteurs de virulence orientent le devenir du pathogène dans sa niche



**Les signaux émis par un agent pathogène régulent les facteurs de virulence, mais la virulence acquiert différentes orientations en fonction des échanges environnementaux en énergie qui aboutira à de subtiles modifications de leur expression antigénique.**

Des progrès impressionnants

## **6. EVALUATION DES FACULTES MÉTABOLIQUES DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* EN RELATION AVEC LA CARIE DENTAIRE**

### **Résumé**

Selon que la concentration en saccharose soit faible ou forte, *Streptococcus mutans* produit de l'acide lactique ou bien un polyglycane favorisant la formation de plaque. Ainsi, l'exposition prolongée à des apports de saccharose provoquerait une sélection de micro-organismes tel *Streptococcus mutans* dans la cavité buccale ; ces micro-organismes, étroitement adaptés à leur fonction spécialisée, ont une activité cariogène potentielle. Les bactéries qui ont développé des systèmes physiologiques capables de fonctionner efficacement sous de telles conditions sont celles produisant de l'acide lactique. Ces micro-organismes survivent dans des environnements où la teneur en glucides disponibles varie continuellement. Une forte tolérance aux milieux acides peut être un déterminant important d'un milieu écologique favorisant le développement de lésions et de caries. Aussi, les réserves intracellulaires de glucides (glycogène et amylopectine) et de polymères extracellulaires (lévanes et polyglycannes solubles) jouent un rôle important s'il y a carence glucidique. De plus, la formation de polyglycane insoluble est prérequis pour permettre les processus cariogènes ultérieurs sur les surfaces lisses des dents, par le développement de plaques. De telles conditions peuvent produire un accroissement de la population de *S. mutans* et de micro-organismes cariogènes. Il en résulte que ce processus pourrait mieux s'expliquer par la manifestation d'un changement amphibiotique.

## **Introduction**

La carie dentaire est une dégradation localisée et progressive des dents, amorcée par une déminéralisation de leur surface extérieure. Elle est provoquée par des acides organiques produits localement par des bactéries qui font fermenter des dépôts d'hydrates de carbone alimentaires. Avec la perte progressive des minéraux de la dent et la destruction secondaire de ses protéines par une action bactérienne continue, il se forme des cavités. En l'absence de traitement, celles-ci s'étendent et détruisent la plus grande partie de la dent, en provoquant souvent une infection sérieuse des tissus environnants. Le développement de caries exige des rapports critiques entre la surface de la dent, le micro-organisme buccal et les hydrates de carbone alimentaires (Scherp, 1971).

Si l'on se concentre sur le paramètre bactérien impliqué dans le processus cariogène, on peut considérer le micro-organisme, *Streptococcus mutans*, comme l'agent étiologique principal associé à cette maladie (Gibbons, 1972b, 1973 ; Brown, 1974 ; Gibbons et Van Houte, 1975). Le but de la présente étude est de passer en revue les aspects de la physiologie de *S. mutans* qui semblent déterminer son écologie dans la cavité buccale et son rôle dans la pathogenèse de la carie dentaire. Plus loin, on avancera que l'établissement de cet organisme dans la plaque dentaire avec l'apparition d'une microflore cariogène est le résultat d'une réponse adaptative de la flore commensale normale aux apports élevés de saccharose qui sont introduits dans la cavité buccale par le régime alimentaire.

## **Écologie et épidémiologie**

On rapporte que *S. mutans* se manifeste dans des groupes de population variés à travers le monde et que la carie dentaire peut être considérée comme pandémique (Jordan *et coll.*, 1969 ; Rogers, 1973a ; Shklair, 1973). Cet organisme a d'abord été identifié dans la cavité buccale, bien que Shklair (1973) ait aussi signalé sa présence dans des matières fécales. Généralement, la présence de *S. mutans* dans

la cavité buccale ne précède pas la sortie de la dentition primaire, puisque son établissement nécessite des surfaces dures permanentes. L'inoculum initial pour l'acquisition de *S. mutans* sur la dentition primaire sortante semble être d'origine maternelle. En fait, la présence de *S. mutans* a été détectée avant l'apparition des dents chez des patients au palais divisé qui portaient des obturateurs acryliques, ce qui illustre bien la nécessité d'une surface solide pour sa colonisation. Dès que la dentition apparaît, le potentiel d'établissement de *S. mutans* est présent et se poursuit jusqu'à la disparition des dents. Lorsqu'un sujet édenté commence à porter des prothèses dentaires, la recolonisation de ces surfaces peut se produire (Carlsson *et coll.*, 1969 ; Berkowitz *et coll.*, 1975 ; Berkowitz et Jordan, 1975 ; Berkowitz, 1976).

Les études épidémiologiques actuelles suggèrent que *S. mutans* joue un rôle dans la carie dentaire humaine. Plusieurs chercheurs ont montré que *S. mutans* est présent en plus grand nombre sur des lésions carieuses plutôt qu'à la surface des dents saines (Littleton *et coll.*, 1970 ; Loesche *et coll.*, 1973 ; Rogers, 1973b). En particulier, Krasse (1968) et de Stoppelaar *et coll.* (1969) ont démontré cette association chez des enfants. De plus, on a remarqué qu'une diminution de *S. mutans*, avec accroissement concomitant de la présence de *Streptococcus sanguis* dans la plaque dentaire, est lié à une réduction des sucres dans le régime alimentaire ; l'inverse se produisant avec un accroissement des sucres (De Stoppelaar *et coll.*, 1970). Ikeda *et coll.* (1973) ont observé que le développement de lésions carieuses à la surface des dents était étroitement associé à une colonisation antérieure par *S. mutans* et que le nombre de *Lactobacillus* augmentait à mesure que s'accroissaient les lésions carieuses. Ils ont aussi présenté des données longitudinales démontrant une relation étroite entre la présence de *S. mutans* dans la plaque et l'apparition sous-jacente des lésions carieuses. Shklair *et coll.* (1972) ont isolé un plus grand nombre de *S. mutans* dans

la plaque recouvrant des lésions carieuses plutôt que dans des échantillons pris dans des sites voisins.

Englander et Jordan (1972) ont rapporté que la plaque prélevée sur la dentition primaire cariée montre une corrélation positive entre la présence de *S. mutans* et la carie lisse superficielle. Aussi, Street *et coll.* (1976) ont montré une association statistiquement significative entre la présence de cet organisme et des caries sur les faces occlusales et mésiales des dents primaires. Finalement, Rogers (1973a) a observé que les aborigènes qui ne présentaient pas de caries n'avaient aucun *S. mutans* dans la bouche, tandis que ceux qui avaient des caries actives avaient également *S. mutans* facilement détectable.

### **Croissance et métabolisme**

Puisque la carie dentaire est principalement la conséquence d'un pH faible dans les dépôts de plaque adjacents aux tissus dentaires (Miller, 1890), il est essentiel de bien comprendre les processus métaboliques responsables de la conversion des hydrates de carbone raffinés en acides organiques pour comprendre cette maladie buccale. *S. mutans* exprime son potentiel acidogène par une voie homolactique glycolytique capable de produire un  $\text{pH} < 5$  ; il n'existe aucune preuve de l'existence d'un court-circuit d'hexose monophosphate, ni de voie d'Entner Doudoroff (Brown, 1973, 1974). Pour chaque mole d'hexose utilisé, deux moles de lactate sont synthétisées simultanément à deux moles d'ATP. Ce micro-organisme fermente les sucres comme moyen primaire d'obtention d'énergie qu'il lui faut et se montre exigeant en matière d'alimentation, en requérant des vitamines spécifiques et des acides aminés pour sa croissance (Terleckyj et Shockman, 1975). La croissance de cet organisme dans des bouillons de culture est favorisée par la présence de  $\text{CO}_2$  et de bicarbonate ; donc, la présence de bicarbonate dans la salive peut augmenter la croissance de *S. mutans in vivo* (Brown, 1975). *S. mutans* a besoin de cystine (ou de cystéine) pour sa croissance

et ses autres exigences, en matière d'acides aminés, dépendent des différences présentes dans les sous-espèces et de la disponibilité d'O<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub> (Carlsson, 1970b ; Cowman *et coll.*, 1974 ; Terleckyj et Shockman, 1975).

Le transport de glucose, de mannitol et de lactose à travers la membrane de *S. mutans* requiert du phosphoénolpyruvate (PEP) et le système de la phosphotransférase (PTS) (Schachtele, 1975 ; Maryanski et Wittenburger, 1975 ; Calmes, 1978). Ce système de transport des sucres se retrouve principalement dans les organismes anaérobies stricts et facultatifs et permet à la fois le transport et la phosphorylation de ces derniers à travers la membrane (Saier, 1977). Cela aboutit à un processus de transport gratuit, en terme d'économie d'énergie (Andrews et Lin, 1976), ce qui pourrait se traduire en un avantage sélectif décisif lorsque des populations microbiennes obtiennent leur énergie sous la forme d'ATP ou par phosphorylation au niveau du substrat. De plus, le fluorure de sodium (NaF) peut s'opposer au transport de sucres chez *S. mutans* par inhibition de l'énolase à l'intérieur de la membrane cellulaire (Hamilton, 1977).

Des sections minces de plaque dentaire ont révélé que des espèces bactériennes résidant dans les secteurs plus profonds d'accumulation de plaque ont des parois cellulaires épaisses et un important capital intracellulaire en polysaccharides, ce qui indique une croissance non équilibrée (Critchley et Saxton, 1970 ; Van Houte et Saxton, 1971). Shockman *et coll.* (1976) ont étudié l'effet de conditions de croissance non équilibrées chez *S. mutans*. Ils ont formulé l'hypothèse que « *la périodicité habituelle des cycles d'alimentation et la nature des produits alimentaires ingérés démontre que les streptocoques de la plaque sont exposés soit à des périodes de ripaille, soit de famine pour l'une ou l'autre des sources d'énergie, soit à un ou plusieurs composés biosynthétiques, soit encore les deux à la fois* », ce qui résulterait « *en une série de changements par intermittence d'états de croissance non équilibrée* ». Bien que la salive contienne des composés azotés, la disponibilité en acides aminés libres y est faible (Battistone, 1961 ; Geddes et

Jenkins, 1974) ; on prend pour acquis que les conditions de croissance bactérienne dans la cavité buccale après ingestion de saccharose sont déséquilibrées et en faveur d'une teneur élevée en carbone et faible en azote. L'observation de *S. mutans* en culture pure, dans ces conditions particulières, suggère que bien que ces phénomènes (épaississement de la paroi cellulaire et accumulation intracellulaire de polysaccharides) se produisent, il semble avoir des mécanismes de contrôle séparés (Shockman *et coll.*, 1976 ; Mattingly *et coll.*, 1976, 1977).

Le métabolisme du saccharose par *S. mutans* dépend de plusieurs systèmes d'enzymes. Les glycosyltransférases et les fructosyltransférases forment des polysaccharides extracellulaires et libèrent, respectivement, du glucose ou du fructose. À de faibles concentrations de saccharose, presque tout le carbone est catabolisé, ce qui empêche toute activité des glycosyltransférases et des fructosyltransférases ; cependant, à mesure que la concentration de saccharose augmente, on retrouve des ensembles fonctionnels d'hexose dans les polyglycannes et polyfructosanes extracellulaires (Tanzer, 1972 ; Tanzer *et coll.*, 1972 ; Chassy *et coll.*, 1976). Ces données suggèrent la présence d'une invertase qui hydrolyse le saccharose en libérant le glucose et le fructose ; cette enzyme est activée par le phosphate inorganique (Tanzer *et coll.*, 1973). Selon certaines sources, l'invertase est située à l'intérieur de la cellule et est partie constituante de *S. mutans* (Gibbons, 1972a ; McCabe et Smith, 1973). On a également estimé la masse moléculaire de cette enzyme à 47 000 daltons (Kuramitsu, 1973). Toutefois, selon Tanzer *et coll.* (1973), il s'agit d'une enzyme inductible, dont l'emplacement intracellulaire suggère un système de perméase du saccharose. Plus récemment, on a présenté des preuves de la présence d'une invertase extracellulaire ayant une masse moléculaire de 160 000 daltons (Fukui *et coll.*, 1974a, 1974b ; Chassy *et coll.*, 1974).

Lorsqu'il est cultivé en milieu riche en phosphate et en glucose, *S. mutans* peut accumuler des polyphosphates à l'intérieur de la cellule. Cette réaction semble

être sensible au pH ; la relation stœchiométrique entre l'accumulation de phosphate et la production acide se découple dès que le pH devient faible (Tanzer *et coll.*, 1968 ; Tanzer et Krichevsky, 1970). Luoma (1970) a signalé l'emprunt direct de phosphate de la structure de la dent par *S. mutans* en utilisant un système de marquage au  $^{32}\text{P}$  radioactif. Le rôle que peut avoir ce processus dans la carie dentaire n'est pas encore clair, mais l'association de phosphatases alcalines (Knuuttila et Makinen, 1972) à des cellules de *S. mutans* a été signalée, tout comme celle de phosphatases acides (Luoma, 1974).

### **Le polysaccharide intracellulaire**

Le polysaccharide intracellulaire (PSI) est un polymère ressemblant à la molécule de glycogène amylopectine. Ce type d'hydrate de carbone a principalement des liaisons alpha-1,4 qui ont la capacité de lier l'iode et un nombre variable de ramifications à la position alpha-1,6. Le PSI bactérien est composé d'unités de glucose ; il exige de l'ATP pour sa synthèse et fonctionne principalement comme une réserve d'énergie lorsque les hydrates de carbone exogènes sont épuisés (Preiss, 1969).

Gibbons et Socransky (1962) ont, les premiers, décrit le rôle du PSI dans le processus cariogène. Ils ont avancé que le PSI prolonge la glycolyse dans la plaque dentaire, ce qui prolonge la durée du milieu acide adjacent à la surface de la dent, une condition qui contribuerait à la carie dentaire. La formation prolongée d'acides organiques (en particulier l'acide lactique) par des bactéries dans des dépôts de plaque n'augmenterait pas seulement la décalcification de l'hydroxyapatite, mais encore favoriserait d'autres micro-organismes acidophiles tels les lactobacilles, dont les populations augmentent avec le développement important de lésions carieuses (Sims, 1970). De plus, Gibbons et Socransky (1962) ont remarqué que la plaque dentaire des individus porteurs de caries abritait un plus grand nombre de bactéries plus iodophiles que les individus non

porteurs de caries. Minah et Loesche (1977a) ont également signalé qu'on retrouve, dans la plaque cariogène, un nombre plus grand de bactéries synthétisant le PSI que dans la plaque non cariogène et que *S. mutans* pourrait être le premier responsable de ce trait particulier dans la plaque carieuse (Minah et Loesche, 1977b). Van Houte (1964) a étudié l'association entre des micro-organismes de la plaque dentaire capables de stocker le PSI et la consommation d'hydrates de carbone par la population. Il a rapporté que la réduction des sucres dans le régime alimentaire se traduit par une réduction marquée des bactéries qui accumulent le PSI dans la plaque dentaire. Des streptocoques cariogènes dans des populations de rongeurs produisaient de façon consistante, des quantités abondantes de PSI tandis que les souches non cariogènes montraient des variations dans la synthèse du PSI (Berman et Gibbons, 1966). On a également noté que 60 % des bactéries cultivables provenant de lésions carieuses humaines étaient de bons producteurs de PSI contre seulement treize pour cent de celles qui avaient été isolées dans la plaque non cariogène se classaient dans la même catégorie. Des relevés de caries dentaires chez des enfants guatémaltèques indiens ont indiqué que le saccharose alimentaire était un déterminant important dans la production de lésions carieuses, de même que dans le pourcentage de colonies productrices de PSI trouvées dans la plaque dentaire de ces enfants (Loesche et Henry, 1967). Ruby et Gerencser (1973) ont également rapporté que la synthèse *in situ* de PSI peut se détecter avec une solution iodo-idurée (KI et I<sub>2</sub>) dans la plaque dentaire humaine non remaniée. Ils ont observé, après application topique de saccharose, qu'il y avait une production suffisante de PSI pour permettre une identification visuelle en moins de cinq minutes. Ce processus est inhibé par le fluorure à faible concentration. Les enfants consommant de l'eau fluorée montrent moins de bactéries productrices de PSI dans leur plaque dentaire que des enfants vivant dans des secteurs où l'eau n'est pas fluorée (Van Houte *et coll.*, 1969b). De plus, on a rapporté que le fluorure inhibe la synthèse de PSI au sein des streptocoques buccaux (Weiss *et coll.*, 1965 ; Hamilton, 1977).

Van Houte *et coll.* (1970) ont noté que les souches de streptocoques provenant de la plaque de personnes non porteuses de caries étaient des producteurs variables de PSI. Les souches isolées de la plaque de personnes porteuses de caries présentaient une production stable ; des isolats de *S. mutans* synthétisaient de grandes quantités de PSI à partir du glucose, du saccharose et du fructose. De Stoppelaar *et coll.* (1970) ont rapporté une réduction, chez des humains, des proportions de *S. mutans* et de bactéries produisant du PSI au cours d'un régime faible en sucres, en même temps qu'un accroissement de *S. sanguis* dans les échantillons de plaque. La réintroduction de glucose et de saccharose dans le régime aboutissait au renversement de cette situation.

Le potentiel acidogène des streptocoques buccaux s'est avéré plus grand dans des souches produisant du PSI. Cependant, la multiplication des cellules était retardée tant que le contenu de PSI n'avait pas atteint un niveau maximal dans la cellule bactérienne (Van Houte *et coll.*, 1969a). Des études biochimiques ont indiqué que le PSI streptococcique est une molécule de type glycogène (Bramstedt et Lusty, 1968), et des photomicrographies électroniques de sections minces de *S. mutans* ont révélé qu'on y retrouvait en nombre variable des granules cytoplasmiques de PSI d'un diamètre de 35 à 60 nm (Di Persio *et coll.*, 1974). Ces données accèdent la théorie de Freedman et Coykendall (1975) selon laquelle il existerait des variations de synthèse de PSI et de production d'acide lactique entre les différentes souches de *S. mutans* ; des observations similaires ont été faites par Street (1970). Certaines souches de *S. mutans* pourraient même ne pas requérir le pré-requis du PSI pour afficher la virulence (Freedman et Coykendall, 1975). Toutefois, Tanzer (1976) a rapporté que des mutants produisant moins de PSI montraient une virulence réduite chez les rats.

Dans la flore de plaque, des polysaccharides iodophiles sont synthétisés non seulement par *S. mutans*, mais aussi par d'autres bactéries. *Lactobacillus casei*, des corynéformes, *Streptococcus mitis* et *Neisseria* produisent tous des

polysaccharides iodophiles dans des environnements de saccharose, par un système d'enzyme amylosucrase extracellulaire, ce qui indique que cette adaptation physiologique particulière est partagée à des degrés divers par beaucoup de micro-organismes buccaux (Gibbons et Socransky, 1962 ; Gibbons et Kapsimalis, 1963 ; Berman et Gibbons, 1966 ; Hammond, 1971 ; Ruby et Gerencser, 1973).

### **Les polysaccharides extracellulaires (Tableau 1)**

Les lévanes extracellulaires sont des polysaccharides composés de fructose avec liaisons bêta-2, 6 et synthétisées par *S. mutans* au moyen de la bêta-2, 6 fructosane:D-saccharose-6-fructosyltransférase. Cette enzyme est une partie constituante de cette espèce bactérienne et elle exige du saccharose comme substrat nécessaire pour la synthèse (Carlsson, 1970a). Récemment, on a aussi isolé un fructosane bêta-2,1 de *S. mutans* (Baird *et coll.*, 1973). La synthèse est extracellulaire et les produits de réaction consistent en un polymère de fructose (lévane) et du saccharose libre. L'énergie nécessaire pour la synthèse est obtenue directement de l'hydrolyse de la liaison disaccharidique du saccharose et la réaction se produit sans l'utilisation d'ATP comme source d'énergie pour la polymérisation (Newbrun, 1969). Les fructosanes sont solubles dans l'eau et ils semblent ne jouer aucun rôle dans l'adhérence ou l'agglutination de *S. mutans* à la structure de la dent (Gibbons, 1968). Cependant, les fructosanes peuvent fonctionner comme des composés de réserve extracellulaire qui sont utilisés pour le métabolisme microbien lorsque la source de sucres exogènes est épuisée (Da Costa et Gibbons, 1968 ; Parker et Creamer, 1971). La dégradation à long terme des lévanes peut non seulement contribuer au potentiel de survie du micro-organisme de plaque, mais aussi prolonger la production en acide lactique par glycolyse et contribuer ainsi à la virulence dans le processus carieux (Gibbons, 1968 ; Brown, 1975).

La synthèse enzymatique des polyglycannes par *S. mutans* est un paramètre important dans la détermination de la spécificité écologique de ces bactéries. La production de ces polymères fonctionne comme un mécanisme primaire sur le substrat saccharose, pour l'accumulation de ces bactéries sur les surfaces lisses des dents (Gibbons et Banghart, 1967 ; Gibbons et Nygaard, 1968 ; Street, 1970) ; cependant, d'autres mécanismes qui ne requièrent pas de polyglycannes pour l'adhérence initiale peuvent aussi entrer en jeu (Van Houte et Duchin, 1975 ; Clark et Gibbons, 1977). Les polyglycannes sont de deux types, selon l'importance des liaisons alpha-1,3. Ceux qui présentent surtout des liaisons alpha-1,6 sont similaires en nature au dextrane et sont solubles dans l'eau. On les retrouve dans le surnageant extracellulaire des cellules cultivées en présence de saccharose et leur fonction est celle d'agents d'agglutination spécifiques de *S. mutans* (Brown, 1975). L'autre type, nommé mutane, diffère des dextranses en ce qu'il contient un plus grand nombre de liaisons alpha-1,3, ce qui les rend insolubles dans l'eau (Guggenheim, 1970 ; Ceska *et coll.*, 1972 ; Baird *et coll.*, 1973). De plus, les mutanes sont associés à la surface de la cellule, ce qui permet à la cellule bactérienne d'adhérer à la surface des dents (Gibbons, 1973 ; Brown, 1975). Les dextranses et les mutanes sont tous les deux synthétisés par un système enzymatique complexe alpha-1,6-glucane:D-fructosane-2-glucosyltransférase (Guggenheim et Newbrun, 1969 ; Mukasa et Slade, 1974 ; Kuramitsu, 1975 ; Scales *et coll.*, 1975). Cette enzyme est de nature constitutive et il semble avoir une liaison covalente avec un groupement fonctionnel présent sur les hydrates de carbone (Scales *et coll.*, 1975 ; Ciardi, 1976). L'enzyme fonctionne en catalysant l'hydrolyse du saccharose avec polymérisation concomitante de glucose, tout en produisant du fructose libre (Gibbons, 1973 ; Brown, 1974 ; Ciardi, 1976).

L'adhérence des glycanes à la surface de la cellule de *S. mutans* exige une protéine spécifique de liaison (Olson *et coll.*, 1974 ; McCabe et Smith, 1976), de même que la présence de  $\text{Ca}^{++}$  (McCabe et Smith, 1975). L'agglutination de *S. mutans*

par des glycanes de masse moléculaire élevée est spécifique à l'espèce et sa sensibilité est démontrée par le fait que seulement trois molécules de glycanes par cellule bactérienne sont nécessaires pour produire l'accumulation macroscopique (Gibbons, 1973). Puisque les glycanes comportent des composants chargés négativement qui pourraient provenir de la liaison avec le phosphate (Melvaer *et coll.*, 1974), et des cations tels  $\text{Ca}^{++}$  pourraient servir d'agents d'adhérence électrostatique entre la protéine de liaison et les polyglycannes (Kelstrup et Funder Nielsen, 1974 ; Melvaer *et coll.*, 1974).

**TABLEAU 1 : LES POLYSACCHARIDES EXTRACELLULAIRES DE *STREPTOCOCCUS***

*MUTANS*

	<b>Structure et propriétés</b>	<b>Enzyme nécessaire à la synthèse</b>	<b>Réaction</b>	<b>Importance écologique</b>
Lévane	Polymère de fructosane lié par liaison $\beta$ -2,6 ; soluble dans l'eau	Lévane-sucrase	Saccharose $\rightarrow$ lévane + glucose	Source d'énergie exogène pour le métabolisme microbien après l'épuisement des glucides
(a) Dextrane	Polymère de glucose lié de façon prédominante par liaison $\alpha$ -1,6 ; soluble dans l'eau	Dextrane-sucrase	Saccharose $\rightarrow$ dextrane + fructose	Fournit la cohésion à <i>Streptococcus mutans</i> pour s'agglutiner et source d'énergie exogène pour le métabolisme microbien après l'épuisement des glucides
(b)	Polymère de glucose lié par liaisons $\alpha$ -1,6 et $\alpha$ -1,3 ;	Mutane-	Saccharose $\rightarrow$ mutane + fructose	Fournit l'adhérence à <i>Streptococcus mutans</i>

## La dégradation des polysaccharides extracellulaires

On a rapporté que des streptocoques cariogènes peuvent, à l'aide d'enzymes, dégrader des polysaccharides extracellulaires bactériens et les utiliser pour leurs besoins métaboliques, incluant l'amylopectine (comme celle qui provient du genre *Neisseria*), le lévane et le dextrane (Parker et Creamer, 1971). L'utilisation de polysaccharides extracellulaires pour le métabolisme de la plaque (en absence d'hydrates de carbone alimentaires exogènes) pourrait servir de système écologique complémentaire pour assurer la survie dans des conditions de famine. Cela pourrait probablement prolonger le processus de la carie. La dégradation de ces substances par des bactéries de la plaque exigerait des enzymes extracellulaires spécifiques pour ces substrats particuliers. Celles-ci ont été identifiées telles l'amylase (Ruby et Gerencser, 1974), la lévanease (Van Houte et Jansen, 1968) et la dextranase (Staat et Schachtele, 1974). On a montré qu'on peut induire l'hydrolyse des lévanes par l'hydrolase de fructosane (lévanease) des streptocoques de la plaque humaine ; l'activité est maximale à pH 6 et inhibée par le NaF, le glucose et des sels de métaux lourds (Da Costa et Gibbons, 1968). L'activité dextranase de *S. mutans* paraît spécifique des glucanes alpha-1,6 et provoque le rejet d'isomaltose (Staat et Schachtele, 1974 ; Guggenheim et Burckhardt, 1974). Les mutanes alpha-1,3 ne sont pas facilement hydrolysés par la dextranase, et, selon toutes apparences, cela serait dû à leur insolubilité dans l'eau (Dewar et Walker, 1975) ou encore à une spécificité différente en termes de clivage enzymatique.

Il se peut que les streptocoques buccaux puissent scinder les hydrates de carbone des glycoprotéines salivaires pour leur utilisation, tel l'acide sialique qui est un

groupe fonctionnel d'hydrates de carbone représentatif. Cette réaction pourrait avoir de l'importance pour deux raisons : l'utilisation de ces hydrates de carbone pendant une carence d'origine alimentaire pourrait se traduire par la survie des bactéries capables de cette activité ; de plus, les glycoprotéines salivaires ont tendance à précipiter et à devenir insolubles dans le milieu buccal lorsque les groupes fonctionnels d'hydrate de carbone sont enlevés, ce qui pourrait être un paramètre important dans le développement de la plaque (Leach, 1963 ; Pinter *et coll.*, 1968 ; Leach et Melville, 1970 ; Nord *et coll.*, 1973).

### **Commentaires**

Il serait peut-être plus utile de considérer la composante bactérienne de la carie dentaire comme une adaptation microbienne à des apports élevés en énergie arrivant dans la cavité buccale. Ceux-ci arrivent principalement sous la forme de composés organiques, en particulier le saccharose alimentaire, qui serait très sélectif en termes de chimio-organotrophie.

Un groupe de bactéries bien adaptées au sein de la cavité buccale et survivant dans ces conditions sont les bactéries productrices d'acide lactique (London, 1976). Le métabolisme producteur d'énergie de ces micro-organismes est strictement fermentaire puisqu'il leur manque un système de cytochrome et qu'ils ont besoin d'hydrates de carbone pour stimuler leur croissance. Cependant, cette dépendance au métabolisme fermentaire pour produire de l'énergie limite leur potentiel de croissance ; par exemple, les rendements au niveau de la production d'ATP sont plus élevés pour des bactéries douées de respiration aérobie en comparaison à la respiration anaérobie avec fermentation. Les bactéries productrices d'acide lactique, fonctionnant de façon anaérobie, compensent cette différence en employant des quantités plus grandes de substrat pour produire l'énergie nécessaire sous forme d'ATP pour leur survie. Il s'ensuit qu'elles ont besoin de systèmes efficaces d'utilisation du substrat, lesquels seraient nécessaires à leur

survie dans des milieux où la disponibilité d'hydrates de carbone change constamment. Une plus grande utilisation de substrat aboutit aussi à une production accrue de produits cataboliques finaux dont, en particulier, le lactate. Cela reflète une autre caractéristique que partagent ces micro-organismes, c'est-à-dire une formation d'acide lactique suffisante pour produire un  $\text{pH} < 5$ . Grâce à ce trait physiologique, ces bactéries ont une grande tolérance aux environnements acides. Cela peut être un facteur important dans l'établissement de l'écologie de la plaque dentaire et des lésions carieuses.

*« La capacité de bactéries productrices d'acide lactique à fournir et tolérer une concentration relativement élevée d'acide lactique a une grande valeur sélective, puisqu'elle leur permet d'abolir la concurrence de la plupart des autres bactéries dans des environnements riches en substances nutritives. Ceci est illustré par le fait que ces bactéries lactiques peuvent être aisément enrichies de sources naturelles par l'utilisation de milieux complexes comportant une concentration élevée en sucre. De tels milieux, bien sûr, permettent la croissance de beaucoup d'autres bactéries chimio-organotrophes, mais les organismes compétiteurs sont presque totalement éliminés au fur et à mesure que se produit l'accumulation d'acide lactique, formé par l'activité métabolique de ces bactéries lactiques. »*

(Stanier et coll., 1976)

Bien que *S. mutans* partage la physiologie propre aux bactéries lactiques décrites ci-dessus, il possède aussi d'autres caractéristiques qui renforcent la thèse de son adaptation fortement spécialisée à des environnements où la disponibilité en hydrates de carbone est constante. La synthèse de polysaccharides iodophiles intracellulaires lors de périodes de surplus d'hydrates de carbone est suivie de l'utilisation postérieure de ces mêmes composés de stockage pendant les périodes

de rareté en énergie, illustre bien comment ces organismes ont développé les capacités enzymatiques qui leur permettent de s'adapter et de survivre dans ces conditions spéciales de croissance non équilibrée. Des polymères extracellulaires de remplacement, sous forme de fructosanes et de glucanes alpha-1,6, peuvent aussi avoir un rôle semblable au PSI, puisque *S. mutans* est capable de dégrader ces polysaccharides. De plus, ces organismes ont développé une pléiade d'enzymes qui sont directement impliqués dans la dégradation et le transport du saccharose, dont le système PEP-phosphotransférase qui pourrait fournir des avantages sélectifs importants. Selon Calmes (1978) :

*« La capacité de *S. mutans* et d'autres anaérobies facultatifs à persister dans le milieu buccal est au moins en partie due à leur capacité d'extraire de l'énergie pour la biosynthèse d'une grande variété d'hydrates de carbone présents dans le régime alimentaire de l'hôte. Comme Roseman (1969) l'a remarqué, le système dépendant du PEP offre plusieurs avantages physiologiques importants à ces micro-organismes qui vivent dans des niches écologiques où les conditions environnementales sont telles que la source d'énergie pour la biosynthèse et la croissance est très variée et très fluctuante. Ces avantages sont comme suit : (i) En couplant fermement le transport de sucre avec son métabolisme subséquent, les rythmes des deux processus deviennent interdépendants, permettant un contrôle fin et une adaptation rapide à des conditions environnementales variables. (ii) Si les conditions changent dans le sens où la source d'énergie devient limitée (comme dans la cavité buccale durant un jeûne), le système producteur d'énergie permet la conservation d'ATP parce que le produit de transport intracellulaire est un phosphate de sucre*

*qui peut entrer dans les voies métaboliques sans nouvelle dépense d'énergie. (iii) Pour les micro-organismes qui synthétisent et emmagasinent le PSI, le PEP participe à trois systèmes métaboliques : le transport, la glycolyse et la synthèse du PSI. En liant le catabolisme du sucre avec la biosynthèse du PSI, le PEP agit comme une clé métabolique déclenchante qui permet à la cellule d'ajuster sa physiologie entière à un environnement changeant. »*

D'autres sources potentielles d'énergie pourraient être spécifiques à la cavité buccale. Par exemple, les hydrolases glycosidiques peuvent permettre à ces bactéries de fournir des hydrates de carbone tel l'acide sialique, directement à partir de glycoprotéines salivaires. Le résultat final de ces développements complexes du métabolisme des hydrates de carbone pourrait être une susceptibilité accrue de l'induction de la carie dentaire.

Une autre condition facilitant le début d'une lésion carieuse est le contact intime entre les bactéries et la surface des dents. La propension de *S. mutans* pour la colonisation de surfaces lisses des dents semble dépendre de la disponibilité du saccharose avec la synthèse subséquente de glycanes extracellulaires. Ce système de développement de la plaque reflète encore sa physiologie spécialisée pour l'utilisation du saccharose.

D'autres bactéries de la flore de la plaque démontrent aussi plusieurs modes de comportement biochimiques mis au point par *S. mutans*. Cependant, leurs systèmes d'adhérence aux dents et leur métabolisme des hydrates de carbone pourraient être aussi divers que la flore peuplant la cavité buccale. Par exemple, *Actinomyces viscosus* présente plusieurs traits biochimiques, comme la production d'acide, qui sont semblables à ceux des bactéries lactiques, encore que leurs mécanismes d'adhérence montre une spécificité différente puisqu'il semble

s'attaquer principalement à la racine des dents. De même, des espèces de *Lactobacillus* sont potentiellement cariogènes, mais il leur manque la capacité d'adhérence et ils doivent compter sur des défauts mécaniques pour la colonisation de la structure de la dent. Par conséquent, il est difficile de déterminer le rôle précis de *S. mutans* dans le développement de la plaque cariogène puisque d'autres membres de la flore de la plaque partagent certains aspects de leur métabolisme des hydrates de carbone avec manifestation d'un potentiel cariogène dans les systèmes animaux. De plus, la flore de plaque est très complexe : elle change de population microbienne durant le développement de la plaque, elle affiche des différences d'un patient à l'autre et elle se modifie en raison des habitudes alimentaires de l'hôte. L'emplacement de la lésion carieuse doit aussi être pris en compte puisque des paramètres environnementaux différents semblent être impliqués dans le développement des lésions dans les crevasses et dans les fissures, sur des surfaces lisses, sur la surface des racines de la dent et dans les tissus dentinaires profonds. L'exposition continue de la cavité buccale aux apports de saccharose favoriserait certains micro-organismes, tel *Streptococcus mutans*, qui ont développé des systèmes enzymatiques leur permettant de fonctionner et, donc, de rivaliser efficacement dans de telles conditions de croissance non équilibrée ; la carie dentaire en serait alors le résultat adventif.

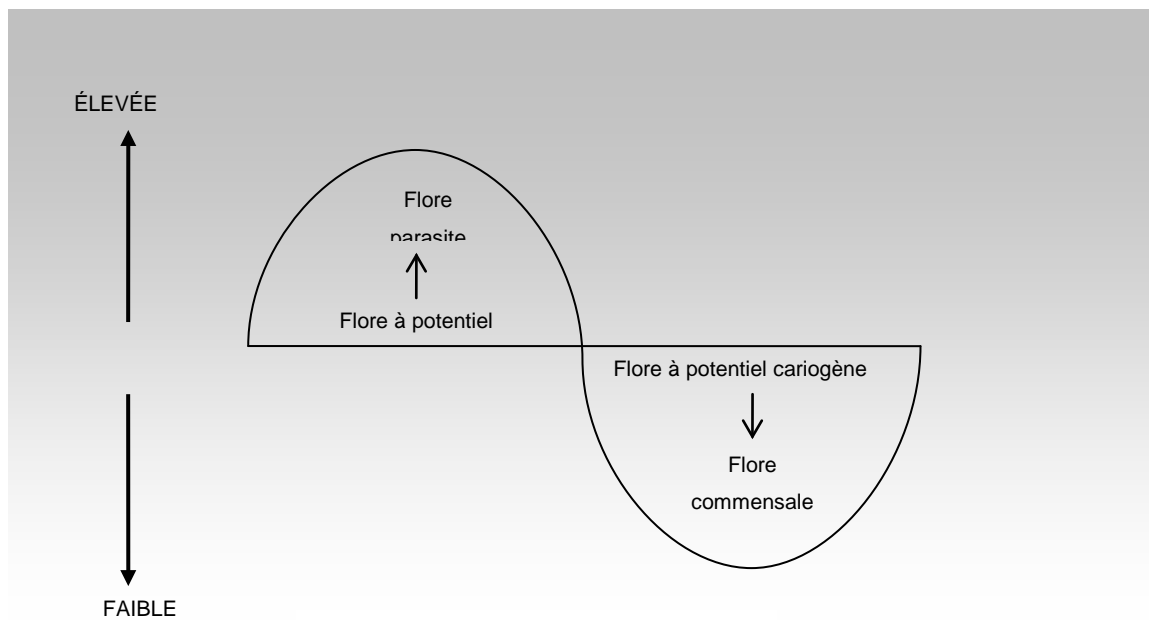
Il ressort que la disponibilité en hydrates de carbone raffinés sous forme de saccharose est un facteur significatif de sélection pour une flore cariogène (Newman et Poole, 1974). Ce stress alimentaire peut provoquer des changements de conditions environnementales qui, à leur tour, modifient la nature symbiotique de la microflore de plaque, d'un état de commensalisme ou mutualisme, à celui de parasitisme (Simon, 1960 ; Alexandre, 1971 ; Davies, 1972), dans des conditions plutôt spéciales de croissance non équilibrée (Fig. 1). On appelle **amphibiose** la position médiane entre la symbiose et l'antibiose (pathogénicité) (Rosebury, 1962) ; ce terme pourrait s'appliquer à la cariogénicité en tant que manifestation

d'un changement amphibiotique. Il en ressort que les dents peuvent constituer un véritable habitat pour cet organisme dénommé *S. mutans*.

---

**FIGURE 2 AMPHIBIOSE**

---



**Figure 2 Amphibiose**

## Bibliographie

- ALEXANDER, M. (1971): Microbial Ecology, New York, Wiley, p. 247.
- ANDREWS, K. and E. LIN (1976): Fed. Proc., 35: 2185.
- BAIRD, J., V. LONGYEAR and D. ELLWOOD (1973): Microbios, 8: 143.
- BATTISTONE, G. and G. BURNETT (1961): Arch. Oral Biol., 3: 161.
- BERKOWITZ, R., H. JORDAN and G. WHITE (1975): Arch. Oral Biol., 20: 171.
- BERKOWITZ, R. and H. JORDAN (1975): Arch. Oral Biol., 20: 725.
- BERKOWITZ, R. (1976): J. Dent. Child. 43: 192.
- BERMAN, K. and R. GIBBONS (1966): Arch. Oral Biol., 11: 533.
- BRAMSTEDT, F. and C. LUSTY (1968): Caries Res., 2: 201.
- BROWN, A. (1973): in: *Streptococcus mutans* and Dental Caries, Bethesda, NIDR, p. 33.
- BROWN, A. and C. PATTERSON (1973): Arch. Oral Biol., 18: 127.
- BROWN, A. and C. WITTENBERGER (1973): Arch. Oral Biol., 18: 117.
- BROWN, A. (1974): in: Sugars in Nutrition, New York, Academic Press, p. 689.
- BROWN, A. (1975): Nutr. Revs., 33: 353.
- CALMES, R. (1978): Infect. Immun., 19: 934.
- CARLSSON, J., G. SODERHOLM and I. ALMFELDT (1969): Arch. Oral Biol., 14: 243.
- CARLSSON, J. (1970a): " A Levansucrase from *Streptococcus mutans* ", Caries Res., 4: 97.
- CARLSSON, J. (1970b): " Nutritional Requirements of *Streptococcus mutans* ", Caries Res., 4: 305
- CESKA, M., K. GRANATH, B. NORRMAN and B. GUGGENHEIM (1972): Acta Chem. Scand., 26: 2223.
- CHASSY, B., R. BIELAWSKI, J. BEALL, E. PORTER, M. KRICHEVSKY and J. DONKERSLOOT (1974): Life Sci., 15: 1173.

- CHASSY, B., J. BEALL, R. BIELAWSKI, E. PORTER and J. DONKERSLOOT (1976): *Infect. Immun.*, 14: 408.
- CIARDI, J. (1976): in: *Immunologic Aspects of Dental Caries*, Washington, Info. Retrieval Inc., p. 101.
- CLARK, W. and R. GIBBONS (1977): *Infect. Immun.*, 18: 514.
- COWMAN, R., M. PERRELLA and R. FITZGERALD (1974): *Appl. Microbiol.*, 27: 86.
- CRITCHLEY, P. and C. SAXTON (1970): *Int. Dent. J.*, 20: 408.
- DA COSTA, T. and R. GIBBONS (1968): *Arch. Oral Biol.*, 13: 609.
- DAVIES, R. (1972): in: T. MacPhee, edit., *Host Resistance to Commensal Bacteria: The Response to Dental Plaque*, Edinburgh and London, Churchill Livingstone, p. 19.
- DE STOPPELAAR, J., J. Van Houte and O. BACKER DIRKS (1969): *Caries Res.*, 3: 190.
- DE STOPPELAAR, J., J. Van Houte and O. BACKER DIRKS (1970): *Caries Res.*, 4: 114.
- DEWAR, M. and G. WALKER (1975): *Caries Res.*, 9: 21.
- DIPERSIO, J., S. MATTINGLY, M. BIGGINS and G. SHOCKMAN (1974): *Infect. Immun.*, 10: 597.
- EDWARDSSON S. (1968): *Arch. Oral Biol.*, 13: 637.
- ENGLANDER, H. and H. JORDAN (1972): *J. Dent. Res.*, 51: 1505.
- FREEDMAN, M. and A. COYKENDALL (1975): *Infect. Immun.*, 12: 475.
- FUKUI, K., Y. FUKUI and T. MORIYAMA (1974a): *J. Bact.*, 118: 796.
- FUKUI, K., Y. FUKUI and T. MORIYAMA (1974b): *Infect. Immun.*, 10: 985.
- GEDDES, D. and G. JENKINS (1974): in: F. Skinner and J. Carr, edit., *The Normal Microbial Flora of Man*. London, Academic Press, p. 85.
- GIBBONS, R. and S. SOCRANSKY (1962): *Arch. Oral Biol.*, 7: 73.
- GIBBONS, R. and B. KAPSIMALIS (1963): *Arch. Oral Biol.*, 8: 319.
- GIBBONS, R. and S. BANGHART (1967): *Arch. Oral Biol.*, 12: 11.

- GIBBONS, R. (1968): Caries Res., 2: 164.
- GIBBONS, R. and M. NYGAARD (1968): Arch. Oral Biol., 13: 1249.
- GIBBONS, R. (1972a): Caries Res., 6: 122.
- GIBBONS, R. (1972b): in: Streptococci and Streptococcal Diseases, New York, Academic Press, p. 371.
- GIBBONS, R. (1973): in: *Streptococcus mutans* and Dental Caries, Bethesda, NIDR, p. 15.
- GIBBONS, R. and J. Van Houte (1975): Ann Rev. Med., 26: 121.
- GUGGENHEIM, B. (1968): Caries Res., 2: 147.
- GUGGENHEIM, B. and E. NEWBRUN (1969): Helv. Odont. Acta, 13: 84.
- GUGGENHEIM B. (1970): Helv. Odont. Acta, 14: 89.
- GUGGENHEIM, B. and J. BURCKHARDT (1974): Helv. Odont. Acta ” 18: 101.
- HAMILTON, I. (1977): Caries Res., 11 (suppl. 1): 262.
- HAMMOND, B. (1971): Arch. Oral Biol., 16 : 323.
- IKEDA, T., H. SANDHAM and E. BRADLEY (1973): Arch. Oral Biol., 18: 555.
- JORDAN, H., H. ENGLANDER and S. LIM (1969): JADA, 78: 1331.
- KELSTRUP, J. and T. FUNDER-NIELSEN (1974): J. Gen. Microbiol., 81: 485.
- KNUUTTILA, M. and K. MAKINEN (1972): Arch. Biochem. Biophys., 152: 685.
- KRASSE, B., H. JORDAN, S. EDWARDSSON, I. SVENSSON and L. TRELL (1968): Arch. Oral Biol., 13: 911.
- KURAMITSU, H. (1973): J. Bact., 115: 1103.
- KURAMITSU, H. (1975): Infect. Immun., 12: 738.
- LEACH, S. (1963): Nature, 199: 486.
- LEACH, S. and T. MELVILLE (1970): Arch. Oral Biol., 15: 87.
- LITTLETON, N., S. KAKEHASHI and R. FITZGERALD (1970): Arch. Oral Biol., 15: 461.
- LOESCHE, W. and C. HENRY (1967): Arch. Oral Biol., 12: 189.
- LOESCHE, W., A. WALENGA and P. LOOS (1973): Arch. Oral Biol., 18: 571.

LONDON, J. (1976): *Ann. Rev. Microbiol.*, 30: 279.

LUOMA, H. (1970): *Arch. Oral Biol.*, 15: 509.

LUOMA, H. (1974): *Arch. Oral Biol.*, 19: 709.

MARYANSKI, J. and C. WITTENBERGER (1975): *J. Bact.*, 124: 1475.

MATTINGLY, S., J. DIPERSIO, M. HIGGINS and G. SHOCKMAN (1976): *Infect. Immun.*, 13: 941.

MATTINGLY, S., L. DANEO-MOORE and G. SHOCKMAN (1977): *Infect. Immun.*, 16: 967.

McCABE, M., E. SMITH, and R. COWMAN (1973): *Arch. Oral Biol.* 18: 525.

McCABE, M. and E. SMITH (1975): *Infect. Immun.*, 12: 512.

McCABE, M. and E. SMITH (1976): in: *Immunologic Aspects of Dental Caries*, Washington, Info. Retrieval Inc., p. 111.

MELVAER, K., K. HELGELAND and G. ROLLA (1974): *Arch. Oral Biol.*, 19: 589.

MILLER, W. (1890): *The Micro-Organisms of the Human Mouth*, Philadelphia, S.S. White.

MINAH, G. and W. LOESCHE (1977a): *Infect. Immun.*, 17: 43.

MINAH, G. and W. LOESCHE (1977b): *Infect. Immun.*, 17: 55.

MUKASA, H. and H. SLADE (1974): *Infect. Immun.*, 10: 1135.

NEWBRUN, E. (1969): *J. Dent. Child.*, 36: 239.

NEWMAN, H. and D. POOLE (1974): in: F. Skinner and J. Carr, Edit., *The Normal Microbial Flora of Man*, London, Academic Press, p. 111.

NORD, C., L. LINDER, T. WADSTROM and L. INDBERT (1973): *Arch. Oral Biol.*, 18: 391.

OLSON, G., B. GUGGENHEIM and P. SMALL (1974): *Infect. Immun.*, 9: 273.

PARKER, R. and H. CREAMER (1971): *Arch. Oral Biol.*, 16: 855.

PINTER, J., J. HAYASHI and A. BAHN (1969): *Arch. Oral Biol.*, 14: 735.

PREISS, J. (1969): *Curr. Top. Cell Regul.*, 1: 125.

ROGERS, A. (1973a): *Aust. Dent. J.*, 18: 226.

ROGERS, A. (1973b): Aust. Dent. J., 18: 157.

ROSEBURY, T. (1962): Microorganisms Indigenous to Man, New York, McGraw-Hill, p. 4.

ROSEMAN, S. (1969): J. Gen. Physiol., 54: 138.

RUBY, J. and V. GERENCSEK (1973): Program and Abstracts, 51st General Meeting, IADR #593.

RUBY, J. and V. GERENCSEK (1974): J. Dent. Res., 53: 498.

SAIER, M. (1977): Bact. Revs., 41: 856.

SCALES, W., L. LONG and J. EDWARDS (1975):, Carbohydrate Res., 42: 325.

SCHACHTELE, C. (1975): J. Dent. Res., 54: 330.

SCHERP, H. (1971): Science, 173: 1199.

SHKLAIR, I., H. KEENE and L. SIMONSON (1972): J. Dent. Res., 51: 882.

SHKLAIR, I. (1973): in: *Streptococcus mutans* and Dental Caries, Bethesda, NIDR, p. 7.

SHOCKMAN, G., M. HIGGINS, L. DANELO-MOORE, S. MATTINGLY, J. DIPERSIO and B. TERLECKYJ (1976): J. Dent. Res., 55: 10.

SIMON, H. (1960): Attenuated Infection, Philadelphia, Lippincott, p. 11.

SIMS, W. (1970): JADA, 80: 1315.

STAAT, R. and C. SCHACHTELE (1974): Infect. Immun., 9: 467.

STANIER, R., M. DOUDOROFF and E. ADELBERG (1976): The Microbial World, Englewood Cliffs, Prentice-Hall, Inc., p. 679.

STREET, C. (1970): A Comparative Study of In Vitro Factors Related to Cariogenicity in Human Oral Streptococci, M.Sc. Thesis, University of Toronto.

STREET, C., M. GOLDNER and W. Le RICHE (1976): Arch. Oral Biol., 21: 273.

TANZER, J., M. KRICHEVSKY and P. KEYES (1969): J. Gen Microbiol., 55: 351.

TANZER, J. and M. KRICHEVSKY (1970): Biochim. Biophys. Acta, 215: 368.

TANZER, J. (1972): J. Dent. Res., 51: 415.

TANZER, J., B. CHASSY, and M. KRICHEVSKY (1972): *Biochim. Biophys. Acta*, 261: 379.

TANZER, J., A. BRCWN and M. McINERNEY (1973): *J. Bact.*, 116: 192.

TANZER, J. (1976): in: *Microbial Aspects of Dental Caries*, Washington, Info. Retrieval Inc., p. 583.

TERLECKYJ, B. and G. SHOCKMAN (1975): *Infect. Immun.*, 11: 656.

VAN HOUTE, J. (1964): *Arch. Oral Biol.*, 9: 91.

VAN HOUTE, J. and H. JANSEN (1968): *Arch. Oral Biol.*, 13: 827.

VAN HOUTE, J., K. WINKLER and H. JANSEN (1969a): *Arch. Oral Biol.*, 14: 45.

VAN HOUTE, J., O. BACKER DIRKS, J. de STOPPELAAR and H. JANSEN (1969b): *Caries Res.*, 3: 178.

VAN HOUTE, J., C. DE MOOR and H. JANSEN (1970): *Arch. Oral Biol.*, 15: 263.

VAN HOUTE, J. and C. SAXTON (1971): *Caries Res.*, 5: 30.

VAN HOUTE, J. and S. DUCHIN (1975): *Arch. Oral Biol.*, 20: 771.

WEISS, S., W. KING, R. KESTENBAUM and J. DONOHUE (1965): *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 131: 839.

## 7. ASPECTS BIOLOGIQUES DE LA PATHOGÉNICITÉ BUCCALE

### Résumé

Dans la sphère buccale, les bactéries ont tendance à se fixer, en sédimentant en plaques, sur la surface des dents et dans les sillons gingivaux. La « nature métabolique » de cette flore complexe converge vers des interactions réversibles entre la flore de la plaque et les changements de conditions du milieu. Ces conditions influencent la gamme des expressions *in situ* des organismes de la plaque. Cela suggère que le potentiel d'induction de la carie ou de la parodontopathie peut se développer lorsque les conditions environnementales approchent des niveaux extrêmes qui peuvent conduire à une altération du métabolisme et à l'antigénicité de certains organismes buccaux.

Dans la sphère buccale, la plaque s'accumule à la surface des dents et dans les sillons gingivaux. Ces dépôts de matière, composés essentiellement de bactéries, sont potentiellement délétères ; ils constituent le substrat de la pathogénicité buccale. Hartzell est l'auteur de la théorie moderne associant la plaque dentaire à la maladie buccale (Hartzell, 1932). L'apparition de caries dentaires et de maladies périodontiques est naturellement influencée par les conditions d'hygiène bucco-dentaire. Ces processus pathogènes dépendent de l'accumulation de la plaque dentaire. La flore résidante peut s'accroître énormément et, puisque cette masse microbienne semblable à un gel adhère à la surface de la dent, la concentration de matière de plaque aboutira éventuellement, soit à la **carie dentaire** ou bien soit la **parodontopathie** (Carlsson, 1967 ; Socransky et Manganiello, 1971 ; Socransky *et coll.*, 1972 ; Gibbons et Van Houte 1973, 1975 ; Newman et Socransky 1977 ; Socransky *et coll.*, 1977 ; Darwish *et coll.*, 1978). Le potentiel de destruction de la plaque supra-gingivale (au-dessus de l'interface dento-gingivale) conduit à des caries des surfaces occlusales et des surfaces lisses de la dent, alors que la plaque sous-gingivale (au-dessous de l'interface dento-

gingivale) produit la gingivite, la parodontopathie et des caries sur la racine des dents.

Le diagramme ci-après démontre la « nature métabolique » de la flore complexe de la plaque *in vivo*. Ce schéma se concentre sur la flore de plaque et ses modifications environnementales ; ces dernières incluent des changements de pH et de potentiel d'oxydo-réduction.

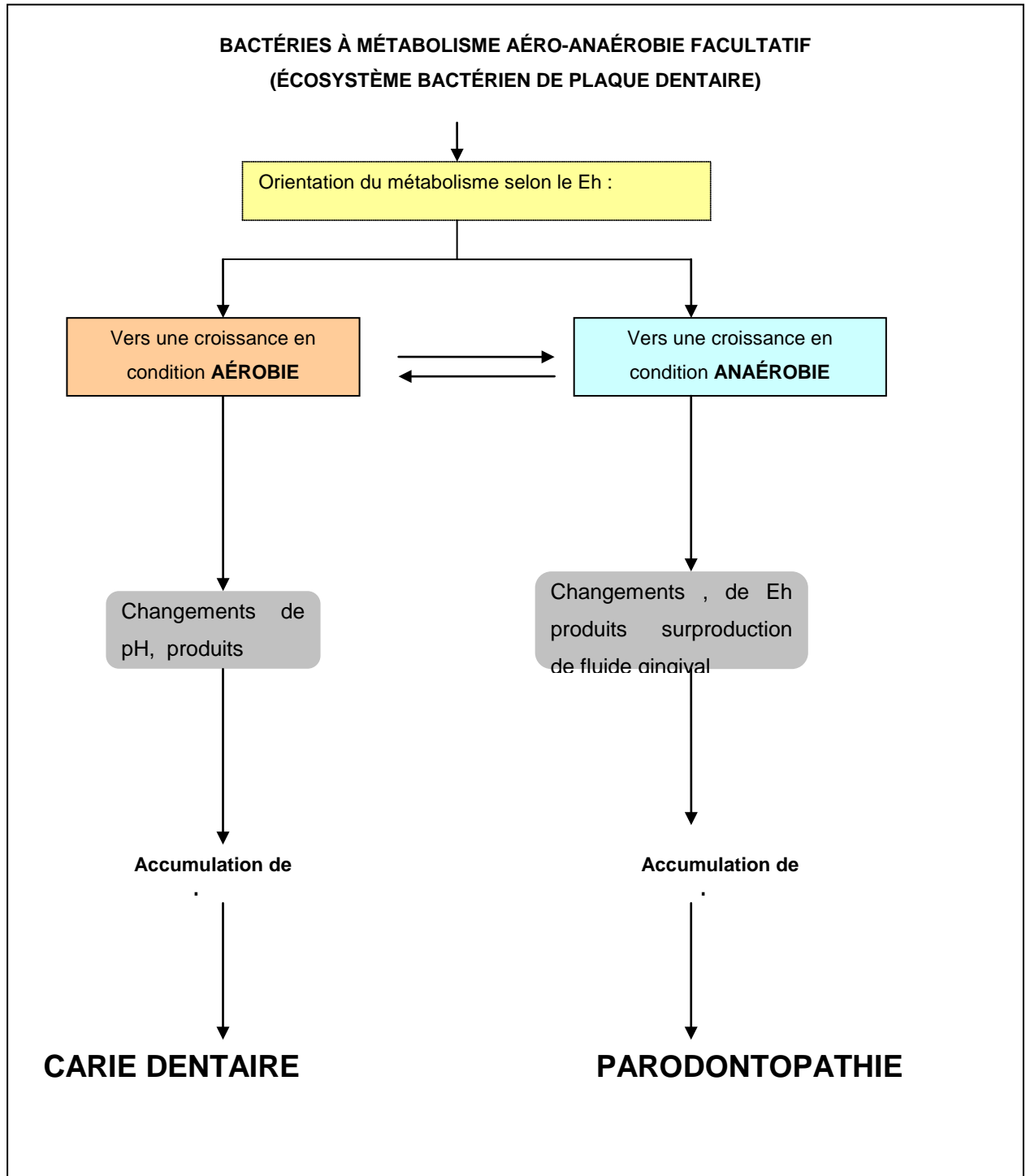
Au cours du développement de la plaque, des changements se produisent au sein de la population microbienne ; au début, elle passe d'une composition principale d'organismes à Gram positif vers une proportion considérable d'organismes à Gram négatif et d'organismes aérobies et anaérobies facultatifs. Plus tard, elle passe à une population plutôt anaérobie (Ritz, 1967, 1969). La croissance d'organismes anaérobies dépend de celle antérieure, d'organismes facultatifs qui leur fournit un milieu approprié par augmentation de l'épaisseur de plaque, (Ritz, 1967), ce qui conduit rapidement au développement d'une flore de plaque complexe. Le problème souligne de façon marquée la variabilité des populations de la plaque et leur interdépendance (Ritz, 1967 ; Poole et Gilmour, 1971 ; Socransky et Manganiello, 1971).

Au fil des ans, beaucoup d'études se sont intéressées à l'écologie de la flore buccale, c'est-à-dire à la distribution des types et des quantités de bactéries présentes dans la région buccale (Krasse, 1954 ; Gibbons *et coll.*, 1963 ; Socransky *et coll.*, 1963 ; Gibbons *et coll.*, 1964 ; Socransky *et coll.*, 1977).

Toutefois, il reste encore quelques organismes buccaux à cultiver (par exemple les spirochètes) ou à déterminer (Socransky et Manganiello, 1971 ; Beveridge et Goldner, 1973 ; Newman et Socransky, 1977 ; Socransky *et coll.*, 1979). Des interactions spécifiques entre des bactéries buccales et des polymères salivaires produits (Guggenheim et Schroeder, 1967 ; Gibbons et Nygaard, 1968, 1970 ; Gibbons et Fitzgerald, 1969 ; Gibbons et Spinell, 1970 ; Hillman *et coll.*, 1970)

facilitent l'adhérence des bactéries à la surface de la dent et l'adhérence inter-bactérienne dans la plaque. Mais, comme on l'a observé, le matériel de plaque varie largement en quantité totale, en types de bactéries cultivables et en terme de distribution des micro-organismes (Gibbons *et coll.*, 1963 ; Socransky *et coll.*, 1963 ; Poole et Gilmour, 1971 ; Socransky et Manganiello, 1971). Cependant, dans la région buccale, les bactéries s'adaptent au milieu, se donnent une cohésion (Löe *et coll.*, 1965 ; Franc et Houver, 1970 ; Schroeder et Deboever, 1970 ; Theilade et Theilade, 1970 ; Eastcott et Stallard, 1973 ; Listgarten *et coll.*, 1975 ; Listgarten, 1976) et induisent la formation d'une plaque.

**FIGURE 3. ORIENTATION DE LA PATHOGENIE SELON LE METABOLISME RESPIRATOIRE BACTERIEN**



Au départ, les diverses espèces de flore buccale coexistent en un rapport symbiotique (Rosebury, 1962). Chaque type d'organisme doit posséder une quelconque propriété d'adhérence aux tissus ou compter sur l'adhérence à un autre organisme pour arriver à cette fin. Les organismes de la plaque peuvent correspondre alors à la définition d'un commensal (Davies, 1972), tel *Streptococcus mutans* (Qureshi *et coll.*, 1977 ; Ruby *et coll.*, 1978). Cependant, il peut se produire un changement important lorsque le milieu créé par la concentration de ces organismes au site de la plaque (voir le diagramme) atteint une composition critique favorisant leur transition vers la pathogénicité. La plaque représente après tout une variété importante de micro-organismes présents dans des infections dentaires et gingivales et qui sont soumis à des facteurs environnementaux variés, mais influents.

Les organismes de la plaque tirent simultanément leurs nutriments d'une source exogène, le régime alimentaire, et d'une source endogène, des produits du métabolisme microbien et des produits des cellules du tissu local. L'entrée et le catabolisme d'hydrates de carbone et de substances azotées seraient plus rapides que la diffusion de produits métaboliques de la plaque dans la salive environnante (Kleinberg *et coll.*, 1961, 1970). Le liquide du sillon gingival pourrait aussi ajouter sa contribution à l'interface dento-gingivale. À la suite de ces interactions, la gamme d'expression *in situ* pour un micro-organisme qui présente un potentiel pathogène buccal peut s'approcher de conditions environnementales extrêmes que l'on peut reproduire *in vitro*. Quel est alors le rapport entre le changement des conditions dans le milieu buccal (conditions physico-chimiques, biochimiques, alimentaires) et les caractéristiques de l'espèce microbienne dans la plaque ? Les conditions qui résultent de l'activité métabolique d'ensembles d'organismes prédominants à des sites de plaque donnés pourraient mener à la modification du métabolisme et de l'antigénicité, en fonction d'un micro-organisme buccal particulier. Ce concept peut s'appliquer à une réalité pathogène fondamentale de

la maladie bactérienne (Meynell, 1961 ; Woods et Foster, 1964). Ainsi, l'émergence de micro-organismes spécifiques en tant qu'agents étiologiques d'infections dentaires et gingivales (Fitzgerald et Keyes, 1960 ; Zinner *et coll.*, 1964 ; Gibbons *et coll.*, 1966 ; Krasse, 1966 ; Socransky, 1970 ; Socransky *et coll.*, 1970 ; Socransky *et coll.*, 1979) devient envisageable même si la population de la plaque varie de façon marquée (Poole et Gilmour, 1971 ; Socransky et Manganiello, 1971).

La recherche sur l'étiologie de la carie dentaire a identifié certaines souches de streptocoques comme inducteurs de carie, conformément à la théorie acide du développement de la carie (Miller, 1890 ; Orland *et coll.*, 1955). Dans ce cas, les facteurs environnementaux extrêmes seraient les concentrations élevées de saccharose disponible dans le milieu buccal et le faible pH atteint lors de la cariogénèse (Graf et Mühlemann, 1966). Des concentrations élevées de saccharose sont atteintes par intermittence dans le milieu buccal, ce qui favorise la production de polysaccharides pour la réserve d'énergie (lévanes et polyglycannes solubles) et l'implantation bactérienne (polyglycannes insolubles) (Gibbons et Socransky, 1962 ; Berman et Gibbons, 1966 ; Gibbons et Banghart, 1967 ; Gibbons et Nygaard, 1968 ; Carisson, 1970 ; Baird *et coll.*, 1973 ; Brown, 1975). Ainsi, des micro-organismes cariogènes (*Streptococcus mutans* étant le prototype) pourraient survivre dans des milieux où la disponibilité en hydrates de carbone varie constamment. Cependant, quel est l'état des micro-organismes cariogènes dans des conditions acides ? On a établi que pour des streptocoques en fermentation active, (*Streptococcus lactis* étant l'organisme de référence), les cellules accumulent des concentrations substantielles de substances nutritives (en particulier des bêta-galactosides) à un pH bas. À partir d'une accumulation antérieure en milieu acide (pH 4), des expériences d'assimilation ont montré que des sources de leucine et d'uracile faisaient partie de l'association métabolique, comme l'indique le retour à la synthèse macromoléculaire, immédiatement après

un rétablissement du pH optimal (pH 6), en l'absence de précurseurs externes (Desai et Goldner, 1969, 1970 [1972]). Dans le développement de conditions acides, il peut se produire une ruée sur les hydrates de carbone accumulés, limitant la synthèse des protéines (Nakeda et Magasanik, 1964) pour favoriser la stabilisation de la cellule (Gale et Epp, 1942 ; Gale, 1943 ; Harvey, 1965 ; Thomas et Batt, 1968 ; Kashket et Wong, 1969), ce qui laisse à penser que ce type de situation pourrait se manifester avec des micro-organismes cariogènes. Au sein de la plaque, cela pourrait avoir comme effet net de promouvoir la survie de l'agent bactérien en conditions défavorables.

Lors du développement de la parodontopathie, il semble se produire un autre type de situation puisqu'il s'agit des implications des réactions immuno-pathologiques (Genco, 1970 ; Mergenhagen et Snyderman, 1971 ; Page et Schroeder, 1976). Dans cette situation, un nouvel exemple de conditions environnementales extrêmes sera l'importance de la réduction du Eh associé à la région gingivale dans la parodontopathie (Onisi *et coll.*, 1960 ; Kenny et Ash, 1969 ; Drewell et Goldner, 1978). Quel serait alors l'état des organismes inducteurs de la parodontopathie en situation anaérobie ? En utilisant certaines bactéries (des corynébactéries et des actinomycètes, par exemple), l'effet du Eh, une variable critique dans le secteur du sillon gingival, évolue vers un état immunogène des organismes. On a établi une relation entre un faible titre homologique d'agglutination et une réaction fortement positive d'anaphylaxie cutanée passive selon la variation du Eh équilibré et selon les conditions de culture des souches étudiées (Jayawardene et Goldner, 1975). Cela tend à démontrer que quelques micro-organismes anaérobies peuvent être capables d'un changement d'immunogénicité sous l'influence de diverses conditions d'oxydoréduction. L'inférence ici est que dans le milieu de la plaque, l'effet du stress environnemental pourrait s'exprimer par une modification de l'antigénicité et de la réactivité tissulaire.

Des changements de population microbienne se produisent au cours du développement de la plaque dentaire. Cela souligne la variabilité marquée et le milieu dynamique de populations microbiennes de la plaque. L'impact de ces conditions buccales influencera la gamme d'expressions *in situ* pour les micro-organismes de la plaque. Les pathogènes potentiels buccaux, cariogène ou périodontolytique, fonctionnent probablement comme pathogènes lorsque les conditions environnementales approchent des niveaux extrêmes qui peuvent conduire à une modification du métabolisme et de l'antigénicité.

## **Bibliographie**

1. Baird, J., Longyer, V., Ellwood, D. C.: *Microbios* 8, 143 (1973).
2. Berman, K. S., Gibbons, R. J.: *Arch. Oral Biol.* 11, 533 (1966).
3. Beveridge, T. J., Goldner, M.: *Antonie van Leeuwenhoek* 39, 169 (1973).
4. Brown, A. T.: *Nutr. Rev.* 33, 353 (1975)
5. Carlsson, J.: *Odont. Revy* 18, 55 (1967).
6. Carlsson, J.: *Caries Res.* 4, 97 (1970).
7. Darwish, S., Hyppa, T., Socransky, S. S.: *J. Periodontol Res.* 13, 1 (1978).
8. Davies, R.: p. 19 in *Host Resistance to Commensal Bacteria: The Response to Dental Plaque* (T. MacPhee, Ed.). Churchill Livingstone, Edinburgh and London (1972).
9. Desai, P. D., Goldner, M.: *J. Bacteriol.* 100, 1415 (1969).
10. Desai, P. D., Goldner, M.: *Can. J. Publ. Hlth.* 63, 75 (1972).
11. Drewell, L. J., Goldner, M.: *Abst., III Intern. Symp. (Biologically Active Products of Microorganisms in Pathogenesis of Human Diseases)*, Prague-Liblice Castle, Czechoslovakia (1978).
12. Eastcott, A. D., Stallard, R. E.: *J. Periodontol.* 44, 218 (1973).
13. Fitzgerald, R. J., Keyes, P. H.: *J. Amer. Dent. Assoc.* 61, 9 (1960).
14. Frank, R. M., Houver, G.: p. 85 in *Dental Plaque* (W. D. McHugh, Ed.), E. and S. Livingstone, Edinburgh (1970).
15. Gale, E. F., Epps, H. M. R.: *Biochem. J.* 36, 600 (1942).
16. Gale, E. F.: *Bacteriol. Rev.* 7, 139 (1943).
17. Genco, R. J.: *J. Periodontol.* 41, 196 (1970).
18. Gibbons, R. J., Socransky, S. S.: *Arch. Oral Biol.* 7, 73 (1962).
19. Gibbons, R. J., Socransky, S. S., Sawyer, S., Kapsimalis, B., MacDonald, J.B.: *Arch. Oral Biol.* 8, 281 (1963).
20. Gibbons, R. J. Socransky, S. S., de Araujo, W. C., Van Houte, J.: *Arch. Oral Biol.* 9, 365 (1964).

21. Gibbons, R. J., Berman, K. S., Knoettner, P., Kapsimalis, B.: Arch. Oral Biol. 11, 549 (1966).
22. Gibbons, R. J., Banghart, S. B.: Arch. Oral Biol. 12, 11 (1967).
23. Gibbons, R. J., Nygaard, M.: Arch. Oral Biol. 13, 1249 (1968).
24. Gibbons, R.J., Fitzgerald, R.J.: J. Bacteriol. 98, 341 (1969).
25. Gibbons, R.J., Nygaard, M.: Arch. Oral Biol. 15, 1397 (1970).
26. Gibbons, R.J., Spinell, D. M.: p. 207 in Dental Plaque (W. D. McHugh, Ed.), E. and S. Livingstone, Edinburgh (1970).
27. Gibbons, R.J., Van Houte, J.: J. Periodontol. 44, 347 (1973).
28. Gibbons, R.J. Van Houte, J.: Ann. Rev. Microbiol. 29, 19 (1975).
29. Graf, H., Mühlemann, H. R.: Helv. Odont. Acta 10, 94 (1966).
30. Guggenheim, B., Schroeder, H. E.: Helv. Odont. Acta 11, 131 (1967).
31. Hartzell, T. B.: J. Amer. Dent. Assoc. 19, 260 (1932).
32. Harvey, R.J.: J. Bacteriol. 90, 1330 (1965).
33. Hillman, J.D. Van Houte, J. Gibbons, R. J.: Arch. Oral Biol. 15, 899 (1970).
34. Jaywardene, A., Goldner, M.: Antonie van Leeuwenhoek 41, 533 (1975).
35. Kashket, E. R., Wong, P. T. S.: Acta 193, 212 (1969).
36. Kenney, E. B., Ash, M. M., Jr.: J. Periodontol. 40, 630 (1969).
37. Kleinberg, I.: J. Dent. Res. 40, 1987 (1961).
38. Kleinberg, I.: Intern. Dent. J. 20, 451 (1970).
39. Krasse, B.: Odont. Rev. 5, 203 (1954).
40. Krasse, B.: Arch. Oral Biol. 11, 429 (1966).
41. Listgarten, M. A., Mayo, H. E., Tremblay, R.: J. Periodontol. 46, 10 (1975).
42. Listgarten, M. A.: J. Periodontol. 47, 1 (1976).
43. Løe, H., Theilade, E., Jensen, S. B.: J. Periodontol. 36, 177 (1965).
44. Mergenhagen, S. E., Snyderman, R.: J. Infect. Dis. 123, 676 (1971).
45. Meynell, G. G.: Soc. Gen. Microbiol. Symp. 11, 174 (1961).
46. Miller, W. D.: S. S. White and Co., Philadelphia (1890).
47. Nakada, D., Magasanik, B.: J. Mol. Biol. 8, 105 (1964).

48. Newman, M. G., Socransky, S. S.: *J. Periodontal Res.* 12, 120 (1977).
49. Onisi, M., Kondo, W., Horiuchi, I., Uchiyama, Y.: *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.* 7, 160 (1960).
50. Orland, F. J., Blayney, I. R., Harrison, R. W., Reyniers, J. A., Tresler, P. C., Ervin, R. F., Gordon, H. A., Wagner, M.: *J. Amer. Dent. Assoc.* 3, 259 (1955).
51. Page, R. C., Schroeder, H.E.: *Lab. Invest.* 34, 235 (1976).
52. Poole, A. E., Gilmour, M. N.: *Arch. Oral Biol.* 16, 681 (1971).
53. Qureshi, J. V., Goldner, M., le Riche, W. H., Hargreaves, J. A: *Caries Res.* 11, 141 (1977).
- 54 Ritz, H. L.: *Arch. Oral Biol.* 12, 1561 (1967).
55. Ritz, H. L: *Arch. Oral Biol.* 14, 1073 (1969).
56. Rosebury, T.: McGraw-Hill, New York 1962.
57. Ruby, J. D., Goldner, M., Hargreaves, J. A.: *Rev. Can. Biol.* 37, 273 (1978).
58. Saxton, C. A.: *Carles Res.* 7, 102 (1973).
59. Schroeder, H. E., DeBoever, J.: p. 49 in *Dental Plaque* (W. D. McHugh, Ed.), E. and S. Livingstone, Edinburgh 1970.
60. Socransky, S. S., Gibbons, R.J., Dale, A.C., Bortnik, L., Rosenthal, E., MacDonald, J.B.: *Arch. Oral Biol.* 8, 275 (1963).
61. Socransky, S. S.: *J. Dent. Res.* 49, 203 (1970).
62. Socransky, S. S., Hubersak, C., Propas, D: *Arch. Oral Biol.* 15, 993 (1970).
63. Socransky, S. S., Manganiello, A. D.: *J. Periodontol.* 42, 485 (1971).
64. Socransky, S. S., Manganiello, A. D., Propas, D., Oram, V., Van Houte, J.: *J. Periodontal Res.* 12, 90 (1977).
65. Socransky, S. S., Holt, S. C. Leadbetter, E. R., Tanner, A. C. R., Savitt, E., Hammond, B. F.: *Capnocytophaga: Arch. Microbiol* 122, 29 (1979).
66. Theilade, E., Theilade, J.: p. 27 in *Dental Plaque* (W. D. McHugh, Ed.), E. and S. Livingstone, Edinburgh (1970).
67. Thomas, T. D., Batt, R D.: *J. Gen. Microbiol.* 50, 367 (1968).
68. Woods, D. D., Foster, M. A.: *Soc. Gen. Microbiol. Symp.* 14, 30 (1964).

69. Zinner, D. D., Aran, A. P., Jablon, J. M., Brust, B., Saslaw, M. S.: Abst., J. Dent. Res. (Suppl.) 43, 859 (1964).

## 8. NOTE D'INTRODUCTION SUR LA CORRÉLATION ENTRE LES ASPECTS MOLÉCULAIRES ET CLINIQUES DES INFECTIONS

Il est devenu évident que l'interaction entre un agent infectieux et son hôte de prédilection met en exergue le lien entre les capacités génétiques du micro-organisme pathogène et l'influence de l'environnement sur son hôte spécifique. Un pathogène peut être imaginé comme inclus dans un cycle interrompu d'émergences impliquant son patrimoine d'ADN. En ce sens, un pathogène peut augmenter ou atténuer sa virulence à n'importe quel moment ; mais en des termes de potentialité d'infection et de conséquence sur la sévérité de la maladie, le point essentiel devient les besoins *in situ* du pathogène. Ceci est nécessaire pour le développement de l'infection au sein de la maladie. La tentative de description de la contribution *in situ* de l'environnement est complexe, car les conditions qui régissent la pathogénicité changent continuellement. En conséquence, les détails issus d'observations cliniques devraient être mis en œuvre grâce à de nouvelles investigations expérimentales de pathogénicité. Les commentaires suivants apportent une appréciation et encouragent à s'intéresser à la question de la pathogénicité sous un angle équilibré. Les différents commentaires qui suivent, proviennent de présentations issues du Colloque de la Société Stanier du 11 mai 2001 en la Faculté de Médecine de l'Université de Montréal, à Saint-Hyacinthe dans la Province du Québec, Canada. Les résumés des présentations font suite à ce présent commentaire (page 31 à 33).

Mahmoud Rouabhia (Un modèle alternatif pour élucider l'interaction entre l'hôte et les micro-organismes dans la cavité buccale) essaie simplement de recenser les conditions liées à l'hôte comme il décrit les obstacles naturels rencontrés par *Candida albicans* en tant que levure pathogène. Ingénieusement, il

a construit un modèle expérimental de muqueuse buccale qui expose le pathogène en première ligne vis-à-vis d'un épithélium buccal soutenu par une sous-couche d'une matrice de fibroblastes. L'influence de la couche épithéliale est déterminante, particulièrement comme elle influence la constitution d'un équilibre entre des facteurs pro et anti-inflammatoires qui visent à empêcher l'infection en maintenant l'intégrité de l'hôte.

Terry J. Beveridge (Les propriétés structurelles et physiques des surfaces bactériennes et leur implication dans la pathogénicité) note les caractéristiques de surface qui influencent le pouvoir invasif de la bactérie pathogène chez son hôte. Ces observations révèlent que la surface du pathogène apparaît être plus qu'un défi pour l'hôte.

Avec de hautes technologies de microscopie, telles la microscopie cryo-électronique et la microscopie de résolution atomique, l'observateur a appris à apprécier et à développer une compréhension des mouvements dans l'espace à l'échelle nanométrique comme ceux des vésicules externes de membrane qui sont de prodigieux antagonistes pour des constituants de surface bactérienne. En fait, la complémentarité entre la surface bactérienne et celle de la surface des cellules de l'hôte, à l'échelle de l'évolution bactérienne semble presque élémentaire même comparée avec le niveau de sophistication de l'hôte.

Jean Barbeau (Le dentier a rapproché la stomatite avec le paradigme des biofilms buccaux) démontre le parallélisme existant entre la plaque dentaire et les biofilms. La comparaison est dirigée au travers du concept classique de la plaque dentaire qui a conduit à l'étude des infections buccales et à une compréhension moderne sous l'angle d'un écosystème bactérien précurseur à la formation d'un biofilm. L'engouement actuel pour les biofilms intéresse plusieurs domaines de la bactériologie, soit en relation avec leur hôte, soit isolément. Par cette action, l'hôte répondra afin d'échapper à une infection potentielle, mais l'inflammation a

tendance à augmenter simultanément la capacité de la plaque à renforcer le statut de colonisation ce qui caractérise le paradigme du biofilm.

John Ruby (Identification génétique des bactéries et leur association symbiotique avec la maladie buccale), au moyen de modèles de génotypage très sophistiqués, met en exergue les échanges entre les micro-organismes buccaux. Au moyen de techniques pertinentes, il montre les intrications régissant leur transmission et évalue les pressions sur la diversité clonale. Alors, à un niveau d'organisation supérieur, une espèce pourra atteindre un état de prédominance et acquérir un possible rôle pathogène.

Ces investigations fines permettront de savoir comment un écosystème bactérien telle la flore buccale, puisse se constituer. Après cette investigation pertinente, on s'attend à ce que les principes sous-jacents de cet écosystème deviennent apparents. En effet, comme tels qu'ils sont exprimés dans le rapport symbiotique entre l'hôte et les associations bactériennes, ces principes devraient discerner les conditions, ou de l'innocuité, ou bien de la maladie, qui orienteront soit vers le commensalisme, soit vers la pathogénie.

James G. Fox (Épidémiologie du genre *Helicobacter*. Une optique de santé publique et clinique sur un groupe important de pathogènes gastro-intestinaux) livre une vraie révélation quant à l'histoire naturelle des *Helicobacter species*. Lorsqu'il s'intéressa au monde microbien, la controverse instaurée quant à la relation de cause à effet entre *Helicobacter pylori* et l'ulcère gastro-duodéal au sein de la population, fut en effet un enseignement impossible à oublier. Selon des études récentes, cette pathologie qui semblait jusqu'alors concerner uniquement *Helicobacter pylori*, s'est élargie, non seulement eu égard à l'ulcère gastro-duodéal, mais aussi parce qu'un nombre croissant d'espèces d'*Helicobacter* est trouvé aussi bien dans le tractus digestif humain que de celui de certains animaux. Par analogie avec l'hépatite, il a été démontré que ces deux infections peuvent

aboutir à des carcinomes. Ces découvertes ont ouvert un intérêt inattendu dans la répartition et la diversité de l'espèce et plus directement, pour le traitement antibiotique. Évidemment, cette interrogation exigera des efforts de recherche soutenus afin de fournir les explications qui mèneront aux corrélations entre les aspects moléculaires et cliniques de ces infections.

Paul S. Hoffmann (Les études génomiques fonctionnelles d'*Helicobacter pylori* : applications à la biologie, la thérapie et aux vaccins) est prêt, comme pour initier, à répondre au besoin d'approfondir les aspects moléculaires de l'infection et de rechercher de futures corrélations entre les aspects moléculaires et cliniques de l'infection par *Helicobacter sp.* Les techniques les plus récentes par études génomiques comparatives ont révélé l'unicité et peut-être l'adaptabilité inattendue de cette espèce pathogène remarquable devenue si importante en une si brève période. En exploitant la connaissance acquise lors de telles études génomiques complexes telle la soustraction de gène et l'étude d'interaction de protéine à protéine, les études génomiques fonctionnelles issues du puissant outil de la bio-informatique, ont permis la découverte de surprenantes notions, en particulier en ce qui concerne les gènes contrôlant le métabolisme énergétique. Il apparaît qu'*Helicobacter pylori* pourrait être plutôt autonome en ce qui concerne son environnement. Surveillons ce sujet car il y aura davantage encore à découvrir !

Patrick Boerlin (Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries porcines) nous confronte à la réalité de la résistance aux antibiotiques en rapport avec l'utilisation intensive de ceux-ci. Avec ces études chez le cochon, cette résistance est particulièrement démontrée comme préoccupante parmi les animaux d'élevage, particulièrement dans la perspective de la diffusion mondiale de résistances et la récente interdiction des antibiotiques en tant que promoteurs de croissance. Les modèles de résistance qui sont illustrés en ces circonstances placent leur légitimité sur la transférabilité des gènes. Ces situations modifient la

flore normale pour ce qui concerne la diffusion de souches résistantes qui ont tendance à être régulièrement isolées aussi bien, avec ou sans agent sélectif. Cette importante étude impliquant l'entérocoque multirésistant d'une part et d'autre part *Escherichia coli* multirésistant, démontre que la flore normale est un immense réservoir de portage du gène de l'intégrase, ne laissant aucun doute quant à la transférabilité de gènes de résistances. Leurs effets délétères ont été prouvés par des infections symptomatiques chez des animaux domestiques et par leur transfert chez l'homme.

Marcel A. Behr (Épidémiologie moléculaire de la tuberculose chez l'homme et le bétail) nous renseigne avec éloquence sur les méthodes de typage moléculaire qui ont été développées pour répondre à des questions épidémiologiques concernant *Mycobacterium tuberculosis*. Ces techniques exploitent en particulier les séquences d'insertion génomique qui ont été à l'origine du choix de typage des *Mycobacterium sp* par leurs empreintes moléculaires.

Les limites des méthodes de typage précédentes ont abouti à un besoin impérieux en nouvelles techniques. Les techniques moléculaires utilisées dans l'étude de l'épidémiologie de la tuberculose permettent de mieux appréhender le contrôle de la maladie, y compris celui des questions épizootiques et ont amélioré notre capacité à appréhender des cas cliniques isolés avec des techniques phénotypiques spécifiques. Ces résultats remarquables ont amélioré les outils des épidémiologistes pour détecter les souches les plus « virulentes » parmi celles qui prédominent. Des méthodes modernes ont aussi été appliquées pour étudier des mutants naturellement atténués comme ceux utilisés avec le bacille de Calmette et Guérin (BCG) vaccinal. Le progrès réside dans la manifestation d'un meilleur contrôle de la maladie et surtout, dans l'obtention d'informations sur le contenu du gène ; ainsi, la recherche de la corrélation entre les caractéristiques moléculaires et le profil clinique associé devient davantage utile et utilisable.

Comment soulignons-nous la corrélation entre les découvertes moléculaires et le tableau clinique ? On ne connaît que l'état présent du micro-organisme pathogène vu comme évident, insidieux, émergeant ou réémergeant et il est admis que cette connaissance devra s'étendre aux processus fondamentaux jusqu'à l'expression clinique. À mesure que deviendront réalisables les recherches en pathogénicité fondamentale et clinique, viendront en étroite association la résolution des mêmes problèmes et associeront étroitement la potentialité avec la réalité du pathogène. La légitimité de ces méthodes naîtra probablement lorsque les études moléculaires seront confrontées au tableau clinique. Un tel concept invite à s'intéresser à la fois au génome et à l'environnement.

## 9. THÉORIE DU MODULON DE VIRULENCE DE LA PATHOGENÈSE

### Concepts de biologie théorique

#### Introduction

Le processus pathogène implique des interactions multiples entre le micro-organisme parasite et l'hôte. La virulence qui en résulte peut se dépeindre en termes de toxigénicité, de pouvoir envahissant et de communicabilité. Les propriétés inhérentes des pathogènes ; tropisme, adhérence, résistance, multiplication, toxicité ; menant à un état de maladie sont maintenant bien connues, mais il est essentiel de ne pas perdre de vue la capacité des micro-organismes à produire la maladie pour comprendre leur potentiel dynamique. Cela signifie que l'on doit bien comprendre leur action au sein de l'hôte afin de pouvoir établir le lien en terme moléculaire avec la conception traditionnelle.

L'explication suggérée en ce qui concerne la capacité du pathogène à surmonter la résistance de l'hôte est que les pressions sélectives ont mené à l'évolution de systèmes spécialisés de régulation de l'expression des facteurs de virulence. Des systèmes régulateurs sont capables de répondre à une gamme variée de signaux en provenance du milieu en tant que mécanismes de détection et de régulation développés en accord avec les principes de l'homologie conservée (Albright *et coll.*, 1989). On pense que ces systèmes régulateurs pourraient jouer un rôle important dans la pathogenèse. On considère que les nombreux facteurs de virulence qui agissent durant les étapes d'une infection spécifique et la maladie subséquente, appartiennent à un réseau de régulation globale capable de moduler leur expression au moyen de régulateurs communs en réponse aux conditions du milieu (Miller *et coll.*, 1989).

Du point de vue du stimulus et de la réponse, on peut considérer le phénomène de virulence comme étant différent dans ce rapport de la norme physiologique,

puisque le stimulus perpétue de lui-même une réponse qui reste variable et incertaine, ce qui met de nouveau en relief le rôle de ce potentiel dynamique. Le défi est de demeurer conscient et informé de ces conditions dans la pathogénèse. Cela conduit alors à une vision de la virulence en termes *de modulon de virulence* (Marrett *et coll.*, 1994), qui détermine le cheminement ou le circuit réel qui est nécessaire pour révéler l'état de l'antigène dans les conditions environnementales qui se produisent dans un rapport parasite-hôte naturel. Cette idée implique que l'expression antigénique différentielle est responsable de la dynamique de ces phénotypes. Les enzymes existants (membranes et organites) témoignent de l'influence qu'exercent sur le pathogène les conditions environnementales de l'infrastructure qui sera modifiée en conséquence. Puisque le milieu définit l'expression des produits *in situ* de plusieurs gènes, cette modulation antigénique doit évidemment favoriser la virulence du produit contribuant à son état pathogène (Lacey, 1960, 1961). À cet égard, le *modulon de virulence* constitue la relation entre les régimes de distribution, d'enregistrement et de production à l'intérieur de l'organisation du pathogène pour l'expression particulière d'un déterminant de virulence.

### **Raisonnement**

Il est probable que des rajustements fréquents des régimes de distribution, d'enregistrement et de production se produisent sous l'influence du milieu. Des indications relatives à l'équilibre ionique, à la concentration en ions hydrogène et au potentiel d'oxydoréduction aident à concentrer la production d'énergie en faveur du facteur de pathogénicité ; cela pourrait, en fin de compte, susciter la conclusion que des changements de gradient électrochimique peuvent permettre de prédire à quel mode de virulence il faut s'attendre (Knapp et Mekalanos, 1988 ; Marrett *et coll.*, 1994). Il est intéressant de noter qu'il paraît possible qu'une aptitude potentiellement avantageuse puisse être intégrée par une population de

micro-organismes comme aptitude inhérente, même si la chose peut s'avérer temporairement désavantageuse (Godwin et Slater, 1979). Cependant, il semble qu'une série de détecteurs dans les micro-organismes leur permet de produire une réponse rapide et coordonnée aux changements perçus dans le milieu (Albright *et coll.*, 1989) et en fait, il existe un réglage précis de la coordination entre le métabolisme microbien et l'expression des gènes (Danchin, 1987). Dans ce contexte, les études sur la régulation dans le domaine pathobiologique doivent tenir compte des conditions présentes dans les tissus de l'hôte (Griffiths, 1981 ; Miller *et coll.*, 1989), puisqu'il est nécessaire de prendre en compte les conditions exactes qui permettent l'expression spécifique de la virulence (Goldner, 1984). On peut voir, dans les conversions de conditions anaérobies vers aérobies, un exemple frappant de l'influence du milieu. Celles-ci simulent *in vivo* des conditions environnementales où des études sur l'effet du potentiel oxydoréducteur, en corrélation avec une production accrue d'acide ribonucléique, démontrent une capacité antigénique dans des réactions anaphylactiques (Jayawardene et Goldner, 1975, 1977). De plus, d'autres études ont démontré que des niveaux d'oxydoréduction différents aussi bien que les changements qu'ils entraînent à la surface du pathogène potentiel peuvent aider à discerner le commensal du pathogène (Goldner *et coll.*, 1993). En fait, l'adaptabilité des micro-organismes à diverses sources d'énergie représente probablement un avantage décisif (Stanier, 1953). Dès lors, le rapport entre la disponibilité de l'énergie et l'aptitude à l'utiliser, permet vraisemblablement l'expression de certains facteurs de pathogénicité et constitue une partie d'un système de signalisation intégré pour les gènes qui subissent l'influence du niveau de potentiel d'oxydoréduction. Ce potentiel d'oxydoréduction, en tant que facteur d'influence, figure alors dans plusieurs catégories de paramètres environnementaux pour la croissance microbienne, lesquels incluent l'équilibre ionique, la concentration en ions hydrogène, la disponibilité de sources d'énergie, l'osmolarité et la température.

Divers signaux environnementaux sont perçus pendant le cycle infectieux et les systèmes de traitement de l'information dirigeront la régulation globale de la pathogénicité. Donc, les micro-organismes s'adapteront à des situations qui induisent leur comportement en tant que pathogènes. Parfois, pour des raisons expérimentales, on insère de l'information génétique dans des organismes apparemment inoffensifs, ce qui se traduit par une caractéristique atypique (Bielecki *et coll.*, 1990). Cela peut aussi se produire naturellement, dans le cas, par exemple, d'infections tirées de la flore normale ou d'infections opportunistes. Les micro-organismes en question doivent être soumis aux influences environnementales qui reflètent leur participation dans diverses situations cliniques, et tout particulièrement à celles qui se concentrent sur la virulence associée aux bactéries pathogènes (Goldner, 1984). Dans cet ordre d'idée, on a conçu des facteurs associés à la virulence qui ne montrent aucun effet toxique ou protecteur apparent, sauf que ceux-ci influencent la capacité de virulence des pathogènes lorsque les conditions trouvées dans leur milieu *in vivo* se révèlent favorables. Comme on l'a déjà noté (Lacey, 1960, 1961), la modulation antigénique, en ce qui a trait aux composants significatifs pour la pathogénicité, dépend de l'influence du milieu (Knapp et Mekalanos, 1988).

## **Théorie**

La biologie moderne, avec son approche moléculaire, est réductionniste par nécessité, puisqu'elle est censée analyser et reconstruire la partie qui mènera à la compréhension de l'ensemble. Le pathogène et l'hôte sont, par définition, placés dans une position antagoniste. Le pathogène existe aussi dans son propre micro-environnement qui s'établit chez l'hôte. La particularité d'un rapport dans la pathogenèse devrait impliquer l'existence d'un signal d'alarme, et possiblement, d'un système d'alarme contrôlé mutuellement dans la relation entre le microbe et son hôte (Marett *et coll.*, 1994), pour aviser ces organismes des changements dans

l'équilibre environnemental. Tout comme des variations dans la structure et la fonction des cellules peuvent provenir de modifications ou d'échanges génétiques, un comportement particulier, parmi une série de comportements possibles qui sont naturellement liées aux processus pathogéniques, suivra cette orientation dans le micro-environnement du pathogène. En jetant un éclairage sur les conséquences pour le pathogène, la théorie du *modulon de virulence* tente d'expliquer le circuit (distribution, enregistrement, production) nécessaire pour l'expression particulière d'un déterminant de virulence. En fait, le *modulon de virulence* constitue le circuit en question. À l'intérieur de ce circuit, ou de tout autre qui offre un ensemble de modes praticables, il existe probablement quelques maillons faibles, particulièrement dans le domaine de la capacité de transmission et de survie.

La perception du *modulon de virulence* prévoit les actions de micro-organismes dans leur prodigieuse capacité à s'adapter à différentes situations qui leur donne une occasion (ou une raison) de causer des lésions. La raison réside probablement quelque part dans l'étude de la dynamique de la pathogénicité. Le besoin d'une régulation des processus pathogènes et l'efficacité de la production d'énergie relative au pathogène sous l'influence de sa situation dans l'hôte pourrait déclencher un système d'alarme. La réponse pour le micro-organisme est soit de se mettre à l'abri dans l'innocuité, soit de recourir à la destruction. L'influence de l'hôte devrait se révéler lorsqu'elle mène à des déterminants de virulence précédemment inconnus. Comme on l'a postulé pour la virulence, ces fluctuations se caractérisent par des expressions antigéniques multiples. Ainsi, comme on l'a déjà noté, scruter la dépendance *in situ* de la virulence des pathogènes révélera ces facteurs associés à celle qui influencera sa capacité seulement lors de conditions favorables révélées *in vivo*.

## **Dynamisme**

La théorie du *modulon de virulence* met en évidence la dynamique de la pathogénicité, puisqu'elle impose comme condition que les comportements virulents des micro-organismes soient produits par la modulation antigénique (Lacey, 1960, 1961). Les circuits permettant l'expression des déterminants de virulence doivent être considérés comme la manifestation d'un potentiel génétique associé à une influence environnementale. Puisqu'il est clair que la pathogénèse implique des étapes successives (Smith, 1990, 1991), l'existence de différents modes phénotypiques implique que plusieurs états adaptables existent, chacun jouant un rôle particulier. Les différents états s'adaptent aux conditions trouvées chez l'hôte. Comme on l'a souligné, un comportement particulier se déclenche sous l'influence d'un cartel de conditions environnementales présent dans un rapport de parasite à son hôte. Vue sous cet angle, (Marret *et coll.*, 1994), l'expression différentielle dans la modulation antigénique dépendra d'une rétroaction continue basée sur les régimes de contrôle relatifs aux flux d'énergie. Ainsi, l'adaptation aux changements environnementaux et la modulation vers un comportement approprié est nécessaire pour un micro-environnement donné. Le système d'alarme contrôlé mutuellement doit favoriser cet aspect particulier d'expression dont les exigences en énergie se trouvent satisfaites dans des conditions rencontrées. Donc, il semble probable que la capacité des micro-organismes à répondre par la modulation sera favorable à leur survie. Et, perspective fascinante, bien que la sortie et l'entrée de l'infection constituent un processus externe avec passage d'un hôte à un autre, il pourrait aussi y avoir un processus semblable qui se produit par dissémination interne chez l'hôte. Des mécanismes comparables correspondraient à ceux des différents modes phénotypiques. Cela pourrait signifier que les antigènes en place au moment du transfert contribuent au profil des micro-organismes pathogènes, que le transfert soit externe ou interne, avant la soumission à la pression de l'hôte. Par exemple,

en raison d'un changement significatif du potentiel oxydoréducteur, une telle pression exercée par l'hôte aurait peut-être un effet comparable à celui d'un commutateur « marche-arrêt » (Wood, 1987). En comparant la surface microbienne *in vivo* et dans la nature, on peut postuler que cette caractéristique de mimétisme cible l'interface avec l'hôte. Cela démontre que la biologie moderne, avec son approche moléculaire, peut s'inspirer de l'histoire naturelle pour concevoir des fonctions spéciales qui détectent les caractéristiques du milieu. La vision de Iuchi et de Lin (Iuchi et Lin, 1988, 1991) de la régulation de l'expression du gène en regard du flux d'énergie, peut s'appliquer à la réponse d'un pathogène à son environnement. Iuchi et Lin suggèrent que le recrutement de nombreux opérons et régulons (des jeux d'opérons sous le contrôle de protéines de régulation simples) dans un modulon (néologisme proposé pour désigner une super famille de cibles génétiques) permet d'intégrer l'expression de gènes dans des fonctions physiologiquement liées comme, par exemple, dans des réactions de flux d'énergie. Ainsi, l'adhésion d'un opéron dans divers modulons permet aussi d'adapter l'expression d'un opéron à une variété de conditions environnementales. En ce qui concerne le pathogène, on croit que la pression exercée sur lui par les conditions retrouvées chez son hôte le pousse à moduler ou à commuter vers telle ou telle expression phénotypique, ce qui, par voie de conséquence, pourrait s'avérer critique à sa survie en raison des changements de l'équilibre environnemental chez l'hôte. On peut en déduire, puisque la pathogénicité est influencée par des cibles à l'interface avec l'hôte, que le micro-organisme pathogène dépend ainsi du *modulon de virulence* pour activer son programme vers la pathogénèse. De cette façon, un phénotype pluripotent pourrait intervenir.

## Bibliographie

- Albright, L.M., E. Huala and F.M. Ausubel (1989). Prokaryotic signal flux mediated by sensor and regulator protein pairs. *Ann. Rev. Genet.* 23: 311-336.
- Bielecki, J., P. Youngman, P. Connelly and D.A. Portnoy (1990). *Bacillus subtilis* expressing a haemolysin gene from *Listeria monocytogenes* can grow in mammalian cells. *Nature* 345: 175-176.
- Danchin, A. (1987). Membrane integration of carbohydrate transport in bacteria. *Microbiological Sci.* 4: 267-269.
- Goldner, M. (1984). Environmentally dependent virulence-associated factors in pathogenic processes. *Specul. Sci. Technol.* 7: 23-26.
- Goldner, M., M. Coquis-Rondon and J.P. Carlier (1993). Effect of growth of *Bacteroides fragilis* at different redox levels on potential pathogenicity in a HeLa cell system: Demonstration by confocal laser scanning microscopy. *Zbl. Bakt.* 278: 529-540.
- Godwin, D. and J.H. Slater (1979). The influence of the growth environment on the stability of a drug resistance plasmid in *Escherichia coli* K12. *J. Gen. Microbiol.* 111: 201-210.
- Griffiths, E. (1981). Iron and the susceptibility to bacterial infection. In: R.F. Beers and E.G. Bassett, *Nutritional Factors: Modulating Effects on Metabolic Processes*, pp. 463-476. New York, Raven Press.
- Iuchi, S. and E.C.C. Lin (1988). *arcA* (*dye*), a global regulatory gene in *Escherichia coli* mediating repression of enzymes in aerobic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 1888-1892.
- Iuchi, S. and E.C.C. Lin (1991). Adaptation of *Escherichia coli* to respiratory conditions: Regulation of gene expression. *Cell* 66: 5-7.
- Jayawardene, A. and M. Goldner (1975). Level of redox potential as a possible contributing influence in the pathogenicity of oral anaerobes. *Antonie van Leeuwenhoek* 41: 553-568.

- Jayawardene, A. and M. Goldner (1977). Reagin-like activity of serum in human periodontal disease. *Infect. Immun.* 15: 665-667.
- Knapp, S. and J.J. Mekalanos (1988). Two trans-acting regulatory genes (*vir* and *mod*) control antigenic modulation in *Bordetella pertussis*. *J. Bacteriol.* 170: 5059-5066.
- Lacey, B.W. (1960). Antigenic modulation of *Bordetella pertussis*. *J. Hyg., Camb.* 58: 57-93.
- Lacey, B.W. (1961). Non-genetic variation of surface antigens in *Bordetella* and other microorganisms. In: G.G. Meynell and H. Gooder, eds., *Microbial Reaction to Environment*. Symp. Soc.Gen. Microbiol. London 11: 343-390.
- Marett, D., B. Lacey and M. Goldner (1994). Microbial pathogenesis: An energetic interpretation. *Specul. Sci. Technol.* 17: 301-307.
- Miller, J.F., J.J. Mekalanos and S. Falkow (1989). Coordinate regulation and sensory flux in the control of bacterial virulence. *Science* 243: 916-922.
- Smith, H. (1990). Pathogenicity and the microbe in vivo. *J. Gen. Microbiol.* 136: 377-393.
- Smith, H. (1991). The Leeuwenhoek Lecture, 1991: The influence of the host on microbes that cause disease. *Proc. Roy. Soc. London Ser. B* 246: 97-105.
- Stanier, R.Y. (1953). Adaptation, evolutionary and physiological: or Darwinism among the microorganisms. In: R. Davies and E.F Gale, eds., *Adaptation in Microorganisms*. Symp. Soc. Gen. Microbiol. London 3: 1-20.

## **10. DE L'INFECTION À LA MICROBIOLOGIE : RÉFLEXIONS ET EXPÉRIENCES DU PROFESSEUR MARK PALLAN**

Questions et réponses :

*Q. Quel était l'état des lieux en matière de maladies infectieuses au début de votre carrière? (Prior to 1990)*

Il était à un niveau minimaliste par certains côtés et à un bon niveau en d'autres domaines. La majeure partie du travail en microbiologie médicale (Écoles médicales britanniques) était plutôt orienté vers une recherche de faible niveau reposant sur les découvertes de sociétés pharmaceutiques, les études de médicaments, ou les concentrations minimales inhibitrices de nouveaux antibiotiques vis-à-vis de nombreuses souches cliniques variées. Il y avait très peu de recherche orientée. La plupart du temps, il s'agissait de recherche au sein d'un service plutôt que des programmes de recherche indépendants d'une structure. Cependant, il y avait beaucoup d'activité de recherches sur la maîtrise des infections à l'hôpital (hôpitaux britanniques) qui étaient en compétition internationale. Mais d'un autre côté, ce n'était pas vraiment des recherches approfondies, mais plutôt une simple extension de l'activité des services et de l'audit clinique. Ceci a réellement occulté ce que l'on aurait de toute façon fait en pratique clinique, à la place d'une vraie recherche fondamentale. Plus positivement, juste au moment où je débutais vers le milieu des années 80, la biologie moléculaire demeurait absente de la bactériologie durant encore environ une décennie, mais elle commençait à se vulgariser pour l'étude des bactéries. Les premiers groupes de recherche commençaient à travailler sur les mécanismes moléculaires de la pathogénie et à développer des approches moléculaires raisonnées pour le développement vaccinal. Donc il y avait le sentiment que, quelque chose de nouveau et excitant allait apparaître. Cependant, cette activité,

dans la plupart des cas, ne concernait pas les services de microbiologie des Écoles médicales, mais plutôt d'autres structures. C'était surtout le fait de scientifiques sans formation clinique. J'eus la chance que mon chef de service à Barts (Professeur Soad Tabaqchali, de l'École Médicale de Saint Bartholomew à l'Université de Londres) ait pressenti ceci et eut une influence décisive sur moi. Il s'était rapidement intéressé à la biologie moléculaire en ayant initié une application aux bactéries pathogènes, à l'étude épidémiologique, et au clonage de facteurs de virulence et de déterminants antigéniques. Sa grande force n'était pas tant une maîtrise de détails techniques, mais plutôt la perception qu'il s'agissait d'un outil important et sa capacité à s'entourer de personnes compétentes pour conduire des programmes de recherches. Il y avait encore très peu d'autres structures en Grande-Bretagne qui firent une recherche orientée à partir d'hypothèses et qui ont collecté des financements externes sous l'égide de Wellcome Trust ou de Comités de « Recherche ». Nombre de laboratoires, au cours de ces années, s'intéressaient seulement à des études épidémiologiques moléculaires faites avec un peu de PCR...

*Q. Selon vous, quels ont été les changements les plus marquants en ce qui concerne les maladies infectieuses durant votre activité?*

Beaucoup de choses ont changé, mais pas suffisamment! Les précédents professeurs se sont retirés mais n'ont pas formé assez de personnes pour la génération suivante. Nous avons maintenant une crise de recrutement dans la bactériologie universitaire en Grande-Bretagne. Il n'est plus perçu comme un secteur passionnant pour s'y engager dedans, en comparaison, disons, avec la virologie, la cancérologie ou l'immunologie. La bactériologie est en crise et cela a été l'objet d'une enquête de l'Académie britannique des Sciences Médicales. Néanmoins, il y eut quelques bons événements. Gordon Dougan, mon Maître PhD au milieu des années 1990, a eu une énorme influence dans le domaine de la

pathogénie bactérienne durant les 15 dernières années. Il a travaillé initialement au sein des Laboratoires Wellcome à Beckenham dans la banlieue Londonienne, où il recruta un groupe de personnes compétentes pour travailler avec lui. En effet, beaucoup de ceux qu'il recruta à Beckenham mutèrent vers des universités britanniques en qualité de bactériologistes non cliniciens de niveau élevé. J'avais la chance de participer à un programme qui permettait de faire trois ans de recherche à temps plein pour l'obtention d'un PhD, mais avec la possibilité de s'insérer dans la filière existante de la bactériologie au sein de la Faculté de Médecine. Plusieurs autres personnes ont ainsi achevé un tel cursus. La question reste ouverte pour savoir si cela a été aussi important qu'espéré. Il avait certainement un immense ascendant sur moi et a stimulé ma curiosité et de hautes aspirations. Après les deux années pour l'obtention du PhD dans une ambiance de camaraderie, on m'attribua une chaire de bactériologie et le Conseil des Projets en Recherches Médicales m'octroya trois subventions.

Ainsi, la bactériologie fut transformée par la première vague d'innovations sous l'influence de la biologie moléculaire. La nouvelle discipline de pathogénie moléculaire suivit car les techniques de biologie moléculaire pourraient aborder des problèmes en détail. Des expériences appropriées orientées par des hypothèses pour examiner comment des bactéries provoquent une maladie, ce qui les individualisent, comment elles interagissent avec la cellule hôte en corrompant des systèmes de cette dernière, pourraient ainsi, par la suite, se poursuivre.

Cela a récemment été suivi d'une seconde vague d'activités découlant de la révolution génomique. Nous avons déjà plus de 50 génomes bactériens complètement séquencés et d'ici quelques années, nous disposerons de séquençages génomiques achevés pour chaque groupe de bactéries pathogènes représentatives chez l'Homme, les plantes et les animaux. Cela change radicalement la discipline. L'espoir est que cela nous fournira de nouveaux médicaments pour des traitements, de nouvelles classes d'antibiotiques qui seront rationnellement conçus. La conception raisonnée de médicaments est déjà arrivée

dans le domaine de la virologie, avec les inhibiteurs de neuraminidase pour la grippe. Ce type de développement pourrait se produire avec les bactéries. Il n'y a pas encore de produit antibactérien simple issu de la révolution de la génomique, mais une longue période sera nécessaire pour que cette avancée s'institutionnalise, du séquençage génomique à l'expérimentation clinique. La génomique promet ainsi de livrer de nouvelles approches diagnostiques et de nouveaux vaccins, mais là encore, cela prendra du temps.

Je ne pense pas qu'il y ait maintenant une masse critique de gens cliniquement formés. Ce qui est encourageant est que cette recherche en bactériologie est maintenant prise au sérieux. Il est juste désolant qu'elle ait été prise au sérieux en grande partie par des non cliniciens. Un autre développement de la recherche en Grande-Bretagne durant ces quelques dernières années a été l'Agence d'Évaluation des Recherches (REA). Ici, chaque université, école et équipe sont évalués pour leur production de recherches et leur qualité. Cette RAE attribue des points et décide alors comment l'argent sera distribué pour chaque institution. Ce processus a été appliqué aux facultés de médecine de la même manière qu'à d'autres structures universitaires, ce qui a signifié que dans des facultés de médecine, les chercheurs non cliniciens ont réalisé un meilleur palmarès, particulièrement en bactériologie.

Le revers de ceci est que les fonctions médicales sont menacées. Les scientifiques coûtent moins chers en terme de salaire et ont un meilleur CV. La menace est qu'il n'y aura finalement plus aucune personne médicalement qualifiée faisant de la recherche en microbiologie. Il y a une objection à formuler qui est que les gens ayant une formation médicale auront une vision plus large et seront capables d'observer sous une plus grande globalité. Ils ont vu des pathogènes en action, tuant ou mutilant des patients, se propageant de salle en salle et auront des sujets à soumettre découlant de leur expérience clinique. Ainsi, je pense, pour aborder des études cliniques, qu'il soit nécessaire que chacun des professeurs de microbiologie au sein des facultés de médecine soit médicalement qualifié. L'idéal serait d'avoir

une collaboration entre médecins et scientifiques travaillant efficacement ensemble.

*Q. Que prévoyez-vous comme questions essentielles qui restent à être abordées dans les problèmes de résistance aux maladies infectieuses?*

À l'Ouest, le problème des infections s'est déplacé dans le milieu hospitalier. Les maladies infectieuses seront toujours un problème, avec des patients vulnérables pour des périodes de plus en plus longues dans des services de soins intensifs et pour des patients immunodéprimés avec le traitement du cancer et des greffes. Certains des problèmes qui doivent être abordés ne sont pas des problèmes bactériens ; ce sont des problèmes de structure et d'ingénierie. Beaucoup d'infections hospitalières disparaîtraient si on concevait de meilleurs hôpitaux, avec des lavabos correctement placés et un nombre approprié de chambres individuelles où l'on pourrait isoler les patients.

Il y a certainement beaucoup d'options pour protéger les patients entrant à l'hôpital. Nous connaissons les pathogènes banals tels *Clostridium difficile*, les SARM ou autre chose de la sorte.

Nous devrions être capables d'inventer les méthodes efficaces de protection des patients, avec une antibio-prophylaxie ou par immunisation passive ou active. Si chaque patient qui recevait un triple pontage coronarien avait eu un vaccin anti-*Staphylococcus aureus*, je suis certain qu'on verrait moins d'infections de cicatrice sternale ou de septicémies. Celles-ci sont les questions qui peuvent et doivent être abordées.

L'autre sujet qui serait intéressant à scruter est l'écologie des infections

hospitalières. Qu'est-ce qui fait que quelques souches s'installent dans les hôpitaux et d'autres qui apparaissent une fois, ne seront ensuite plus jamais revues? Je pense qu'il y a là, beaucoup de concepts potentiels qui jailliraient de la génomique. Alors peut-être, pourrions-nous nous concentrer sur des facteurs déterminants de virulence comme cible d'immunisation passive, utilisant un anticorps monoclonal ou une autre approche ?

La tuberculose est un exemple caricatural du problème de multirésistance aux antibiotiques. Certaines souches émergentes sont presque impossibles à traiter avec ces médicaments. Il y a le risque d'apocalypse de post-antibiothérapie dans lequel des micro-organismes invulnérables apparaîtraient. Nos hôpitaux sont déjà inondés de SARM certes difficiles à combattre, mais encore possibles de l'être. Les entérocoques vancomycino-résistants sont aussi extrêmement difficiles à traiter. Heureusement, à l'heure actuelle, la résistance à la vancomycine est limitée à des bactéries à faible potentiel pathogène. Si la résistance à la vancomycine s'installait chez les SARM et diffusait, alors nous pourrions revenir à l'ère pré-antibiotique. Il y a seulement deux ou trois façons de l'arrêter. La première serait une utilisation rationnelle et plus prudente des antibiotiques et la seconde est que l'Homme doit limiter la diffusion des bactéries par le développement de meilleurs antibiotiques. J'ai bon espoir qu'il y aura de nouveaux antibiotiques issus de la révolution génomique. Mais cela prendra quelques années. Ainsi, personne ne peut dire pourquoi nous n'avons pas déjà vu la résistance à la vancomycine chez *Staphylococcus aureus*. Il n'y a aucune raison physiologique ou génétique qui la rend impossible - on a montré au laboratoire que de tels déterminants de résistance peuvent s'exprimer chez *Staphylococcus aureus*. L'autre problème dans les pays développés est l'infection acquise communautaire. Les infections sexuellement transmissibles, la méningite, les toxi-infections alimentaires, la contamination de la chaîne d'alimentation, etc, ne sont pas éliminées. L'infection communautaire n'est pas pour autant « le tueur » qu'il eut la réputation d'être, mais les problèmes doivent toujours être abordés. Nous avons toujours besoin d'un

vaccin contre le méningocoque B. Nous devons analyser le problème de contamination bactérienne de la chaîne d'alimentation. D'où ces *Campylobacter* proviennent-ils ? Causent-ils tous une maladie? Que pouvons-nous faire de plus pour nous débarrasser des salmonelles? Il y a eu quelques événements ; par exemple, il semblerait que la vaccination de poussins contre la salmonelle semble avoir minimisé sa transmission dans la chaîne d'alimentation, mais il existe encore des contaminations. C'est un peu une des meilleures réalisations de ce que nous connaissons déjà en industrie alimentaire. Mais il y aura toujours un domaine pour la recherche fondamentale en un tel domaine ; qui dit développer un vaccin unique et efficace pour les animaux d'élevage ou le bétail changeant l'écologie bactérienne afin que les micro-organismes ne s'y implantent pas. On pourrait les vacciner à partir de leur alimentation ou avoir un certain effet de barrière par compétition avec une flore bactérienne donnée aux animaux d'élevage qui deviendraient ainsi réfractaires aux *Campylobacter*.

Et les maladies dans le Tiers-monde sont absolument dévastatrices. Il y a un énorme besoin de vaccins et de meilleurs traitements contre le paludisme et la tuberculose. Il y a aussi des problèmes avec des infections gastro-intestinales chez les petits enfants, tels *Escherichia coli* entéropathogène et les rotavirus, où des interventions bon marché et efficaces sauveraient beaucoup de vies. Un autre problème en rapport avec la maîtrise des infections à une échelle planétaire est que beaucoup de médicaments utiles sont protégés par des droits de propriété intellectuelle et, ou coûtent très chers à fabriquer, donc le coût est trop élevée pour les populations des pays du Tiers-monde. Il y a quelques exemples où l'industrie pharmaceutique a agi de façon altruiste, par générosité, telle la dotation d'ivermectine par Merck pour traiter et aider à prendre le chemin vers l'éradication de la cécité fluviale en Afrique. Mais ces actions ne sont pas aussi communes qu'elles devraient l'être. Ainsi, il existe toujours des problèmes majeurs avec l'infection - certains d'entre eux pourraient être résolus par des approches moléculaires intelligentes et d'autres exigent juste l'optimisation de la

pratique actuelle.

*Q. Les maladies infectieuses, peuvent-elles être éradiquées et, s'il en était ainsi, comment serait-ce réalisable ?*

Nombre d'infections hospitalières pourraient être éliminées pour réduire ce fardeau, si l'on avait un environnement adapté pour juguler leur propagation. Il y a quelques exemples dans le monde, telle la Scandinavie, où les SARM ne sont pas un grand problème à ce jour. Ils disposent de la logistique de la maîtrise des infections, telle la bonne architecture hospitalière et une organisation adaptée pour permettre la prévention des infections par les infirmières. Ils ont eu la prudence de mettre en application des protocoles d'antibiothérapie et ainsi de suite. Ainsi, je pense qu'on pourrait en éliminer beaucoup, mais on ne pourra jamais supprimer les infections.

Une autre voie avancée existerait si certaines idées de « science-fiction » pouvaient se réaliser, telle la culture des organes des patients en utilisant des cellules souches. Alors on n'aurait plus à immunodéprimer. Ou bien, si l'on pouvait « humaniser » des reins de porc et rendre le système immunitaire du patient tolérant, alors peut-être le besoin en immuno-suppresseurs pourrait disparaître. La même chose s'appliquerait si on avait d'autres méthodes de traitement du cancer sans exiger l'abord avec l'artillerie cytotoxique qui tue toutes les cellules prolifératives, incluant celles du tractus gastro-intestinal et du système immunitaire. Et de même, si on avait des moyens efficaces pour régénérer rapidement des tissus afin qu'ils se réparent, alors un peu de la période critique de vulnérabilité à l'infection disparaîtrait après des blessures. Beaucoup de cela n'est pas vraiment du domaine des maladies infectieuses, mais plutôt de celui de l'oncologie, de l'ingénierie des tissus et ainsi de suite.

En communauté, il y a toujours beaucoup d'infections qui pourraient théoriquement être supprimées. Là où il y a infection avec diffusion, seulement d'homme à homme, sans réservoir animal ou environnemental, alors cela pourrait

être potentiellement éliminable. La poliomyélite, dit-on, est proche de l'éradication. La diphtérie est un autre exemple d'une maladie humaine où il n'y a aucun réservoir animal. Il y a beaucoup d'autres exemples de maladies éliminables. Les exemples incluent le VIH, la shigellose et la tuberculose, où la diffusion interhumaine est primordiale, même si des réservoirs animaux existent. Les pathogènes opportuniste, où l'infection humaine est un effet secondaire fortuit de leur mode de vie normal et de leur écologie, seront impossibles à supprimer, tels *Clostridium tetani* ou *Legionella pneumophila*. On peut éliminer le tétanos à chaque génération en vaccinant tout un chacun, mais on ne parviendra jamais au stade où l'on pourrait arrêter de vacciner les gens, comme on l'a fait avec la variole et bientôt avec la poliomyélite. Donc on ne pourra jamais entièrement éliminer la menace de maladies infectieuses bien que beaucoup puisse être fait pour les neutraliser. Et il y aura toujours de nouvelles menaces, favorisées par des changements de style de vie, de l'écologie régionale, tel le virus du West Nile aux États-Unis.

Mais si on prend du recul sous un angle historique et que l'on observe ce qui est arrivé en Occident durant ces cent dernières années ; alors, remercions les ingénieurs et les microbiologistes, les sociétés pharmaceutiques et le personnel de santé publique, car on a déjà, à la première approximation, supprimé l'infection comme acteur omniprésent dans nos sociétés. Oui, lorsqu'on considère la différence, c'est-à-dire, celle des taux de mortalité infantile ; de diphtérie, de maladies entériques, de tuberculose et de scarlatine entre notre temps et, disons, celui de Charles Darwin qui perdit une fille qui lui était chère, suite à une maladie infectieuse ; nous nous sommes affranchis en grande partie de tout cela. C'eut été une des causes les plus banales de mortalité infantile et aujourd'hui, le nombre de cas de diphtérie en Grande-Bretagne est tombé à un ou deux par an..

**REMARQUE**

.Bien que les spécialistes concernés soient tous originaires de Grande-Bretagne et de France, pays traditionnellement connus comme de grandes sources de connaissances en matière d'infectiologie, il devrait y avoir là, matière à inspiration pour le Canada et les Etats-Unis

## 11. L'ÉPOPÉE DE LA PHAGOTHÉRAPIE

Le présent exposé retrace la présentation soutenue par le Docteur Alain Dublanquet lors du Symposium Stanier/Oxford Hygiène, qui se tint à Oxford, en Angleterre, le 10 novembre 2004. La conférence du Docteur Dublanquet, intitulée « *The epic of phage therapy* », donnait un compte rendu chronologique quant à l'utilisation antibactérienne des phages depuis leur découverte jusqu'à son apogée puis sa chute, puis sa redécouverte actuelle.

La lutte a fait rage entre l'Homme et la maladie dès son apparition dans la biosphère et ce fut seulement au siècle dernier que des avancées décisives furent acquises dans la recherche de méthodes efficaces pour combattre les maladies animales et humaines. Cet objectif fut atteint, au cours du 20<sup>ème</sup> siècle, par deux approches radicalement différentes – l'une biologique et l'autre chimique - dans la lutte contre des maladies bactériennes telle la dysenterie, le choléra et la gangrène.

La découverte des bactériophages suscita peu d'intérêt dans la communauté médicale moderne ; pourtant, à partir de 1920 et jusqu'à 1940, l'utilisation pratique des propriétés singulières des bactériophages pour combattre de nombreuses infections bactériennes – que l'on nomma « thérapie phagique » ou phagothérapie - fut considérée comme une avancée significative dans le monde médical. Durant cette période, les antibiotiques étaient encore en cours de développement et vinrent ultérieurement en tant que traitement de choix dans la médecine occidentale. Ultérieurement, il y eut une augmentation de la résistance aux antibiotiques dans le monde et de nouvelles approches de traitement sont nécessaires afin de contrôler les maladies bactériennes (1). C'est pour cette raison que la thérapie phagique redevient d'actualité et pourrait être un recours possible

face aux nouveaux problèmes soumis à la communauté médicale, scientifique et environnementale.

Les bactériophages sont présents là où il y a des organismes bactériens ; c'est-à-dire partout - dans l'atmosphère, dans le sol, dans l'eau de rivière et dans la mer - avec une étroite relation entre les uns et les autres. Les eaux d'égouts sont une source inépuisable de toutes sortes de bactériophages, au même titre que pour les bactéries. La raison naturelle de cela est que les bactériophages sont des parasites obligatoires et ne peuvent se multiplier qu'au détriment des bactéries vivantes ; ainsi, ils sont trouvés là où la reproduction est possible et efficace, dans les endroits où les bactéries se multiplient et prospèrent. Les bactériophages sont abondants chez tout organisme vivant doté d'un tube digestif et peuvent être trouvés ainsi dans les selles d'individus en bonne santé.

Le filtrat des excréments d'individus ayant traversé les filtres de Chamberland ne contient pas de bactéries, mais seulement des phages ; un tel filtrat sur une culture sensible provoque une lyse plus ou moins complète du microbe cible (2). Des études démontrèrent qu'en conditions normales, les phages sont toujours présents dans l'intestin et on estime qu'il y a 10 fois plus de phages que de bactéries sur la planète. Pour cette raison, il est important de comprendre leur rôle dans le cycle naturel et quelles sont les conséquences sur l'Homme. Les événements de la phagothérapie seront ainsi analysés dans cet exposé, de la découverte de Félix d'Herelle, à l'abandon de son utilisation puis à sa réémergence comme moyen potentiel pour contrôler certaines infections en médecine moderne.

## **PREMIÈRE ÉPOQUE : DE LA DIARRHÉE DES SAUTERELLES À LA DYSENTERIE HUMAINE**

Félix d'Herelle observa un fait étrange alors qu'il étudiait une invasion de

sauterelles au Mexique en 1910 (3). Il constata que les sauterelles mouraient de septicémie et de symptômes intestinaux provoqués par une bactérie (un coccobacille) qu'il pouvait cultiver à l'état pratiquement pur à partir du liquide de diarrhée de celles-ci. Expérimentalement, il pouvait produire des épidémies chez les insectes en bonne santé en répandant des cultures de cette bactérie sur le front des invasions des insectes (4). Il poursuivit ses études plusieurs années en Amérique du Sud et en Afrique du Nord, durant lesquelles il remarqua un phénomène curieux avec quelques cultures du coccobacille, qu'il surnomma "les taches claires", qui avaient 2 millimètres à 3 millimètres de diamètre qui étaient observées sur les cultures au laboratoire. Il gratta la surface de la gélose au niveau des taches claires et les observa sous le microscope, mais il ne voyait jamais rien (5). D'Herelle supposa qu'il y avait « quelque chose » qui provoquait ces taches claires, assez petite pour être filtrée, puisqu'elles avaient traversé un filtre de Chamberland et qui était capable d'ôter toutes les bactéries (6).

En 1915, une importante invasion de sauterelles survint en Tunisie (7), menaçant de détruire les ressources agricoles essentielles. On confia à d'Herelle la mission de détruire les colonies de sauterelles en provoquant une épidémie en leur sein. Le résultat fut une mortalité considérable de cette population d'insectes. L'année suivante, quand une invasion de sauterelles se produisit de nouveau en Afrique du Nord, la Tunisie fut épargnée. (8,9).

Durant cette campagne, d'Herelle observa à nouveau les « taches claires » dans ses cultures et il s'établit en Afrique du Nord afin d'étudier la signification de ce phénomène à l'Institut Pasteur de Tunis. Les taches claires ayant été montrées à Charles Nicolle, directeur de l'Institut Pasteur à cette époque, celui-ci déclara à Félix d'Herelle (8,9):

*« Ce pourrait être l'indice d'un virus filtrant, transporté par vos*

*coccobacilles, virus filtrant qui serait le véritable agent pathogène, alors que le coccobacille ne serait qu'un microbe de sortie. »*

D'Herelle, de retour à Paris en août 1915, fut désigné pour enquêter au sujet d'une épidémie de dysenterie dans un escadron de cavalerie à Maisons-Lafitte, près de Paris (10). Il émit l'hypothèse selon laquelle les faits observés pour la maladie des sauterelles serait transposable pour la dysenterie humaine. Les émulsions filtrées des selles des malades ont été mises en présence de cultures de bacilles dysentériques préalablement isolées sur gélose nutritive en boîtes de Pétri. Encore une fois, les taches claires furent observées (11).

Il y avait beaucoup de cas de dysenterie bacillaire à l'hôpital de l'Institut Pasteur. D'Herelle entreprit de suivre un patient depuis son admission jusqu'à sa convalescence afin de déterminer à quel moment le « principe » provoquant les taches claires se manifesterait (11). Ce qui suit est un résumé de ses conclusions :

*« Le premier jour, j'isolai de selles sanglantes un bacille dysentérique de Shiga, mais l'étalement sur gélose, d'une culture en bouillon additionnée d'un filtrat de déjections de ce même malade donna une culture normale. La même opération, répétée les deuxième et troisième jours, fut également négative. Le quatrième jour je fis, comme les jours précédents, une émulsion avec quelques gouttes des selles, encore sanglantes, je filtrai sur bougie de Chamberland ; à une culture en bouillon du bacille dysentérique, isolé le premier jour, j'ajoutai une goutte du filtrat, puis j'étalai sur gélose une goutte de ce mélange. Je plaçai tube de culture en bouillon et boîte de gélose à l'étuve à 37°. »*

D'Herelle (8,9) narra ainsi sa première observation :

*« Le lendemain matin, en ouvrant l'étuve, j'éprouvai de ces rares moments d'intense émotion qui rétribuent, le chercheur de bien des peines : au premier coup d'œil je vis que la culture en bouillon, la veille bien trouble, était parfaitement limpide, tous les bacilles avaient disparu, ils s'étaient dissous comme du sucre dans l'eau. Quant à l'étalement sur gélose, il était vierge de toute culture. Et ce qui causait mon émotion, est que, en un éclair, j'avais compris : ce qui provoquait mes taches vierges, c'était bien un microbe invisible, un virus filtrant, mais un virus parasite des bactéries.*

*Une pensée me vint aussitôt :*

*Si cela est vrai, chez le malade, la veille dans un état grave, le même phénomène a dû se passer pendant la nuit. Dans son intestin, comme dans mon tube à essais, les bacilles dysentériques ont dû se dissoudre sous l'action de leur parasite. La guérison a dû se produire.»*

Une note de d'Herelle fut présentée à l'Académie des Sciences par le Dr Émile Roux le 15 Septembre 1917, dans laquelle un microbe invisible antagoniste du bacille de la dysenterie fut proposé à la communauté médicale; cet antagoniste fut appelé « bactériophage » (11).

## **DEUXIÈME ÉPOQUE : INDIFFÉRENCE, SEPTICISME ET CONTROVERSE**

Les différents projets de recherche effectués par d'Herelle à la suite à sa découverte du bactériophage furent rassemblés dans un ouvrage publié en français en 1921 puis traduit en anglais en 1922, dans la série des monographies de l'Institut Pasteur, avec le titre de : « le Bactériophage : Son Rôle dans l'Immunité » (12-14). L'accueil réservé à cet ouvrage fut assez indifférent, dans

lequel très peu ont considéré le travail important, à l'exception du Dr Roux, qui avait pris la question au sérieux. Les opinions sur d'Herelle varièrent, du visionnaire à l'imbécile, et un collègue aurait même dit haut et fort : "*si ce bactériophage existe vraiment, pendant tout le temps que j'ai été un bactériologiste, je l'aurais sûrement observé*" (9)

Certaines critiques allèrent encore plus loin pour manifester leur scepticisme ; une américaine, Mlle Harde, employée au Laboratoire Municipal de New York, de passage à l'Institut Pasteur de Paris en 1919 avait vu comment les cultures se dissolvaient en deux ou trois heures après l'ajout de bactériophages (15). Elle revint à New York et fit la même démonstration devant ses pairs. Elle écrivit plus tard à d'Herelle, en l'informant comment elle avait été raillée et complimentée par "*... ses collègues [qui] lui dirent qu'elle avait appris en France de bien jolis tours de prestidigitacion bactériologique !*" (8,9).

Pourtant, le premier essai officiel de traitement par le bactériophage, fut réalisé par d'Herelle sur des individus souffrant de dysenterie, et dès les premiers symptômes avec selles sanguinolentes dans lesquelles *Shigella dysenteriae* fut isolé. Les résultats de la recherche sur les échantillons de selles furent identiques pendant les quatre premiers jours ; pourtant, après ce stade, le bactériophage, capable de dissoudre les bacilles isolés du même patient atteint de dysenterie, fut subitement observé (16). Quelques heures après cette apparition, le sang disparut des selles et le patient commença sa convalescence (16).

Une minorité de chercheurs reconnut les caractéristiques physiologiques importantes des bactériophages. D'autres interprétèrent différemment ces observations - par exemple, certains attribuèrent les effets observés aux caractéristiques des bactéries elles-mêmes, pendant que d'autres considérèrent la possibilité d'un ferment chimique produit par la bactérie pathogène (17). Ce

n'aura été qu'à partir de l'utilisation du microscope électronique, dès 1940, que les bactériophages auront été unanimement reconnus en tant que nouvelle entité distincte (18).

## **TROISIÈME ÉPOQUE : DE LA MALADIE À LA GUÉRISON CHEZ**

### **L'ANIMAL**

En 1919, survint une épidémie mortelle de « typhoïde de la poule », importée des États-Unis, qui n'avait jamais auparavant été observée en France (19). Puisque cette maladie n'avait pas été encore répertoriée en France, d'Herelle trouva une opportunité pour étudier le comportement du bactériophage ; il pouvait plus facilement faire des expériences avec des infections animales qu'avec des cas humains. De surcroît, d'Herelle était convaincu que ses propres expériences ne seraient convaincantes qu'en les réalisant avec des animaux naturellement sensibles à une infection donnée. C'était un principe auquel Pasteur ne dérogeait jamais.

La typhoïde aviaire est provoquée par une salmonelle, proche du microbe humain de la typhoïde. La maladie s'étendait aux confins de la Champagne (région française à l'Est de Paris). Chaque jour, d'Herelle visitait les élevages de volaille de la région. Il n'observa pas une seule guérison ; chaque poule infectée mourait et avant le quatrième jour, toutes avaient succombé. La salmonelle était présente dans les excréments de nombres d'animaux et l'hypothétique bactériophage intestinal actif était absent de toutes les volailles, infectées ou saines. Cependant, un jour, une poule se rétablit et dans ses excréments se trouvait un bactériophage puissamment actif contre la bactérie en cause (20). Une conséquence tant curieuse qu'inespérée se produisit par la suite. Dans le poulailler

de l'animal mort, toutes les poules se rétablirent et l'épidémie cessa subitement. Les excréments de toutes les poules survivantes contenaient le même bactériophage et il devint partout présent dans la ferme et dans les excréments de différents animaux. On conclut alors que la présence de ce bactériophage était relié à la guérison spontanée (15).

La conclusion était que lors de la guérison d'une infection, les événements suivants se produisent : une poule malade répand des bactéries de la maladie autour d'elle et l'épidémie s'étend ; une poule se rétablit quand un bactériophage commence à se multiplier dans son intestin au détriment des bactéries pathogènes et la guérison survient ; la poule infectée répand alors dans son entourage le bactériophage qui s'est multiplié dans son intestin (toutes les poules encore vivantes à ce moment ingèrent le bactériophage) et l'épidémie commence à diminuer de la même façon que la poule « pionnière » s'était rétablie ; la protection contre l'infection se propage ensuite à la population voisine.

Selon d'Herelle, ces deux phénomènes, l'un de guérison et de l'autre d'extinction d'une épidémie, pouvaient être reproduits expérimentalement et cela confirmait son hypothèse. En fait, le bactériophage actif apparaît pendant la convalescence ; une fois obtenu dans l'éprouvette, il suffit d'exposer des bactéries sensibles à l'action du bactériophage pour que le phage se multiplie au détriment des bactéries (21).

D'Herelle essaya d'abord de vérifier cette hypothèse pour conforter la thérapie bactériophagique contre la typhoïde aviaire, en commençant par traiter des animaux infectés et secondairement, en mélangeant de la culture de bactériophages actifs contre la salmonelle, avec l'eau potable d'un poulailler où une épidémie avait déjà commencé. Les poules déjà infectées furent guéries et l'épidémie arrêtée.

Pour obtenir de tels résultats, il était nécessaire de produire une dose suffisante de bactériophage pour détruire toutes les bactéries de la maladie en quelques heures ; donc, des souches très actives de bactériophage devaient être utilisées. D'Herelle (9) répétait souvent :

*« La thérapie phagique est une thérapie du "tout ou rien". Si les cultures du bactériophage d'activité faible ou modérée sont utilisées, les bactéries pathogènes s'opposeront à son action et une guérison ne s'ensuivra pas. Chaque phagothérapie doit donc être le résultat d'une sélection ».*

L'expérience montra de surcroît, qu'il fallait utiliser des bactéries précocement isolées en début de maladie, en utilisant des bactéries exemptes de bactériophage. Un bactériophage dit « faible » était toujours isolé à partir de souches provenant de patients chez qui, une activité bactériophagique spontanée était faible dès le début du traitement.

#### **QUATRIÈME ÉPOQUE : LE TRAITEMENT BACTÉRIOPHAGIQUE CHEZ L'HOMME**

En 1920, en Indochine, où d'Herelle étudia des patients atteints par le choléra, il avait été confirmé que pour guérir, il fallait être contaminé par le bactériophage (9). Chaque patient était certain de succomber à la maladie si un bactériophage actif contre *Vibrio cholerae* n'était pas mis en évidence dans les selles dans les quarante-huit heures après la survenue du premier symptôme ; d'Herelle n'observa aucune exception à cette règle. Inversement, lorsqu'un bactériophage fortement actif contre le vibron était observé, le patient entrait rapidement en convalescence, quel que fût l'intensité des symptômes initiaux. La

durée de la maladie fut corrélée avec la virulence du phage isolé *in vitro* selon que celle-ci diminuait ou augmentait. Une fois de plus, il était évident, selon d'Herelle, que l'action *in vivo* des phages contre les bactéries responsables de la maladie était la seule cause de la guérison, (22).

En 1921 à l'Hôpital des Enfants Malades de Paris dans le service du Professeur Hutinel, où des patients souffraient de dysenterie toxique (bacille de Shiga), le sang disparaissait des selles des malades et la convalescence commençait vingt-quatre à vingt-six heures après l'administration orale de phage anti-Shiga (23).

Immédiatement, les bactériologistes, en Allemagne, aux États-Unis et au Brésil, essayèrent de vérifier les résultats stupéfiants de d'Herelle ; tous affirmèrent que leurs propres résultats étaient complètement négatifs et ceux-ci furent les premières déficiences rapportées en matière de thérapie phagique. En 1922, Da Costa Cruz de l'Institut Oswaldo Cruz à Rio de Janeiro publia une étude selon laquelle l'administration de bactériophage à des patients dysentériques ne donnait pas de résultats intéressants. Cependant, d'Herelle poursuivit méthodiquement l'étude des diverses propriétés des phages ; il constata, en particulier, que cette activité varie d'un phage à un autre. En 1923, il réévalua l'utilisation de phage en thérapeutique selon qu'il faudrait utiliser un bactériophage assez puissant pour l'obtention de bons résultats (24).

## **DERNIÈRE ÉPOQUE : L'APOGÉE PUIS LE DÉCLIN**

Progressivement, le traitement de la dysenterie bacillaire devenait commun et en Géorgie (une ancienne république de l'ex Union Soviétique), Eliava développa tout particulièrement la pratique de la thérapie phagique en médecine

clinique et en santé publique (15). Compton en Egypte et Morison en Inde utilisèrent aussi et à grande échelle, des phages pour provoquer l'extinction d'épidémies (22).

En 1927, une épidémie asiatique de choléra toucha le Penjab, en Inde, et d'Herelle put traiter par phagothérapie 74 patients gravement malades ; parmi ceux-ci, 26 d'entre eux ayant reçurent oralement une dose de phages dans les six heures suivant l'émission des premiers selles caractéristiques. Ils entrèrent en convalescence dans un délai de vingt-quatre heures. Sur 41 patients traités dans un délai compris entre six et vingt-quatre heures après le début des symptômes, la mortalité fut de 10 % ; enfin, un groupe de 7 personnes qui reçut un traitement après vingt-quatre heures, eut un taux de mortalité de 14 %. La mortalité globale pour les malades traités était de 8 %, tandis que les 124 sujets témoins sans traitement par les phages ou traités par d'autres méthodes eurent un taux de mortalité de 63 % (taux de mortalité habituel constaté dans d'autres régions lors de l'épidémie) (22).

À Paris, le « Laboratoire du Bactériophage » produisit beaucoup de phages indiqués dans les maladies infectieuses communes, telles les sinusites, les infections sur plaies et les infections intestinales (23). À partir de cette période, la production d'une variété de préparations de phage a été commercialisée dans le monde entier. D'Herelle nota qu'il n'était pas facile de fournir des préparations thérapeutiques de bactériophages à moins que l'on ne portât une attention soutenue à leur qualité. À propos de nombre de préparations commerciales vendues au public, d'Herelle conclut que "*dans l'ensemble, aucune des préparations sur le marché n'est capable d'assurer la guérison d'une maladie infectieuse*" (15). C'était une des nombreuses raisons pour lesquelles la thérapie phagique fut discréditée en tant que méthode thérapeutique efficace et perdit la confiance de la communauté médicale.

Pendant les années 1930, plusieurs instituts en divers lieux furent contrôlés par d'Herelle lui-même pour garantir la qualité des phages produits. D'Herelle prescrivait uniquement les traitements qu'il avait lui-même décrits ; pourtant, beaucoup d'autres chercheurs ont aussi évalué l'utilisation des phages dans les traitements thérapeutiques. Eliava décrit le traitement des staphylococcies et des infections à streptocoque avec des phages, ultérieurement évalué par le chirurgien Raiga (25). Hauduroy développa les premiers essais de traitement de la typhoïde et des infections urinaires, un traitement qui fut largement accepté et utilisé à l'époque (26). Tsouloukidse à Tiflis (aujourd'hui Tbilisi en Géorgie) documenta le traitement de la péritonite consécutive à une perforation intestinale, avec des bactériophages thérapeutiques, avec de bons résultats (27).

Pourtant, suite à la Deuxième Guerre Mondiale en 1945, quand les antibiotiques firent leur apparition, une ère nouvelle vint – l'âge d'or de l'antibiothérapie ; qui, jusqu'aux années 1980, connut une expansion extraordinaire dans la lutte contre les infections bactériennes. Actuellement, la phagothérapie fournit de nouveau une alternative pour assurer cette bataille pour la prévention des maladies en une époque où les bactéries tendent à devenir résistantes aux antibiotiques (28).

Il est important de retenir ces mots de Félix d'Herelle en clôture de son ultime discours à l'Institut Pasteur :

*« Dans la nature chaque fois que les bactéries font quelque chose, un bactériophage intervient et détruit les bactéries, ou provoque une modification de leur action. Ainsi le but des microbiologistes est d'étudier leurs actions et réactions et de choisir le bactériophage qui attaque des bactéries pathogènes pour*

*provoquer la destruction rapide où c'est nécessaire » (9).*

Une nouvelle opportunité pour le bactériophage dans la lutte contre la maladie se présente aujourd'hui.

## **RÉFÉRENCES**

1. Carlton RM. Phage therapy: Past history and future prospects. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warszawa)* 1999; 47:267-74.
2. d'Herelle F. *The Bacteriophage and Its Behavior*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1926.
3. d'Herelle F. Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique. *Comptes Rendus Académies des Sciences Paris* 1911; 152:1413-15.
4. d'Herelle F. Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique. *Journal d'Agriculture Tropicale* 1911; 1:238-40.
5. d'Herelle F. Technique de la recherche du microbe filtrant bactériophage (*Bacteriophagum intestinale*). *Comptes Rendus Société biologique Paris* 1918; 81:1060-2.
6. Chamberland C. Sur un filtre donnant de l'eau physiologiquement pure. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris* 1884 ; 49:247.
7. d'Herelle F. La campagne contre les sauterelles en Tunisie en 1915. *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* 1915;8:629-33.
8. d'Herelle F. Le bactériophage. *Atomes* 1948;3:399-403.
9. d'Herelle F. The bacteriophage. *Science News* 1949:44-59.
10. d'Herelle F. Contribution a l'étude de la dysenterie. Nouveaux bacilles dysentériques, pathogènes pour les animaux d'expérience. *Bulletin de l'Académie de Médecine* 1916; 76:425-8.

11. d'Herelle F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris 1917; 165:373-5.
12. d'Herelle F. Le bactériophage. Son rôle dans l'immunité. La Presse Médicale 1921; 29:463-4.
13. d'Herelle F. The bacteriophage: Its role in immunity. Baltimore; Williams and Wilkins, 1922.
14. d'Herelle F. Le bactériophage : Son rôle dans l'immunité. Paris: Masson et Cie, 1921.
15. d'Herelle F. Les pérégrinations d'un microbiologiste. Manuscrit non publié - autobiographie. Archives de l'Institut Pasteur (Fond d'Herelle), 1940-1946.
16. d'Herelle F. Sur le rôle du microbe filtrant bactériophage dans la dysenterie bacillaire. Comptes Rendus Académie des Sciences Paris 1918; 167:970-2.
17. Kabeshima T. Sur un ferment d'immunité bactériolysant, du mécanisme d'immunité infectieuse intestinale, de la nature du dit "microbe filtrant bactériophage" de d'Herelle. Comptes Rendus de la Société Biologique Paris 1920; 83:219-21.
18. Luria SE et Anderson TF. The identification and characterization of bacteriophages with the electron microscope. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 1945 ; 28:127-30.
19. d'Herelle F. Sur une épizootie de typhose aviaire. Comptes Rendus Académie des Sciences Paris 1919; 169:817-9.
20. d'Herelle F. Sur le rôle du microbe bactériophage dans la typhose aviaire. Comptes rendus de l'Académie Sciences Paris 1919; 169:932-93.
21. d'Herelle F. Les défenses de l'organisme. Paris: E Flammarion, 1923.
22. d'Herelle F. L'étude d'une maladie : le cholera, maladie à paradoxes. Lausanne: Rouge, 1946.
23. Summers WC. Félix d'Herelle and the Origins of Molecular Biology. New Haven: Yale University Press, 1999.
24. da Costa Cruz . Le traitement des dysenteries bacillaires par le bactériophage.

Comptes Rendus de la Société Biologique Paris 1924; 91:845.

25. Raiga A et Voitot J. Le bactériophage de d'Herelle. Agent naturel et thérapeutique de la guérison des infections. Hopitaux de Paris; 1952:40:265.

26. Hauduroy P. Le rôle du bactériophage dans la fièvre typhoïde. Comptes Rendus de la Société Biologique Paris 1925; 93:100.

27. Tsouloukidse A. Sur l'application du bactériophage dans la péritonite par perforation au cours de la fièvre typhoïde. La Médecine 1936; 17(Suppl):41-2.

28. Fruciano, E. et Bourne, S. Phage as an antimicrobial agent: d'Herelle's heretical theories and their role in the decline of phage prophylaxis in the West.

Can J. Infect Dis Med Microbiol, 18:19-26, 2007.

Felix d'Herelle et le déclin du projet "Phagothérapie", *in* École des Hautes Études en Sciences Sociales (manuscrit non publié). Paris, 2003-2004.

## **LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX**

Figure 1. Niveaux d'organisation de la cellule microbienne .....	41
Tableau 1 : Les polysaccharides extracellulaires de <i>Streptococcus mutans</i> .....	75
Figure 2 Amphibiose.....	82
Figure 3. Orientation de la pathogénie selon le métabolisme respiratoire bactérien .....	92
Figure A: Transferts et Stabilisation énergétique chez l'hôte .....	62
Figure B : Les facteurs de virulence orientent le devenir du pathogène dans sa niche .....	63

## AUTEURS ET SOURCES

1. Morris Goldner et Robert Drysdale  
Document original  
Département de microbiologie, Faculté de médecine, Université Laval,  
Québec, Canada, G1K 7P4 et l'Ecole des Sciences Biologiques, Université  
de Birmingham, Birmingham B15 2TT, Royaume-Uni.
2. Josephine Accuputo-Gendron et Morris Goldner  
Département de Microbiologie, Université de Toronto, Toronto, Ontario,  
Canada, M5S 1A1.  
Perspectives in Biology and Medicine, volume 37, pages 48-54, 1993
3. Morris Goldner et Max Firtel  
Département de microbiologie, Université de Toronto, Toronto, Canada  
M5S 1A8  
Speculations in Science and Technology, volume 11, pages 9-15, 1988
4. Douglas Marett, Brian Lacey et Morris Goldner  
Université de Toronto, Toronto, Canada et University of London, Londres,  
Royaume-Uni et Institut Pasteur, Paris, France.  
Speculations in Science and Technology, volume 17, pages 301-307, 1994
5. Morris Goldner et Jean-Philippe Émond  
Document original  
Brock University, St. Catharines, Ontario, Canada et Centre Hospitalier de  
Villeneuve-Saint-Georges, France
6. John D. Ruby, M. Goldner et J. Allan Hargreaves

Departments of Microbiology and Pediatric Dentistry, Medical Center West Virginia University, Morgantown, WV USA et Département de microbiologie et de parasitologie, Université de Toronto, Toronto, ON Canada et Department of Pediatric Dentistry, School of Dental Medicine, Harvard University, Boston, MA USA.

Revue canadienne de biologie, volume 37, pages 273-290, 1978.

7. Morris Goldner  
Département de microbiologie et de parasitologie, Faculté de médecine, Université de Toronto, Toronto, Ontario, Canada M5S 1A8  
Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology, volume 25, pages 431-438, 1981.
  
8. Morris Goldner et Serge Messier  
Département de microbiologie, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Canada, G1K 7P4 et Departement de pathologie et microbiologie, Faculte de medecine, veterinaire, Universite du Montreal, St. Hyacinthe, Quebec, Canada, J2S 7C6  
Can J Infect Dis Vol 13 No 1 January/February 2002
  
9. Morris Goldner  
Département de microbiologie, Faculté de médecine, Université Laval, Québec, Canada, G1K 7P4  
*Acta Biotheoretica*, volume 45, pages 81-85, 1997

10. Professeur Mark Pallen  
Division of Immunity and Infection, School of Medicine, University of  
Birmingham, Birmingham B15 2TT, UK  
extrait de compte-rendu “Trois generations des reflexions et experiences  
de l’infection a la microbiologie”, rapporte par Morris Goldner, Can J  
Infect Dis, 14,329-335, 2003.
  
11. Alain Dublanchet et Shawna Bourne  
Centre Hospitalier de Villeneuve-Saint-Georges, France  
Ministry of the Environment, London, Ontario, Canada.  
A Dublanchet et S. Bourne, The epic of phage therapy.  
Can J Infect Dis Med Microbiol 2007;18:15-18.