

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Jijel

Faculté des Sciences Exactes et Sciences

De la Nature et de La vie

Département de Biologie Moléculaire

et Cellulaire

جامعة جيجل

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

BC 17/110

*Mémoire De Fin D'études Pour L'obtention Du Diplôme  
Des Etudes Supérieures en Biologie*

Option : Biochimie

Intitulé



Vaccination génique pulmonaire :  
concepts et perspectives

Membres de Jury :

Examineur : M<sup>me</sup> BOUHAFES Leila

Encadreur : M<sup>elle</sup> BOUTENNOUNE Hanane

Présenté par :

Belila Somia

Bougherra Hanane

Bouhbila Siham

Année Universitaire : 2009- 2010

# Remerciements

Nous remercions en premier lieu « Allah » tout puissant de nous avoir donné la bonne foi et le courage pour accomplir ce modeste travail ainsi que nos précieuses familles et surtout nos parents pour leur soutien infatigable, leur patience admirable et leur affection continuelle.

L'aboutissement à la réalisation de ce travail et le fruit de toutes les années de formation, c'est donc à tous nos enseignants que nous voudrions d'abord exprimer nos respects et nos gratitude.

Nos sincères remerciements d'abord à notre encadreur M<sup>lle</sup> « Boutennoune Hanane » qui a suivi l'évolution de notre travail, surtout, pour son aide précieux, ses conseils, sa compétence et sa présence en tout moment. Nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance et nous lui disons encore « merci beaucoup ».

Nous tenons à remercier également notre examinateur madame: Bouhafis Leila qui à bien vouloir accepter de jury notre travail.

Enfin nous adressons nos vifs remerciements à tous ceux qui nous ont aidé et encouragé de près ou de loin chacune de son nom.

A vous tous un grand merci

Hanane, Siham et Somia



# Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Immunologie pulmonaire</b>	
1.1. Généralité sur les poumons.....	2
I.1. 1. Définition .....	2
I.1.2. Anatomie des poumons .....	2
I.1.2.1. Le poumon droite.....	2
I.1.2.2. Le poumon gauche .....	4
I. 2. L'épithélium respiratoire et sa morphologie .....	4
I.2.1. Définition.....	4
I.2.2. Morphologie.....	6
I.2.2.1. Les cellules ciliées.....	6
I.2.2.2. Les cellules caliciformes.....	6
I.2.2.3. Les cellules basales .....	6
I.2.2.4. Les cellules neuroendocrines .....	6
I.3. Les fonctions de la défense spécifique à l'épithélium pulmonaire .....	8
I.3.1. La fonction antibactérienne .....	8
I.3.2. la fonction de barrière.....	8
I.3.3. La fonction antioxydante .....	9
I.3.4. La fonction anti protéique .....	9
I.4. Les phagocytes pulmonaires .....	9
I.4.1. Les macrophages pulmonaires .....	9
I.4.1.1. Les macrophages alvéolaires.....	10
I.4.2. Les cellules dendritiques .....	12
I.5. Le tissu lymphoïde associé aux bronchites(BALT) .....	14

## Chapitre II : Vaccination génique pulmonaire

II.1. Qu' est qu'un vaccin ?.....	15
II.2. Les formes disponibles des vaccins.....	15
II.2.1. Les vaccins inactivés .....	15
II.2.2. Les vaccins atténués .....	15
II.2.3. Les vaccins sous unitaires .....	16
II.2.5. Les vaccins à ADN.....	16
II.3. La découverte de la vaccination à ADN.....	16
II.4. La préparation du vaccin à ADN.....	17
II.5. Les caractéristiques d'un vaccin à ADN .....	17
II.6. À quel niveau les vaccins à ADN sont-ils bénéfiques ? .....	20
II.7. Les vecteurs utilisés dans la vaccination génique .....	20
II.7.1. Les vecteurs viraux .....	20
II.7.1.1. Les rétrovirus.....	20
II.7.1.2. Les adénovirus.....	21
II.7.2. Les vecteurs non viraux .....	21
II.7.1.1. Les plasmides.....	21
II.7.1. L'ADN nu .....	21
II.8. Quelques voies d'administration d'un vaccin à ADN.....	23
II.8.1. La voie intramusculaire.....	23
II.8.2. La voie nasale .....	25
II.9. La réaction immunitaire pulmonaire.....	25
II.9.1. La reconnaissance et présentation de l'antigène.....	25
II.1.9.1. Les cellules dendritiques (DC).....	27
II.1.9.2. Les macrophages alvéolaires.....	27
II.9.2. Signaux de co stimulation .....	27
II.9.2.1. Facteurs membranaires .....	27
A : CD4/CD8 .....	27

B : B7/ CD8 .....	27
II .9.2.2. Facteurs solubles.....	29
II.9.3. Activation des CTL .....	29
II.9.4. Etat de différenciation des lymphocytes T .....	29
II .9.5. Conséquences de l'activation des lymphocytes T par l'Ag .....	30

### **Chapitre III : Les vaccins géniques et les maladies pulmonaires**

III.1. La Tuberculose .....	32
III.1.1. Définition .....	32
III.1.2. Les causes .....	32
III.1.3. Les symptômes .....	32
III.1.4. Vaccin à ADN anti-tuberculose.....	32
III-2. la Bronchiolite .....	34
III.2.1. Définition .....	34
III.2.2 Les causes .....	34
III.2.3. Les symptômes .....	34
III.2.4. Vaccin à ADN anti- bronchiolite.....	34
III.3. L'asthme allergique .....	36
III.3.1. Définition .....	36
III.3.2. Les causes .....	36
III.3.3. Les symptômes .....	37
III.3.4. Vaccin à ADN anti-asthme.....	37
III.4. Syndrome respiratoire aigue sévère(SRAS) .....	38
III.4.1. Définition.....	38
III.4.2. Les causes .....	38
III.4.3. Les symptômes .....	38
III.4.4. Vaccin à ADN anti –syndrome réspiratoire aigue sévère.....	38
III.5. La grippe aviaire.....	40

III.5.1. Définition.....	40
III.5.2. Les causes.....	40
III.5.3. Les symptômes .....	42
III.5.4. Vaccin à ADN anti grippe aviaire.....	42
<b>Conclusion .....</b>	<b>44</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>45</b>



## Liste des abréviations

AC	: Anticorps
ADN	: Acide desxyribonucleique
Ag	: Antigène
ARN	: Acide ribonucleique
BALF	: Bronchoalar lavage fluid
BALT	: Broncho alveolar associated lymphoid tissue
BCG	: Bacillus-Calmette guèrin
CD	: Classe de différenciation
CMH	: Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	: Cellules présentatrices d'antigènes
CR	: Complément receptor
CTL	: Cytotoxic T lymphocyte
Der p2	: Dermatophagoides pteronyssinus groupes 2
E	: Enveloppe
ELISA	: Enzyme-linked immunosobent
F	: fusion
FC	: Fragment crystallizable
FC8R	: Récepteur de fragment crystallizable
GALT	: Gut associated lymphoide tissue
GSH	: Glutathione
GSSG	: Glutathione disulfide
G-VRS	: Protéine G du virus syncytial respiratoire
HA	: hémaglutinineA
HCOV	: Human coronavirus
ICAM	: Intercellular adhesion molecules interferon
IFN	: Interferon
Ig	: Immunoglobine
IL	: Interleukine
N	: Nucléocapside
NALT	: Nasal associated lymphoid tissue
NK	: Natural killer
M	: Membranaire
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PIT	: Primo-infection tuberculose
P NN	: Poly nucleiaue neutrophile
Th1	: Helper type 1
TNF8	: Tumore necrose factor
S	: Spicule
SRAS	: Syndrome respiratoire aigu sévère
STAT6	: Signal trasducer and activator of transcription
VRS	: Virus respiratoire syncytial

# INTRODUCTION



L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents partout dans l'air, sur la peau et les muqueuses, c'est pour ça il est exposé de façon continue aux divers types de maladies et parmi ces derniers, les maladies infectieuses qui présentent un problème pour la santé publique. Les maladies infectieuses sont les principales causes de mortalité dans le monde. Dans les pays industrialisés, la mortalité due à ces maladies a fortement diminué durant la plus grande partie du 20<sup>ème</sup> siècle. Toutefois, certaines périodes ont vu une augmentation notable des taux de mortalité due principalement à ce type de maladies, notamment les maladies pulmonaires qui sont en augmentation d'une année à l'autre ce qui inquiète l'homme surtout lorsqu'il trouve que la lutte contre ces maladies par les vaccins classiques n'est pas efficace à cause de l'apparition de souches résistantes. Ce qui le pousse à la recherche d'autres types thérapeutiques plus efficaces aboutissant à l'apparition de plusieurs stratégies qui s'offrent pour le traitement de maladies infectieuses et plus particulièrement pour celles qui sont causées par les virus. L'une de ces stratégies est la biotechnologie du vaccin à ADN qui est considérée comme une méthode moderne pour lutter contre ces maladies. Cette biotechnologie est basée sur l'introduction d'un vecteur contenant le gène thérapeutique dans des cellules infectées.

Jusqu'aujourd'hui, l'application de cette biotechnologie reste dans une étape d'essai et de recherche successive, afin de déterminer leur efficacité pour la lutte contre les différentes maladies infectieuses.

Ce mémoire de fin d'études comporte trois parties: la première partie est réservée à l'exposition des données de base sur les poumons et les différentes cellules immunitaires pulmonaires, la deuxième a un objectif d'expliquer la vaccination génique pulmonaire de tous les côtés (histoire, principe, différents types.....) et le dernier chapitre illustre les vaccins géniques et les maladies pulmonaires.

# CHAPITRE I :

## IMMUNOLOGIE PULMONAIRE

## **I.1. Généralités sur les poumons**

### **I.1.1. Définition**

Les poumons sont des organes invaginés permettant d'échanger les gaz vitaux, notamment l'oxygène et le dioxyde de carbone. L'oxygène est nécessaire au métabolisme de l'organisme et le dioxyde de carbone doit être évacué (Travis et al., 1999). Ils sont aussi les principaux organes de l'appareil respiratoire (Rousse médical, 2006) contenus dans la cage thoracique limités sur leur face inférieure par le diaphragme (Lebeau, 1991). Ils sont formés de plusieurs lobes et comprennent une multitude de minuscules sacs remplis d'air, appelés alvéoles pulmonaires. C'est à travers la paroi de ces cellules, parcourues d'un fin réseau de capillaires sanguins, que se produisent les échanges gazeux nécessaires à l'oxygénation des tissus (Rousse médical, 2006).

### **I.1.2. Anatomie des poumons**

Les poumons sont des organes relativement volumineux (Elaine et Marieb, 2000). Ils sont faits d'un tissu léger et spongieux dont le volume est principalement occupé par des espaces pleins d'air, ces organes ont une forme de cône (Unglaub et al., 2007). L'homme possède deux poumons, droit et gauche (Travis et al., 1999), ces derniers occupent un espace relativement limité (Lebeau, 1991) (voire figure 01).

#### **I.1.2.1. Le Poumon droit**

Le poumon droit est divisé en trois lobes (supérieur, moyen et inférieur), et pèse 700 g environ (Travis et al., 1999). Dans ce poumon on distingue la grande scissure ou l'oblique : elle parcourt le poumon de haut en bas et d'arrière en avant et la petite scissure horizontale provenant de la grande scissure. Dans ce poumon on trouve la branche lobaire supérieure qui se divise en 3 bronches segmentaires : bronche apicale, ventrale et dorsale, la bronche lobaire moyenne qui se divise en 2 bronches segmentaires : une bronche latérale et une tronche médiale, et en dernier lieu la branche lobaire inférieure qui va avoir un trajet oblique en bas, elle se divise en 5 bronches segmentaires : une bronche apicale ou bronche de NELSON, une bronche basale se divisant en 4 branches segmentaire, une bronche baso-médiale, une bronche baso-latérale, et une bronche baso-ventrale et une bronche baso-dorsale (Lebeau, 1991)( voire figure 02).

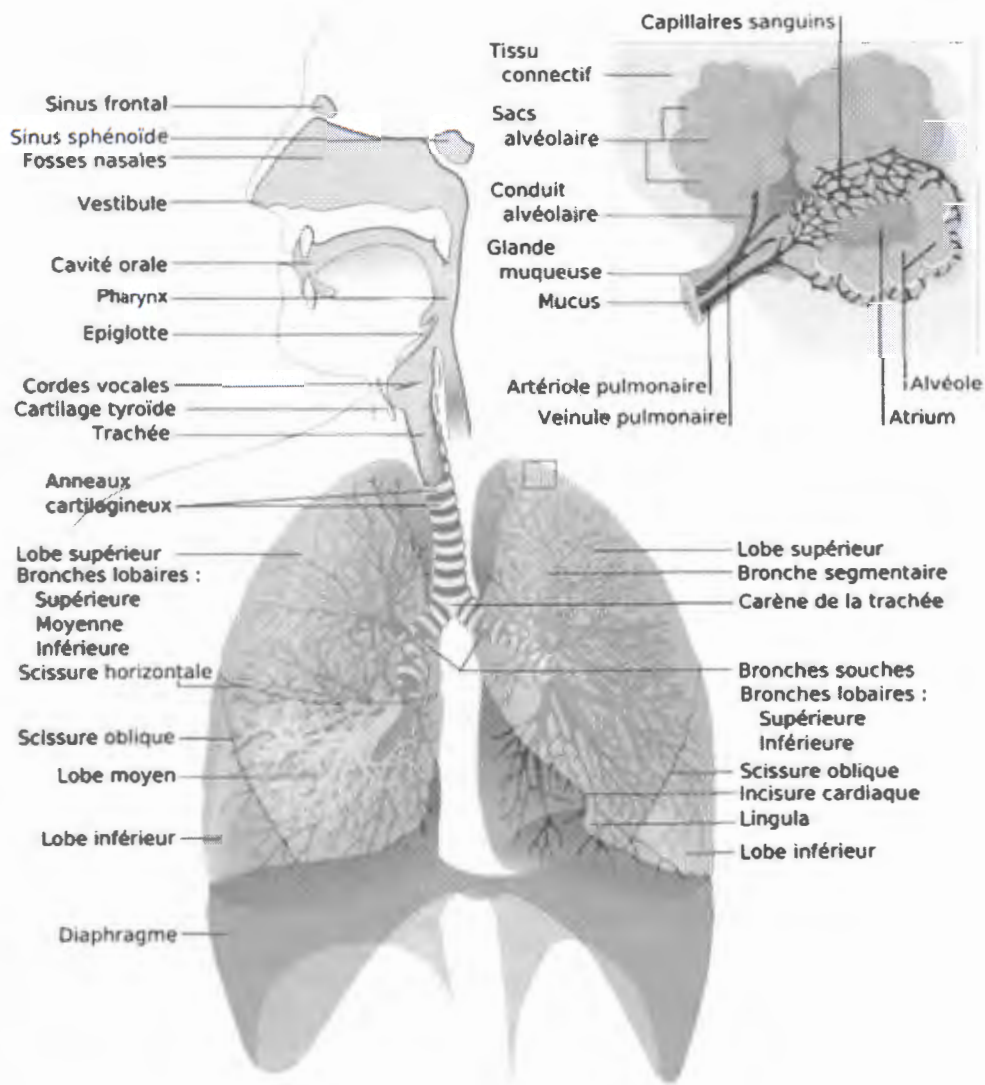


Figure 01 : Anatomie du poumon (Lebeau, 1991).



### **I.1.2.2. Poumon gauche**

Le poumon gauche est divisé en deux lobes (Travis et al., 1999). Il est un peu plus petit que le poumon droit ; il a un poids de 600g. Il ne possède qu'une seule scissure qui le partage en deux lobes : supérieure et inférieure. Sa capacité pulmonaire est de 51 de son volume total (Lebeau, 1991).

Le poumon gauche est un organe symétrique avec le poumon droit. Le poumon peut encore être divisé en une partie plus petite qui s'appelle le segment, il y a 10 segments à gauche et 10 segments à droite. On trouve dans ce poumon la bronche lobaire supérieure qui a un trajet très courts (1cm) et qui se divise en deux bronches : une bronche craniale ou culuminale et une bronche caudale ou lingulaire. La branche craniale se divise en 3 bronches segmentaires : une apicale, une ventrale et une dorsale équivalente au lobe supérieur droit. La bronche caudale se divise en 2 bronches segmentaires : une craniale et une caudale comme au niveau du lobe moyen droit et la bronche lobaire inférieure, équivalente au lobe inférieur droit avec une bronche de NELSON et la pyramide basale (quatre segments). Dans le poumon gauche il n'y a pas de segment intermédiaire. Après les bronches segmentaires, on trouve les bronches sous-segmentaires puis les bronches supra-lobulaires et les bronches lobulaires au niveau desquelles on trouve le lobule qui est une petite unité pulmonaire. En dessous on a les bronches supra lobulaires qui se prolongent par un canal alvéolaire débouchant sur une deuxième unité l'alvéole ( Lebeau, 1991) (Voire figure 02).

## **I.2. L'épithélium respiratoire**

### **I.2.1. Définition**

L'épithélium des voies respiratoires repose sur un tissu conjonctif comportant quatre types cellulaires : les cellules ciliées, les cellules caliciformes, les cellules basales et les cellules neuroendocrines (Monkhouse et Whimster, 1976). Chaque cellule joue un rôle très important dans la défense de l'hôte.

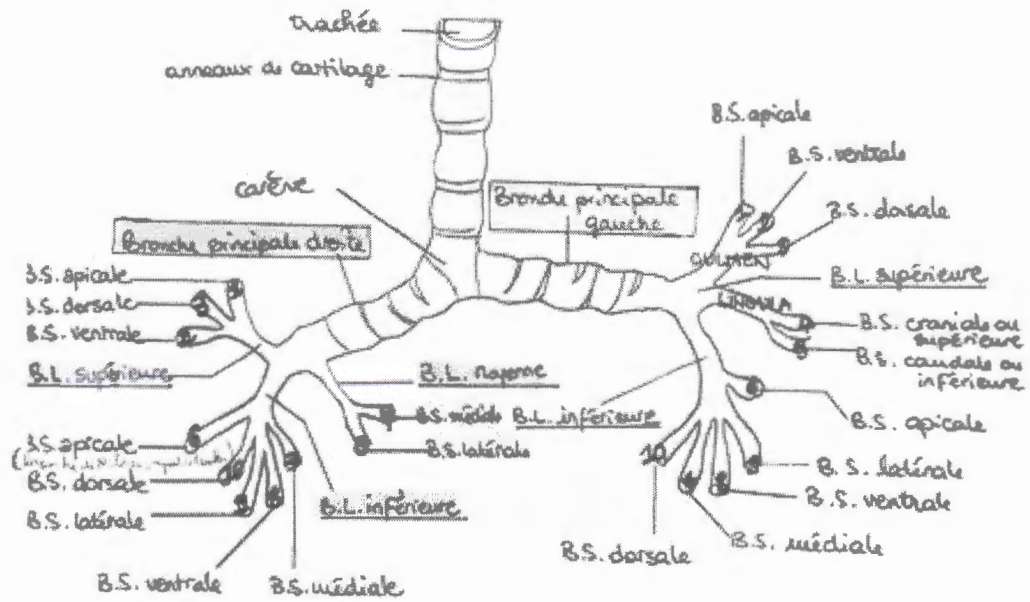


Figure 02 : Les différents segments du poumon (Travis et al., 1999).

## **I.2.2. Morphologie**

### **I.2.2.1. Les cellules ciliées**

Ces cellules sont les plus abondantes, caractérisées par des franges importantes qui se fixent par extension des microtubules axomènes à la baselle du corps. Les cils sont situés au pôle apicale (Breeze et Wheeldon, 1977). Les cellules ciliées jouent un rôle fondamental dans l'épuration pulmonaire en assurant la clairance muco-ciliaire (Jeffery et Reid, 1975).

### **I.2.2.2. Les cellules caliciformes**

Elles sont moins nombreuses, ont un noyau se foulé vers la base par des vacuoles supranucléaires contenant du mucigène qui participe avec les sécrétions des glands séro-muqueuses à la formation du mucus, ce dernier permet d'emprisonner les impuretés de l'air inspiré et d'absorber certains gaz (CO<sub>2</sub>, ozone). Elles possèdent des propriétés antibactériennes et se composent de 95% d'eau et d'électrolytes, 2% de mucines, 1% de protéine, 1% de lipides et 15% de sels inorganiques (Breeze et Wheeldon, 1977). Le nombre de cellules caliciformes augmente avec celui des impuretés dans l'air inspiré (Jeffery et Reid, 1975).

### **I.2.2.3. Les cellules basales**

Ce sont des petites cellules aplaties situées dans la partie profonde de l'épithélium. La surface des cellules basales est riche en desmosomes qui sont attachés aux cellules épithéliales, ce qui permet leur ancrage à la membrane basale (Evans et al, 1989). Ces cellules sont très importantes dans le renouvellement cellulaire (cellule de réserve) car elles sont capables de remplacer n'importe quel type de cellule bronchique (Breeze et Wheeldon, 1977).

### **I.2.2.4. Les cellules neuroendocrines**

Les cellules neuroendocrines sont minoritaires (3 à 5% des cellules épithéliales) et se trouvent dans la partie basale de l'épithélium (Terzakis et al., 1972). La neuroendocrine cellulaire se distingue par les granules cytoplasmiques qui se localisent à la surface de la cellule (Jeffery et Reid, 1975).

Les cellules neuroendocrines sont riches en substances bioactives. Le rôle des cellules neuroendocrines dans le poumon sain n'est pas clair, mais selon l'aspect unique des granules de sécrétions et son contenu propose des rôles de réglage de la sécrétion et la modulation de croissance cellulaire (Johnson, 1991 ; Sorokin et Hoztre, 1989) (voir figure03).



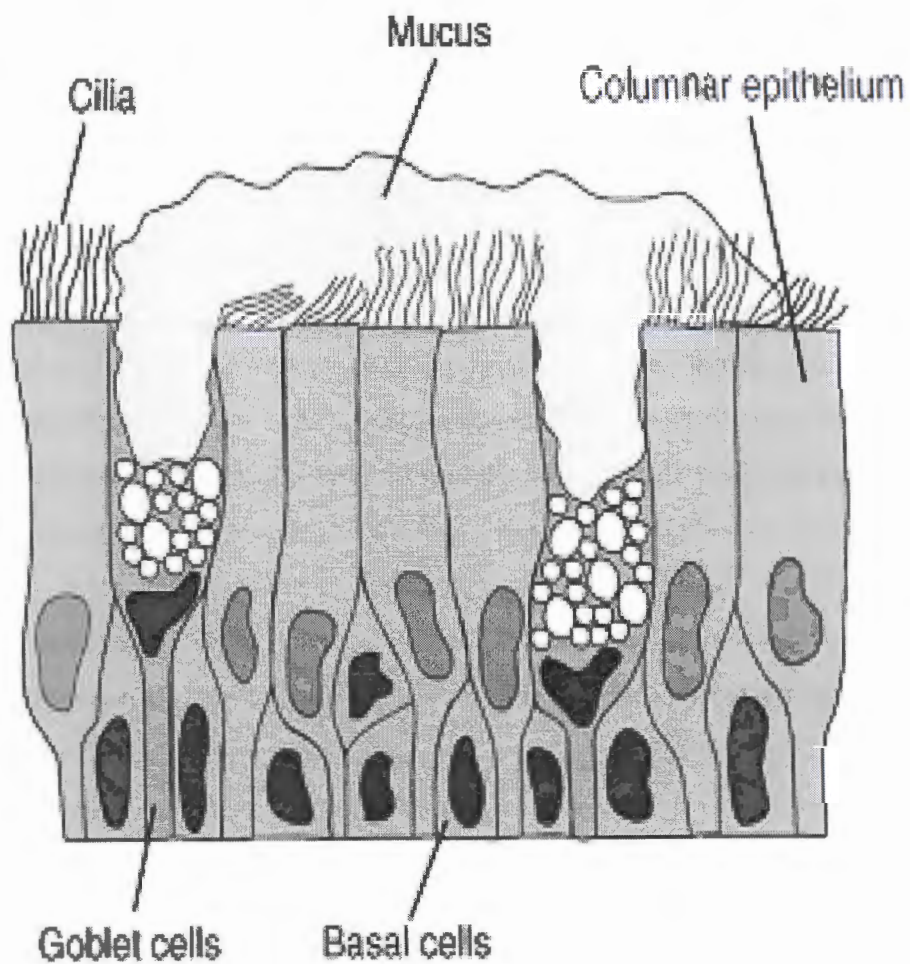


Figure 03: Les cellules de l'épithélium respiratoire (Maytal et al., 2005).





### I.3. Les fonctions de défense spécifique à l'épithélium pulmonaire

Les poumons représentent la plus grande surface épithéliale de l'organisme exposée au milieu extérieur. Lors de la respiration, les voies aériennes et les alvéoles pulmonaires sont en permanence en contact avec une multitude de particules et de microorganismes véhiculés par le flux aérien et parfois déposés à la surface de l'arbre trachéo-branchique. Ce phénomène nécessite un système complexe de défense particulièrement efficace (Join, 2003).

#### I.3.1. Fonction antibactérienne

L'efficacité de défense de l'hôte contre les bactéries à multiplication extracellulaire dépend principalement de la rapidité de leur élimination par les phagocytes. Les types cellulaires impliqués dans ce phénomène sont des macrophages résidents et les cellules recrutées lors la réaction inflammatoire non spécifique. La réponse immunitaire contre les bactéries à multiplication intracellulaire requiert à la fois l'activation des cellules phagocytaires (rôle de l' $IFN\gamma$ , cytokine,  $Th_1$ ), les cellules cytotoxiques de l'immunité innée (cellule NK, lymphocyte T) et de la l'acquisition d'une immunité spécifique (Join ,2003).

L'épithélium respiratoire secrète de nombreuses substances qui ont des propriétés antibactériennes telles que les lysozymes et les lactoferrines qui ont un effet bactériostatique.

#### I.3.2. Fonction de barrière

L'épithélium pulmonaire fournit une barrière morphologique et fonctionnelle à l'environnement. Des études histologiques démontrent la présence des complexes de jonction dans les voies aériennes et dans l'épithélium alvéolaire (Rennard et al., 1991 ;Shneberger et al. ,1978). Les complexes jonctionnels sont composés de trois parties : la zonules adhérente, les desmosomes et des jonctions serrées (Adamson et Bowden,1975). Chacun d'entre eux est considéré comme ayant un rôle unique dans le maintien des interactions entre les cellules épithéliales. Les zonules adhérentes contiennent des molécules d'adhésion cellulaire (CAMs) et contribuent à l'adhésion et la reconnaissance cellulaire. Les desmosomes contiennent un certain nombre de protéines, et jouent un rôle dans l'intégrité épithéliale. Enfin, les jonctions serrées, qui sont également composées de protéines spécifiques, fournissent une fonction de barrière physique (Widdicombe, 1988). En outre, l'épithélium des voies aériennes fournit une barrière effective contre l'invasion par les microbes (Tuomanen et Hendley, 1983 ;Collier et al. , 1971).

### **I.3.3. fonction antioxydante**

L'épithélium des voies aériennes est constamment exposé à un environnement riche en oxydant. La fumée de cigarette ( Adamson et Bowden, 1975) et l'inhalation de l'ozone et le  $\text{NO}_2$  (Hoidal et al., 1981). ainsi que l'activation des cellules inflammatoires augmente le fardeau oxydant au quelles les cellules épithéliales sont exposées.

Les cellules épithéliales des voies respiratoires partagent avec des cellules pulmonaires trois principaux systèmes antioxydants intracellulaires : le cycle d'oxydoréduction du glutathion, le superoxyde dismutase et la catalase (Heffner et Repine, 1989). Le superoxyde dismutase réduit le radical superoxyde à l' $\text{H}_2\text{O}_2$  et la catalase réduit l' $\text{H}_2\text{O}_2$  à l' $\text{H}_2\text{O}$ . Le système redox du glutathion maintient une ration élevée de glutathion réduite (GSH) par rapport au glutathion oxydée (GSSG) (Winterbournec et Molloy , 1988).

### **I.3.4. Fonction antiprotéique**

Les cellules pulmonaires inflammatoires, y compris les neutrophiles, les macrophages, les basophiles et les mastocytes sont des sources riches de protéases. Les cellules inflammatoires activées libèrent leurs protéases extracellulaires, ce qui provoque la concentration des protéases qui deviennent assez élevées dans l'environnement. Le clivage de protéines du parenchyme pulmonaire par des protéases a des effets directs sur les cellules épithéliales des voies aériennes (Thompson et al., 1995). L'épithélium respiratoire et le parenchyme pulmonaire sont protégés des effets des protéases par la présence des antiprotéases.

## **I.4. Les phagocytes pulmonaires**

Les cellules phagocytaires comme les macrophages et les cellules dendritiques, sont essentielles pour les protections contre les pathogènes inhalées. Ils jouent un rôle dans les deux immunités innée et adaptative. (Maytal et al., 2005).

### **I.4.1. Les macrophages pulmonaires**

Les macrophages pulmonaires sont dérivées des cellules de la moelle osseuse, elles se différencient à partir de monocytes sanguins après elles migrent vers les poumons. Après leur recrutement médié par les facteurs chimiotactiques, elles peuplent les différents compartiments des poumons et se différencient en macrophages pulmonaires matures. Les macrophages se trouvent dans la plèvre, l'interstitium, les alvéoles et dans les vaisseaux sanguins pulmonaires, et sont capables de migrer d'un compartiment du poumon à l'autre (Poulter et al ,1997). Les macrophages sont des éléments essentiels de l'immunité innée aux pathogène inhalés. Les



macrophages contrôlent l'infection dans les poumons, qui sont constamment exposés à l'environnement (Gordon et al., 2002). L'élimination des agents pathogènes est achevée par phagocytose suivie de digestion. Les macrophages renforcent leur capacité phagocytaire par le biais de trois groupes de récepteurs membranaires qui facilitent l'opsonisation :

- Les récepteur, Fc (Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII, Fc $\gamma$ RIII) pour les différentes sous classes des IgG, FcR pour l'IgE et l'IgA),
- Les récepteurs du complément (CR1, CR3, CR4) ;
- Les récepteurs de lectine (récepteur du mannose) ( Lohmann et al., 1994 ; Linehan et al. ,2000) (voire figure 04).

#### **I.4.1.1. Les macrophages alvéolaires : les gardiens de la barrière air-sang**

Les macrophages alvéolaires représentent plus de 90% des cellules intra-alvéolaires chez le sujet sain. Ils jouent un rôle primordial dans les défenses anti-infectieuses grâce à leurs activités de phagocytose, la synthèse de peptides antimicrobiens, et leur capacité de reconnaître les agents infectieux induisant la synthèse de signaux activateurs de l'immunité innée et acquise (Sibille et Reynolds ,1990).

Ainsi, grâce à ces fonctions diverses, le macrophage est en quelque sorte le « chef d'orchestre » des défenses pulmonaires anti-infectieuses. On peut considérer que les macrophages peuvent avoir deux types de comportements en cas d'agression par des agents infectieux (More et al ,2001) :

\*Si l'inoculum est faible ou l'agent infectieux est peu virulent : la phagocytose des macrophages suffit à contrôler l'infection. Ce phénomène survient sans déclencher de réactions inflammatoires, soulignant le fait que le milieu alvéolaire est physiologiquement contrôlé par un ensemble de signaux immunosuppresseurs qui prévoient la survenue d'une réaction inflammatoire inappropriée pouvant s'avérer dommageable à la qualité des échanges gazeux en cas d'inhalation de particules non pathogènes. Ces signaux immunosuppresseurs sont encore mal connus et résultent en particulier de l'action des lipides de la surface (Comark et Whitselt, 2002).

\*Si l'inoculum est plus important ou l'agent infectieux possède des facteurs de virulence lui permettant d'échapper aux systèmes d'exclusion et à la bactériolyse : les macrophages synthétisent immédiatement des «signaux de détresse » permettant de mettre en jeu et d'activer d'autres populations cellulaires de l'immunité innée.

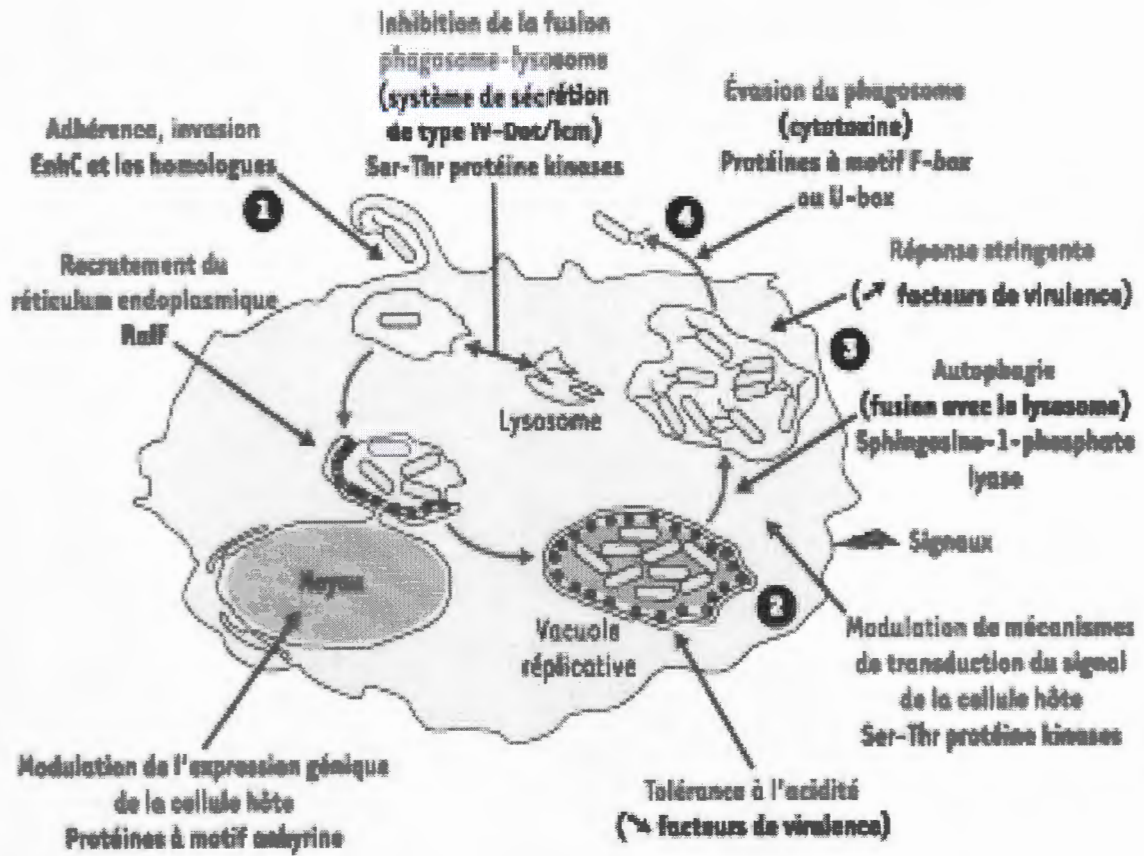


Figure 04 : Les fonctions du macrophage ( Bowden, 1976).



Ces signaux intercellulaires sont les cytokines de la phase aiguë de l'inflammatoire (TNF-alpha, IL-1- $\beta$ , IL-6 ...), les chémokines (IL-8) et les métabolites de l'acide arachidonique (leucatrienes B4) qui initient la réponse inflammatoire et recrutent les polynucléaires neutrophiles (PNN) et les monocytes/macrophages. Le TNf-alpha et l'IL-1- $\beta$  favorisent également le recrutement de PNN en augmentant l'expression des molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales, permettant la rotation puis adhésion de ces phagocytes professionnels (P- et E-selectine, ICAM-1 respectivement) à la paroi des vaisseaux pulmonaires (Ward, 1997).

Les macrophages alvéolaires sont donc capables de reconnaître un agent infectieux comme étranger, cette reconnaissance aboutissant à sa phagocytose et dans certaines cas à l'initiation d'une réponse inflammatoire (voire figure 05).

#### **I.4.2. les cellules dendritiques**

Les cellules dendritiques, puissantes cellules accessoires initialement décrites dans les organes lymphoïdes, sont largement distribuées dans tout l'organisme. Elles sont présentes dans le poumon normal, infiltrant préférentiellement le tissu conjonctif péribronchiolaire et l'interstitium alvéolaire. Les cellules de langerhans qui constituent une sous-population de cellules dendritiques associées aux muqueuses à localisation essentiellement intra-épithéliale, sont également présentes, mais limitées à l'épithélium des voies respiratoires, intercalées entre les cellules épithéliales où elles constituent un véritable réseau. Les cellules de langerhans des voies respiratoires, comme les autres cellules de langerhans de l'organisme, sont en position idéale pour exercer une fonction de surveillance.

L'ensemble des données obtenues essentiellement chez l'animal, suggère que les cellules de langerhans issues des cellules dendritiques du chorion conjonctif, sont capables de prendre en charge les antigènes exogènes ayant pénétrés les épithéliums, sans générer de réponse immunitaire localement. Elles migrent alors vers les organes lymphoïdes régionaux et acquièrent au cours de cette migration les profils phénotypiques et fonctionnels nécessaires pour y activer les lymphocytes T spécifique. Les cellules de langerhans représentent les principales cellules présentatrices d'antigène des voies respiratoires. Elles jouent sans nulle doute un rôle important dans l'initiation des réponses immunitaires pulmonaires. Elles interviennent dans la pathogénie de certaines maladies. Il est très probable qu'elles interviennent également dans la physiopathologie des maladies immunologiques comme l'asthme (Soler, 1997).

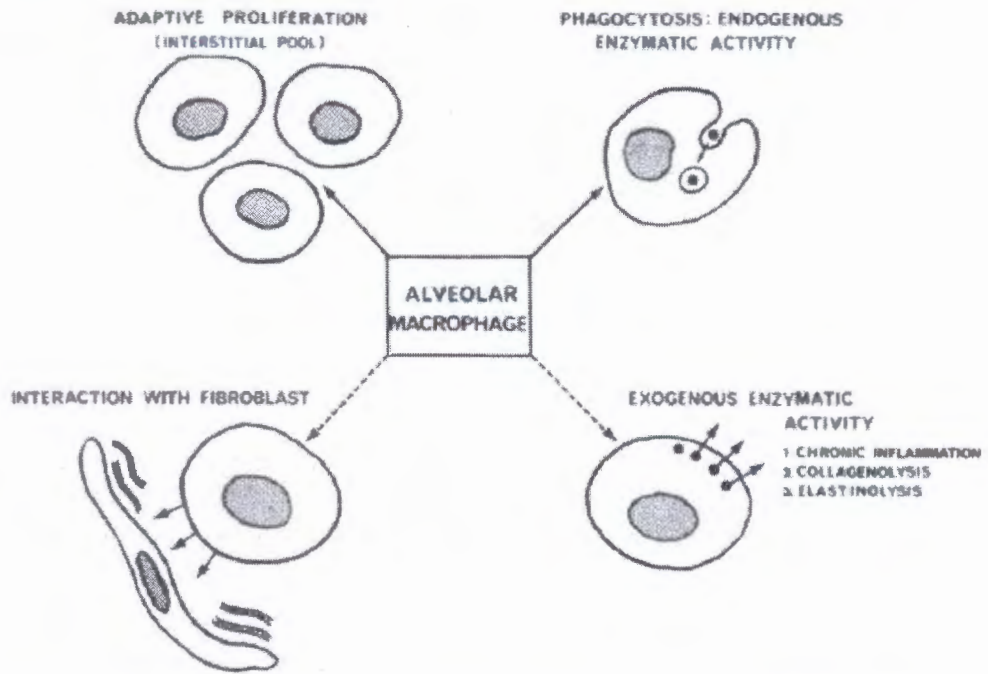


Figure 05 : Les fonctions du macrophage alvéolaire ( Bowden, 1976).

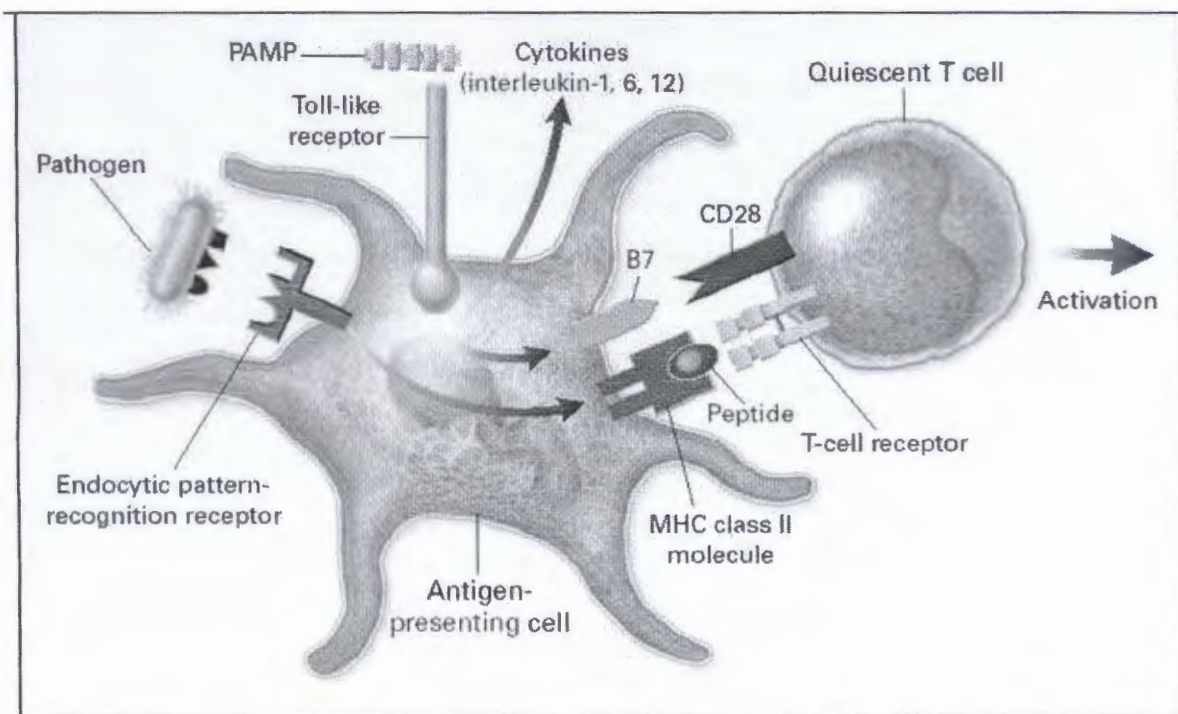


Figure 06 : Les fonctions de la cellule dendritique dans la défense de l'hôte.

Les cellules dendritiques et les cellules de langerhans pulmonaire jouent un rôle d'initiation et de développement de l'immunité acquise de deux manières : elles phagocytent l'agent pathogène, élaborent, transportent et présentent les peptides antigéniques aux lymphocytes, et orientent le type de réponse immune développée en fonction de la production de différentes cytokines immunomodulatrices (Nilson et al., 1989) (voire la figure 6).

### **I.5. Le tissu lymphoïde associé aux bronches (BALT)**

Tissu lymphoïde associé aux bronches (BALT) est un composant normal du système immunitaire des poumons chez de nombreux animaux et peu analogue à Gut Associated lymphoid Tissues (GALT) (Maytal et al 2005). Les BLAT sont absents à la naissance et ne se développent que dans les premières années de vie pour disparaître à l'âge adulte. Les BALT paraient ainsi jouer un rôle dans l'élaboration de la défense immunitaire chez l'enfant (Levrey et al., 1997).

# CHAPITRE II :

## VACCINATION GÉNIQUE PULMONAIRE



### II.1. Qu'est ce qu'un vaccin ?

Un vaccin est une préparation antigénique qui a pour but d'induire chez la personne ou l'animal qu'on vaccine, une réponse immunitaire spécifique à l'agent pathogène et qui est capable de le protéger contre l'infection naturelle ou d'en atténuer les conséquences (Launay, 2007).

La substance active d'un vaccin est un antigène destiné à stimuler les défenses naturelles de l'organisme. La réaction immunitaire primaire permet en parallèle une mise en mémoire de l'antigène présenté pour qu'à l'avenir, lors d'une contamination vraie, l'immunité acquise puisse s'activer de façon plus rapide (Needhan, 1999).

Le vaccin est un germe microbien auquel on a fait perdre artificiellement son pouvoir pathogène pour n'en garder que le pouvoir immunitaire (Rousse médical, 2006). La production d'anticorps diminue progressivement dans un délai plus ou moins long, fixant ainsi la durée d'efficacité du vaccin. Elle est mesurable et cette mesure peut être utilisée dans certains cas pour savoir si le sujet est vacciné efficacement (Needhan, 1999).

### II.2. Les formes disponibles des vaccins

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, sur la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et l'appareil urinaire. Ces micro-organismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Lorsque leurs hôtes naturels est l'homme, ils sont appelés saprophytes (flore digestive par exemple), par contre lorsqu'ils provoquent une infection, ils sont appelés pathogènes (Khiati, 2006). C'est pour ça qu'il faut trouver les outils qui permettent de lutter contre ses agressions, et parmi ces outils la vaccination qui reste l'une des armes les plus efficaces et les moins coûteuses (Lamsing et al., 2003).

Actuellement les vaccins ont plusieurs formes disponibles, on peut citer :

#### II.2.1. Les vaccins inactivés

Ce sont des dérivés de l'agent infectieux lui-même tué chimiquement ou par la chaleur (Wastson et al., 1994).

#### II.2.2. Les vaccins atténués

Ce sont des virus ou des bactéries vivants et modifiés de façon à ce qu'ils ne puissent plus se multiplier dans l'organisme inoculés (Wastson et al., 1994). Ils sont capables d'induire les cellules T tueuses (CTL), des lymphocytes T auxiliaires et une réponse à médiation humorale. Donc il y a un petit risque que des formes atténuées d'un agent pathogène peut revenir à une

forme dangereuse, et peut encore provoquer des maladies chez les personnes immunodéprimés. Bien que les vaccins tués n'ont pas ce risque, ils ne peuvent pas générer des réponses spécifiques de cellules tueuses T, et peuvent ne pas fonctionner de tout pour certaines maladies. Donc afin de

minimiser ces risques, des vaccins dits vaccins de deuxième génération ont été développés (Robinson et Pertmer, 2000).

### **II.2.3. Les vaccins sous unitaires**

Vaccins appelés de deuxième génération, comprenant des antigènes protéiques définis (comme le tétanos ou anatoxine diphtérique) ou des composants de protéines recombinants. Ils sont capables de générer des réponses à anticorps, mais pas des réponses de cellules tueuses T (Robinson et Pertmer, 2000).

### **II.2.5. Les vaccins à ADN**

La vaccination par ADN est une nouvelle approche vaccinale (Wolff et al., 1992). Elle permet la protection d'un organisme contre la maladie par l'injection de l'ADN génétiquement modifié pour produire une réponse immunitaire. Ces vaccins d'acides nucléiques sont encore au stade expérimental et ont été appliqués à un certain nombre de maladies virales, bactériennes et parasitaires ainsi que plusieurs modèles tumoraux. Ils sont nommés aussi vaccins de troisième génération (Watson et al., 1994). Cette vaccination est un concept novateur en vaccinologie (Wolff et al., 1992) qui a pour but de prévenir la maladie en faisant exprimer un antigène qui stimule le système immunitaire (Primose et al., 2004).

## **II.3. La découverte de la vaccination à ADN**

Les vaccins à ADN ont une histoire récente. Dans les années 1990, des études de thérapie génique et d'autres utilisant des vecteurs rétroviraux ont mené à la découverte que l'ADN pourrait être utile à la vaccination (Filisetti, 2006). Cette vaccination a été décrite pour la première fois en 1990 par Wolff et al. ces chercheurs ont trouvé que l'injection d'un plasmide nu qui code pour l'enzyme bactérienne B-galactosidase dans les muscles des souris conduit à un transfert direct des gènes dans les cellules musculaires et par conséquent la synthèse de l'enzyme (Donnelly et al., 1997). Plusieurs études ont été réalisées après cette année, mais aucune de ces études n'avait démontré que l'inoculation d'ADN plasmidique à l'animal pouvait entraîner la transfection des cellules par le plasmide (Filisetti, 2006). En 1992, Tang et al., ont démontré que l'injection du plasmide peut être utilisée pour déclencher une réaction immunitaire (Donnelly et al., 1997). L'année suivante, en 1993, une étude est venue montrer l'efficacité d'un



vaccin à ADN, cette dernière a été réalisée par Ulmer et al., qui ont montré que le gène codant pour la nucléoprotéine d'un des virus de la grippe (influenza A) stimulait la prolifération de lymphocytes T cytotoxiques et protégeait les souris vaccinées d'une infection létale. Depuis, ce champ scientifique s'est largement développé, utilisant des antigènes viraux, bactériens, parasitaires, fongiques, allergiques et tumoraux qui ont montré leur efficacité protectrice dans des espèces animales allant de la souris à l'être humain.

Le terme « vaccination génétique » a été utilisé mais il a été remplacé officiellement par « vaccination par acides nucléiques » ou « vaccins à ADN » lors d'une conférence organisée par l'Organisation mondiale de la santé en 1994 (Filisetti, 2006).

#### **II.4. La préparation du vaccin à ADN**

La vaccination à ADN ne s'agit plus d'administrer des antigènes seuls ou portés par une bactérie, un virus ou une protéine, mais d'insérer dans un plasmide d'expression approprié le gène codant pour la protéine immunogénétique du pathogène. Après son isolement, et lorsque le gène est exprimé par les cellules de l'hôte pour donner une protéine, il stimule le système immunitaire et conduit à une réaction immunitaire (Wolff et al., 1990) (voir figure 07).

#### **II.5. Les caractéristiques d'un vaccin à ADN**

Un vaccin à ADN a des caractéristiques bien précises. En tout premier lieu, c'est un plasmide ; une molécule circulaire d'ADN double brin, extrachromosomique (Filisetti, 2006) capable de se répliquer de façon autonome et non essentiel à la survie de cellule (Lederberg, 1952). Il possède aussi un site de clonage qui permet l'introduction d'une molécule double brin d'ADN. Le gène inséré dans ce site est placé sous la dépendance d'une séquence d'amont régulant son expression (promotion de la transcription du gène en ARN messager). En aval du site de clonage est située une séquence de poly-adénylation afin d'ajouter la queue poly A nécessaire à la stabilité de l'ARN messager. Il faut aussi ajouter une séquence d'initiation de la traduction de type eucaryote pour permettre le démarrage de la traduction si le vecteur n'en contient pas une lui-même. Il possède aussi une origine de réplication appelée ori, qui est une séquence unique d'ADN permettant l'initiation de la réplication, c'est à partir de cette séquence que débute une réplication unidirectionnelle ou bidirectionnelle. Les procaryotes ont une seule molécule d'ADN circulaire et donc en général une seule origine de réplication, les eucaryotes ont plusieurs origines de réplication sur chaque chromosome (Filisetti, 2006). Les vaccins à ADN sont produits dans des bactéries, systèmes extrêmement puissants pour la production plasmique (voir figure 08).



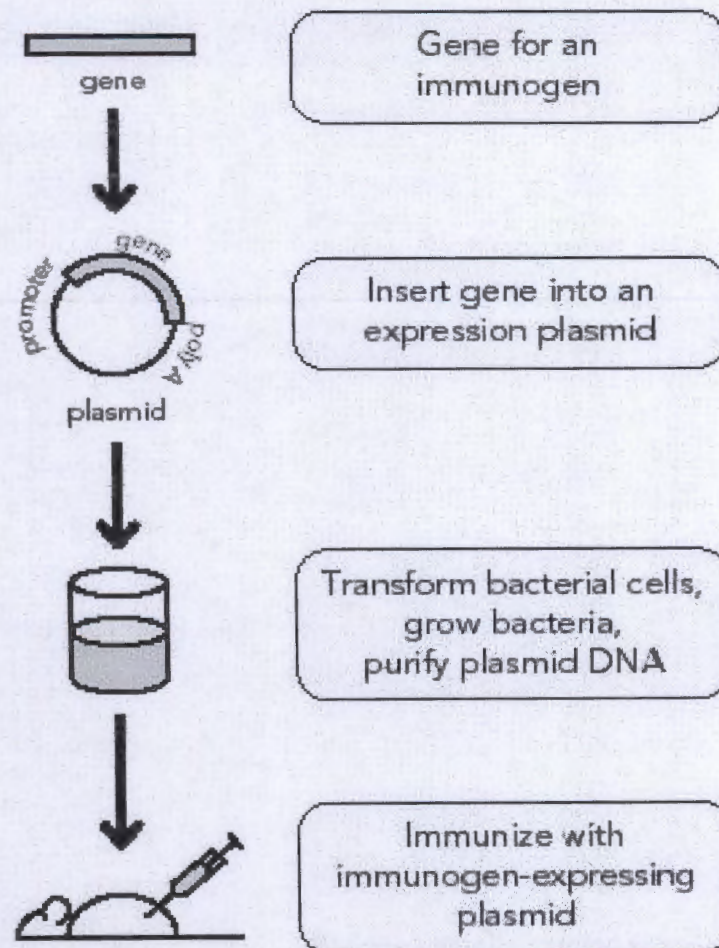


Figure 07 : Les étapes de la préparation du vaccin à ADN (Wolff et al., 1990).

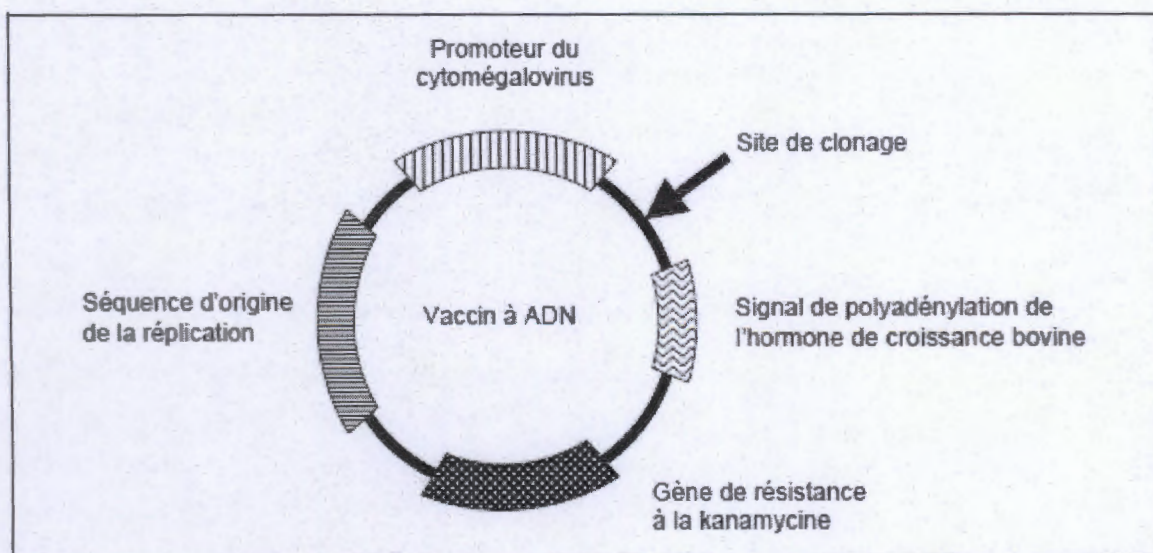


Figure 08 : Anatomie d'un vaccin à ADN (Filisetti, 2006).



## II.6. à quel niveau les vaccins à ADN sont-ils bénéfiques ?

Les vaccins à ADN ont des bénéfices uniques. Tout d'abord, la simplicité de leur préparation par rapport aux vaccins sous unitaires est remarquable et le coût de production est inférieur à celui des vaccins sous unitaires protéiques (Primose et al., 2004). Ils ont un large champ d'application et ils sont faciles à produire en grandes quantités (Primose et al., 2004). Les vaccins à ADN peuvent être présentés par les molécules de CMH classe I et des molécules de CMH class II (Robinson et Pertmer, 2000). Aussi un vaccin génique peut coder pour plusieurs protéines immunogéniques provenant du même pathogène ou contenir des formes variées d'antigènes dérivés de différents agents infectieux (Sasaki et al., 1999). Malgré ses bénéfices, les vaccins à ADN ont aussi des inconvénients, premièrement est que La fabrication d'une protéine par une cellule eucaryote peut mener à des modifications post-traductionnelles qui ne sont pas les mêmes que celles de l'antigène « natif » issu du micro-organisme (Filisetti, 2006). Aussi l'ADN non rétroviral transfecté par une variété de technique dans des cultures de cellules en croissance active peut être intégré au hasard par recombinaisons dans l'ADN de la cellule hôte (Nichols et al., 1995). Ce sont des vaccins limités à immunogènes de protéines (pas utile pour antigène non protéiques tels que les polysaccharides bactériennes) (Watson, 1994). Aussi, l'introduction des ces vaccins peut induire la production des anticorps contre l'ADN et ces vaccins peuvent aussi entraîner la stimulation de lymphocytes B-auto-réactifs qui secrètent des auto-anticorps de type IgG anti-ADN (Filisetti, 2006).

## II.7. Les vecteurs utilisés dans la vaccination génique

Les vecteurs sont des molécules d'ADN de transport qui transfèrent et répliquent des fragments d'ADN insérés. De nombreux vecteurs existent et présentent des propriétés variées, telles que la réplication de manière autonome, et la taille adéquate qui autorise leur manipulation en dehors d'une cellule hôte (Gérard et al., 2003; William et al., 2006). De nombreux vecteurs sont couramment utilisés selon le but souhaité.

### II.7.1. Les vecteurs viraux

#### II.7.1.1. Les rétrovirus

Ce sont des virus à ARN capable d'infecter les cellules en division qui possèdent à leur surface un récepteur reconnue par l'enveloppe. Ils ont été les premiers virus testés, dès 1981, ils intègrent de façon stable leur génome dans les génomes des cellules infectées (Josué et al., 1998) (voire figure 9).



### II.7.1.2. Les adénovirus

Les adénovirus sont des virus à ADN double brin dont la capacité d'insertion est inférieure ou égale à 8kb. Ils sont également largement utilisés comme vecteurs de transfert de nombreux types de cellules, en raison de leurs nombreuses caractéristiques favorables comme leur stabilité et leur grande taille d'insert acceptable (Primose et al., 2004). (voir figure 10).

### II.7.2. Les vecteurs non viraux

Ce sont des vecteurs caractérisés par une production aisée, économique et en absence de pathogénicité et d'immunogénicité qui laisse envisager des administrations répétées et une grande flexibilité (Renés, 1999). Il existe plusieurs types de vecteurs non viraux dont on peut citer :

#### II.7.2.1. Les plasmides

Les plasmides sont des molécules refermées d'ADN bi-caténaire distinctes de l'ADN chromosomique de la cellule. Ces ADN extrachromosomiques sont naturellement présents dans certaines bactéries ainsi que dans le noyau de certaines levures et de quelques eucaryotes supérieures (Lodish et al., 1997).

#### II.7.2.2. L'ADN nu

L'ADN nu est un vecteur promoteur pour les patients atteints de problème cardiovasculaires. L'injection d'ADN nu plasmidique est le système d'administration le plus simple et le moins cher, mais il n'était pas évident qu'une simple injection d'ADN permette la transfection de cellules *in vivo* (Lodish et al., 1997). L'ADN nu (contenant la séquence thérapeutique) est injecté sous forme de plasmide (molécule circulaire) dans le tissu cible. Il est ensuite intégré dans les cellules par des mécanismes encore inconnus (Davis et al., 1995).

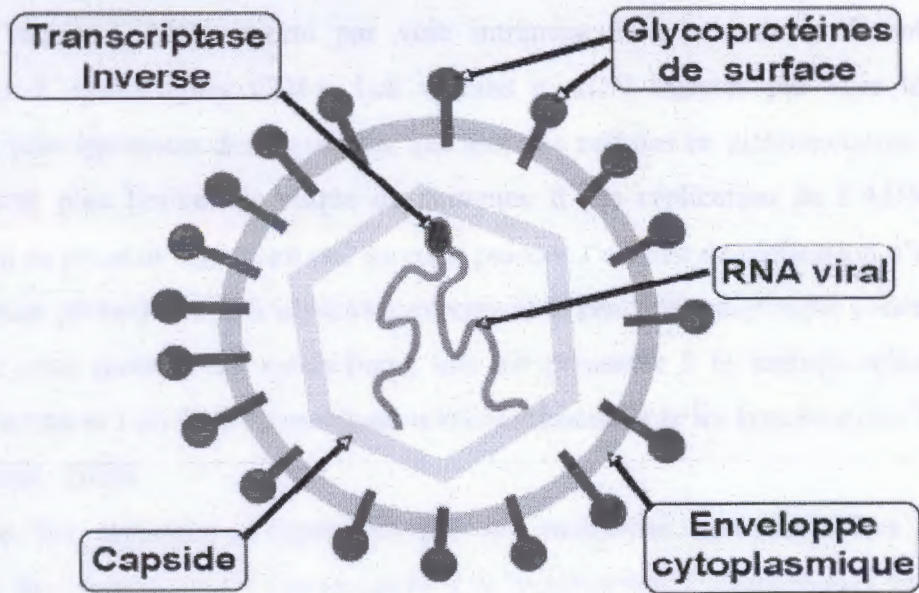


Figure 9 : Figure représentative d'un rétrovirus

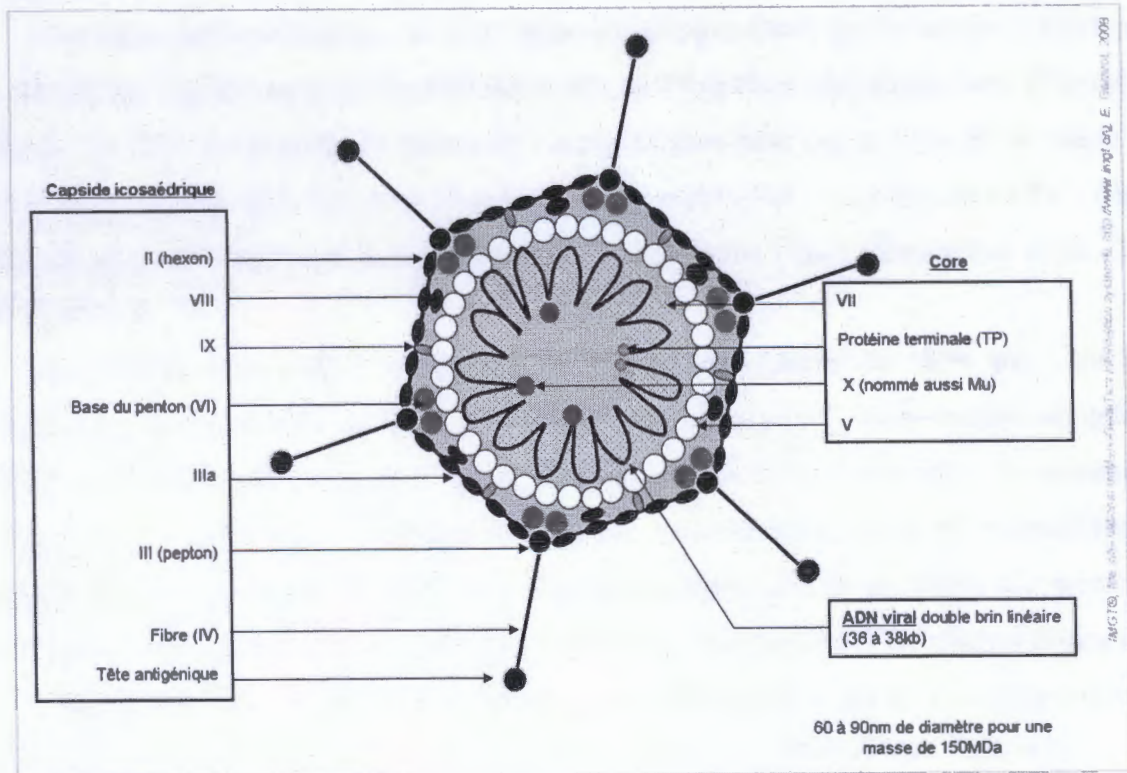


Figure 10 : Figure représentative d'un adénovirus



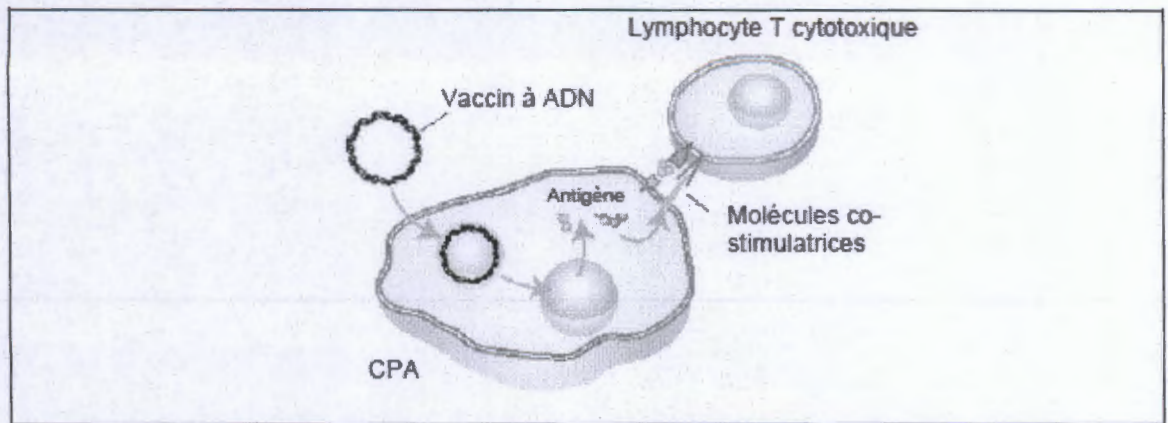


Figure 11 : Mécanisme de la stimulation directe de lymphocyte Tc ( Lui, 2003).

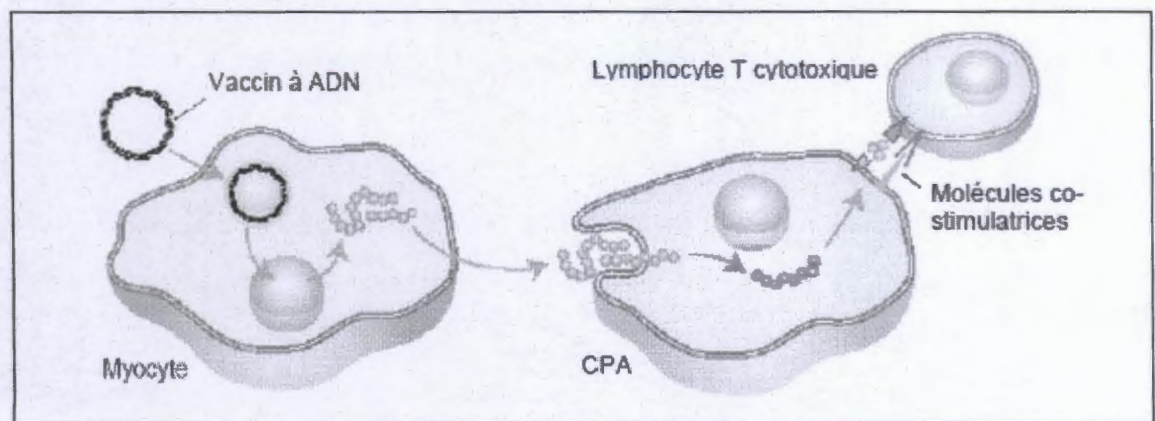


Figure 12 : Mécanisme de la stimulation croisée des lymphocytes Tc (Lui, 2003).



### II.8.2. La voie nasale

La plupart des stratégies de vaccination pulmonaire décrites à ce jour impliquent l'application nasale due à la facilité d'administration et de la conviction que cette vaccination peut stimuler l'immunité des muqueuses des voies respiratoires par interaction avec le tissu lymphoïde associé nasal (NALT). Même si elle peut induire à la fois des réponses immunitaires locales et systémiques, l'effet principal des muqueuses reste dans les voies aériennes supérieures, ce qui peut conduire à l'insuffisance des immunités contre des agents pathogènes des voies respiratoire pulmonaires.

En utilisant un modèle murin de l'infection de rétrovirus respiratoire, il a été démontré que la stimulation de NALT seul n'induit pas une réponse immunitaire optimale (Noemic et al., 2009) (voire figure 13).

### II.9. La réaction immunitaire pulmonaire

Le poumon est un organe largement ouvert sur le milieu extérieur et de ce fait, fortement exposé aux agressions exogènes. Pour assurer sa défense, il dispose d'un système immunitaire particulièrement développé. Cependant, il est important de souligner qu'à l'état normal toute une série de mécanismes sont en place pour inhiber la survenue de réponses immunitaires inadéquates et assurer ainsi l'intégrité des structures parenchymateuses pulmonaires (Kaltreder, 1991).

#### II.9.1. La reconnaissance et la présentation de l'antigène

Puisque la cellule T ne peut pas reconnaître l'antigène sous sa forme native, elle a donc besoin des CPA professionnelles dérivées de la moelle osseuse, comme les cellules dendritiques pulmonaires ou les macrophages alvéolaires qui sont des cellules présentatrices efficaces de l'antigène au niveau du poumon parce qu'elles expriment des niveaux élevés des molécules de CMH classe I et II, ainsi que les molécules de co-stimulation comme B<sub>7-1</sub> (CD<sub>80</sub>) et B<sub>7-2</sub> (CD<sub>86</sub>). Il a été montré que la stimulation des lymphocytes T par l'interaction B<sub>7-2</sub>/CD<sub>28</sub> induit la production de nombreuses cytokines et semble importante pour la prolifération lymphocytaires. Il y a deux types de cellules présentatrice d'antigènes (CPA) au niveau de poumon :

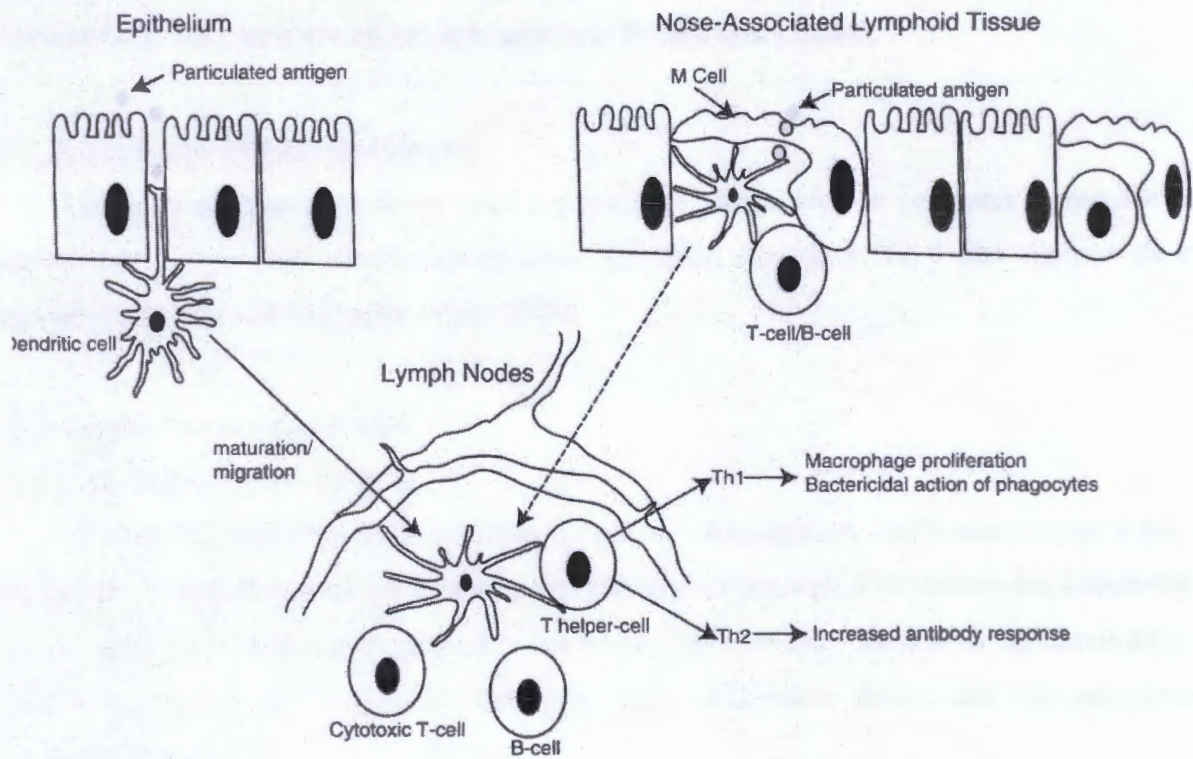


Figure 13 : vaccination par voie nasale (Noemic et al., 2009).

Les autres molécules reconnaissantes comme CD40/CD40-ligand qui sont associées avec l'initiation de la réponse immunitaire (Abdellatif, 1996) (voir figure 14).



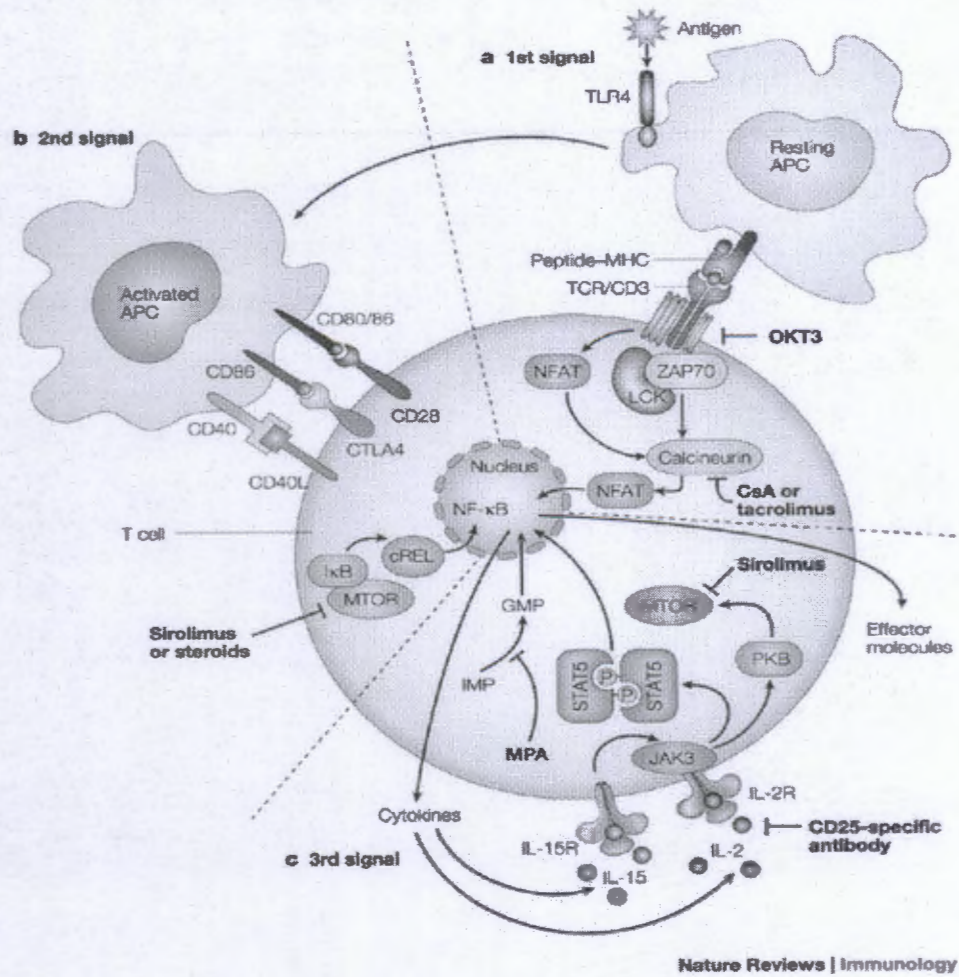


Figure 14 : Les facteurs de co-stimulation



### II.9.2.2. Facteurs solubles

L'interaction entre le lymphocyte T et la cellule accessoire (présentatrice) aboutit à l'activation des deux types cellulaires et résultent la sécrétion de nombreux médiateurs solubles ou cytokines. Il a été suggéré que la sécrétion de cytokines par les cellules présentatrices d'Ag ou la présence à leur surface de formes membranaires de ces cytokines (exemple :  $IL_1\alpha$ ,  $IL_1\beta$ ,  $IL_6$ ,  $IL_{12}$ , TNF) pourraient être importantes au cours de la phase d'activation des lymphocytes T (Hance, 1997).

### II.9.3. Activation des CTL

Les résultats de la vaccination à ADN est l'expression de l'antigène *in vivo* et la génération de deux types de réponse immunitaire pulmonaires (cellulaire et humorale), avec prédominance de la réponse cellulaire ; l'avantage majeur du vaccin à ADN est leur capacité à générer du CMH classe I restreinte les réponses CTL (Ulmer et al., 1993). L'activation des CTL après la vaccination à ADN peut se produire dans deux façons :

- par les CPA qui ont été directement transfectées par l'ADN ;
- par la croix-amorçage (cross-prining), dont les non-CPA d'abord produit la protéine codée par le vaccin à ADN, puis remet l'antigène à une CPA professionnelle pour l'amorçage du CMH de classe I restreinte à la réponse CTL. Bien que la non-CPA prend et produit plus de protéines que les autres type de cellules après administration d'ADN, ils n'ont généralement pas les signaux de co-stimulation nécessaires à l'activation de CTL (Sbai et al., 2002; Lui, 2003). Dans le cas des cellules alvéolaires de type II, il a été démontré qu'ils sont capables d'exprimer les molécules de co-stimulation pour les cellules T ce qui présentent un mécanisme supplémentaire pour l'activation des réponses CTL dans les poumons (Zissel et al., 2000).

### II.9.4. Etat de différenciation des lymphocytes T

Les signaux nécessaires pour activer les lymphocytes T varient selon l'état fonctionnel de ces cellules au moment de la rencontre de l'antigène. En effet, les lymphocytes T constituent une population cellulaire hétérogène qui peut être schématiquement séparée en différents sous-groupes en fonction de leur état d'activation : les lymphocytes T « naïfs » (qui n'ont jamais rencontré l'antigène), les lymphocytes T mémoires (qui ont été antérieurement activés et qui sont revenus à un état de repos), les lymphocytes T récemment activés et les T en cours de prolifération (lignées et clones T maintenus *in vitro*) (Robinson et Pertmer, 2000).

Les lymphocytes T « naïfs » ont besoin de signaux d'activation qui ne sont plus nécessaires pour les lymphocytes T mémoires. La stimulation du seul récepteur antigénique n'est



pas suffisante pour activer les lymphocytes T mémoires mais suffit pour faire proliférer les lignées et les clones T dans certains modèles expérimentaux (Abdellatif, 1998).

#### **II.9.5. Conséquences de l'activation des lymphocytes T par l'Ag**

Les lymphocytes T spécifiques de l'antigène sont activés et leurs fonctions effectrices s'exercent électivement vis-à-vis des cellules cibles ou des lymphocytes B qui ont rencontré le même antigène. Les antigènes particulaires, qui sont internalisés par les cellules phagocytaires, sont présentés en association avec les molécules de classe II et vont donc activer les lymphocytes CD<sub>4</sub>. Si les signaux nécessaires pour l'activation des lymphocytes T auxiliaires (CD<sub>4</sub>) sont présents, une réponse immunitaire caractérisée par la production d'AC par les lymphocytes B survient. Ainsi, la nature de l'antigène et le type de cellule présentatrice qui présente l'Ag vont déterminer le type de lymphocytes T qui sera activée. (Abdellatif, 1998) voire figure 15.

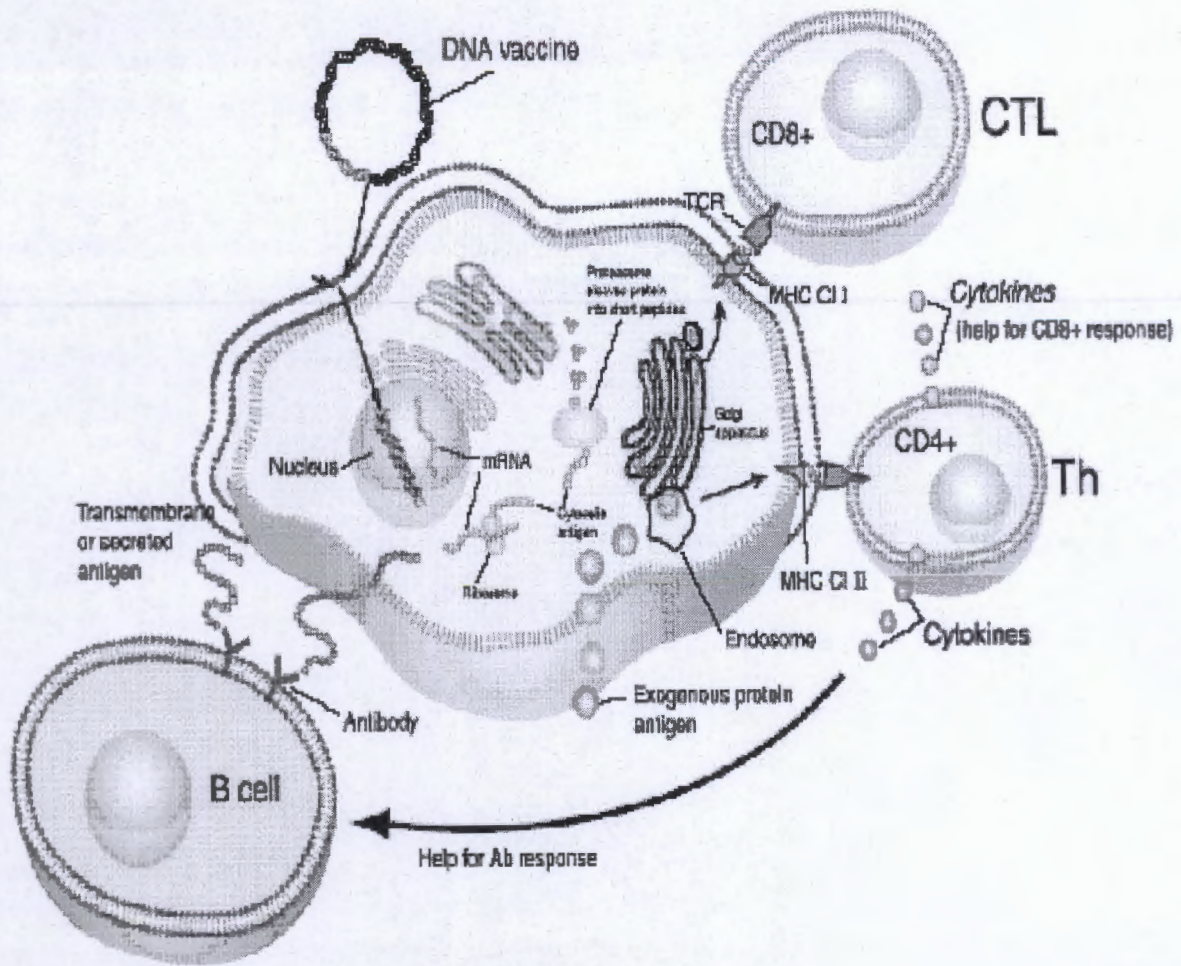


Figure 15 : La réponse immunitaire



# CHAPITRE III :

LES VACCINS GÉNIQUES ET LES MALADIES PULMONAIRES

### III.1. La tuberculose

#### III.1.1. Définition

La tuberculose, appelée également phthisie (terme désuet), est une maladie infectieuse contagieuse transmissible et non immunisante avec des signes cliniques variables. Il s'agit d'une maladie qui tue plusieurs millions de personnes par an dans le monde. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime que dans le monde entier 3 millions d'individus sont décédés de la tuberculose et ce chiffre, loin de diminuer, pourrait doubler, voir tripler au cours des prochaines années (Kincklin et al., 2000).

#### III.1.2. Les causes

La tuberculose est provoquée par des mycobactérie du complexe tubercules correspondant à différents germes et principalement *Mycobacterium tuberculosis* plus connu sous le nom de bacilles de Koch (bacilles aérobiques non mobiles, qui se divisent toutes les 16 à 20 heures). La contamination est essentiellement interhumaine, par voies aériennes à partir de gouttelettes de sécrétions respiratoires aérosolisés. rimo-infection tuberculose (PIT) suite à l'inhalation de bacilles guérit habituellement spontanément. Les bacilles peuvent rester vivantes sous forme latentes (bacilles dormantes) pendant des années (Jean, 2004) (voire figure 16).

#### III.1.3. Les symptômes

La tuberculose pulmonaire se traduit par une altération de l'état général (fièvre à prédominance vespéral, fatigue, amaigrissement), des sueurs nocturnes, une toux et des crachats parfois sanglants (hémoptysies). La radiographie thoracique met en évidence des opacités (nodules) et des clartés (cavernes) dans les parties supérieure et postérieure du poumon (Rousse médical, 2006).

#### III.1.2. Vaccin à ADN Anti-tuberculose

Un tiers de la population mondiale est infecté par le bacille *M. Tuberculosis*. Seulement 5 à 10 de personnes infectés développent une maladie active au cours de leur durée de vie. Chez les personnes en bonne santé, le système immunitaire est capable de contrôler la maladie (Schluger et Wetron, 1998). Bien que la plupart des cas actifs peuvent être traités avec chimiothérapie antibactérienne, ce traitement n'est pas suffisamment efficace pour lutter contre ce fléau, ainsi il est trop long pour être toléré par de nombreux patients. A partir des progrès technologiques de la génétique permettant d'isoler et de transférer le matériel génétique, les expériences récentes ont mis en évidence que l'injection par voie intramusculaire d'un plasmide codant pour une protéine mycobactérienne (protéine de choc thermique hp65, protéine



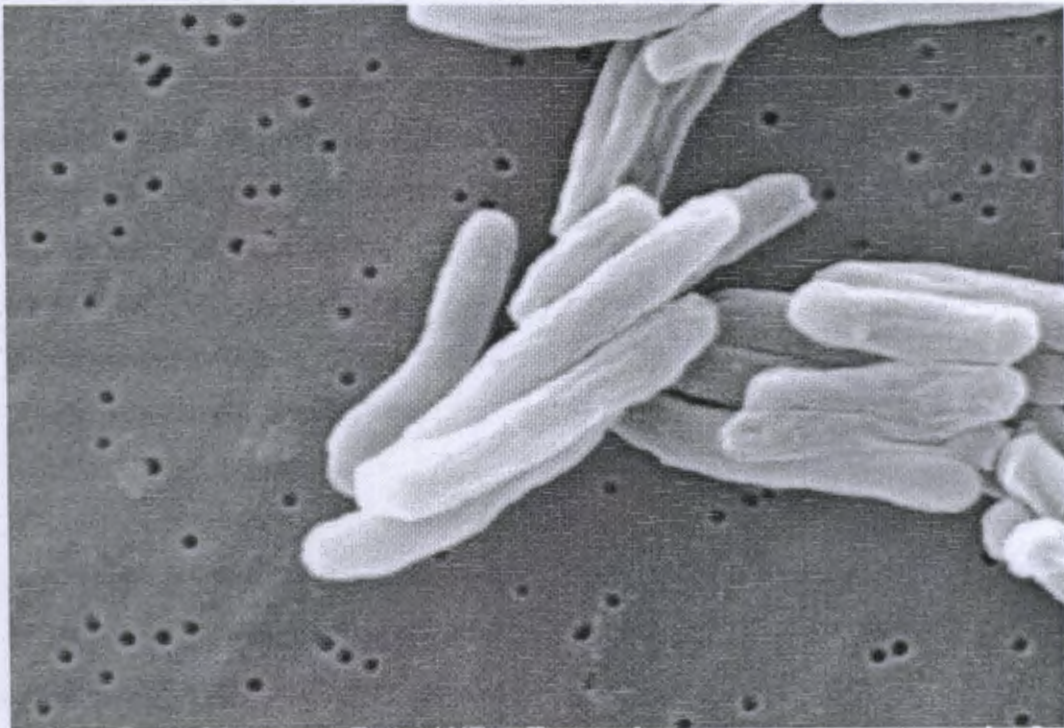


Figure 16 : Figure représentative de *Mycobactérium Tuberculosis*



Ag85 ou Antigène de 36 k Da riche en proline) pouvait induire chez les souris une immunité spécifique cellulaire et humorale de longue durée. L'animale devient par la suite immunisé contre le bacille de la tuberculose ou contre le bacillus Calmette-guérin (BCG). La technique de l'ADN nu offre de nombreux avantages par rapport aux procédés habituels de fabrication des vaccins (Tascon et al., 2003).

## **III.2. la bronchiolite**

### **III.2.1. Définition**

Une bronchiolite est une infection virale aigue des petites voies aériennes qui atteint le nourrisson de moins de 2 ans. Dans les pays industrialisés, les bronchiolites aigues sont la cause la plus fréquente des infection des voies respiratoires basses chez les nourrisson (Dutau, 1998). La bronchiolite est une pathologie bénigne, excepte dans certains groupes à risque tels que les prématures et l'enfant ayant une dysplasie bronchopulmonaire (Canfield et simoes, 1999).

### **III.2.2. Les causes**

La bronchiolite est due dans 5 à 70% des cas au virus respiratoire syncytial (VRS), qui est un virus à ARN dont l'enveloppe lipoprotéique porte des spicules glycoprotéiques G et F, qui jouent un rôle essentiel dans l'infection et l'immunité (Fauroux et al., 2000). La transmission du VRS se fait par les sécrétions respiratoires contaminées. En effet, les nourrissons infectés éliminent une grande partie de virus par voie nasale pendant 5 à 7 jours. Ainsi le virus peut se transmettre par contact avec les particules de l'air contaminées ou par des surfaces contaminées (Canfield et simoes, 1999) (voire figure 17).

### **III.2.3. Symptômes**

La bronchiolite entraîne une desquamation aigue et massive de l'épithélium respiratoire des voies aériennes inférieures et un syndrome broncho-obstructif, ainsi qu'une stimulation des sécrétions au niveau des glandes bronchiques et une inflammation de l'ensemble des voies aériennes (Fauroux et al., 2000).

### **III.2.2. Vaccin à ADN Anti-bronchiolite**

Le virus respiratoire syncytiale (VRS) reste une cause majeur de morbidité et de mortalité chez les nourrissons et les personnes âgés et un défi constant pour le développement d'un nouveau vaccin, car les médicaments qui sont utilisés ne sont pas efficaces et la durée de traitement est trop longue (Hall, 1994).



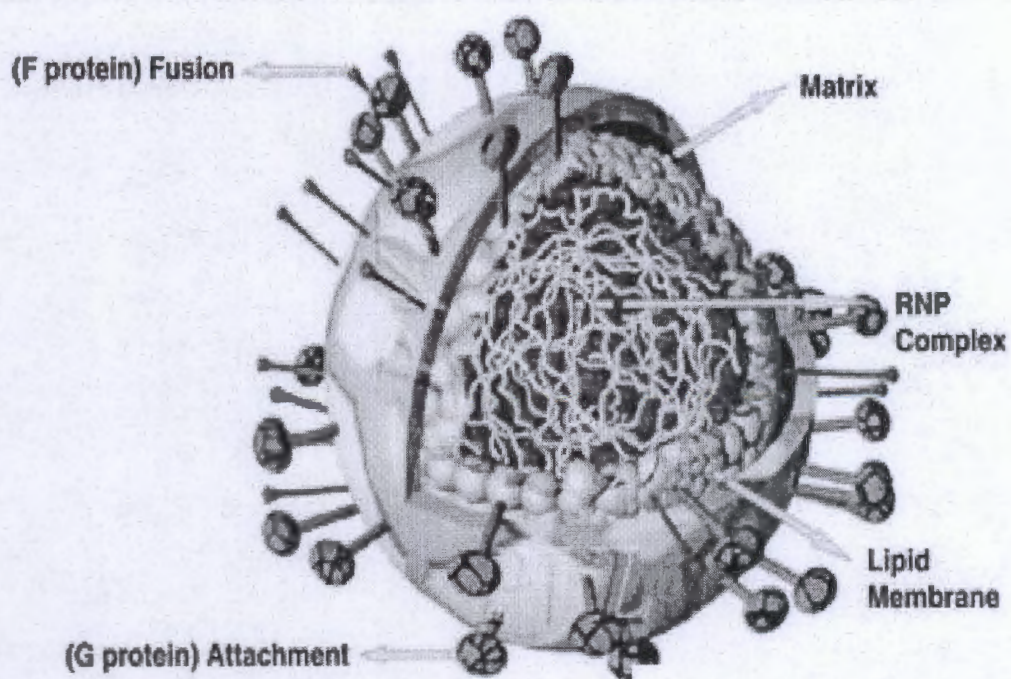


Figure 17 : Figure représentative du virus syncytial



Des études ont été réalisées jusqu'à présent chez les rongeurs et axées sur deux glycoprotéines qui sont localisées à la surface du virus : la protéine F qui est responsable de la fusion des enveloppes virales avec la membrane cytoplasmique de la cellule hôte, de la pénétration intracellulaire du virus et de la diffusion tissulaire de l'infection, ainsi que la protéine G qui est responsable de la diversité antigénique et de l'attachement à la surface de la cellule hôte. Le vaccin à ADN qui code pour la protéine G-VRS induit une réponse immunitaire au niveau du poumon (Sombharas et al., 2000; Miller et al., 2002). Le gène qui code pour la protéine F-VRS induit la formation des anticorps neutralisants qui inhibent la fusion cellulaire due au VSR des lymphocytes T cytotoxiques. L'animale devient par la suite immunisé contre le VSR (Ettorre et al., 2003).

### **III.3. L'asthme allergique**

#### **III.3.1. Définition**

L'asthme allergique est un syndrome complexe caractérisé par une obstruction, une hyperréactivité bronchique et l'inflammation des voies aériennes (Busse et Lemanske., 2001). Des niveaux élevés des cytokines de type 2 produits par les lymphocytes T comme l'IL-4, IL-5, et IL-13 sont reconnus comme des facteurs qui déclenchent l'inflammation allergique et accélèrent donc l'asthme. Ces cytokines favorisent la synthèse d'IgE, stimulent la croissance et la différenciation des éosinophiles et augmentent la production de mucus. En revanche, les cytokines de types 1 des cellules T comme l'IL-2, INF $\gamma$  et IL-12, engagent l'apurement des virus et d'autres organismes intracellulaires en activant les macrophages et les lymphocytes T cytotoxiques. Les deux groupes de lymphocytes T auxiliaires sont stimulés en réponse à différents stimuli immunogènes et à des cytokines et constituent une boucle de régulation immunitaire (Castron et al., 2000 ; Schwartz, 2002). Un déséquilibre entre les cellules Th1 et Th2 joue un rôle important dans le développement de l'asthme (Robinson et al., 1992).

#### **III.3.2. Les causes**

Chez les personnes atteintes d'asthme, on retrouve une hyperréactivité des bronches suite à l'exposition à une ou plusieurs substances dites « allergènes ». Ces allergènes peuvent être aériens (poussières, pollen.....), de la fumée du tabac, des aliments, certains médicament (aspirine et autre médicament anti-inflammatoire non stéroïdien) et des polluants (irritants en milieu de travaux, fumée d'un feu de bois.....) (Boulet et al., 1998).



### III.3.3. Les symptômes

Les symptômes peuvent être intermittants ou persistants. Une difficulté à respirer, une respiration sifflante, une sensation de serrement thoracique et une toux sèche. Pendant une crise prononcée : une incapacité à rester allongé, des sueurs, des augmentations du rythme cardiaque une grande anxiété de la confusion et de l'agitation, et une coloration bleutée de la peau et des muqueuses (Boulet et al., 1998).

### III.3.2. Vaccin à ADN anti -l'asthme

L'asthme est un problème chronique non traitable. Il est traité par plusieurs médicaments, ces derniers n'apportent pas de guérison définitive. Il facilite la respiration en augmentant l'ouverture des bronches et en réduisant l'inflammation (Boulet et al., 1998). En vue de la prévention de cette maladie, des recherches ont été faites pour obtenir un vaccin génique anti-asthme, Li et al, ont utilisé un vaccin codant pour la dermatophagoides pteronyssinus groupes 2 (Der P 2), allergènes déjà montré ses effets de production immunologique sur Derp2 qui induite une inflammation allergique des voies respiratoires chez la souris. Ils ont examiné si le vaccin à ADN codant pour Der p2 peut exercer un rôle thérapeutique dans l'inflammation allergique induite par les allergènes des voies respiratoires dans le modèle de la souris et exploré le mécanisme de la vaccination par ADN dans l'immunothérapie de l'asthme. Après sensibilisation par Der p2, les souris BALB/c ont été immunisées avec le vaccin à ADN. Les degrés de l'infiltration cellulaire ont été marqués, les taux d'IgE dans le sérum et les niveaux d'IL-4 /IL-13 dans le BALF ont été déterminés par ELISA et les tissus pulmonaires ont été évalués par les examens histologiques. L'expression de STAT6 et NF -Kappa B dans les poumons ont été déterminés par la coloration immunohistochimique. La vaccination des souris avec ce vaccin à ADN inhibe le développement de l'inflammation des voies respiratoires, diminue la production de mucine induite par l'allergène et le Der p2 spécifique réduit le taux d' IgE. Des réductions significatives de l'infiltration d'éosinophiles et les niveaux d'IL4/IL13 dans BALF ont été observées après la vaccination par ADN. De plus, la vaccination par ADN inhibe STAT6 et l'expression du NF-Kappa B dans les tissus pulmonaires des souris immunisées par Der p2. Ces résultats indiquent que le vaccin à ADN codant pour l'allergène Der p2 peut être utilisé pour le traitement de l'inflammation induite par l'allergène allergique des voies respiratoires dans le modèle de souris (Li et al., 2006).



### III.4. Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)

#### III.4.1. Définition

Le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) est une pneumonie fébrile observée pour la première fois en Chine à la fin de l'année 2002. De mars à octobre 2003, plus de 8000 patients ont été infectés ; 774 sont décédés. L'agent infectieux étiologique, rapidement identifié, est un nouveau *coronavirus*: le coronavirus associé au SRAS (SRAS-COV). La transmission du virus est interhumaine, principalement par les particules respiratoires. La gravité clinique est variable de simple fièvre au syndrome de détresse respiratoire aigu (Bossi et al., 2006).

#### III.4.2. Les causes

Le SRAS est causé par le coronavirus, virus qui appartient à la famille des *coronaviridae*, genre *coronavirus*. Il existe deux types HCoV229E et HCoV OC43. La taille des particules virales est de 80 à 150 nm, leur génome est constitué d'un ARN monocaténaire positif de 27 à 32 kb, ils se répliquent dans le cytoplasme. Le virus possède une capsidie hélicoïdale, il s'agit d'un virus enveloppé ayant un triple tropisme (Herbeing, 2003). Ce virus possède une enveloppe formée des protéines S (Spicule), M (membranaire) et E (enveloppe), ainsi qu'un nucléocapsidie hélicoïdale (nucléo-protéine N plus ARN virale) l'ARN virale plus simple brin code directement pour les quatre types de protéines structurales (M, E, S et N) ainsi que pour la replicase (Sujit et Lal, 2004) (voir figure 18).

#### III.4.3. Les symptômes

Les symptômes du SRAS font leur apparition dans les 10 jours qui suivent le contact direct avec un patient atteint de cette maladie. Ils peuvent inclure les symptômes suivants: fièvre de plus 38°C°, douleurs musculaires, fatigue extrême, maux de tête graves, toux sèche, vomissement et diarrhée (Lee et al., 2003).

#### III.4.2. Vaccin à ADN anti-SRAS

De nombreuses thérapeutiques ont été essayées pour traiter cette maladie sans bénéfice évident: anti-corps anti-endotoxine, anticorps anti-cytokine (anti-TNF, anti-IL...etc.), inhibiteurs de la cyclo-oxygène. Les mesures de la santé publique ont avec succès identifié des manifestations contenues du *coronavirus* respiratoire aigu sévère (SRAS), (*cov-SRAS*), mais des préoccupations demeurent quant à la possibilité de récurrences futures, trouver un vaccin pour ce virus reste donc une priorité absolue. Yang Z et al ont montré qu'un vaccin à ADN codant pour la protéine S, glycoprotéine du *SRAS-cov*, induit une réponse immunitaire médiée par



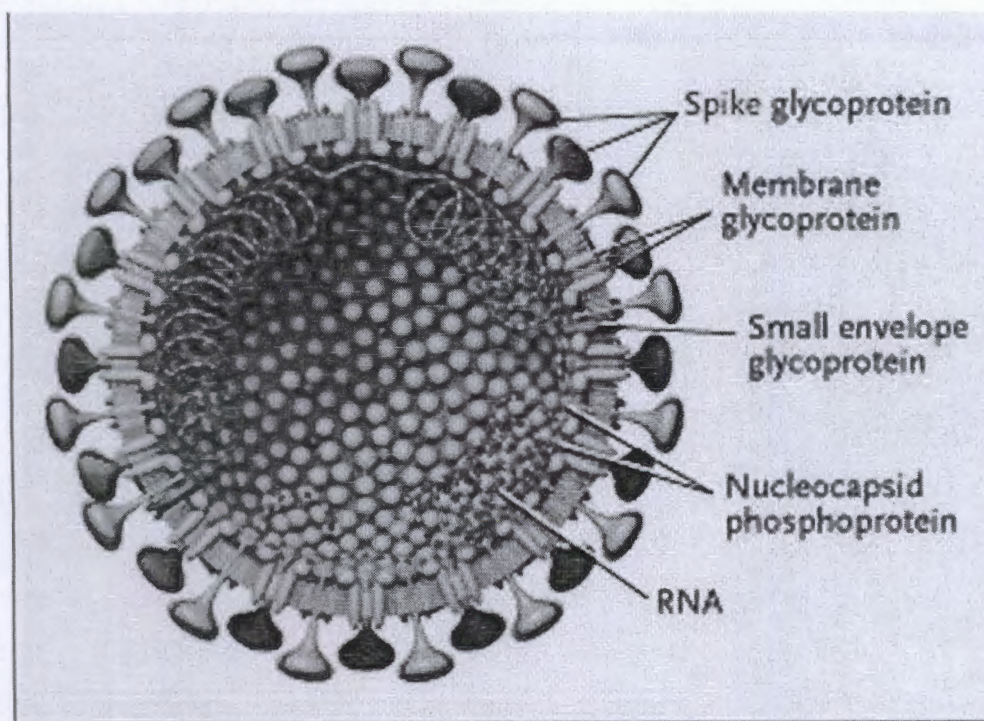


Figure 18 : Figure représentative du corona virus



des Cellules T et des anticorps neutralisants dans un modèle murine. D'autres formes de S ont été analysées par la vaccination à ADN. Ces vecteurs d'expression induisent une forte réponse immunitaire médiée par des cellules CD4 et CD8, ainsi que des taux anticorps significatifs, mesurés par dosage immuno-enzymatique. La réplication virale a été réduite dans les poumons des souris vaccinées par ces vecteurs d'expression et la protection a été véhiculée par une réponse humorale. La vaccination génique à base de COV-SRAS provoque des réponses immunitaires efficaces qui génèrent une immunité protectrice dans un modèle animal (Yang et al., 2004).

### **III.5. La grippe aviaire (Influenza A)**

#### **III.5.1. Définition**

La grippe, généralement, est une maladie infectieuse des oiseaux et des mammifères provoquée par des virus en ARN de la famille Orthomyxoviridae (les virus de l'influenza). Elle se transmet par la voie respiratoire (Champredon, 2006). Dans des cas plus sérieux, la grippe cause la pneumonie, qui peut être mortelle, en particulier chez les enfants et les personnes âgées. Parfois confus avec le froid commun, la grippe est une maladie beaucoup plus grave qui est provoquée par un type différent de virus (Eccles, 2005). Typiquement, la grippe est transmise des mammifères infectés par l'air, par des toux ou des éternuements, créant des aérosols contenant le virus, et des oiseaux par leurs crottes. La grippe peut également être transmise par la salive, les sécrétions nasales et le sang. Les infections se produisent par le contact avec les fluides corporels ou avec les surfaces souillées.

Les virus de l'influenza peuvent rester infectieux pour environ une semaine à température ambiante (du corps humain) plus de 30 jours à 0°C, et indéfiniment aux températures très basses. La plupart des contraintes de l'influenza peuvent être inactivées facilement par les désinfectants et les détergents (Suarez et al., 2006). La grippe écarte autour du monde dans des épidémies saisonnières, tuant des millions de personnes pendant les années de pandémie, et des centaines de milliers en années de non pandémie (WHO, 2006).

#### **III.5.2. Les causes**

La grippe aviaire est causée par des virus, les orthomyxovirus, de la famille des virus de la grippe. Ces virus sont classés en trois types : A, B et C. Dans chaque type on peut encore classifier des sous types comme par exemple la souche de type A : H1N1, H2N1.....etc. Dans la grippe aviaire on parle seulement du virus de type A. On dénombre 15 sortes différentes de ce virus pouvant provoquer la grippe aviaire. Pour le moment, la souche la plus dangereuse est le virus de type A de sous type H5N1 (Thomas, 2006) (voir figure 19).



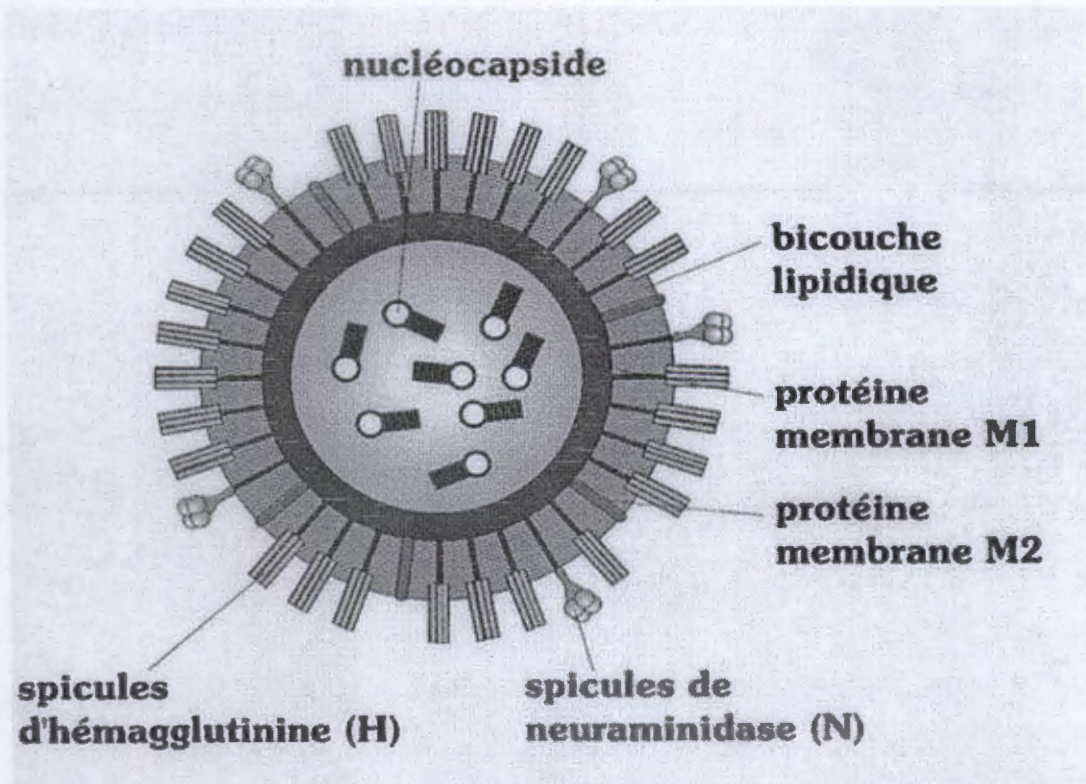


Figure 19 : Figure représentative du virus la grippe aviaire.



### III.5.3. Les symptômes

Les symptômes commencent de 24 à 48 heures après l'infection. Les frissons ou une sensation fraîche sont les premières indications de la grippe. La fièvre est commune pendant les premiers jours, et la température peut atteindre 38 °C à 39°C (Manual, 1986).

Les symptômes de la grippe peuvent inclure des maux de muscles, de la fièvre, du toux, la gorge endolorie, de la conjonctivite et dans des cas graves, les problèmes de la pneumonie respiratoire graves qui peuvent être mortels (Menno, 2005). La sévérité de l'infection dépend en une grande partie de l'état du système immunitaire de la personne infectée. La grippe aviaire est fortement pathogène chez les être humains (Jongh et al., 2006 ; Menno, 2005).

### III.5.4. Vaccin à ADN anti-grippe aviaire

Le traitement classique de la grippe A est assuré par des médicaments, les plus efficaces sont des inhibiteurs de la neuraminidase, une enzyme présent sur la surface externe du virus, qui permet de scinder la liaison du virus à la cellule endothéliale. Grâce à cette enzyme le virus peut quitter la cellule endothéliale (de la muqueuse) et infecter d'autres cellules, ce qui peut très vite aboutir à des complications et les symptômes qu'on connaît. Ces inhibiteurs sont l'Oseltamivir (Tamiflu), à prendre en comprimé ou en poudre et le Zanamivir (Relenza). Le processus de la fabrication des vaccins antigrippaux est généralement lourd, long et coûteux. Les vaccins antigrippaux qui en résultent, généralement constituées par des virus inactivés ou des protéines solubles, sont inefficaces à induire des réponses CTL, et l'infection par le virus de la grippe continue à faire une menace majeure de santé publique des humains et des animaux. La recherche d'autres méthodes efficaces pour la lutte contre la grippe aviaire devient une obligation. Le vaccin à ADN semble être la mesure la plus efficace pour réduire l'impact de la grippe sur l'homme et pour produire à la fois des réponses immunitaires humorales et cellulaires. L'hémagglutinine A (HA), protéine de surface de virus grippal A, la cible majeure d'anticorps protecteurs induits par infection virale est largement considéré comme l'antigène de choix pour un vaccin contre la grippe. La réponse des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) dirigés contre la nucléoprotéine conservée (NP) est supposée pour jouer un rôle important dans l'élimination du virus et favoriser la survie et le rétablissement de la grippe. Dans une étude, un vaccin à ADN a été développé en utilisant un nouveau plasmide composé de gène HA du virus H5N1 de la grippe dans lequel un épitope NP (NP-147-155) spécifique de CTL a été inséré. La réponse humorale et la réponse des lymphocytes T cytotoxiques induite par ce vaccin ont été examinées, et l'efficacité antivirale contre le virus H5N1 de la grippe chez les souris vaccinées a été également évaluée.



dans des modèles murins. L'insertion de ce plasmide conduit à une réponse humorale et une réponse cellulaire (CTL) (Pan et al., 2008).

Dans une étude, un vaccin à ADN a été développé en utilisant un nouveau plasmide composé de gène HA du virus H5H1 de la grippe dans lequel un épitope NP (NP-147-155) spécifique de CTL a été inséré. La réponse humorale et la réponse des lymphocytes T cytotoxiques induite par ce vaccin ont été examinées, et l'efficacité antivirale contre le virus H5H1 de la grippe chez les souris vaccinées a été également évaluée dans des modèles murins. L'insertion de ce plasmide conduit à une réponse humorale et une réponse cellulaire (CTL) (Pan et al., 2008).

D'après l'ensemble des essais par la biotechnologie du vaccins à ADN, on peut dire que l'application de cette biotechnologie reste dans une phase de développement ou dans une étape d'essais et de recherche successive. Grâce à l'augmentation du nombre des vecteurs, les progrès de la biotechnologie des vaccins à ADN, dans la phase préclinique de l'application de vaccins à ADN.

Après de ces travaux, il est évident que la biotechnologie des vaccins à ADN est une application de la biotechnologie des vaccins à ADN, qui est une phase de développement ou d'essais et de recherche successive. Grâce à l'augmentation du nombre des vecteurs, les progrès de la biotechnologie des vaccins à ADN, dans la phase préclinique de l'application de vaccins à ADN.

# CONCLUSION



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

D'après l'ensemble des essais par la biotechnologie du vaccins à ADN, on peut dire que l'application de cette biotechnologie reste dans une phase de développement ou dans une étape d'essais et de recherche successive. Grâce à l'augmentation du nombre des vecteurs, des protéines et le développement des techniques utilisées dans le génie génétique on l'améliore de mieux en mieux.

Aujourd'hui aucune maladie infectieuse n'a été bloqué totalement par ce vaccin et son application est réservée au animaux pas plus, malgré il n'ya pas de risque d'infection par un agent adventice car le vaccin est composé uniquement d'ADN. La découverte d'une nouvelle biotechnologie comme la biotechnologie du vaccin à ADN est un ensemble complexe, donc il est nécessaire de laisser à la recherche le temps de perfectionner à cette biotechnologie, qu'aura un avenir prometteur et la réserver pour les évènements prochains.



# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdellatif, T. (1998). Cellules des réponses immunitaire dans le poumon.interaction entre les cellules accessoires. Paris :[ S.P].
- Adamson, L . and Bowden, D .A. (1975). Derivation of type I epithelium from type II. cells in the developing lat lung.J: *labInvest*: 736-745.
- Bossi, P. Guihot, A .Rigairdeau,S. Bouvresse, S . et Bricaire , F. ( 2006).Syndrome respiratoire aigu sévère . j *Elsevier masson EM consulte* 47-83.
- Boulet, L.P. Ernst, P. et Renzi, P. (1998).L`asthme cahier de formation medicale continue ,supplement a l`actualite medicale.
- Bowden, D.H. (1976). The pulmonary macrophage. *Environmental health perspectives* : 55-60.
- Breeze, RG. Wheeldon, EB. (1977). Les cellules de la pulmunaires voies réspiration – *RespirDis AmRev* : 705-777.
- Busse, W. et Lemanske, J. R. (2001). L`asthma : 350-362.
- Castron, M. D. Chaplin, D. Walter, M. et Holtzman, M. (2000). Pourriez –Asthmatiques doivent etre aggravée par la stimulation de types T helper repnse immunitaire : 143 – 146 [S .L].
- Champredon, C. (2006). Grippe aviaire et virus H5N1. Institut national de veille sanitaire. [S.P] .
- Comark,M. Fx.whitselt, Fx.(2002). The pulmonary collection, SPA and SP- Dor chestrate innate immunity in the lung. *Jclin Invest* 707-12.
- Donnelly, JJ. et lie, MA. (2000). Antigen presentation and vaccines AM j *Respir crit care med* 190-193.
- Donnelly, J. Ulmer, J. Shiver, J.et lieu, M. (1997). DNA vaccines : 617-648.
- Eccles, R. (2005) .Understanding the symptoms of the common cold and Influenza Lancet . *Infect Dis .5* (11): 718 – 25.

Elaine, N.MAR, EB. (2000). Biologie humaine, anatomie et physiologie, traduction de la 6<sup>ème</sup> édition, édition. Américaine.389.

Ellison, RT. Vieh, TJ. (1991). Killing of gram negative bacteria by lactoferrin and lysozyme J: *clin Invest* : 1080 -1091.

Ettore, L. Swirzer, G. James, C. Parring, T. LeinM M. (2000) .DNA encoding the respiratory syncytial virus G porte promising vaccines condidate .J: *virology* :54-68.

Evans, MJ. Cox, RJ. shami, W.(1989). plopperco the role of basal.cells in attachment of columnner cells to the basal lamina of the trachea- *Amj :Respir cellmol Bio*: 463-469.

Filisetti, D. (2006). Vaccination génique contre la toxoplasmose chez la souris mise au point et validation de huit candidats. Strasbourg universite de luis pasteur .13-16.

Gérard, J.T. Berdelle,R.F.et Chistine, L. J. (2003). Introduction à la microbiologie. (Ed).renouveau pédagogique .canada :551.

Gordon, S. B. Read, R. med, Br. et Bull, (2002). Macrophage defenses against respiratory tract infections 45-61.

Gurunathan, S. Klinman, D. et Seder, R. A. (2000). DNA vaccines:immunology,application,and optimization,annu.*JRev.immunol*.18.:927-974.

Hall, C. B. (1994). Perspectives pour un vaccin centre le virus réspiratoire syncytial J *science*:1393.

Halliwed, B. Arona, OI.wasil, M. Gutteridge, M. (1988). The resitance of transferring, lactoforrin and caerulo plasmin to otidative damage- J: *Biochem*: 311

Hance,A. J. (1997). Accessory cell lymphocyte interaction raven press :821-839.

Heffner, JE. Repine, jE. (1989). Pulmonoly of antioxidant defense. J: *AnRev Respir Dis*: 531-554

Herald, NZ. (2006). Fly Viruses (Can live for decades) on ice. [ S . P .L].



Herbein, G. (2003). Cour de coronavirus. 3 . [S. L].

Hoidal, JR. Fox, RB. Lemarbe, PA. perri, R. Repine, JF. (1981). Altered oxydativo metabolic responses in Vitro of- alveokers. *J Am Rev Respir Dis*: 531-554

Jean, C. et Nicolas, (2004). Mycobacterium tuberculosis et mycobacteries atypiques : 6.

Jeffery, PK. Reid, L. (1975). New observation of rat epithelium: a quantitative and election microscope study *J.Anat*: 295

Johnson, DE. (1991). Pulmonary neuroendocrine cells. In : farmer SG, Hay PwP, eds. The airway EpiThelium: physiology pathology, and pharnmacologie. *J: Nework. Marcel Dekker Inc*: 335-337

Join, L. (2003). Défense anti-infectieuse de l'appariel respiratoire (infections a virus et bacteries) inserm 4570 et service de microbiologie faculté de médecine Neckerb-Enfants malades : 213-219.

Jongh, MD. Hien, TT. Clin, J. (2006). Avian influenza A (H5H1). *Viol.* 35(1); 2-13. Kensil, CR. (1996). Saponins as vaccine adjuvants. *J :Grit Rev Ther Drug carrier syst.* 13: 1-55 .

Josue, F, Marc, F. et Michel, S. (1998). Principe de génétique humaine. (Ed) j : *Herman des sciences et des arts* .paris. 421-438.

Kaltreder, H. B. (1991). Immune mechanism in the normal lung . *semin respir M.* 143-155

Khiati, M. (2006). Guide des maladies infectieuses et parasitaires.3 édition. 5.

Lamsing, M. P. Jolim, P. H. et Donald, A. K. (2003). Microbiologie.2 édition.(Ed) de boeck et larcier. France:320-908.

Launay, O. (2007). Centre d'investigation clinique de vaccinoloie cochin-pasteur. DIU physiopathologie et therapeutiques en maladies infectieuses.( S.P).

Lebeau.B (1991). pneumologie copyright éditions ellipses :11-108.

Lederber, G. J. (1952). *Physiol. Rev.* 32:403-430.

Lee, N. Hai, D. Wu, A. et Dnan, (2003). Major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong, 1986-1994.

Lenschow, D. J. et Walunas, T. L. (1996). CD4/B7 system of T cell costimulation  
*Exp. Med.* 459-465.

Lerey, H. Cador, J.L. et Mornex, J.F. (1997). Immaturity of the bronchopulmonary immune system in children (Revue française d'allergologie et d'immunologie Clinique volume 37 issue 2. March-April 1997. 145-150.

Li, G. Liu, Z. Zhong, N. Liao, B. et Xiong, Y. (2006). Les effets thérapeutiques du vaccin à ADN induites par les allergènes inflammation allergique des voies respiratoires dans le modèle de la souris, en Chine 3(5) : 379-84.

Linehan, S. A. Martinez, L. et Gordon, S. (2000). Lectins in host defence, *Microbes Infect* 279-288.

Littman, D. (1987). The structure of the CD4 and CD8 genes. *J. Annu Rev Immunol* :561-584.

Lodish, H.L. Darnell, J. et Baltimore, D. (1997). *Biologie moléculaire de la cellule*. (Ed) De Boeck. Paris: 220.

Lohmann, M. L. Steinmüller, G. Franke, U. (1994). Pulmonary macrophages, *J Eur Respir* : 1678-1689.

Lui, M. A. (2003). DNA vaccines : a review *J Intermed* 253 : 402-410.

Manual, M. (1986). *La grippe*. Home édition. *Influenza : Viral infection*. [S. P. L].

Maytal, B. B. Tom, H. M. Ottenhoff, H. E. Junginger, G. B. (2005). Pulmonary DNA vaccination concepts possibilities and perspectives *J. of controlled release* 107.1-29.



Menno, D. (2005). La grippe aviaire mortelle A ( H5H1) dans un enfant présent avec la diarrhée a suivi de coma . J: *de la nouvelle ngleterre de la médecine* . 352(7): 686-691.

Micheal, M. et Jolm, M, (2007). Brok biologie de microorganismes.11 édition .(Ed).pearson éducation.france:706-997.

Mon, K. W. Whinster, WF. (1976). An account of the longitudinal mucosal, corrugation of the human tracheobronchail tree, with observation on those of some animal J: *Anat*: 681.

More, BB. Moore, TA. et Toews, GB. (2001). Role of T and B lymphocytes in pulmonary host defences, J : *EuRespir* 846-56.

Needhan, J. (1999). Guide illustré des médecines, d'asie science and civilization in china ,biology and technology part 6,médecine ,cambridge :cambridge university press.une histoire des microbes :154.

Neomic ,marcos G F. and Maria, J. A. (2009). Nanoparticule for nasal vaccination advanced dryg deliverg reviews 61 .140-157.

Nicholis, WW. Ledwith, B. J. Manams, V. and Troilop, J. (1995). Potential DNA vaccines integration into host cell geno

Nilson, S. Bagby, Gy. Bainton, BG. Wilson, LA. Thompson, JJ.and summer, WR. (1989). Compartmentlization of intra alveolar and systemic lipopolysacharide-induced tunor necrosis factor and the pulmonary inflammatory response 159-189.

Pan, Mengcheng, Ruangang, Dawei, Siyu, Tien, and Zishu, (2009). Enchanced protective immunity against H5N1 influnza virus challenge by vaccination with DNA expressing a chimeric hemagglutinin in combination with an MHC class I restricted epitope of nucleoprotein in mice J :*Influnza translating basic insights* :253 -260 .

Poulter, L.W. john, W and sons, L. chichester, (1997). Pulmonary macrophages, in R.A.stockley (Ed), pulmonaryDefences: 77-92.

Primose,S.Twyman, R. et old, R. (2004). Principe de génie génétique.1 édition.(Ed).deboeck et larcier.paris :29-294.

Ragot, N. Vincent, P. Chafey, E. Vigne, H. Gilgenkrantz, D. Couton, P. Briand, J. Kaplanc et Perricaudet, M. (1993). Efficient adenovirus-mediated transfer of human minidys trophin gene to skeletal muscle of mdxmice. *nature*:361-647.[s.l].

Renes, (1999). *Biotechnologie* 5<sup>ème</sup> édition Ed de tec et doc (londres) paris :795-805 .

Rennard, S. Beckmann, JD. Robbins, RA.(1991). Biology of airway epithelial cells-In: Crystal RG, West JB, eds *The Lung, Scientific Foundations*-New York Raven press: 157-167.

Robinson, D. Hamid, Q. Ying, S. Tsicopoulos, A. Barkans, J. Bentley, A. Corrigan, C. Durham, S. et Kay, A. (1992). Th2 prédominante, comme la population de lymphocytes T dans l'asthme atopique bronchoalvéolaire: 298- 304. [S. L].

Robinson, H. L. and Pertmer, T. M. (1998). *Nucleic acid Immunisation. current protocols in Immunology* w. Strober, New York 2-14 .1-19.

Robinson, H. L. et Pertmer, T.M. (2000). DNA vaccines for viral infection. :1-74.

Rousse médicale, 2006:PP.

Sasaki, Inamura, K. et Okudak, (1999). Gene that induce immunity-DNA vaccines. *microbiol immunol*.43:191-200.[s.l].

Sbar, H.S. Cheneider, J. Nill, A. V. Whalen, R.G. (2002). Role of transfection in the priming of cytotoxic T cells by DNA mediated immunization vaccines .20:3137-3147.

Schwartz, R. (2002). Un nouvel élément dans le mécanisme de l'asthme : 857-858 .

Shluger, N. Wetron, W. (1998). The host immune response to tuberculosis : 679-691.

Shneberger, E.E. Walters, D. Oliver, R.E.(1978). Development of intercellular junction in the pulmonary epithelium of the foetal lung. *cell sci* 32: 307-324.

Sibille, Reynolds, H. (1990). Macrophages and injury. *An. Rev. Respir. Dis*: 471-501.

Soler, P. (1997). *Revue française d'allergologie et d'immunologie Clinique* 37: 254-258.



Somblaras, S. Li, C. Ewasysy, M. cuterin, j. James, O. Cates, G. et Lien, M. (2003). Protection against respiratory syncytial virus infection by DNA immunozation : 681 -688.

Sorokin, SP. Hozt, RE. Jr.(1989). Neuro epithelial bodies and solitary small-granule cells- In:Mass-aro D,ed.lung cell Biology-New York, marcel Dekker Inc: 191-344.

Suarez, D. Spackman, E. Senne, D. Bulaga, L. Welsh, A. et Froberg, K. (2003). The effect of various disinfectants on detection of avian influenza virus by real time RT-PCR. *Avian Dis.* 47 (3): 1091-5.

Surjit, M. and Lal, S. K. (2007). The SARS-Cov nucleocapsid protein. A protein with multifarious activities , infed. *J meegid.* [S. P].

Terzakis, JA. Sommers, Sc. Andersson, B.(1972). Neurosecreytry appering cells of human segmental bronchi *Lab Invest:* 127-132.

Thepen, T. Claessen, E. Hoeben, K. Breve, J. et Kraalm, G.(1993). Migratio of alveolar macrophages from alveolar space to Para cortical T cell area of the draining lymphoide.*dv.exp med.biol.*329:305-310.

Thomas, C. (2006). Grippe aviaire et homme- Nouveaux virus grippaux . j: *Annals of internal Médecine*, 145: 599-609.

Tuomanment. H. J. (1983). Adhernce of Bordetella pertussis to human respiratory epithelail cells. *J : Infect Dis:*125-130.

Travis, S. Conway, B. Zabna, j. Smith, j. Anderson, singh, Pk. Greenberg, EP.et welsh, M. (1999). Activity of abundant antimicrobials of the humainair way.

Ulmer, J. Domelly, J.J. Parker, S.E.

Rhodes, G.H.Felgner, P.L, Dwarki, V.J, Gromkawsk, S.H, Deck, R.R, Dewitt, C.M. et Friedman.(1993).Heterologons protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein , *science.* 259:1745-1749.

Unглаub, S. D. et Williamc, O. (2007). *Physiologie humaine (une approche intégrée)*, 4<sup>ème</sup> édition : 529.

Watson, J. D. Gilman, M. Withowski, J. et Zolner, M. (1994). ADN recombinant. 2<sup>e</sup> édition. (Ed) de boeck-wesmael.bruxelles:25-458.

Ward, A.A. (1997). Recrutement of inflammatory cells into lung role of cytokines, adhesion molecules, and complement: 400-404.

WHO. (2006). Avian influenza (bird flu). Fact sheet. [S. P.I].

Widdicombe, J.A. (1988). Electrical methods for studying on and fluid transport across airway epithelia. In: Braga P, Allergrall. New York: 335-345.

Wiedle, G. Dumon, et DetImhof, B.A. (2001). Current concepts un lymphocyte homing and recirculation. *crit reviews sinclim lab science*.38:1-31.

William, k. Michael, c et Charlottes, s. (2006). Génétique. 8<sup>e</sup> édition. (Ed) de pearson education. france: 417-475.

Winter, B. C, molly, A.I. (1988). Susceptibilité de lactoferrine et transferrine à myeloperoxydase dépendant de la perte de capacité de liaison au fer - *Biochem* :233-242.

Wolff, J. A. Mabone, R. W. Williams, P. Chong, W. Acsadi, G. et Jani (1990). Direct gene transfert in mouse. [s.d.p.l].

Yang, Z. Kong, W. Huang, Y. Roberts, A. Murphy, B. Subbarao, k. et Nabel, G. (2004). Un vaccin à ADN induit la neutralisation du coronavirus et de l'immunité protectrice chez la souris. *428(6982)*.: 561-4.

Zissel, G. Ernst, M. Rabe, k. Papadopoulos, T. Magnussen, M. Schlaak. M. J. (2000). Au man alveolar epithelial cells type II are Capable of regulating T cell activity, *j: investig.med*.48.:66-75.



Présenté par : *Babila Samia*  
*Bougherra Hanane*  
*Boubbila Sibam*

Dirigé par : *M<sup>lle</sup> Boutennoune Hanane*

Date de soutenance : 01 /07/2010.

*Vaccination génique pulmonaire : concepts et perspectives*

*Nature de diplôme : Diplôme d'Etudes Supérieures en  
Biologie, option Biochimie*

#### Résumé

Les maladies pulmonaires représentent une vraie menace pour la santé publique ce qui nécessite un moyen efficace pour la lutte contre ces maladies. La vaccination génique est une nouvelle approche vaccinale qui permet la protection d'un organisme contre ces maladies par l'injection de l'ADN génétiquement modifié pour produire une réponse immunitaire. Cette méthode de vaccination est intéressante, car il n'y a pas de risque d'infection par un agent adventice et la réponse immunitaire provoquée est de longue durée. Des études récentes ont confirmé l'efficacité de cette biotechnologie dans la lutte contre certains maladies pulmonaires chez les animaux (souris) telles que : La tuberculose, la bronchiolite, l'asthme.....

**Mots clés :** vaccination génique, maladies pulmonaires, asthme, tuberculose.

#### Abstract

Lung diseases represent a real threat to public health and which require an effective way to combat these diseases. Genetic vaccination is a new approach that allows protecting the body against these diseases by the injection of a plasmid ADN to produce an immune response. This method of vaccination is interesting because there is no risk of infection and the immune response generated is long lived. Recents studies have confirmed the effectiveness of this technology in the fight against lung diseases in some animals (rats), such as: tuberculosis, bronchitis, asthma .....

**Key words :** DNA vaccination, lung diseases, asthma, tuberculosis.

#### ملخص

تمثل أمراض الرئة خطرا حقيقيا على الصحة العامة و يتطلب ذلك وسيلة فعالة لمكافحتها. التلقيح بالمادة الوراثية هو النهج التلقيحي الجديد الذي يسمح بحماية الجسم من هذه الأمراض عن طريق حقن المادة الوراثية المغيرة جينيا لإنتاج استجابة مناعية. هذه الطريقة للتلقيح مهمة لأنه لا يوجد خطر العدوى و الاستجابة المناعية الناتجة تكون مدتها طويلة.

وهناك دراسات حديثة أكدت فعالية هذه التكنولوجيا الحيوية في مكافحة بعض أمراض الرئة عند الحيوانات (الفئران) مثل السل التهاب الرئة..... الخ.

الكلمات المفتاحية : التلقيح بالمادة الوراثية, الأمراض الرئوية , الربو, السل .

*Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de la Biologie Moléculaire et Cellulaire*  
*Université de Jijel*