

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة محمد السادس بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
انكبتية
رقم الجرد : A.45.0



Université de Jijel
Faculté des Sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire
De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en biologie
Option : Microbiologie

Thème

Application de la technologie
de l'ADN recombinant dans la lutte contre
les maladies infectieuses

Membres de jury :

- EXAMINTEUR : M^r SIFOUR M.
- ENCADREUR : M^{elle} BENSEGHIER S.

Présenté par

- BENFRIAH Dalila
- BOUTINE Soumia
- DJEHA Abdelhak



Promotion : Juin 2009

Remerciements

Louange à dieu seul, qui nous a accordés ce savoir et qui nous a faciliter notre études dès notre enfance c'est grâce à dieu que nous avons eux réalisés le chemin dans ce mémoire.

Nos profonds remerciements à M^{elle} BENSEGHIER Salima notre encadreur, pour les précieux conseils scientifiques, pour son aide sans limite, sa générosité et sa disponibilité, et surtout sa patience pendant la rédaction de ce travail.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à Mr SIFOUR Mohamed de nous faire l'honneur d'examiner ce travail.

Nous voudrions exprimer notre profonde remerciements à tous ceux qui ont consacré leur temps pour nous apporter aide et connaissance durant toute la durée de ce travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à tous les enseignants de l'université de Jijel, surtout les enseignants du département de biologie moléculaire et cellulaire.

Merci à tous qui nous ont aides de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Merci à tous.

Sommaire

Introduction	1
<u>Chapitre I : La technique de l'ADN recombinant</u>	
I.1. Les dates principales de la technologie de l'ADN recombinant.....	2
I.2. Les sources d'ADN à cloner.....	2
I.2.1. L'ADN obtenu à partir de l'ADN génomiques.....	2
I.2.2. L'ADN synthétisé à partir de l'ADN message.....	3
I.2.3. L'ADN synthétisé par voie chimie.....	4
I.2.4. Les virus comme source d'ADN homogène.....	4
I.3. Les outils de la technologie d'ADN recombinant.....	5
I.3.1. Les enzymes de restriction.....	6
I.3.1.1. Nomenclature.....	7
I.3.1.2. Classification des enzymes de restriction.....	8
I.3.1.3. L'utilisation des enzymes de restriction	8
I.3.2. Les vecteurs.....	8
I.3.2.1. Les vecteurs utilisés en thérapie génique.....	10
I.3.2.2. Les vecteurs d'expression.....	10
I.4. La stratégie de clonage.....	10
I.4.1. La préparation de l'insert et du vecteur.....	11
I.4.2. L'introduction du vecteur recombiné dans les cellules.....	12
I.4.2.1. L'introduction dans un procaryote.....	12
I.4.2.2. L'introduction dans un eucaryote	13
I.4.3. La sélection des transformé.....	17
I.4.3.1. L'hybrider sur colonie.....	18
<u>Chapitre II: Les maladies infectieuses</u>	
II.1. Les agents pathogènes.....	18
II.2. Les modes de transmission.....	18
II.3. Classification des maladies infectieuses.....	20

II.3.1. Les maladies bactériennes.....	20
II.3.2. Les maladies virales.....	20
II.3.3. Les maladies champignons.....	21
II.3.4. Les maladies due au protozoaire.....	22
II.4. L'épidémiologie.....	22
II.5. Défenses immunitaire de l'hôte.....	22
II.5.1. Défenses non spécifiques.....	23
II.5.2. Défenses spécifiques.....	23
II.6. Le diagnostic.....	23
II.7. Les traitements.....	24
II.7.1. Les traitements classiques.....	26
II.7.1.1. Les antibiotiques.....	26
II.7.1.2. Les antifongiques.....	26
II.7.1.3. Les antiviraux.....	27
II.7.1.4. Les vaccins.....	28
II.7.2. Traitement modernes des maladies infectieuses (thérapie génique).....	28
II.7.2.1. Les vaccins sous unitaires.....	28
II.7.2.2. Les vaccins à base d'ADN (ADN vaccin).....	29
<i>Chapitre III : La lutte contre les maladies infectieuses par génie génétique</i>	32
III.1. La thérapie génique.....	33
III.2. Les différentes méthodes de la thérapie génique.....	33
III.3. La thérapie génique des maladies infectieuses.....	33
III.3.1. La maladie du SIDA.....	34
III.3.2. L'hépatite C.....	35
III.3.2.1. L'inhibition avec blocage de la traduction.....	36
III.3.2.1. L' inhibition avec clivage.....	
III.4. Perspective des nouveaux vaccins à ADN.....	38
III.4.1. Les vaccins à ADN anti-VIH.....	38

III.4.2. Les vaccins à ADN anti-hépatite B.....	39
III.4.3. Les vaccins à ADN contre la tuberculose.....	39
III.4.4. Les vaccins contre paludisme.....	40
III.4.5. Les vaccins contre HPV.....	41
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	42

Abréviations

- AAV** : Associated-Adeno-Virus
- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- ADNc** : Acide Désoxyribonucléique complémentaire
- ATP** : Adénosine TriPhosphate
- ARN** : Acide Ribonucléique
- ARN_r** : Acide Ribonucléique Ribosomal
- AZT** : Azidothymidine
- BAC** : Bacterial Artificial Chromosome
- BCG** : Bacillus Calmette-Guérin
- CIN** : Cervical Intraepithelial Neoplasia
- CTL** : Cellule T Lymphocyte
- E.coli* : *Escherichia coli*
- ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- ENV** : Enveloppe
- HLA** : Human Leucocyte Antigen
- HPV** : Human Papillom Virus
- IFN** : Interféron
- IL** : Interleukine
- GAG** : Glycoprotéine Antigène Group
- GP** : Glycoprotéine
- Kb** : Kilobase
- LTR** : Long Terminal Repeat
- MHC** : système majeur d'histocompatibilité de classe
- Pb** : Paire de base
- POL** : Polymérase
- PCR** : Polymérase Chain Réaction
- RER** : Réticulum Endoplasmique Rugueux
- REV** : Régulation de l'Expression des Virions
- SIDA** : Syndrome Immuno Déficience Acquise

SIV : Virus d'Immunodéficience Simienne

SV40 : virus simien 40

TAR : Transactivateur Responsif

TAT : Transactivateur

VIH : Virus Immunodéficience Humaine

VIH-1 : virus de l'immunodéficience humaine type 1

VIH-2 : virus de l'immunodéficience humaine type 2

VHB : Virus de l'Hépatite B

VHC : Virus de l'Hépatite C

YAC : Yeast Artificial Chromosome

La liste des figures

Figure 1 : La structure des vecteurs viraux.....	8
Figure 2 : Les étapes de clonage	12
Figure 3 : Identification des clones recombinant par hybridation	13
Figure 4 : L'infection d'un tissu par <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15
Figure 5 : Cycle de réplication du virus de SIDA	17
Figure 6 : Les différentes méthodes de la thérapie génique.....	24
Figure 7 : Le vaccin recombinant anti- hépatite B.....	31

La liste des tableaux

Tableau 1 : Quelques endonucléases de restriction et leur spécificité de séquences.....	5
Tableau 2 : Types de vecteurs viraux utilisés en thérapie génique.....	8
Tableau 3 : Mode de transmission des agents pathogènes.....	14

Introduction

Les connaissances sur la génétique et la génomique ont progressés de façon exponentielle après la découverte en 1953 de la structure en double hélice de l'ADN par Watson et Crick. En 1973, les scientifiques commençaient déjà à déchiffrer les codes spécifiques mettaient au points des procédés pour fractionner les molécules d'ADN et commençaient à insérer des gènes dans de l'ADN bactérien. Cela marquait le début de l'âge moderne du génie génétique.

Aux débuts des années soixante-dix, il est devenu possible d'isoler un segment d'ADN parmi des millions de paires de nucléotides d'un chromosome, et de créer ainsi une recombinaison de gènes qui n'aurait jamais pu se faire naturelle, cette technologie dite de « l'ADN recombinant » à maintenant une profonde influence sur le développement de notre vie de tous les jours, au travers de multiples applications liées à la médecine, tout pour le diagnostic de certaines maladies humaines que pour traitement. Comme ces applications sont devenues au cours des années très nombreuses, il n'est pas question ici d'en dresser un inventaire mais plutôt de les illustrer à l'aide de quelques exemples, dans divers domaines tel que les maladies génétiques, le cancer ou les maladies infectieuses.

Les infections sont le plus souvent le résultat de la rencontre accidentelle d'un individu susceptible avec un agent pathogène ; une maladie infectieuse se déclare lorsque une infection produit un changement quelconque qui altère l'état normale de la santé, par l'incapacité d'une partie ou de la totalité de l'organisme à s'adapter ou à remplir normalement ces fonctions.

Les maladies infectieuses présentent un problème pour la santé publique. Elles 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^{ème} siècle. Toutefois, certaines périodes sont vues une augmentation notable des taux de mortalité due principalement à ce type de maladies.

À la fin du 20^{ème} siècle, on a cru à l'idée que la combinaison des vaccins et des antibiotiques allait réduire le problème des maladies mortelles, à fait s'orienter vers un nouveau mode thérapeutique, qui a permis de manipuler le gène médicament *in vitro* et peut servir à élaborer de nouvelles voies de production de petite molécule pour de nombreux pathogènes, la prévention est très préférable à un traitement et les vaccins sont donc très intéressants.

Pour réaliser un traitement efficace et définitif contre les maladies infectieuses, surtout qu'il s'agit d'une infection virale ou d'éviter la nouvelle apparition de ses maladies par faire le point sur les applications récentes et les possibilités futures de la technologie de l'ADN recombinant dans différentes affections.

Chapitre I :
La technique de l'ADN recombinant

Dans le cadre de l'hérédité, l'information génétique d'une cellule ou deux cellules parentales est transmise au sein d'une espèce par la division cellulaire ou la reproduction sexuée. L'information génétique est définie au sein de la molécule d'ADN, une double hélice de haut poids moléculaire. La plupart des êtres vivants conserve leur information génétique sous cette forme chimique homogène. Cela rend possible l'échange de l'information génétique entre espèces non apparentées (par exemple dans l'infection virales). Ces dernières décennies, des techniques permettent ainsi de nouvelles expérimentations dans la recherche fondamentale telle que les techniques d'ADN recombinant [1].

Les techniques d'ADN recombinant, appelées également clonage de gènes, génie génétique ou clonage moléculaire, sont des termes vagues qui englobent des démarches variées. En bref, l'objectif de ces manipulations expérimentales est l'introduction d'un gène d'un organisme dans une cellule hôte, dans laquelle il peut être maintenu au fil des générations et étudié [2].

I.1. Les dates principales de la technologie de l'ADN recombinant

Au début du XX^e, la redécouverte des travaux de Mendel (1822-1888) et les travaux de Morgan (1866-1945) sur des mouches permettent de comprendre que l'hérédité est due à la transmission de particules appelés gènes, disposés de manière linéaire sur les chromosomes. Dans les années 1950, la nature chimique des gènes est mise en évidence, ainsi que la structure moléculaire de l'ADN. En 1965, les enzymes de restriction ont été décrites pour la première fois et confirmée par Paul Berg et ses collaborateurs en 1973, ces protéines donnent aux chercheurs les outils qui leur manquaient pour établir une cartographie du génome, elle ouvre aussi la voie à la transgénèse, "manipulation" in vitro de portions précises d'ADN et donc des gènes. C'est la technologie de l'ADN recombinant, qui permet l'insertion d'une portion d'ADN (un ou plusieurs gènes) dans un autre ADN [3,4].

I.2. Les sources d'ADN à cloner

I.2.1. ADN obtenu à partir de l'ADN génomique

L'ADN d'une cellule procaryote ou eucaryote peut être facilement purifié sous forme de longues fibres correspondant aux macromolécules de haut poids moléculaire. Ces longues chaînes d'ADN bicaténaire portant les gènes peuvent être coupés statistiquement en fragment de taille variable pour un ou plusieurs enzymes ciseaux (enzyme de restriction) pour obtenir des morceaux d'ADN plus longs, on peut réaliser une digestion ménagée par un ou deux enzymes coupant peu fréquemment l'ADN génomique. De plus, les coupures par les enzymes de restriction produisent des extrémités capables de se recombiner aisément avec d'autres fragments d'ADN en particulier les ADN vecteurs [5].

I.2.2. ADN synthétisé à partir de l'ARN messager

Une fraction d'ARN messager contenant le poly A ou un ARN messager purifié peuvent servir de matrice pour la synthèse d'ADN par l'ADN polymérase ARN dépendante purifiée des particules virales (reverse transcriptase). Cette synthèse requiert la présence d'une amorce (oligo dT par exemple) et produit le plus souvent un ADN

représentatif d'une partie d'ARN messager, la synthèse s'arrête avant d'atteindre l'extrémité 5' de l'ARN messager qui ne contient que les séquences codantes à l'exclusion des introns non codants; l'ADN correspondant est appelé ADNc et ne représentera qu'une partie du gène [5].

I.2.3. L'ADN synthétisé par voie chimique

Cette méthode est utilisée pour des petits fragments d'ADN ou de petits gènes. Son principe est de relier de façon séquentielle des nucléotides dont on connaît leur enchaînement. Brièvement, à partir d'un trinucleotide fixé sur un support (polymère tel que le sépharose) sont additionnés des trinucleotides présynthétisés dans l'ordre choisi, puis la chaîne de desoxyribonucleotides est détachée pour servir de matrice pour synthétiser le brin d'ADN complémentaire des ADN bicaténaire. Plus de 50 paires de bases ont pu être synthétisés par cette technique [5].

I.2.4. Les virus comme source d'ADN homogène

Jusque récemment, les seules molécules d'ADN à faire d'objet d'études sérieuses été isolée a partir de virus contenant chacun une seule molécule d'ADN linéaire ou circulaire. Quelque soit sa forme, sa répllication démarre généralement à un site unique et se propage en suite de façon bidirectionnelle jusqu'à ce que l'intégralité de la molécule soit répliqué. Plusieurs ADN de phage, et particulièrement ceux qui infecte *E. coli*, ont souvent constitué la source d'ADN à utiliser pour les premières études, à la fois parce qu'il est possible de les produire en grandes quantité et aussi contiennent des ADN de taille relativement petite qui ne se fragmentent pas trop facilement en solution [6].

I.3. Les outils de la technologie d'ADN recombinant

La technologie de l'ADN recombinant est basée sur l'utilisation d'outils moléculaires qui sont les enzymes de restriction et les vecteurs.

I.3.1. Les enzymes de restriction

Plusieurs techniques de génie génétique ont été rendus possibles grâce à la découverte des enzymes capables de couper des molécules d'ADN double brin en un nombre limité de site bien précis. Ces enzymes appelées "enzyme de restriction" [7,8]. Ont été identifiées à la fin des années 1960 par le Suisse Werner Arber qui a mis en évidence pour la première fois l'existence des enzymes de restrictions de l'ADN, cela aboutit par la suite à leur purification à partir de la bactérie *Haemophilus influenzae* et à leur utilisation dans la caractérisation des séquences d'ADN par Nathans et Smith (1973) [9]. Leur mode d'action consiste de connaître des séquences nucléotidiques spécifiques appelées " site de restriction " et fractionner l'ADN en hydrolysant les liaisons phosphodiester sur chaque brin soit de manière décalée, soit au même niveau [8].

Les enzymes de restriction sont isolées des microorganismes bactériens le plus souvent, la bactérie protège son propre ADN en ajoutant des groupements méthyle (-CH₃) aux adénines ou aux cytosines des séquences pouvant être reconnus par ces enzymes [7,8].

I.3.1.1. Nomenclature

La découverte d'un grand nombre de systèmes de restriction –modification rendait nécessaire l'utilisation d'une nomenclature uniformisée (Smith et Nathan, 1973) [10], elle donne à l'enzyme de restriction des noms de 3 à 4 lettres qui rappellent l'origine du micro-organisme d'où elles sont isolées.

La première lettre en majuscule désigne le genre de la bactérie. La deuxième et la troisième lettre en minuscules sont les deux premières lettres du nom de l'espèce; parfois il existe une quatrième lettre, elle indique la souche d'où est extrait l'enzyme (exp: Hind). Le chiffre romain concerne l'ordre de caractérisation de l'enzyme, lorsque plusieurs enzymes ont été isolées à partir d'une même souche bactérienne (exp: EcoRI et EcoRV). La lettre R, lorsqu'elle est mentionnée, indique qu'il s'agit d'une endonucléase [7].

I.3.1.2. Classification des enzymes de restriction

Les enzymes de restriction reconnaissent des séquences spécifiques. En revanche, les sites de coupure, la nature de la coupure, la composition des enzymes et le mode d'action différent sont à l'origine d'une classification en type. A l'heure actuelle, quatre types d'enzymes de restriction ont été déterminés [10]:

❖ Les endonucléases de restriction de type I

Les enzymes de système restriction-modulation (RM) de type I sont composées de plusieurs sous-unités codées par deux gènes Mod et Res, dont deux sous-unités M sont responsable de la méthylation de la séquence à couper, la sous-unité S assure la spécificité de la séquence et la sous unité R coupe la séquence de reconnaissance.

Les enzymes de type I reconnaissent des séquences spécifiques asymétriques, la coupure est effectuée en environ 1000 pb du site de reconnaissance, nécessitent de l'ATP, du Mg^{+2} et du S-adénosyl-méthionine pour effectuer leur activité endonucléasique sur l'ADN [11].

❖ Les endonucléases de restriction de type II

Les enzymes de restriction de type II coupe de manière spécifique les deux brins d'ADN au niveau d'une séquence bien définie de 4 à 8 nucléotides appelée séquence palindromique, qui présente une symétrie répétée inversée.

En fonction de la nature de la coupure au niveau du site de restriction, deux types différents de fragments peuvent être obtenus: des fragments à bouts francs (Blunt end) et des fragments à extrémités cohésives (stiky ends) débordantes en 3' ou débordante en 5'.

❖ Les endonucléases de restriction de type III

Les enzymes de type III comportent aussi deux gènes, Mod et Res, codant pour des sous unités qui exercent soit une activité de reconnaissance d'ADN (Mod), soit une activité de restriction (Res). La coupure nécessite une interaction de l'enzyme avec deux copies d'un site de reconnaissance non palindromique, qui doivent avoir une orientation inverse sur l'ADN cible [11].

❖ Les endonucléases de restriction de type IV

Le système comporte un ou deux gènes codant pour des protéines qui ne coupent que de l'ADN modifié comportant des bases méthylées, hydroxyméthylées et glucosylhydroxy-méthylées. Leurs séquences de reconnaissance n'ont pas été bien établies [11].

Les endonucléases de restriction les plus couramment utilisées et leurs séquences de reconnaissance sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1: Quelques endonucléases de restriction et leurs spécificités de séquences [12].

Organisme d'origine	enzyme	Site de restriction	Taille de site	Nature des extrémités
<i>Escherichia coli</i>	Eco RV	5'GATATC3' 3'CTATAG5'	6 nucléotides	Bouts francs
<i>Escherichia coli</i>	Eco RI	5'GAATTC3' 3'CTTAAG5'	6 nucléotides	Bouts cohésifs 5' sortant
<i>Providencia stuartii</i>	Pst I	5'CTGCAG3' 3'GACGTC5'	6 nucléotides	Bouts cohésifs 3' sortant
<i>Haemophilus aegyptius</i>	Hae III	5'GGCC3' 3'CCGG5'	4 nucléotides	Bouts francs
<i>Thermophilus aquaticus</i>	Taq I	5'TCGA3' 3'AGCT5'	4 nucléotides	Bouts cohésifs 5' sortant
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	Hha I	5'GCGC3' 3'CGCG5'	4 nucléotides	Bouts cohésifs 3' sortant

I.3.1.3. L'utilisation des enzymes de restriction

Les enzymes de restriction sont utilisés pour établir la carte de restriction de toute molécule d'ADN que l'on souhaite caractériser, l'insertion d'un fragment d'ADN dans un plasmide, dans un virus (clonage) et la recherche des mutations [13]

I.3.2. Les vecteurs

Les vecteurs sont des molécules d'ADN de transport qui transfèrent et répliquent (clonent) des fragments d'ADN insérés. De nombreux vecteurs existent et présentent des propriétés variées, qu'ils s'agissent de la réplication de manière autonome, la taille adéquate qui autorise leur manipulation en dehors d'une cellule hôte [14,15] et en fin, contiennent un gène marqueurs dont le produit dans les cellules transformées permette de sélectionner ces dernières [16]. De nombreux vecteurs de clonage sont couramment utilisés selon le but souhaité:

I.3.2.1. Les vecteurs utilisés en thérapie génique

➤ Les vecteurs viraux

L'utilisation de virus recombinants défectifs est actuellement la méthode la plus employée pour le transfert de gène dans des cellules en culture ou in vivo, grâce à l'efficacité des virus, à faire entrer leur acide nucléique dans les cellules et les fortes taux de réplication, de l'expression génique que l'on peut obtenir. Quatre types de vecteurs viraux ont été développés en vue de la thérapie génique humaine et sont arrivés en phases I d'essais cliniques (Tableau 2). Il s'agit de vecteurs dérivés des rétrovirus, des adénovirus, les virus herpétiques et des parvovirus (adéno-associated virus ou AAV) [17, 10].

❖ Les rétrovirus

Les rétrovirus sont des virus à ARN capable d'infecter les cellules en division qui possèdent à leur surface un récepteur reconnu par l'enveloppe virale (figure 1a), ils intègrent de façon stable leur génome dans le génome des cellules infectées. Le facteur principale limitant l'utilisation des vecteurs rétroviraux est que l'on ne peut les utiliser que pour modifier des cellules capables de se diviser activement. Les cellules à renouvellement lent restent accessibles lorsqu'il est possible de stimuler transitoirement leur division. En réalisation, une courte période de culture durant laquelle le transfert de gène est réalisé. En pratique, les vecteurs rétroviraux ne sont bien adaptés que pour le transfert de gène ex vivo, suivi de réimplantation des cellules génétiquement modifiées encore qu'ils se soient avérés peu efficaces pour les cellules souches hématopoïétiques primitives chez les grandes mammifères mais le risque majeur qu'ils présentent est l'introduction d'une tumeur dans l'organisme qu'ils infectent [18,19].

Les vecteurs rétroviraux sont les plus couramment employés, aussi bien dans les études précliniques que dans les essais thérapeutiques (on les trouve utilisés dans 60% des protocoles approuvés) [17].

❖ Les adénovirus

Les adénovirus sont des virus à ADN possédant un génome linéaire bicaténaire d'environ 36kb (figure 1b). Ils ont été largement utilisés comme vecteurs de transfert et d'expression de gènes. En raison de leurs nombreuses caractéristiques favorables, comme leur stabilité, leur grande taille d'insert accepté.

Les adénovirus peuvent en effet, infecter un grand nombre de types cellulaires, y compris des cellules quiescentes, avec une efficacité pouvant atteindre 100%. Ils apparaissent

comme des vecteurs de choix pour le transfert de gène dans le système nerveux, le foie, l'épithélium bronchique, la paroi artérielle. Ils sont massivement utilisés dans des approches de la thérapie génique du cancer et contre des infections respiratoires et gastroentérites. Bien que l'utilisation de ces vecteurs ait rencontré de grands succès, ils souffrent de deux problèmes particuliers :

Des effets cytotoxiques d'une part, qui sont dus à un faible niveau d'expression de produits de gènes viraux et d'autre part, une tendance à une recombinaison entre le vecteur et la partie de génome viral intégré dans la cellule hôte, ceci entraînant l'apparition de virus compétents pour la réplication [10,17].

❖ Les vecteurs basés sur le virus d'herpès

Certains virus attaquent naturellement un type spécifique de cellule. Le virus de l'herpès simplex (HSV) de type I fait partie de cette catégorie. Il infecte les cellules neuronales quiescentes et y demeure. Le virus de l'herpès simplex est un pathogène humain de premier plan. Il provoque des boutons de fièvre récurrents et dans de rares cas, des encéphalites mortelles.

Le génome du virus de l'herpès simplex est une molécule d'ADN double brin de 152kb. Le virus fusionne avec la membrane d'un neurone puis transporté dans le noyau. Environ 30kb de ce génome peuvent être remplacés par l'ADN à cloner sans séquence importante sur la réplication, l'encapsidation et la virulence. Cependant, la taille importante du virus de l'herpès simplex rend les manipulations génétiques difficiles. Pour résoudre ce problème, une version réduite du génome du virus, constituée de l'origine de réplication et du signal d'encapsidation de ce virus, est incorporé dans un plasmide d'*E. coli* amplicons (plasmides amplicons) [2].

❖ Les vecteurs viraux adéno-associés (AAV)

Le virus adéno-associés (AAV) est un virus humain à ADN, de petite taille (4,7 kb), simple brin et non pathogène (figure 1c). Ce virus est incapable de se répliquer seul, sans la co-infection par un autre virus (*helper virus*) tel qu'un adénovirus, d'où le nom de virus adéno-associé. En l'absence d'*helper virus*, l'AAV sauvage s'intègre en un site spécifique du chromosome 19 (samulski, 1993). Après l'entrée de ce virus adéno-associé dans le noyau, les polymérases d'une cellule hôte convertissent le génome de virus en un ADN double brin qui est ensuite transcrit [2].

L'intérêt de leur utilisation en tant que vecteur pour le transfert de gène provient du fait qu'ils sont capables d'infecter de nombreux types cellulaires, et quel que soit leur état (division ou acquiescent). Ils sont fréquemment dans la population et n'entraînent pas de pathologie. La taille du transgène transféré (au maximum 4,5kb) reste un élément limitant l'utilisation de ces vecteurs [20].



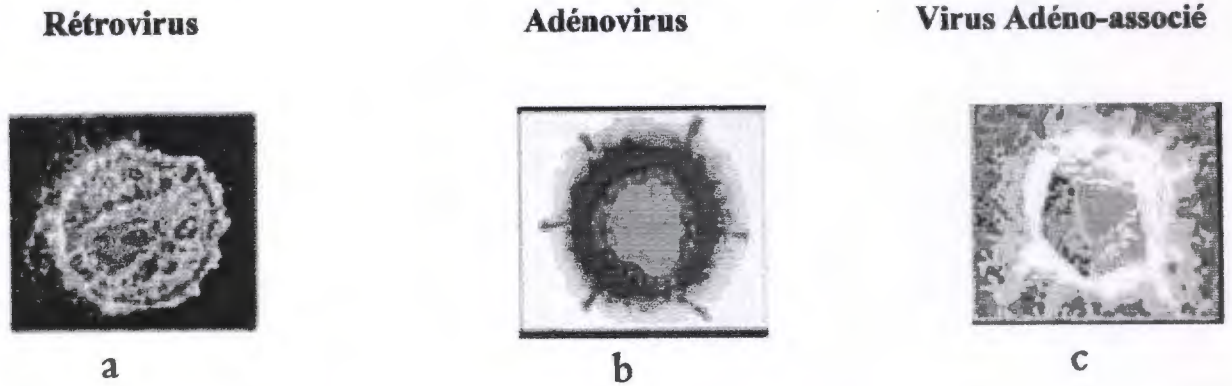


Figure 1 : la structure des vecteurs viraux [21].

❖ Les vecteurs basés sur les poxvirus

Les poxvirus ont une structure complexe, et un grand ADN génomique linéaire bicaténaire faisant jusqu'à 300 kb. De façon inhabituelle pour un virus à ADN, les poxvirus se répliquent dans le cytoplasme de la cellule infectée plutôt que dans son noyau. Le virus de la vaccine est fortement apparent au virus de la variole, un programme de vaccination mondiale utilisant le virus de la vaccine (l'agent causal de la variole) a permis l'éradication de la variole en tant que maladie infectieuse [10].

Tableau 2 : Type de vecteurs viraux utilisés en thérapie génique [22].

Types	Avantages	Inconvénients
Adénovirus	-Infect de nombreux types cellulaires. -Grande efficacité. -Capacité moyenne.	-Immunogène (moins pour les vecteur récents). -Production du gène emporté et peu durable.
AAV	-Infect de nombreux types cellulaires. -Non pathogène. -Peu immunogène.	-Difficile à produire en grande quantité. -Ne peu emporter que les gènes de petite taille (moins de 5000 bases)
Rétrovirus	-Peu immunogène. -Production du gène emporté quasi infinie due à l'intégration dans l'ADN de la cellule.	-Ne peu cibler que les cellules en division. -Risque d'effet délétère de l'intégration dans l'ADN cellulaire.
Herpès	-Bonne efficacité dans les neurones. -Grande efficacité.	-Cycle complexe encore mal maîtrisé.

➤ Les vecteurs non viraux

Les vecteurs non viraux sont caractérisés par une production aisée, économique et en absence de pathogénicité et d'immunogénicité qui laisse envisager des administrations répétées et une grande flexibilité quand à la taille de la molécule d'ADN à insérer [17].

❖ Les liposomes

Les lipides cationiques sont constitués de lipides chargés positivement et associés à l'ADN provoquant sa condensation, ils forment ainsi des lipoplexes. Ils pénètrent par endocytose et fusion avec les lysosomes [17]. Ces vecteurs présentent plusieurs avantages tel que l'expression transitoire de leur transgène car ils ne s'intègrent pas, peu toxique et produits en masse, mais ils sont victimes d'une très forte captation hépatique et atteignent difficilement le noyau, ils sont des vecteurs de 17% des protocoles cliniques [18].

❖ Les plasmides

Les plasmides sont des molécules refermées d'ADN bicaténaire 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 supérieurs tant que parasite ou symbioses de leur cellule hôte [23].

D'une manière générale, un vecteur plasmidique doit posséder au minimum une petite taille (3 kb) de manière à insérer un fragment d'ADN le plus grand possible (jusqu' à 10 à 15 kb), une origine de répllication bactérienne, des sites de restriction unique (multisite de clonage ou polylinker) pour permettre l'insertion de l'ADN, et contiennent des gènes de résistances aux antibiotiques de la cellule hôte [23, 24, 25].

D'autres vecteurs dérivés de celui-ci présentent des améliorations portant essentiellement sur la facilité de criblage des clones recombinés, sur la facilité d'insertion de l'ADN étranger, sur l'adaptation à l'utilisation ultérieure de l'ADN cloné (cartographie, séquençage, expression, étude de régulation d'expression.....) et sur la taille des segments insérés.

❖ Les phages

Possèdent généralement des molécules d'ADN linéaires au niveau desquelles l'ADN étranger peut être inséré à de nombreux sites de restriction enzymatique. Un avantage important des vecteurs phagiques réside dans le fait que les phages peuvent accepter un fragment d'ADN longs de 10 à 20 kb, la limite imposée par la quantité d'ADN qui peut être empaquetée dans la tête du phage, alors que seul des morceaux d'ADN de 6 à 10 kb peuvent être insérés dans les plasmides [26].

❖ Les cosmides:

Les cosmides sont des plasmides recombinants qui combinent les caractéristiques à la fois des plasmides (origine de répllication *ori*) et du bactériophage λ (sites *cos*), leur intérêt réside dans la possibilité de cloner des fragments plus longs, de 20 à 45 kb [25].

L'identification de gènes de très grande taille impliqués dans diverses maladies a entraîné le développement de nouveaux vecteurs capables d'accepter des fragments d'ADN de 200 kb jusqu'à 1000 kb (1 megabase). Il s'agit des chromosomes artificiels de bactérie ou BAC (fragments insérés de 100 à 200 kb) et des chromosomes artificiels de levure ou YAC (fragments de 150 à 1200 kb). Les chromosomes artificiels de mammifères (MAC) ou humains (HAC) sont en cours de développement. Ils devraient permettre le clonage et l'introduction dans des cellules de grandes régions chromosomique [25].

I.3.2.2. Les vecteurs d'expression

Il peut être difficile de faire exprimer par un procaryote le gène cloné d'un eucaryote, parce qu'il existe des différences entre ces deux types de cellules en ce qui a trait à l'expression génique. Pour contourner les différences concernant les promoteurs et les autres séquences de contrôle, on se sert habituellement d'un vecteur d'expression. Il s'agit d'un vecteur de clonage contenant le promoteur d'un procaryote voulu juste en amont d'un site de restriction, où le gène eucaryote peut être inséré. La cellule hôte bactérienne reconnaît alors le promoteur et exprime le gène étranger qui lui est associé. Les vecteurs d'expression permettent la synthèse d'un grand nombre de protéines eucaryotes par des cellules bactériennes [8].

Dans certains cas, par exemple en utilisant des vecteurs d'expression T7, pour obtenir une grande proportion d'une protéine particulière [27].

I.4. La stratégie de clonage

Les grandes molécules d'ADN, et en particulier les chromosomes, ne sont pas directement accessibles à l'expérimentation et doivent être clonées afin de pouvoir être manipulées. Le clonage consiste à introduire un fragment d'ADN dans une cellule-hôte. Tout protocole de clonage dans ces cellules comporte les étapes suivantes [13,28] (figure 2).

I.4.1. La préparation de l'insert et du vecteur

Il y a trois manières d'obtenir des quantités adéquates d'un fragment d'ADN, on peut extraire l'ADN d'un organisme, le fragmenter et d'isoler le fragment concerné et finalement le cloner. Sinon, tous les fragments peuvent être clonés à l'aide d'un vecteur adéquat et chaque clone peut être testé à la recherche du gène désiré [29].

Le fragment d'ADN génomique doit être porté par un vecteur capable de se répliquer et d'être transféré dans une cellule. Cette recombinaison in vitro demande une préparation complémentaire de l'ADN vecteur et du fragment d'ADN à insérer. La stratégie la plus simple et la plus commune est d'isoler le gène d'intérêt grâce à une enzyme de restriction qui même, le vecteur est cliver généralement par la même en un site unique. Cette enzyme ne coupe qu'une ou deux fois l'ADN vecteur. Ainsi, les extrémités obtenues sont réunies à l'aide de la ligase. Cette stratégie est valable pour les fragments d'ADN génomique dont les coupures doivent être compatibles avec celle du vecteur [5].

I.4.2. L'introduction du vecteur recombiné dans les cellules

Les scientifiques utilisent la technologie de l'ADN recombinant pour construire et répliquer des molécules d'ADN recombinant afin de faire des copies clonées de séquences spécifique. La réplication se déroule après le transfert des molécules recombinantes dans les cellules hôtes [14].

I.4.2.1. L'introduction dans une cellule procaryote

L'un des hôtes procaryotes les plus couramment utilisés est la bactérie *E. coli*, on fait incuber les cellules d'*E. coli* en présence de l'ADN à introduire et de CaCl_2 à 4°C pendant des durées de 30 min à 24^{h} . Plus le contact est de longues durées, plus la quantité d'ADN pénétré est importante, mais le nombre de cellules qui meurent est aussi élevé. Les bactéries ainsi traitées sont dites "compétentes". Les vecteurs préparés à partir de bactériophages permettant de former des phages complets capables d'injecter l'ADN dans la bactérie-hôte [14,16].

I.4.2.2. L'introduction dans une cellule eucaryote

Dans le cas des cellules de mammifères, l'ion Ca^{+2} permet aussi l'introduction passive d'ADN, sous forme de copécipité laissé en contact avec les cellules-hôtes.

Chez les eucaryotes, les virus utilisés comme vecteur peuvent être infecté la cellule cible et intégrer une copie d'ARN de leur génome dans le chromosome de l'hôte tel que les rétrovirus. Il y a aussi les adénovirus qui peuvent transférer des gènes dans les cellules animales. Par exemple les baculovirus recombinants vont, quand à eux, infecter les cellules d'insecte et permettre la production de nombreuses protéines [30,16]. Il existe aussi des techniques de micro-injection de l'ADN à l'intérieur de grosses cellules comme ovocytes à l'aide de micropipettes en verre dirigées par un micromanipulateur de précision avec microscope. Aussi une méthode de "pique" dans laquelle une micro-aiguille pique au hasard les cellules qui baignent dans une solution d'ADN à recombinaison, ce qui suffit à faire pénétrer celui-ci [16].

Après pénétration dans les cellules en cas d'hôte bactérien, le segment d'ADN reste sous forme de plasmide. Dans le cas des cellules animales l'ADN pénètre dans le noyau, il se recombine avec les chromosomes [16].

I.4.3. La sélection des cellules transformées

Au cours des différentes étapes de construction d'un clone recombinant, une difficulté majeure est l'identification du clone recherché dans une population de clones recombinants. Plusieurs approches permettent d'identifier une bactérie porteuse du vecteur recombinant recherché [29].

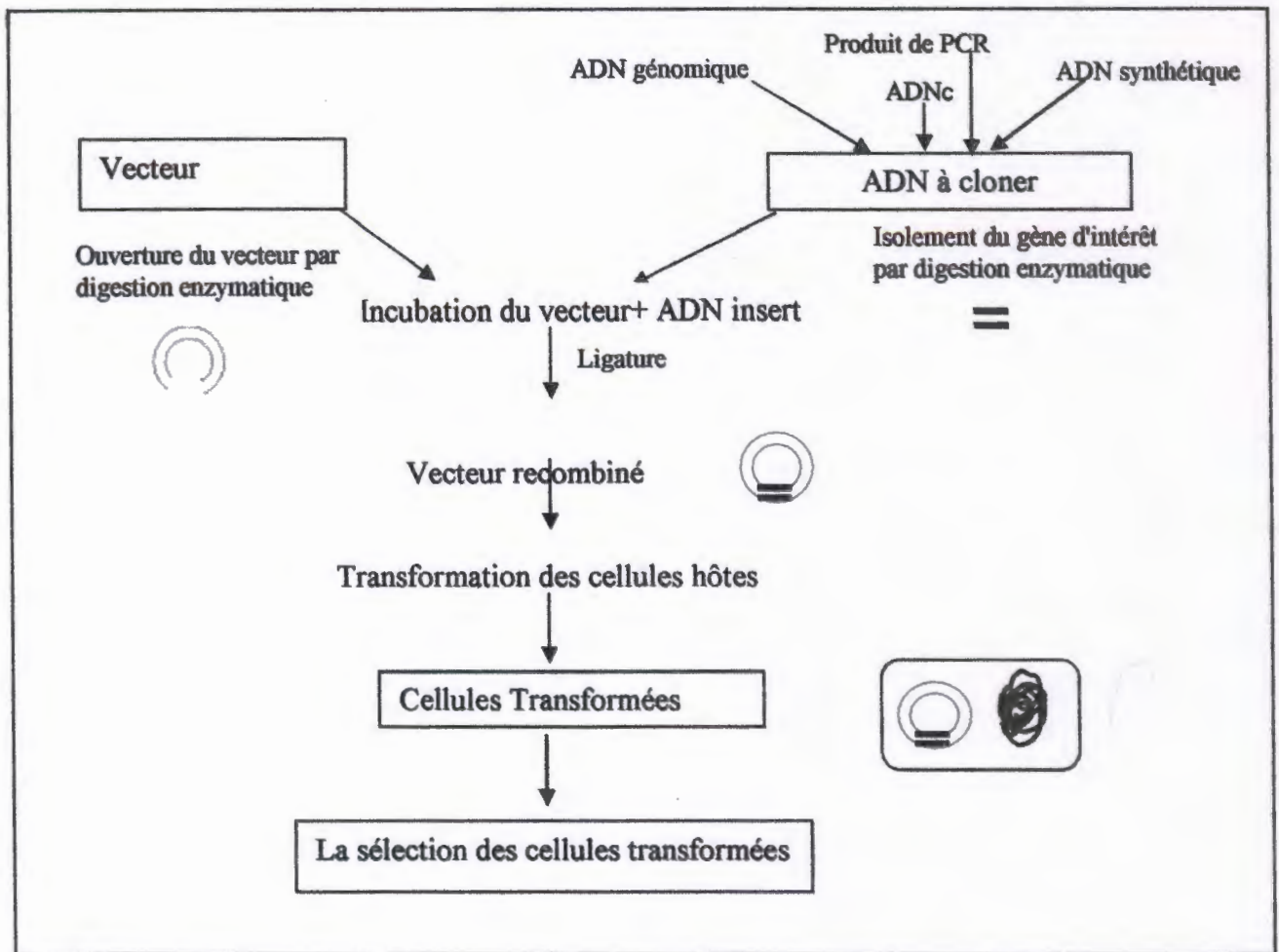


Figure 2 : Les étapes de clonage [30].

Une banque de fragment d'ADN, comprenant des milliers de bactéries, peut facilement être triée pour un gène spécifique cloné (par exemple : gène de résistance), si ce gène confère à la bactérie hôte une caractéristique permettant de la distinguer des autres bactéries porteuses de fragments d'ADN génomique donneur.

Ainsi on peut identifier les souches recombinant par un complémentaire à la séquence inséré grâce à des sondes marquées. La technique d'hybridation sur colonies rend possible la détection de gènes par des sondes d'ARN ou d'ADN marquées par radioactivité ou par d'autres méthodes. (Figure 3).

Les colonies testées sont transférées du milieu de culture solide sur un filtre nylon ou de nitrocellulose. Le filtre est délicatement appuyé sur la surface du milieu de culture. Il est ensuite traité à la soude (NaOH) ce qui permet de casser les cellules. À fin de les ouvrir tout en séparant simultanément les deux brins d'ADN (dénaturation). Le filtre est ensuite saturé avec une sonde marquée dont la séquence en bases est complémentaire de celle de gène recherché. Les conditions expérimentales permettant aux brins d'ADN de reformer des duplex lors de la dénaturation. Une fois que la sonde est retirée par lavage, la détection de la position des sondes qui sont restées liées permet d'identifier les colonies recherchées [31].

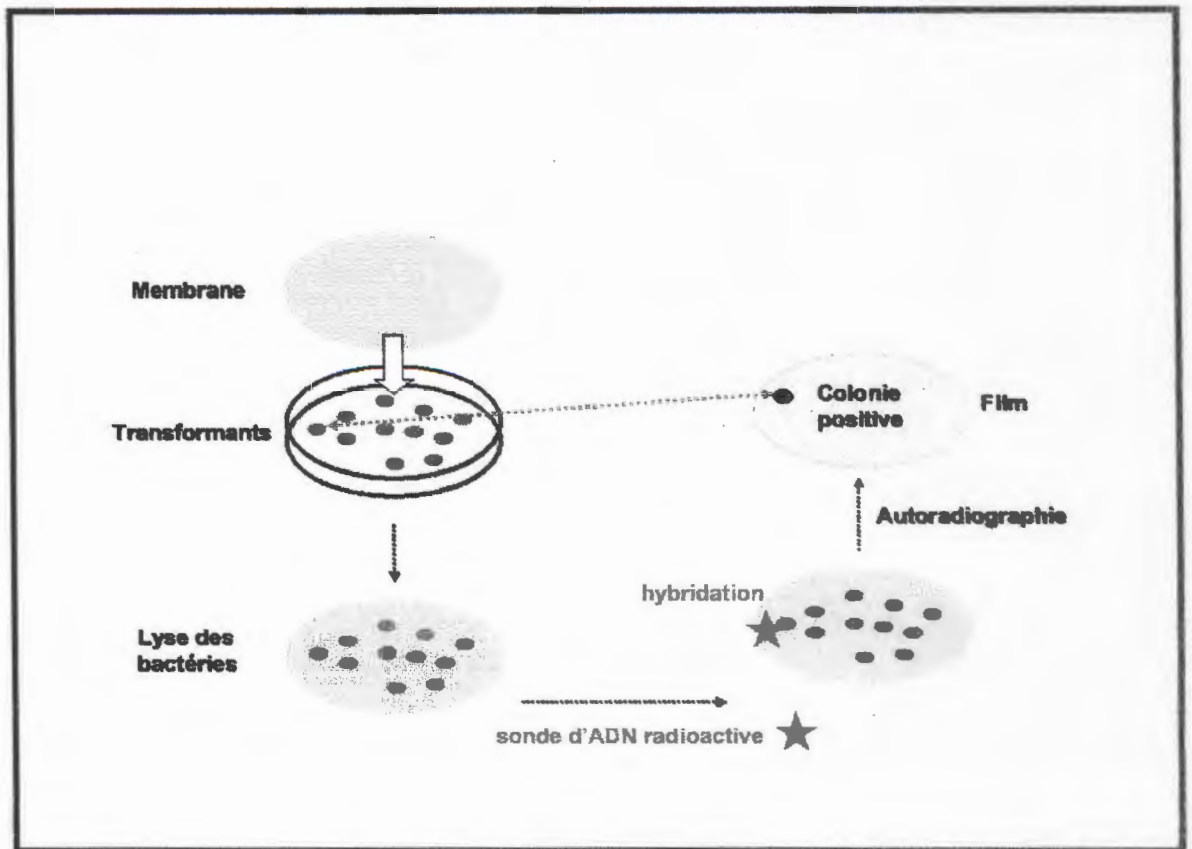


Figure 3 : Identification des clones recombinant par hybridation [30].

Chapitre II :
Les maladies infectieuses

On groupe sous le terme de maladies infectieuses des affections plus ou moins Contagieuses dues à des bactéries, à des virus, ou à des agents divers introduits dans l'organisme humain ou animal, ils entraînent des réactions de défenses dont les plus importantes sont représentés par la phagocytose et les réactions, immunitaire [32]. L'apparition de la maladie dépend de l'agent pathogène, du réservoir de germes de transmission et de la réceptivité de l'hôte [33].

II.1. Les agents pathogènes

Les agents pathogènes ont la capacité d'entraîner diverses maladies infectieuses et de déterminer le type de ces maladies [29]. Ce pouvoir pathogène est en fonction de virulence [33]. On distingue deux origines des agents pathogènes :

- Origine exogène, et dans ce cas les micro-organismes peuvent se trouver à peu près partout.
- Origine endogènes : appelé alors flore commensale, l'homme est le porteur de nombreux germes en de multiple point du corps [34].

II.2. Le mode de transmission

La transmission d'agents pathogènes chez l'homme est en fonction de la localisation des voies d'élimination du germe ainsi que des voies de pénétration dans l'organisme. Elle se fait selon deux modes :

- La transmission directe par contact étroit entre sujet infectant et un hôte réceptif par contact aérien [33].
 - La transmission indirecte, dans ce cas l'agent pathogène transmis par intermédiaire d'un vecteur. Cette contamination est réalisée par l'eau et les aliments [35]. (Tableau 3)
- **Tableau 1** : Mode de transmission des agents pathogènes [33] [30].

Mode de transmission	Exemple
• Les maladies à transmission aérienne	-Grippe -diphtérie - tuberculose
• Les maladies à transmission entérique	-salmonellose – hépatite infectieuse
• Les maladies à transmission par arthropode	- leishmaniose - paludisme
• Les maladies à transmission cutano-muqueuses	- maladie sexuelle transmissible
• Les anthroponoses	- rages - échinococcose

II.3. Classification des maladies infectieuses

Selon le germe pathogène on peut distinguer les maladies suivantes :

II.3.1. Les maladies bactériennes

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaire présentent sous plusieurs formes, les plus courantes sont les bacilles (bâtonnets), les cocci (sphériques ou ovoïde) Et les formes spiralées [15]. Elles n'appartiennent ni au règne des animaux ni à celui des

végétaux, mais a un troisième règne, celui des protistes et plus spécialement celui des protistes inférieurs ou procaryote [33]. Même si certaines bactéries sont bénéfiques à l'homme comme les bactéries intestinales qui empêchent la prolifération d'autres micro-organismes, d'autre, peut au contraire provoquer des maladies comme diphtérie, brucellose, fièvre typhoïde ...etc [36].

Pour voir une transmission de la maladie à l'homme et animaux les bactéries doit être capable de se fixer de manière très spécifique à des tissus particuliers grâce à des facteurs d'adhérence appelés adhésines qui se trouve à la surface de la cellule Bactérienne et permettent de se fixer sur des récepteurs spécifiques des cellules hôtes.

Après la fixation elles y parviennent souvent en produisant des substances lytiques qui altèrent le tissu de l'hôte par : l'attaque de la substance fondamentale et des membranes basales des téguments et des tissus intestinaux, par désorganisation de la surface cellulaire...éte. Les bactéries continuent à se disséminer dans le corps de l'hôte pour y prévenir elles produisent des substances et/ou des enzymes spécifiques qui facilite la propagation et la multiplication pour produire une infection [29].

Parmi les maladies les plus fréquentes, et plus dangereuses on cite :

❖ **La tuberculose** : qui est concédéré comme maladie infectieuse transmissible et non immunisante avec des signes cliniques variables. Elle est provoquée par des mycobactéries du complexe tuberculosis correspondant à différents germes et principalement *Mycobacterium tuberculosis* [37].

La tuberculose se transmet principalement par inhalation d'aérosols contenant l'agent pathogène [15]. Après leur entrée dans les poumons, les bactéries sont phagocytées par les macrophages. Une de cette repense d'hypersensibilité se développe et des nodules petits et durs appelés tubercules se forment : ceux-ci sont caractéristique de la tuberculose et donnent leur nom à la maladie [29]. (figure 4)

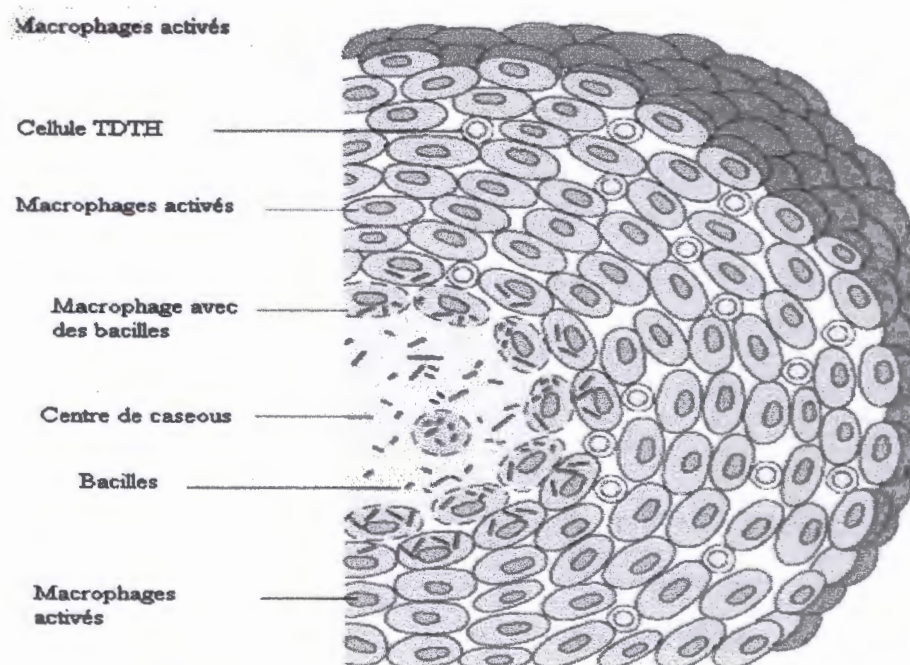


Figure 4 : Infection d'un tissu par *Mycobacterium tubeculosis* [38].

II.3.2. Les maladies virales

Les virus sont les plus petits agents infectieux ont une taille varie de 20-200 nm [39]. Ils ne sont constitués que par un seul acide nucléique ADN ou ARN lequel est entouré d'une enveloppe appelée capsid d'origine protéiques [40]. Ils sont considérés comme des parasites intracellulaires obligatoires, c'est-à-dire qu'ils dépendent totalement de leurs cellules hôte pour se reproduire [15]. Pour cette raison, sont capables de provoquer des maladies telles que la grippe, la rougeole, SIDA, l'hépatite... [40].

Les virus possèdent un mécanisme de pathogénécité diffère à cel des bactéries. Les virus dépendent entièrement de la cellule vivante pour être répliquer [40]. Une fois à l'intérieur de cette cellule, ils utilisent leur propre acide nucléique et les ressources de la cellule hôte pour créer un nouvel acide nucléique et des protéines virales, ces composants se rassemblent en particules virales supplémentaire qui sont libérées à l'intérieur de la cellule hôte pour aller infecter d'autres cellules [41].

Parmi les maladies virales les plus mortelles on cite le SIDA (VIH : Virus Immunodéficiência Humaine).

❖ VIH

Le mot SIDA est un sigle qui signifie Syndrome Immunodéficiência Acquise Cette maladie est provoquée par le Virus de l'Immunodéficiência Humaine (VIH), caractérisé par une déficiéncia du système immunitaire qui facilité les infections par divers micro-organismes (bactéries, champignons, parasites) et l'apparition de Certains cancers - maladies dites «opportunistes»- car elles atteignent peu les sujets dont l'immunité est normale. Le sida est aujourd'hui considéré comme une pandémie ayant fait selon l'ONU SIDA et l'OMS environ 25 millions de morts depuis 1981 jusqu'au janvier 2006.

• Mode d'action du virus VIH

Le VIH pénètre dans l'organisme, par voie sexuelle ou sanguine. A sa surface, les protéines virales reconnaissent les récepteurs CD4+ et CD8+ des lymphocytes T et s'y fixent. Le virus fusionne alors sa membrane avec celle de la cellule cible, afin de faire entrer son matériel génétique et ses enzymes et Intégré son génome ou génome de la cellule hôte. Il utilise la machinerie cellulaire de son hôte pour fabriquer de nouveaux virions .Ces nouveaux virus sont ainsi libérés dans l'organisme et peuvent infecter d'autres cellules (figure 5) [42].

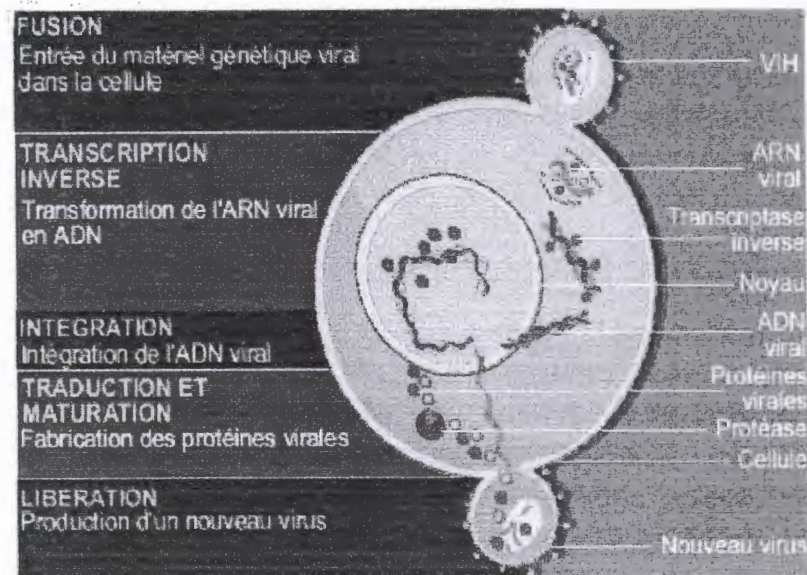


Figure 5 : Cycle de réplication du virus du SIDA [42].

❖ Hépatite

L'hépatite est une inflammation du foie, causée soit par des substances toxiques soit par des virus. A ce jour un total de cinq virus provoquant une infection ciblée et une inflammation du foie ont été identifiés. Ces virus désignés par les lettres A.B.C.D et E diffèrent par leur mode de transmission, et leur agressivité. Dès que les virus introduits dans le sang atteignent le foie, ils pénètrent dans ses cellules, les hépatocytes, et s'y multiplient. Le système qui assure ces défenses de l'organisme détruit quoi les cellules infectées ce qui provoque l'inflammation du foie [44].

Parmi les 7 genres, l'hépatite C ou VHC qui toucherait 3% de la population mondiale n'a été identifié qu'en 1989 et qu'est une cause majeur d'affection hépatique chronique pouvant aboutir à la cirrhose et au cancer du foie (Larousse de santé, 1999).

II.3.3. Les maladies à champignons

Toute infection fongique s'appelle mycose. Les mycoses se caractérisent par quelques aspects particuliers. Elles sont généralement des infections chroniques parce que les mycètes croissent lentement. En effet la paroi cellulaire des mycètes, composée de chitines et de polymères de cellulose, n'entraîne chez l'organisme infecté qu'une faible réponse immunitaire ; de plus les mycètes sont sensibles à une gamme moins grande d'antibiotiques que les bactéries. Les mycètes responsable de mycoses sont présents dans divers habitats, et la contamination se fait souvent par inhalation des spores ou par contact avec des végétaux et des animaux. Ils sont classés en cinq groupes selon la façon dont le mycète s'introduit dans l'hôte et l'importance de cette pénétration dans le tissu. C'est ainsi les mycoses peuvent être systémiques, sous cutanées, cutanées superficielles et opportuniste. Parmi les maladies fongiques, l'aspergillose c'est une mycose opportuniste qui touche particulièrement les poumons ; elle est causée par le genre *aspergillus* notamment *Aspergillus fumigatus*. Cette maladie touche les personnes qui ont des maladies respiratoires débilitantes ou des cancers, ou sont immunodéprimés,

et qui aspirent des spores d'aspergillus présentent dans le sol et sur les débris organiques [15]. Il y a trois types d'aspergilloses : les aspergilloses immuno-allergiques, les aspergilloses pulmonaires localisées et les aspergilloses diffuses [45].

II.3.4. Les maladies dues aux protozoaires

Les protozoaires sont des micro-organismes unicellulaires de taille et de forme très variée, leur structure cellulaire est de type eucaryote et leur paroi cellulaire et non photosynthétique, mais hétérotrophe, on les trouve dans différents écosystèmes variés (sol, eau...)

De nombreux protozoaires sont des parasites des végétaux, des animaux et surtout de l'homme, chez qu'ils sont responsables de pathologie humaine très grave et provoquent des maladies telles que : malaria, amibiase, giardiasis et lambliaose [15].

❖ **Lambliaose** : est une maladie parasitaire provoquée par la présence dans l'intestin grêle d'un protozoaire flagellé *Giardia lamblia*. Le parasite est présent sous forme de kyste (c.à.d. dans une coque) sur le sol, dans l'eau et les aliments ou sur les mains sales, se transmet tel quel d'un individu malade à un individu sain. Lambliaose se propage facilement lors du partage d'un repas, par exemple entre les membres d'une famille, d'un groupe de personnes vivant en institution, enfants fréquentant les crèches ou les garderies.

Le parasite existe dans l'intestin sous deux formes : une forme kystique et une forme végétative mobile, susceptible de sécréter une coque et de se transformer en kyste [46].

II.4. Epidémiologie

Dans le domaine infectieux, il est important d'identifier l'agent pathogène responsable afin de lutter efficacement contre la maladie et de traiter les personnes infectées. Il est important aussi de comprendre le mode de transmission et la distribution, géographique d'une maladie [15].

II.5. Défense immunitaire de l'hôte

L'organisme dispose d'une résistance naturelle aux agents infectieux, cette résistance résulte de la réaction de ces systèmes immunitaires de défense qui sont traditionnellement classés en deux types [36] :

❖ Défense non spécifique

Les défenses non spécifiques regroupent l'ensemble des mécanismes de défense naturelle de l'hôte exercés sans distinction contre toutes les bactéries et autres microorganismes ou particules exogènes [36]. Dans ce type de défense on présente des barrières physiques et mécaniques telles que la peau, l'épithélium et les muqueuses des systèmes respiratoires gastro-intestinal et génito-urinaires qui jouent le rôle de première ligne de défense contre les agents pathogènes [29]. Suivi par les processus de phagocytose et la production de la substance antimicrobienne qui constitue la deuxième ligne de défense [15]. Le système de défense non spécifique comprend aussi d'autres barrières telles

que les barrières biologiques (microflore, inflammation, la fièvre) et des barrières chimiques (bactériocines, la beta lysine et d'autres polypeptides) [36].

❖ Défense spécifique

Alors que les défenses non spécifiques de l'organisme ont une réaction immédiate contre tout agent infectieux, l'immunité spécifique est activée quand ces défenses de première ligne sont dépassées [36]. L'immunité adaptative ou spécifique est la capacité acquise de reconnaître et de détruire un pathogène ou ses produits. Elle exige un contact interne entre le système immunitaire et cet agent [47]. Il y a deux branches à l'immunité spécifique :

L'immunité humorale (médiée par des anticorps) repose sur l'action des protéines solubles appelées anticorps que l'on trouve dans les fluides corporels et à la membrane plasmique des lymphocytes B.

L'immunité cellulaire (médiée par les cellules) repose sur l'action des lymphocytes T particuliers qui attaquent directement les cellules infectées par des virus ou des parasites, des cellules ou des organes transplantés et des cellules cancéreuses [29].

II.6. Le diagnostic

Le diagnostic est une étape primordiale pour la lutte contre les maladies, seule l'identification de l'agent en cause dans une maladie permet de proposer un traitement adapté, plus cette étape est précoce plus le traitement sera efficace [37].

Le siège du prélèvement est orienté par les signes cliniques présentés pour les analyses microbiologiques et/ ou immunologiques et ou moléculaires [47]. Les prélèvements peuvent être réalisés de deux sortes soit :

Les prélèvements contaminés présentent dans les selles, crachats, le pus des abcès ouverts...ou bien Les prélèvements non contaminés représentent dans le sang, le liquide céphalorachidien, le pus abcès fermés...La mise en évidence d'un germe dans ces prélèvements prouve sa responsabilité dans l'infection observée. [33]

Les micro-organismes ont été identifiés sur la base de leurs croissances ou de caractères biochimiques. Ces critères spécifiques varient selon que le micro-organisme confronté par le microbiologiste clinicien (virus, bactérie, champignon, protozoaire).

Les virus sont identifiés par leurs isollements dans les cellules vivantes par des tests sérologiques (anticorps fluorescents, tests ELISA, radio-immuno-essais, agglutination de billes de latex et test à la peroxydase).

Les infections fongiques sont souvent diagnostiquées par examen microscopique direct des échantillons. Par exemple la mise en évidence de moisissures se fait en mélangeant une partie de l'échantillon avec une goutte de hydroxyde de potassium 10% étalé sur une lame en verre, qu'elle est ensuite couverte d'une lame couvre-objet fixée légèrement à la flamme et examinée en microscope.

L'identification des parasites s'effectue par une préparation aqueuse et concentrée de selles ou d'urines qui peuvent être ensuite examinées au microscope pour rechercher des œufs, des kystes, des larves ou des cellules végétatives.

Dans le cas d'une infection bactérienne, il faut isoler et faire croître les bactéries avant de pouvoir utiliser les tests diagnostiques qui confirmeront l'identification de l'agent pathogène, cette identification est suggérée par l'apparence de bactérie au microscope, sa croissance sur des milieux sélectifs différentiels d'enrichissement au

caractéristiques et par les propriétés hémolytiques et métaboliques et de fermentation sur différents milieux, ensuite identification par une série des tests biochimiques telles que test au rouge de méthyle, test de catalase sur lame ...éte

La biotechnologie contribue au développement d'essais spécialisées pour le diagnostique, les tests utilisés sont standards pour le diagnostic une grande variété d'agents pathogène parmi ces tests réaction de polymérisation en chaîne [29].

II.7. le traitement

Les médicaments provenant de la biotechnologie sont utilisés pour traiter les maladies infectieuses. Les différents types de ces médicaments actuellement vendus font parties des catégories suivantes :

II.7.1. Le traitement classique

II.7.1.1. Les antibiotiques:

Les antibiotiques sont des molécules chimiques naturelles ou de synthèses [48]. Secrétées comme métabolites secondaires par certains micro-organismes à faible dose [36]. Elles sont capables de tuer les micro-organismes sensibles (effet bactéricides) ou d'inhiber leurs croissances (effet bactériostatiques) [49].

Leur mode d'action antibactérien est la destruction de la structure de la cellule bactérienne (paroi ou membrane) ou blocage du fonctionnement bactérien par la sécrétion des enzymes notamment de ceux responsables de la répllication de l'ADN ou de fonction de ribosome c'est le cas de la pénicilline qui inhibe la synthèse de peptidoglycane de la paroi bactérienne, (métabolisme inexistant dans les cellules eucaryotes) [36].

II.7.1.2. Les antifongiques

Les antifongiques sont des médicaments utilisés dans le traitement des mycoses (infections causés par des champignons microscopiques).

Deux groupes des antifongiques fonctionnent: un premier groupe inclut les polyènes (antibiotique), ces derniers se fixent a l'ergostérol perturbent la membrane ce qui entraînant sa perméabilité et mort de la cellule. Un deuxième groupe inclut les azoles et les allulamines ces agents synthétiques empêchent spécifiquement la biosynthèse de l'ergostérol ce qui leur apporte une large activité antifongiques [47]. Le produit naturel le plus important dans le domaine des antifongiques est l'amphotéricine B (produit par la fermentation de *Streptomyces nodosus*), leur action antifongique est liée a la perturbation de la structure de la membrane plasmique du champignon aboutissant à une fuite du matériel intracellulaire (principalement des ions métalliques) [50].

II.7.1.3. Les antiviraux

Une trentaine d'antiviraux sont aujourd'hui disponible, la plus part d'entres eux inhibent l'une des étapes critiques du cycle du virus (pénétration dans la cellule, assemblage des composants viraux, libération des nouveaux virus). Les catégories d'antiviraux, sont celle des analogues de nucléosides ou de nucléotides : incorporés dans les chaines en construction par des enzymes qui copient l'ADN ou l'ARN viral, ils bloquent l'activité de ces enzymes et font échouer la répllication du génome

viral[49]. parmi les agents les plus efficace et les plus utilisés pour la chimiothérapie : les analogues de nucléosides, le premier composées universellement reconnus dans cette catégorie est la zidovudine ou azidothymidine (AZT) qui inhibe la multiplication des rétrovirus tel que le VIH (bloque la rétro transcription est la croissance de l'ADN proviral ce qui empêche la multiplication du virus) [47].

II.7.1.4. les vaccins

La vaccination est l'administration par voie buccale ou parentérale d'une substance antigénique destinée à immuniser activement et durablement un organisme contre une maladie déterminée (vaccin préventive, la plus fréquente) [15]. La vaccination reste une des armes, les plus efficaces et les moins coûteuses pour combattre les maladies microbiennes. [29]

Un vaccin est une préparation d'anatoxines des micro-organismes inactives ou affaiblis, ou de fragments de micro-organismes qui ont la propriété de créer une immunité active acquise artificiellement [15]. Actuellement quatre types de vaccin sont utilisés:

❖ **Vaccins inactivés:** sont des dérivés de l'agent infectieux lui-même tué chimiquement ou par la chaleur [6].

❖ **Les vaccins atténués:** sont des virus ou des bactéries vivantes est modifiés de façon à ce qu'ils ne puissent plus se multiplier dans l'organisme inoculés. Les deux types de vaccins fonctionnent En présence des protéines de surface (antigène) aux lymphocytes B et T qui sont alors activés pour riposter rapidement si l'organisme est effectivement infecté, en détruisant les agents infectieux avant qu'ils ne commettent les dégâts [6].

❖ **Les vaccins contenant un fragment d'agent pathogène :** ils contiennent une petite partie d'un micro-organisme (bactérie ou virus) que l'on à sélectionnée pour son aptitude à initier une réponse immunitaire spécifique, puis que l'on isole et que l'on purifie à titre d'exemple, le vaccin contre l'*Haemophilus Influenzae* de type B [51].

❖ **Les anatoxines:** sont des toxines inactivées, utilisés pour protéger le corps contre les toxines produit par les agents pathogènes joue le rôle de Transformation d'une toxine en anatoxine inoffensive sans perte de nombreux déterminants antigéniques ainsi les anticorps contre l'anatoxine réagiront bien avec la toxine d'origine [52]. Ce pendant ces types de vaccins sont potentiellement dangereux car ils peuvent être contaminés par des organismes infectieux [47].

II.7.2. Le traitement moderne des maladies infectieuses (thérapie génique)

L'apparition des souches résistantes aux antibiotiques et l'absence d'anti-infectieux traditionnels pour lutter efficacement contre de nombreux types d'agent pathogène sévères abouti a l'apparition de plusieurs stratégies s'offrent pour le traitement de maladies infectieuses et plus particulièrement pour celles qui sont causées par les virus. C'est pourquoi une des applications les plus prometteuses de la technologie de l'ADN recombinant et la production du vaccin sous unitaire [6].

II.7.2.1. Vaccin sous unitaire

Un vaccin sous-unitaire peut contenir uniquement une protéine spécifique d'un organisme pathogène. Pour les virus une protéine d'enveloppe hautement immunogène qu'est purifiée et utilisée pour provoquer une réponse immunitaire rapide et élevée. Ce type de vaccin est actuellement très répandu car les technologies d'ADN recombinant permettent de produire de grandes quantités de protéines immunogènes sans risque de réponse de l'organisme pathogène [47].

II.7.2.2. Les vaccins à base d'ADN (ADN vaccin)

La production des anticorps est la réponse du système immunitaire à la reconnaissance de protéines ou de grandes molécules portées par des pathogènes. Le composant fonctionnel du vaccin introduit dans l'hôte est la protéine qui provoque la réponse immunitaire. L'introduction d'ADN chez les animaux ne provoque pas des réponses immunitaires contre la molécule d'ADN mais lorsque l'ADN est exprimé pour donner une protéine, cette protéine peut stimuler le système immunitaire. C'est la base de la vaccination avec l'ADN, qui a été démontrée la première fois par Ulmer et al. (1993). Les ADN vaccins comportent en générale un plasmide bactérien qui porte un gène codant pour l'antigène désiré sous le contrôle d'un promoteur fort reconnu par les cellules hôtes [10].

Les avantages de cette méthode sont sa simplicité, son large champ d'application est la facilité de produire de grandes quantités de vaccins. L'ADN peut être administré par l'infection à l'aide de liposome ou par bombardement de particules [10].

La vaccination par l'ADN est très apparentée à la thérapie génique. Tout d'abord, si le but de la thérapie génique est de soulager la maladie, soit en remplaçant un gène perdu soit en bloquant l'expression d'un gène à mode d'action dominant, le but de la vaccination par l'ADN est de prévenir la maladie en faisant exprimer un antigène qui stimule le système immunitaire [10].

Chapitre III :
La lutte contre les maladies
infectieuses par le génie génétique

La technologie d'ADN recombinant ouvre des perspectives nouvelles de recherches et de biotechnologie appliquées, aux processus au cours desquelles des organismes vivants sont génétiquement manipulés, pour donner des produits utiles dans la médecine, l'agriculture et l'industrie [29]. La biotechnologie offre un grand potentiel de traitement de diverses maladies telle que le SIDA, l'hépatite, la grippe aviaire...etc., par le génie génétique [49].

III.1. La thérapie génique

X La thérapie génique est une nouvelle approche, utilisant les gènes et l'information dont ils sont porteurs, pour traiter des maladies causées par des mutations dans l'ADN du patient lui-même (maladies héréditaires, cancer) ainsi bien que causées par des agents infectieux, cette thérapie est particulièrement intéressante, dans ce cas ces traitements présentent un risque [10]. Le principe générale de la thérapie génique consiste à faire entrer dans les cellules malades un gène capable de les tuer; introduire le bon gène dans une cellule qui lira l'information qu'il contient et fabriquera la protéine manquante ou diminuera la production d'une protéine néfaste [22] [46].

Selon le type de cellules que l'on désire modifier, on parlera de thérapie germinale ou somatique :

❖ **La thérapie germinale** : est la modification génétique d'une cellule germinale (reproductrice), d'un zygote ou des cellules d'un embryon. La modification apportée sera présente dans toutes les cellules du corps et qu'elle sera transmise aux descendants.

❖ **La thérapie somatique** : est la modification des cellules différentes du corps, elle porte sur un groupe cellulaire particulier dans la pathologie [53].

Les techniques de la thérapie génique font appel à un vecteur de transfert de gène, [19] outils indispensables pour rendre efficace le transport de gène jusqu'au noyau des cellules à traiter [17].

II.2. Les différentes méthodes de la thérapie géniques

Plusieurs méthodes peuvent être envisagées en fonction de la pathologie concernée et des cellules qui doivent être ciblées par le gène médicament, on peut distinguer trois méthodes (figure 6) :

✓ La thérapie génique directe *in vivo* repose sur le transfert direct du gène thérapeutique chez le patient par injection dans la circulation sanguine [17] ; le vecteur est alors atteint spécifiquement les cellules cibles. Les vecteurs choisis avec cette technique sont généralement des adénovirus [17]. Les caractéristiques d'un système idéal de distribution *in vivo* des gènes sont, une efficacité élevée de capturer le gène thérapeutique par les cellules cibles, le transport de ce gène dans le noyau de la cellule cible avec un minimum de dégradation et l'expression prolongée du gène thérapeutique à un niveau qui permet d'atténuer la maladie [17] [2].

La thérapie génique *in situ* consiste à placer directement au sein du tissu cible le vecteur de transfert. Cette technique expérimentée, notamment, dans les cas de

mucoviscidose (transfert de vecteur dans la trachée et les bronches) et de cancer (injection dans la tumeur d'un vecteur portant le gène d'une toxine, par exemple) [43].

Pour faciliter le transfert du gène thérapeutique dans les cellules cibles, la stratégie la plus simple est de prélever la cellule à traiter chez le patient et de réaliser *ex vivo* le transfert de gène thérapeutique [17]. Les cellules à traiter sont prélevées chez le patient et mis en culture où le vecteur porteur du gène thérapeutique est ajouté, puis les cellules où le nouveau gène est bien inséré sont sélectionnés et réintroduites dans l'organisme du patient [7]. Cette méthode est utilisée en particulier pour les cellules sanguines qui sont faciles à prélever et à réintroduire. L'utilisation des propres cellules du patient garantit l'absence de réponse immunologique défavorable après leur réintroduction. Un gène thérapeutique introduit dans les cellules autologues doit être maintenue de façon stable et exprimé continuellement [19]. Actuellement, pour des maladies humaines, les vecteurs divers de rétrovirus de souris sont souvent utilisés, pour introduire des gènes thérapeutiques dans les cellules en culture [2]. En revanche, pour de nombreux types cellulaires qui ne peuvent être aisément prélevé et manipulés *ex vivo* (cellule pulmonaires, musculaire, nerveuses ...), cette approche ne peut être envisagée et le gène doit être directement introduit *in vivo* [17].

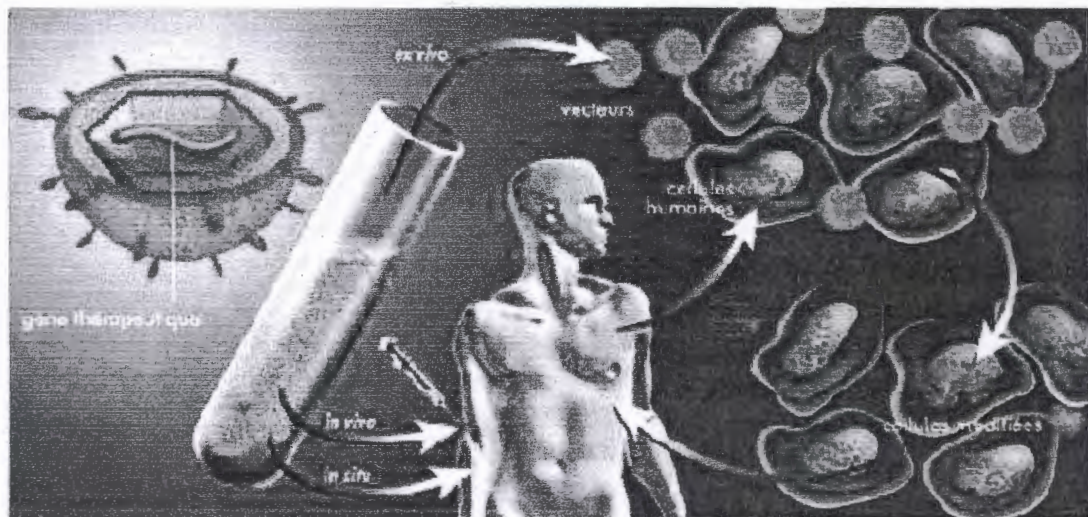


Figure 6 : Les différentes méthodes de la thérapie génique [54].

I.3. Thérapie génique des maladies infectieuses

L'absence d'anti-infectieux traditionnelles pour lutter efficacement contre de nombreux types d'agents pathogènes sévères, et plus particulièrement le virus d'immunodéficience humaine, ainsi que la disponibilité de cible moléculaire unique pour ces agents pathogène ont encouragé l'exploration des thérapies géniques pour les maladies infectieuses [55]. Cette thérapie moins conventionnelle a pour but de protéger un individu contre l'infection virale en modifiant le génome de ces cellules afin de les rendre résistantes [56].

III.3.1. La maladie du SIDA

La maladie du SIDA est une phase exceptionnelle grave est tardive de l'infection par le virus de VIH. Il existe deux souches du virus de l'immunodéficience humaine; VIH-1 et VIH-2; la souche VIH-1 est la plus fréquente et la plus virulente. C'est d'ailleurs pour cette raison que VIH -1 est la cible des thérapies génique. Mais, VIH-1 et 2 détruisent certains globules blancs, les lymphocytes T ou CD4, qui constitue la base active de l'immunité anti-infectieuse. Cette destruction provoque donc une déficience du système immunitaire [43].

III.3.1.1. Les stratégies de la thérapie génétique anti-VIH

La complexité moléculaire et biologique du VIH-1 est cependant difficile de prédire quelle stratégie de la thérapie génétique sera la plus efficace. C'est pourquoi le développement et l'évaluation parallèle *in vitro* et *in vivo* de plusieurs approches complémentaires sont essentiels. Il est possible, en outre qu'une seule approche ne puisse complètement bloquer la réplication virale et qu'il soit nécessaire d'associer plusieurs inhibiteurs génétiques. Plusieurs stratégies sont envisagées pour soigner, ralentir ou prévenir le SIDA mais aucune n'a encore abouti à de favorables résultats [57].

❖ Premières stratégies : rendre les lymphocytes T résistantes

➤ Première approche: surexpressions des interférons

Une approche potentielle de thérapie génique du SIDA peut consister à une reconstitution génétique de ce système naturel de défense antivirale. Cela peut théoriquement être réalisé par un transfert dans les cellules hématopoïétiques des gènes codant pour l'IFN (Interfiron) humain [58] qui constitue l'un des plus puissants systèmes de défenses développées par la cellule contre les infections virales [59]. Mais en plaçant ceux-ci préalable sous le contrôle de séquence régulatrices contenues dans la région LTR (long terminale repeat) du génome VIH-1, l'activité promotrice de ces séquences étant spécifiquement réglée par la protéine TAT (Transactivateur) du VIH-1, l'infection virale devrait réprimer les gènes d'IFN cellulaire et, au contraire induire la synthèse et la sécrétion des IFN codés par les gènes transférés cette production d'IFN consécutive à l'infection virale devrait aux cellules ayant intégré les gènes transférés et ou cellules voisines une résistance à la réplication et la propagation du VIH -1[58].

Les IFN exogène, notamment les IFN α et β pouvait efficacement contrôler la réplication virale dans différents infection chronique ou aiguë après l'administration sous cutané d'IFN α , un effet antivirale significatif, chez les patients ayant un nombre élevé de CD4+ (> 200) et dont le système immunitaire est encore relativement fonctionnelle. Cette action antiviral et en revanche inexistante chez les patients à un stade plus avancée de la maladie [59] [60].

• Interféron α

L'interféron est une substance sécrétée par les cellules lorsqu'elles sont infectées par le virus VIH. Elle est produite par génie génétiques et capables d'inhiber la synthèse

des protéines virale et leur assemblage. Cette substance inhibe plus ou moins efficacement la réplication virale au sein des cellules adjacentes dans les quelles elle diffuse [56].

- **Interféron β**

L'interféron β est une protéine antivirale à large spectre, susceptible d'inhiber la réplication du VIH à différents stades de son cycle infectieux.

Bien que le gène de l'IFN β soit normalement présent dans l'organisme, il manque d'efficacité lors de l'infection par le VIH car les gènes de l'IFN ne s'expriment pas assez. Cela est dû au fait que le VIH contourne en grande partie le mécanisme de défense antivirale, qui consiste à stimuler la synthèse des IFN lors qu'il y a infection

Pour obtenir une résistance à très long terme, il sera nécessaire d'introduire le gène de l'IFN β , mais directement dans les cellules souches primitives de la moelle osseuse et pas dans les lymphocytes, dont dérive l'ensemble des cellules du système immunitaire [61].

Malgré des conclusions par fois contradictoires en raison de protocoles en nombre limité est souvent différent, aucun effet antivirale claire a été associé à l'administration de l'IFN β ou γ . les IFN constituent donc des molécules antivirales à concéder avec attention, mais dans les conditions optimales d'utilisation sont encore à finaliser. Cela d'autant plus que la relation entre les IFN et la pathogénie du SIDA est complexe et reste même mal comprise [62].

- **Deuxième approche: introduction d'un gène codant pour une protéine anti-VIH**

On 1996, une équipe de recherche de l'Howard Hughes médicale de l'Institut Ann Arbor Michigan a étudié des façons d'aider les cellules TCD4 à résister à l'infection par le VIH. Sa stratégie est d'infecter les cellules TCD4 avec les gènes nécessaires pour fabriquer une protéine anti- VIH appelée Rev M10 expériences faites en laboratoire, on montre que cette protéine peut :

-empêcher VIH de transformer les cellules en usines à virus, ou bien permettre aux cellules TCD4 de remplir leur infection.

On ne peut pas vraiment dire que la thérapie utilisée constitue un réel succès : en effet, le taux de réussite de l'infection des cellules par le gène anti- VIH fut seulement de 10%. Cela entraîne de trop nombreuses perfusions qui durent trop longtemps, ou les cellules protégées sont injectées en trop petit nombre [63].

- ❖ **Deuxième stratégie : bloquer le virus HIV**

- **Première approche : inhibition des fonctions régulatrices des protéines virales TAT et REV**

Les protéines TAT et REV produites très précocement durant le cycle virale sont essentielles à la réplication de VIH-1. la protéine TAT permet l'élongation de la transcription des gènes viraux et la protéine REV (Régulateur de l'Expression des

Virions) favorise le transport des ARN codant pour les protéines structurales vers le cytoplasme [58]. Ces protéines TAT et REV sont des protéines nucléaires organisées en domaines biologiques distincts, sont notamment un domaine de localisation nucléaire et de fixation aux séquences virales cibles, un domaine de dimérisation (TAT), ou de métamérisation (REV) et un domaine de trans activation impliqués dans l'interaction de ces protéines avec des protéines cellulaires essentielles à la fonction de TAT et REV [64].

L'introduction d'un gène anti-TAT dans des cellules lymphocyte TCD4+ infectées par le virus a montré que le virus ne se multipliait plus dans ces cellules. Les chercheurs ont également remarqué que le gène anti-TAT permettait de prolonger la vie des lymphocytes CD4+. Cette technique de transfert de gène pourrait être utilisée en complément de l'administration d'antirétroviraux puissants et efficaces pour diminuer la charge virale plasmatique.

Le gène anti-TAT contribue à maintenir le VIH dans un état de latence dans les cellules infectées, mais il offre la possibilité de prolonger la période de latence indéfiniment sans avoir recours à un traitement antirétroviral à long terme. Les premiers résultats montrent que le gène anti-TAT n'affecte pas les cellules qui ne sont pas infectées et ne provoque aucun effet secondaire toxique [65].

➤ Deuxième approche : clivage des ARN viraux (immunisation intracellulaire)

Plusieurs autres stratégies de la thérapie géniques du SIDA dont l'objet d'une intense investigation par nombreuses équipes parmi ces stratégies, certaines présentent des avantages particuliers ainsi, les transferts de gènes codants, soit pour des ribozymes anti-VIH, soit pour des erreurs TAR (TAT récepteur) et RRE (élément responsif REV) sont capables de conférer une résistance cellulaires significatives à l'infection virale [66].

- **Les ribozymes**

Ce sont des molécules à ARN à activité catalytique capable de détruire et de cliver un ARN cible au niveau d'un ARN non codant tel que la région 5' du transcrit viral, soit au niveau d'un ARN codant pour le gène GAG ou ENV [67].

- **Les ARN antisens**

Cette approche consiste à introduire un gène codant pour l'ARN antisens (séquences oligonucléotidique) ce gène introduit dans les cellules est un gène viral qui fabrique un ARN messager antisens de l'ARNm du virus, l'avantage de cet ARNm antisens est qu'il va se combiner en s'hybridant, avec l'ARNm du virus et bloquer son fonctionnement en empêchant de donner naissance aux protéines virales.

Les ARN antisens les plus étudiés sont dirigés contre les gènes TAT, REV et ENV du VIH. Pour une répression virale efficace, leur niveau d'expression doit être plus élevé [68].

❖ Troisième stratégie ; Piéger le virus

➤ Molécule SCD4 soluble

La molécule CD4 est le récepteur principal du virus à la surface des cellules hématopoïétiques, une autre voie consiste à éviter le contact virus-cellule CD4 en injectant au patient une grande quantité de la protéine CD4 fabriquée par génie génétique. Il a donc été imaginé de préparer des molécules CD4 soluble (SCD4), débarrassées de leur région d'ancrage cellulaire pour s'en servir de leur destinés à bloquer la fixation du virus on espère ainsi empêcher l'accès du virus à la cellule. Il s'est avéré que l'efficacité de telles molécules. La durée de vie plasmatique réduite à quelques minutes et sa faible efficacité, a conduit que le SCD4 a due être abandonnée [56].

❖ Autre stratégie

➤ Les anticorps intracellulaire

Une stratégie plus récente consiste à synthétiser de manière intracellulaire un anticorps simple chaîne dirigé contre une protéine virale régulatrice ou structurale semble être une voie plus prometteuse, tant en raison de son apparente efficacité antivirale, que de la possibilité d'humaniser ces anticorps afin de réduire leur immunogénicité potentielle. Il reste néanmoins difficile de comparer l'efficacité et les avantages respectifs de cette stratégie par rapport aux autres, chaque laboratoire utilisant des réactifs (isolante viraux, cellules...) non standardisés. De plus, aucune donnée *in vivo* n'est actuellement disponible pour la majorité de ces approches. C'est pourquoi K.Sanhadji a choisi de développer et d'évaluer, en parallèle, dans un même laboratoire, plusieurs stratégies de thérapie géniques, l'évaluation dont il ressort que le transfert de gène IFN inductibles par TAT est probablement aujourd'hui la voie la plus prometteuse [69].

III.3.2. La thérapie génique anti-hépatite C

Le virus de L'hépatite C compte actuellement parmi les plus importants problèmes de santé publique. Il est logique de proposer un traitement de la maladie couvre plusieurs éléments : méthodes pour atténuer ou éliminer les symptômes, pour ralentir ou inverser les lésions ou pour éliminer le virus. La recherche actuelle porte surtout sur les deux derniers aspects.

Une part importante de recherche vise la pharmacothérapie existantes .la thérapie à l'interféron s'est révélée utile pour un nombre très limité d'infection par le VHC mais cette portion semble augmenter lorsque l'interféron est combiné à la ribavirine cependant, les graves effets secondaires de ces médicament rendent ces traitements peu attrayants. Les chercheurs sont intéressés à déterminer quelles victimes de l'hépatite C sont les plus susceptibles d'en profiter, afin de réduire au minimum l'application des thérapies inefficace. La recherche d'un remède pour la maladie à surtout visé des vaccins et des médicaments produits par gène génétiques qui pouvaient « vaincre » le virus avant qu'il soit capable de muter suffisamment pour échapper au traitement. Récemment on s'est penché sur la thérapie génique antisens [70].

❖ L'approche antisens

La stratégie antisens vise à moduler sélectivement l'expression des gènes cellulaires ou viraux, par action directe sur les acides nucléiques, elle repose sur l'utilisation de courts oligonucléotides synthétique (ODN). Capable de s'hybrider spécifiquement à une séquence nucléotidique.

Entendu au sens large, elle englobe l'interférence, les ribozymes et les aptamère, c'est-à-dire toutes les approches qui se basent sur la reconnaissance d'une séquence nucléotidique pour fonder leur action. Dans le cas du VHC, beaucoup d'alternatives thérapeutiques sont actuellement un essai cliniques, il est cependant très probable qu'à terme, l'apparition de résistance freine leur utilisation. Il est donc important d'explorer de nouvelles options pour la thérapie VHC, en particulier celles qui pourraient s'affranchir des résistances comme les approches de type antisens. Des ODN antisens, des ribozymes, aptamère et RNA sont développés.

On peut distinguer deux catégories d'inhibition : une inhibition avec blocage de la traduction et une inhibition avec clivage de l'ARNm [71].

III.3.2.1. Inhibition avec blocage de la traduction

Une première possibilité serait de bloquer la traduction, soit par fixation d'ODN antisens sur l'ARN, soit par blocage des protéines virales ou du transcrite ARN par des aptamère.

❖ Phosphorothioates de dérivés

L'inhibition de la réplication de VHC par des ODN antisens peut en théorie éliminer le virus de la cellule puisque son cycle de réplication dépend entièrement de l'ARN. Le fait par contre que la réplication du VHC se produise dans le cytoplasme et que la RNase-H (ribonucléase reconnaît également les hybrides ADN/ARN et hydrolyse spécifiquement les liaisons phosphodiester de la partie ARN), soit localisée majoritairement dans le noyau conduit à envisager une action des antisens non pas via la RNase-H mais par blocage stérique de la traduction [71].

III.3.2.2. Inhibition avec clivage

Une autre approche pourrait consister à aller cliver l'ARN du VHC, ce qui rendrait impossible la traduction et entraînerait sa dégradation par les nucléases deux possibilités sont alors envisageable : les ribozymes et les siRNA [72].

• Ribozymes

Les ribozymes sont des molécules d'ARN qui peuvent se lier à l'ADN de manière antisens spécifiquement à une séquence et qui possèdent des propriétés catalytiques permettant le clivage d'ARN. Leurs capacités à catalyser la coupure d'un brin d'ARN avec seulement un enchaînement ou encore à catalyser la formation d'une liaison

peptidique dans les ribosomes permettant d'envisager leur utilisation comme agents thérapeutique [72][73].

La plupart des ribozymes développés ciblent les régions 5'UTR et 3'UTR. Des séquences reconnues par certains ribozymes étant présentes dans la séquence de la protéine de capsides et dans des régions conservées de l'ARN brin positif et bien négatif pourraient également être envisagées comme cibles pour réduire l'ARN viral.

En 2001, un ribozyme (Hepatozyme TM- Ribozyme pharma) a été le première anti-VHC à terminer une phase II d'essais cliniques.

III.4. Perspective des nouveau vaccins à ADN

Les vaccins à ADN restent une source biologique pour la vaccination contre les organismes infectieux de prévenir l'apparition et la progression de la maladie. Les vaccins à base d'ADN est un titulaire très prometteur comme un outil pour le maintien de santé chez les personnes susceptibles d'être à risque ou exposés à des micro-organismes pathogènes, et des travaux sont en cours dans les domaines de l'hépatite et VIH-1 ainsi que des infections bactériennes notamment la tuberculose et la méningite.

III.4.1. Vaccin à ADN anti-VIH

Une vaccination par des fragments d'ADN nu ou associés à divers vecteurs est tentée comme dans d'autres domaines (grippe, hépatite B). Cette approche consiste à injecter par voie intramusculaire ou intradermique des fragments d'ADN correspondant à une partie seulement des gènes du VIH plutôt que les protéines elles-mêmes. Ceci permet de faire fabriquer par l'organisme une protéine virale par les mécanismes cellulaires normaux. Ces protéines sont présentées par les molécules HLA de classe I et II et, il en résulte des réponses principalement cellulaires et plus accessoirement humorales. Plusieurs essais menés chez le singe ont montré que des anticorps neutralisants et des cellules lymphocyte T étaient induits sans toutefois permettre une protection constante après un challenge par une souche virulente. Chez l'homme, quelques essais ont été menés chez des sujets infectés par le VIH montrant l'induction de nouvelles réponses immunes [74,75] Plusieurs essais sont en cours ou prévus dans le réseau AVEG qui prévoit de tester des constructions *env-rev*, *gag-pol*, et à travers le réseau international HIVNET. Pour empêcher la maladie et de réduire la transmission [76].

III.4.2. Vaccin à ADN contre *Mycobacterium tuberculosis*:

La tuberculose demeure la principale cause de la mort d'un seul agent infectieux, et est responsable pour des millions de nouveaux cas par ans. Bien que la plupart des cas actifs peuvent être traités avec chimiothérapie antibactérienne. Ce traitement est trop long pour être tolérés par de nombreux patients. À partir des progrès technologiques de la génétique permettant d'isoler et de transférer du matériel génétique, ainsi que la possibilité de l'inactives, des expériences récentes ont mis en évidence que l'injection par voie intramusculaire d'un plasmide codant pour une protéine mycobactérienne (protéine de choc thermique hsp65, protéine Ag 85 ou antigène de 36 KDa riche en proline) pouvait induire chez la souris une immunité spécifique cellulaire et humorale de longue durée,

l'animal devient par la suite immunisé contre le bacille de la tuberculose ou contre le *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) même si la technique de l'ADN nu offre de nombreux avantages par rapport aux procédés habituels de fabrication des vaccins, il demeure néanmoins un problème non résolu aujourd'hui, celui de l'intégration possible de l'ADN bactérien dans le génome des cellules l'hôte [77].

III.4.3. Vaccin à ADN contre hépatite B

Des études récentes ont montré que les vaccins à ADN contre l'hépatite B préparé par génie génétique : c'est une protéine recombinante obtenue par insertion du gène VHB codant pour la protéine enveloppe virale (antigène de surface de l'hépatite B ou Ag HBs, ces particules ne contiennent pas d'ADN et sont donc non infectieuses). Dans des cellules de levures ou des cellules ovariennes de hamster. Après la vaccination d'antigène de surface de l'hépatite B peut être détecté dans le sérum pendant plusieurs jours, ce phénomène est connu sous le nom d'antigénémie vaccinale. Ces vaccins à ADN fournissent une efficacité supérieure à l'excrétion de virus, par rapport à l'ensemble correspondant de virus inactivés [78] (figure 7).

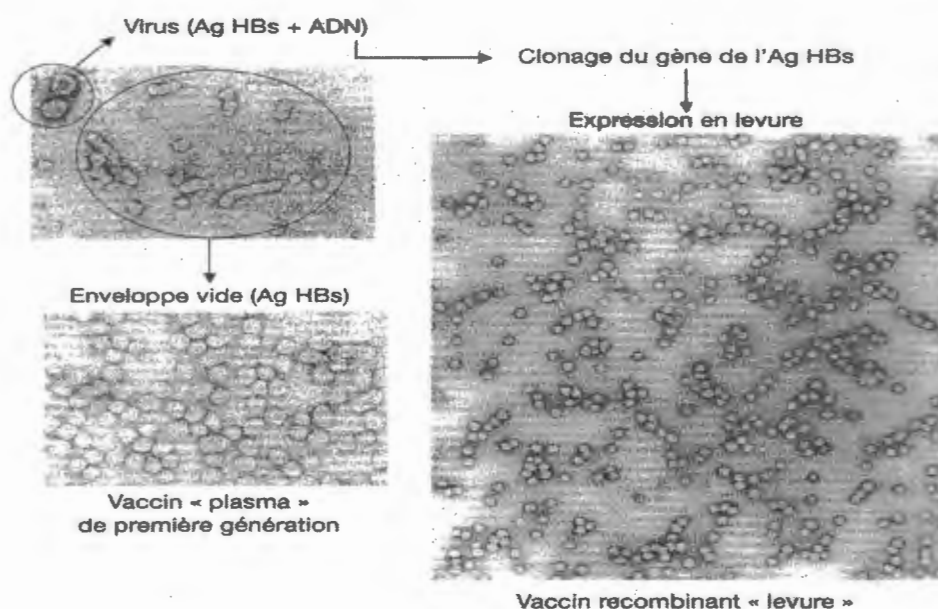


Figure 7 : Le vaccin recombinant anti- hépatite B [79].

III.4.4. Vaccin à ADN contre Paludisme

Une équipe de l'université de Johns Hopkins vient de débiter les essais chez l'animale d'un candida vaccin très prometteur qui pourrait ouvrir la voie au contrôle du paludisme. Le principe du candida vaccin dont l'expérimentation sur la souris vient de se terminer est fondé sur la manipulation d'ADN. C'est celui du parasite responsable de la maladie (*Paludisme falciparum*) qui est traité, pour en diminuer la capacité infectante. Le vaccin préparé à partir de l'ADN de ce parasite à infectivité réduite est ensuite administré à l'individu. Un piqué par le moustique vecteur du paludisme permet de transmettre un

parasite à l'infectivité diminuée. Les premiers essais ont établi une capacité infectante réduite de 75% et une concentration parasitaire réduite jusqu'à 97% chez les moustiques qui avaient piqué des animaux vaccinés. Les essais vont désormais se poursuivre sur des primates mais ce candidat vaccin intéresse beaucoup les agences concernées : cette technologie à ADN permet, en effet, de réduire les coûts de production et d'obtenir des vaccins très « rustique » : il n'est même pas nécessaire de les conserver au frais [80].

III.4.5. Vaccin à ADN anti-HPV (Human Papillome Virus)

Actuellement, de nombreux efforts sont réalisés dans la vaccination prophylactique anti- HPV (Human Papillome Virus), l'infection par le virus du papillome humaine est la première cause de cancer du col de l'utérus. Et le deuxième cancer fréquente chez les femmes.

Dans les cellules infectées par HPV, les vaccins à ADN ne sont pas répliquants et les composants des vaccins sont produits par la cellule hôte. Suite à la production des protéines immunogéniques dans les cellules hôtes, les vaccins à ADN produisent une réponse clinique. Une étude a porté sur un total de 127 patientes a été démontré l'efficacité d'un vaccin à ADN à différents dosages sur une population de femmes atteintes de dysplasie sévère cervicale, CIN2 et 3 (Cervical Intraepithelial Neoplasia). Les résultats montrent que chez les femmes de moins de 25 ans, le vaccin fait disparaître 67% des lésions de CIN2-3 pour le vaccin faiblement dosé, et 72 % des lésions CIN2-3 dans le cas d'utilisation du vaccin fortement dosé, avec un traitement chimique à traité seulement alors que 23 % des lésions [81].

Conclusion

D'après l'ensemble des essais par la biotechnologie d'ADN recombinant, on peut dire que l'application de cette biotechnologie reste dans une phase de développement. Grâce à l'augmentation de nombre des vecteurs, des protéines et le développement des techniques. Utilisées dans le génie génétique en le maîtrise de mieux en mieux. Aujourd'hui aucune maladie infectieuse n'a été traitée totalement par cette biotechnologie, et on peut dire encore que les essais cliniques sur l'homme ne sont qu'un début. En effet, la biotechnologie d'ADN recombinant se heurte à différents obstacles surtout lorsqu'il s'agit des maladies infectieuses d'origines virales et leur application sur l'être humain.

Après une première période où la biotechnologie d'ADN recombinant apparaît comme un médicament miracle, une seconde s'est mise en place avec un engouement beaucoup moins important. En effet, il s'agit de développer une nouvelle pharmacologie et une nouvelle méthode thérapeutique sans exposés à des effets indésirables mais aussi d'obtenir des résultats concrets. L'espoir veut que la thérapie génique par cette biotechnologie prenne sa place parmi les autres médicaments et le plus probablement, sans forme. La thérapie génique qui semble aussi intéressante, elle consiste à la combinaison d'une biotechnologie et d'un traitement médical ou chirurgical classique. En effet, les différents essais cliniques ont permis de voir ce qu'il est possible de développer et de mettre en place.

La biotechnologie est un ensemble très complexe. On pense qu'il est nécessaire de laisser à la recherche le temps de perfectionner cette biotechnologie, qu'elle aura un avenir prometteur et réservé pour les événements prochains.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [01] : Rolf D S. (2005). Atlas de proche de biotechnologie et de génie génétique. (Ed) Médecine Sciences Flammarion. Paris, pp 214.
- [02] : Jack J P. (2003). Génétique moléculaire humaine. 1^{ère} édition. (Ed) De Boeck. Bruxelles, pp118-458
- [03] : Encyclopedie Universalis, v.11, (2005), article organismes génétiquement modifiés-répères chronologiques.
http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9nie_g%C3%A9n%C3%A9tique.
- [04] : CIRAD Dossier ogm [archive].
<http://wikiwix.com/cache/?url=http://www.cirad.fr/fr/dossier/ogm/enjeux.html>.
- [05] : Michel G. (1987). Expression des gènes et génie génétique. (Ed) Herman des sciences et de arts. Paris, pp 57-58-59.
- [06] : Watson J D., Gilman M., Withowski J et Zolier M. (1994). ADN recombinant. 2^{ème} édition. (Ed) De Boeck-Wesmael. Bruxelles, pp 25-458.
- [07] : Etienne J. (1999). Biochimie génétique biologie moléculaire. 5^{ème} édition. (Ed) Masson. Paris, pp 112-44-426.
- [08] : Neila A C., Jame B R. (2004). Biologie. 2^{ème} édition. (Ed) De Boeck. Paris, pp 408-427.
- [09] : Nicolas C L. (2009). Encyclopaedia Universalis France S.A.
http://www.universalis.fr/corpus2.encyclopedie/117/0/Z020327/encyclopedie/ENZYMES_DE_RESTRICTION.htm
- [10] : Primose S., Twyman R et Old R. (2004). Principe de génie génétique. 1^{ère} édition. (Ed) De Boeck & Larcier. Paris, pp 29-294
- [11] : Nedjema A., Marc B et Jérôme L. (2005). Principe de biologie moléculaire en biologie clinique. (Ed) Elsevier SAS. Italie, pp 86-88.
- [12] : Anthony J F et Jeffrey H. (2000). An introduction to genetic analysis. 7^{ème} édition. W.H.Freeman.
- [13] : Alain B. (1999). Analyse des génomes. 2^{ème} édition. (Ed) De Nathan. Paris, pp17-21.
- [14] : William K., Michael C et Charlotte S. (2006). Génétique. 8^{ème} édition. (Ed) De Pearson Education. France, pp 471-475.
- [15] : Gérard J T., Berdelle R F et Christine L G. (2003). Introduction à la microbiologie. (Ed) Renouveau pédagogique. Canada, pp 5-551.
- [16] : Borel G., Marquart F et Bellon G. (1997). Biochimie dynamique. (Ed) De Boeck. France, pp 560
- [17] : René S. (1999). Biotechnologie. 5^{ème} édition. (Ed) De Tec et Doc (Londres). Paris, pp 795-805
- [18] : www.Urofrance.org/Base Urofrance. Association Française d'Urologie.
- [19] : Josué F., Marc F et Michel S. (1998). Principe de génétique humaine. (Ed) Herman des sciences et des arts. Paris, pp 421- 438.
- [20] : <http://www.afm.orgleuplood/pdf/therapiegenique.pdf>. Association Française contre les myopathies. Direction recherche thérapeutique.
- [21] : www.inapg.inra.fr. (2005-2006). Département génie biologique Université Nice Sophia Antipolis, pp.09
- [22] : Laurent S. (2007). La thérapie génique : Révolution médical entre rêve et réalité. (Ed) Ellipses Marketing. Paris, pp 71-28.

- [23] : Lodish H., Darnell J et Baltimore D. (1997). Biologie moléculaire de la cellule. (Ed) De Boeck. Paris, pp 222.
- [24] : Jerone J P., James T S et Stephen L. (2004). Microbiologie (cours et question de révision). (Ed) Du Nod. Paris, pp347.
- [25] : Kamorm P et Lavoine A. (2003). Biochimie et biologie moléculaire. (Ed) Médecine Sciences Flammarion. Paris, pp126-128.
- [26] : Peter A., Daryl k et Robert k. (2003). Harper Biochimie. 24^{ème} édition. (Ed) De Boeck .Paris, pp 466.
- [27] : Tuner T C., Lennau M C et Bates A D. (2002). L'essentiel de la biologie moléculaire. (Ed) Port Royal tiverds. Paris, pp147
- [28] : Compus virtuel. (2001). université Paris Sud, Faculté des sciences d'Orsay. http://formation.etud.u-psud.fr/biologie/genetique/FAQ/clone_clonage.htm
- [29] : Lansing M P., Jolim P H et Donald A K. (2003). Microbiologie. 2^{ème} édition. (Ed) De Boeck et Larcier. France, pp 320-908.
- [30] : Benot T. (2005). Master1 Biologie-UEO 01.p3,4-14. http://www.univ_lemans.fr/sciences/lbge/enseignement/M1/Biotech_2.pdf
- [31] : Daniel L H et Elisabeth N J. (2003). Les grands principes génétiques. 3^{ème} édition. (Ed) Dunod. Paris, pp 420
- [32] : Proust J. (1981). Maladie infectieuses parasitologie. (Ed) Nathan, Paris, pp31
- [33] : Khiati M. (2004). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. (Ed) Office des publications universitaires. Alger, pp 5-45
- [34] : Eberlin T. (1997). Les infections microbiennes (tome2). (Ed) Nathan. Paris, pp12-13
- [35] : Molinier A. (1977). Pathologie médicale a l'usage des infirmiers. 9^{ème} édition. (Ed) Doin, Paris, pp75
- [36] : Bousseboua H. (2002). Eléments de microbiologie générale. (Ed) De l'Université Mentouri. Alger, pp 168 -231
- [37] : <http://www.pasteur.fr/actu/presse/com/dossiers./malinfectieuse/integral.htm>
- [38] : Moutschen. (2002). Immunité anti-infectieuse vaccins. www.ulg.ac.be/medint/accueil.html
- [39]: Kicklim J., Graeme C k et Paget T. (2000). Essentiel en microbiologie. (Ed) Berti livres port royal. Paris, pp191
- [40] : Thierry B. (1996). Les virus (diversité organisation du monde virale interaction avec le vivant). (Ed) Nathan Paris, pp09
- [41] : William CO et Andrew CS. (2007). Physiologie humaine.4eéd.Pearson éducation. Paris, pp744
- [42] : Bême D.(2001). la thérapie génique prend le relais des multi thérapies. http://www.doctissimo.fr/html/sante/mag_2001/mag0105/sa_3339_sida_genique.htm Sida.
- [43] : Morin Y. (2001). Petit Larousse de la médecine. (Ed) Larousse. Paris, pp271-894
- [44] : Institut Pasteur.(2005). http://www.pasteur.fr/ip/easysite/go/03b00000j0h8/presse/ficle_sur_les_maladies_infectieuses/hépatite_b.eb_c.
- [45] : Boiron P. (1996). Organisation et biologie des champignons. (Ed) Nathan. Paris, pp 115
- [46] : Pierre Y et François V. (2006). Larousse médical. (Ed) Larousse, Italie, pp572-1033.
- [47] : Micheal M et Johm M. (2007). Brok biologie des microorganismes. 11eédition. (Ed) Pearson éducation. France, pp 706-997.

- [48] : Cristian C. (2008). Microbiologie hygiène (bases microbiologique de la diététique). (Ed) Tac et Doc Lavoisier. Paris, pp 257.
- [49] : Jean P. (2007). La microbiologie des maladies émergentes. (Ed) Dunod. Paris, pp 92-211.
- [50] : Cussac M., Brion JD et Loisean P. (1999). Principaux antifongiques et antiparasitaires. Vol 5. (Ed) Tac et Doc. Paris, pp 23
- [51] : Mark F., Luc H et Jean-Marie M. (2005). Des médicaments au service de l'humanité. (Ed) EFPIA Fédération Européenne d'Associations et d'Industries pharmaceutiques. Bruxelles, pp2
http://www.medicinesformankind.eu/upload/pdf/Vaccin_F.pdf.
- [52] : Domart A et Bourneuf J. (1986). Larousse médical. (Ed) Lrousse. Paris, pp 848.
- [53] : http://www.Biofondation.gc.ca/français/vie_wasp?x=764. La thérapie génique. AFM Association Française contre la myopathie. Pp 04.
- [54] : Bard C., Bonet C et Laudy V. (2005/2006) La therapie génique. vielllle technologie et mini- projet, Universite de Nice.; 24-61.
- [55] : Hardman J G., Limbird L E., Molinoff P B., Jean-Paul T., Alfred Goodman G et Raymond W R. (1998). Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. , 9^{ème} édition. (Éd) McGraw-Hill. Englande, pp 100.
- [56] : Ammar A. (2005). Virus et SIDA (Expliqués à tous). (Ed) office des publications universitaires. Alger, pp 75-74.
- [57] : Steffy K., Wong-Staal F. (1991). Genetic regulation of HIV. Microbial Rev; 55: 1193-205.
- [58] : Tania S., Philippe L., Valérie C et Pierre L. (1996) Thérapie génique de maladies infectieuses le modèle du SIDA. médecine/sciences ; 12 : 13-24
- [59] : Lane HC., Davey V et Kovacs JA. (1990). Interferon-alpha in patients with asymptomatic human immunodeficiency virus infection: a randomized, placebo-controlled trial. Ann Intern Med; 112 : 805-11.
- [60] : Mitsuyaru RT. (1991). Use of recombinant interferons and hematopoietic growth factors in patients infected with HIV-1. Rev Infect Dis; 13: 979-84.
- [61] : Sangro B., Herraiz M and Prieto J. (2003). Genr therapy of neoplastic liver diseases, 35 (2): 135-148.
- [62] : Capobianchi MR., Mercuri F et Ankel H. (1992). acid libility is not a intrinsic property of interferon – atpha induced by HIV- infected cells. Interferon Res; 12:431-8
- [63] : Dariosecq J M et Girard P M. (1998). Infection VIH, memento thérapeutique .Doin éditeurs.
- [64] : Steffy K., Wong-Staal F. (1991). Genetic regulation of HIV. Microbial Rev; 55: 1193-205.
- [65] : Tania S., Philippe L., Pierre L ., Kamel S et Majid M.(1996). Thérapie génique de maladies infectieuses : le modele du SIDA.Médecin/sciences. France ; 12 : 13-24.
- [66] : Tania S., Philippe L., Valérie C et Pierre L. (1996). Thérapie génique de maladies infectieuses le modèle du SIDA. médecine/sciences ; 12 : 13-24
- [67] : Dropulic B., Murtin MA et Jeang KT. (1992). Functionl characterization of a U5 ribozyme: intracellular suppression of humain immunodeficiency virus type 1 expression. J . viral;66: 1432-1441.
- [68] : Yu M., Hairpin A. (1993). Ribozyme inhibits expression of diverse straims of humain immunodeficiency virus type 1. Proc Natl Acad Sci USA.6340-6344.
- [69] : Chen SY., Khouri Y., Bagley Jet Marasco WA. (1994). Combined intra- and extracellular immunization in cynomologust monkeys. Nature; 352: 436-438.

- [70] : Kenneth B. Chiacchia "Lookin to the Future"
www.hepnet.com/charge/chap12.html
- [71] : Cech TH., Zang A. and Garbowski PJ. (1981). Invitro splicing of the ribosomal ARNprecursor of tetrathymena : Involvement of a gouanosine nucleotide in the exersion of the the intervenim sequence. Cell, 27.
- [72] : Kashan I, Sabe T, (2002). ribozyme therapeutics jinverting dermatol symp proc;7, 76-78.
- [73] : Mac Gregor R. (1998). First human trial of a DNA-based vaccine for treatment of human immunodeficiency virus type à infection: safety and host response. J Infect Dis 178: 92-100.
- [74] : Boyer JD. Vaccination of seronegative volunteers with a human immunodeficiency virus type 1. env/rev DNA vaccine induces antigen-specific proliferation and lymphocyte production of beta-chemokines. Infect Dis 181 : 476-84.
- [75] : Weiner D.B.(1998). An HIV-1 env/rev DNA vaccine tested in seronegative humans (abstract 33216). XII Intern Conf AIDS, Geneva.
- [76] : Goepfert P. (1998). AVEG 031: phase I evaluation of a gag-pol facilitated DNA vaccine for HIV-1 prevention (abstract 33216). XII Intern Conf AIDS, Geneva.
- [77] : Tascon RE., Colston MJ et Ragno S. Vaccination against tuberculosis by DNA injection. Nat Med 1996, 2: 888-892
- [78] : Martin-Ancel A., Casas ML et Bonet B. (2003). « Impliation of postvaccination hepatits B surface.
- [79] : Etienne J., Clauser E et Housset C. (2006). Biochimie génétique biologie moléculaire. 9^{ème} édition, (ed) Elsevier Masson. Paris, PP 233
- [80] : <http://www.destinationsante.com/Un-nouveau-candidat-vaccin-contre-le-paludisme.html>. 26 mars 1999.
- [81] : Bucella D.(2007). Vaccination thérapeutique anti-HPV (Réalités en Gynécologie-Obstétrique). Service de Gynécologie, Hôpital Erasme. Bruxelles

Réalisée par : BENFRIAH Dalila
BOUTINE Soumia
DJEHA Abdelhak

Date de soutenance : 15/06/2009 8h

Thème : Application de la technologie de l'ADN recombinant dans la lutte contre les maladies infectieuses.

Résumé

Le traitement classique des maladies infectieuses qui consiste à l'utilisation des différents types d'antibiotique et de vaccin n'est pas utile pour toutes les maladies infectieuses. Ce qui pousse à la recherche d'autres types thérapeutiques plus efficaces. La découverte de la biotechnologie d'ADN recombinant est considéré comme une méthode moderne pour traiter ces maladies, cette biotechnologie est basée sur l'introduction d'un vecteur contenant le gène thérapeutique dans les cellules infectées. Soit de façon directe ou indirecte par l'expression du gène in vitro et le produit recombinant, sera utilisé comme traitement. Malgré le progrès et les succès réalisés par cette technique mais elle comprend les buts désirés, à cause des complications sanitaire. Alors, on peut dire que jusqu'à aujourd'hui l'application de cette biotechnologie reste dans une phase des essais et les recherches successifs. Mais elle constitue un espoir dans un avenir proche.

Mots clés : biotechnologie, ADN recombinant, vecteur, maladies infectieuses, vaccin, gène.

Abstract

The traditional treatment of the infectious diseases which consists with the use of the various types of antibiotic and of vaccine is not useful for all the infectious diseases. What pushes in the search of other therapeutic types more effective. The discovery of the biotechnology of recombining DNA is considered like a modern method to treat these diseases, this biotechnology is based on the infected introduction of a vector containing gene therapeutic into the cells. May be in way direct or indirect by the form of in vitro gene and the recombining product, will be used as treatment in spite of progress and the successes carried out by this technique but it included/understood butts them desired, because of the complications medical. Then, can about it say that until today the application of this biotechnology remains in a slap of the tests and research successive. But it constitutes a hope in the near future.

Key words : biotechnology, recombining DNA, vector, infectious diseases, vaccine, gene

ملخص

العلاج الكلاسيكي للأمراض المعدية الذي يتمثل في المضادات الحيوية و اللقاحات غير مجدي من أجل كل الأمراض المعدية مما دفع إلى البحث عن أنواع أخرى للعلاج. يعتبر اكتشاف تقنية العلاج الجيني كطريقة حديثة لعلاج هذه الأمراض. و هي تعتمد على إدخال الجين المعالج بواسطة حامل في الخلايا المصابة بطريقة مباشرة أو غير مباشرة. رغم التطور الذي بلغته هذه التقنية، إلا أنها لم تحقق لنا الأهداف المرجوة، و منه يجب القول أنه حتى يومنا هذا لازالت تقنية العلاج الجيني للأمراض المعدية قيد البحث غير أنها تقنية واعدة.

كلمات المفتاح: تقنية العلاج الجيني، حامل، الأمراض المعدية، اللقاح، المورثة.