

COURS

INTRODUCTION AUX BIOTECHNOLOGIES

A l'usage des étudiants de L2

Biotechnologie

Elaboré par :

Dr. BOUSMID Ahlem

Chapitre V : Biotechnologies microbiennes et infectiologie

Introduction

L'ensemble des méthodes axées sur l'utilisation des micro-organismes, des cellules animales et végétales, ainsi que de leurs composants, constitue le domaine de la biotechnologie. Les racines de cette discipline remontent aux débuts de l'humanité et trouvent leurs premières applications dans le secteur de la santé, notamment grâce aux travaux de Louis Pasteur à la fin du siècle dernier.

Parallèlement aux avancées en microbiologie et en immunologie, la première moitié du siècle a vu le développement de divers vaccins contre les maladies virales et bactériennes. Ces vaccins étaient élaborés à partir de micro-organismes ou de leurs toxines inactivés, formulés en présence de substances renforçant l'immunité, ou à partir de micro-organismes de pouvoir pathogène atténué. Ce progrès dans le domaine des vaccins a été rendu possible grâce au développement simultané des techniques de culture des tissus ou des cellules d'origine animale.

Cependant, ce n'est que récemment que plusieurs découvertes, résultant principalement des avancées en biochimie, biologie moléculaire et immunologie, ont joué un rôle crucial dans le diagnostic, la prévention et la lutte contre les principales maladies infectieuses ou parasitaires. Parmi ces découvertes, on peut citer la structure de l'acide désoxyribonucléique (ADN), qui porte l'hérédité, la structure et la synthèse des protéines, la recombinaison génétique de l'ADN et la fusion cellulaire à l'origine de la production d'anticorps monoclonaux.

V.1. Diagnostics

De manière globale, le diagnostic des maladies infectieuses, qu'elles soient d'origine virale, bactérienne ou parasitaire, s'appuie soit sur la détection directe de l'agent pathogène ou de certains de ses composants (diagnostic direct), soit sur la mise en évidence des éléments de la réponse immunitaire déclenchée par les antigènes présents sur cet agent (diagnostic indirect).

V.1.1. Diagnostic direct

Dans le domaine du diagnostic direct, les techniques traditionnellement employées, telles que la détection macroscopique ou microscopique directe de l'agent pathogène (éventuellement après coloration, y compris l'utilisation de marqueurs fluorescents), la culture, l'isolement, la caractérisation, etc., cèdent progressivement la place à des méthodes plus spécifiques et sensibles. Parmi celles-ci, les techniques immuno-enzymatiques se distinguent en mettant en lumière les déterminants antigéniques portés par l'agent recherché au moyen d'anticorps spécifiques marqués par des enzymes.

Ces enzymes révèlent la formation des complexes antigènes-anticorps, dont l'activité enzymatique produit un produit coloré aisément visible après action sur un substrat approprié. L'utilisation d'anticorps monoclonaux, obtenus par fusion d'une cellule productrice d'un anticorps monospécifique (plasmocyte B) avec une cellule apportant l'immortalisation et la sécrétion (myélome), permet d'accroître considérablement la spécificité et la sensibilité de ces techniques. De même, le recours à un marqueur chimiluminescent, en remplacement d'un marqueur enzymatique, peut augmenter la sensibilité de ces méthodes.

Plus récemment, les avancées dans la compréhension des acides nucléiques ont ouvert la voie au développement de techniques de diagnostic direct fondées non plus sur la recherche des constituants antigéniques de l'agent

infectieux ou parasitaire, mais sur la détection du matériel génétique, à savoir l'ADN ou l'acide ribonucléique (ARN) porté par ces agents.

V.1.2. Diagnostic indirect

Dans le cadre du diagnostic indirect, les techniques traditionnelles utilisées pour détecter les anticorps, telles que l'agglutination rapide, l'agglutination lente, la fixation du complément, l'inhibition de l'hémagglutination, la neutralisation, etc., bien qu'encore largement employées, notamment comme techniques de référence, laissent progressivement place aux techniques immunoenzymatiques, souvent plus spécifiques et particulièrement sensibles. Ces méthodes reposent, tout comme les techniques de diagnostic direct, sur la mise en évidence de complexes antigènes-anticorps.

Dans le cas du diagnostic indirect, ces complexes se forment entre un ou plusieurs antigènes de spécificité connue, introduits dans la réaction (virus, bactéries, parasites, extraits de ceux-ci, etc.), et les anticorps éventuellement présents dans l'échantillon soumis à l'analyse. Ces complexes antigènes-anticorps peuvent être révélés par diverses techniques, toutes impliquant l'utilisation de marqueurs enzymatiques qui, secondairement, déclenchent des réactions enzymes-substrats conduisant à l'apparition de produits colorés.

Il est important de souligner l'apport de la biotechnologie au diagnostic indirect, qui repose sur la mise en évidence des composantes cellulaires de la réponse immunitaire. Ceci se manifeste notamment par l'utilisation de tests *in vivo* visant à détecter un état d'hypersensibilité retardée (comme les intradermoréactions) pour diagnostiquer de nombreuses infections virales, bactériennes et infestations parasitaires. En complément de ces tests, les tests *in vitro* sont maintenant inclus, s'adressant aux divers éléments cellulaires de la réponse immunitaire pour révéler leur niveau de sensibilisation à des antigènes spécifiques (par exemple, le test de cytotoxicité lymphocytaire).

V.2. Nouvelles voies thérapeutiques

En premier lieu, les biotechnologies ont rendu possible la production de médicaments qui n'étaient pas ou plus obtenus par les méthodes industrielles classiques, telles que l'extraction à partir d'organismes vivants (souvent des animaux), présentant des problèmes de purification et des risques de contamination, notamment virale. C'est le cas, par exemple, de l'hormone de croissance, des interférons, et des anticorps monoclonaux, dont la production est facilitée grâce au clonage par génie génétique et à la synthèse de protéines à usage thérapeutique. De plus, la disponibilité de protéines pures en grande quantité a ouvert la voie à de nouvelles approches thérapeutiques.

V.3. Lutte contre le dopage et l'utilisation de stupéfiants

V.3.1. Substances dopantes

Définies par le Comité International Olympique (CIO) dans le Journal Officiel du 17 juin 1998, le décret n° 98-464 établit cinq catégories de produits interdits. Cette liste, non exhaustive, présente des exemples des substances les plus connues.

- **Les stimulants**, qui réduisent la sensation de fatigue physique, comprennent des substances telles que les amphétamines, la cocaïne, la caféine, entre autres.
- **Les narcotiques**, d'origine naturelle ou synthétique, qui atténuent la sensation de douleur, incluent des composés tels que le dextromoramide, la diamorphine (héroïne), la méthadone, la morphine, la pentazocine, la péthidine et des substances similaires.
- **Les agents anabolisants**, responsables d'une augmentation de la force et de la puissance musculaire, sont divisés en deux classes :

- **Les stéroïdes anabolisants androgènes (SAA)** tels que la testostérone, la nandrolone, le stanozolol, etc.
- **Les bêta-2 agonistes.**
- **Les diurétiques**, utilisés pour perdre du poids et diluer les substances dopantes ingérées.
- **Les hormones peptidiques**, glycoprotéiniques et analogues, favorisant le développement de la masse musculaire, englobent des substances telles que la gonadotrophine chorionique (HCG), la gonadotrophine chorionique humaine, la corticotrophine (ACTH), l'hormone de croissance (hGH) et la somatotrophine.

V.3.2. La lutte contre le dopage

Pour contrer le dopage, il est essentiel de pouvoir repérer, dans le sang, d'éventuelles substances dopantes au milieu d'une multitude d'autres molécules présentes dans l'organisme des athlètes. Des techniques de plus en plus avancées ont été développées à cette fin. Cela représente un défi considérable, d'autant plus que ces substances peuvent se trouver en concentrations très faibles, parfois à peine un nano-gramme (ng = un milliardième de gramme) par millilitre – (ng/ml). Pour avoir une idée, cela équivaut à détecter un morceau de sucre dans une piscine olympique.

Pour les petites molécules, l'une des méthodes les plus couramment employées dans les laboratoires d'analyse est la chromatographie, qui est aujourd'hui très performante pour le traitement du sang ou des urines. La rapidité des analyses revêt également une grande importance, car des diagnostics en temps réel sont nécessaires pendant les compétitions sportives. Des techniques très performantes sont également disponibles pour détecter les grandes molécules dopantes telles que l'EPO ou l'hormone de croissance.

La chromatographie

Implique le tri des diverses espèces moléculaires d'un mélange. Toutes les molécules sont contraintes de suivre un parcours commun semé d'obstacles : certaines les franchiront aisément, tandis que d'autres rencontreront plus de difficultés. À la fin, il y aura un échelonnement. Pour déplacer les molécules, elles doivent être transportées par un fluide, appelé phase mobile, qui peut être soit un liquide, soit un gaz. L'obstacle à surmonter, qui ne doit pas être emporté par la phase mobile, doit être fixe et produire des effets reproductibles : il constitue la phase stationnaire. Cette phase stationnaire, le plus souvent enfermée dans une colonne, peut être soit un solide, soit un liquide immobilisé sur un solide.