

UTILISATION DES MICROORGANISMES EN BIOTECHNOLOGIE MÉDICALE

INTRODUCTION

La plupart des scientifiques qui travaillent dans le secteur médical ont tendance à envisager les progrès de la biotechnologie sur un continuum, qui est représenté par le processus ininterrompu de perfectionnement et de mise au point des pratiques médicales. La technologie a joué un rôle actif dans l'éradication et la prévention des maladies et du contrôle phytosanitaire. Parmi les techniques médicales, nous avons la vaccination, les diagnostics et traitements vétérinaires, l'insémination artificielle et les croisements génétiques. Notre exposé fera part de l'utilisation des microorganismes en biotechnologie médicale.

I. LA BIOTECHNOLOGIE

Au sens large du terme, on entend par biotechnologie l'utilisation de microorganismes ainsi que de cellules végétales, animales ou humaines, pour la production de certaines substances à l'échelle industrielle.

La découverte et la mise à profit des microorganismes en médecine a conduit à des réussites révolutionnaires dans le domaine du traitement médicamenteux. Les premiers signes de cette évolution ont été la découverte de la pénicilline, produit d'une moisissure ayant des propriétés antimicrobiennes, par Alexandre Fleming en 1928/1929. Aujourd'hui, les antibiotiques constituent environ la moitié de tous les médicaments issus de la biotechnologie. Outre la production alimentaire et la médecine, les connaissances en biotechnologie ont également profité à l'agriculture (production de biogaz, par exemple) ainsi qu'aux techniques de protection de l'environnement (épuration des eaux, transformation de déchets et substances nocives en produits inoffensifs).

1. A. LES MICROORGANISMES

a) Définition

Les microorganismes sont étymologiquement des « petits organismes », donc des êtres vivants si petits qu'ils ne sont observables qu'au microscope. Ce terme englobe une variété d'espèces très différentes, qu'elles soient procaryotes (bactéries) ou eucaryotes (levures, algues). Certains incluent aussi les virus, bien qu'ils soient à la limite du vivant. Bref, ces microorganismes se présentent sous plusieurs formes.

b) Les différentes formes des microorganismes

Les micro-organismes ont été les premières formes de vie à se développer sur Terre, il y a environ 3,4 à 3,7 milliards d'années. Le transfert horizontal de gènes, de pair avec un haut taux de mutation et de nombreux autres moyens de la variation génétique, permet aux microorganismes d'évoluer rapidement (par sélection naturelle), de survivre dans des environnements nouveaux et répondre à des stress environnementaux. Cette évolution rapide est importante dans la médecine, car elle l'a conduit à l'évolution récente de « *super-microbes* » – des bactéries (notamment pathogènes) rapidement devenues résistantes aux antibiotiques modernes. Certains microbes dont ceux dits extrêmophiles ont acquis au cours de l'évolution des moyens de résistance face au système immunitaire de leur hôte ou face au stress environnemental (acides, pression, température, froid, oxydants, métaux lourds, radioactivité, etc.), soit en s'adaptant à l'un ou l'autre de ces « facteurs de stress », soit en entrant en sommeil ou en se protégeant par « *enkystement* ».

Un même microbe peut ainsi se présenter sous plusieurs formes, *Toxoplasma gondii* offre par exemple – selon le contexte – 3 formes :

- **tachyzoïte** ; forme active à haut taux de reproduction ;
- **mérozoïte** ; se reproduisant moins vite, mais protégé dans des kystes cellulaires ;
- **sporozoïte** ; forme très protégée logée dans des **oocystes**.

Les micro-organismes sont présents dans toute la structure de la **taxonomique**. Il est possible de distinguer d'une part les micro-organismes **procaryotes** qui ne possèdent pas de noyau comme les **bactéries** et les **Archaea**, et d'autre part les micro-organismes **eucaryotes** possédant un noyau. Les eucaryotes microscopiques comprennent les **champignons** comme les **levures** et les deux types de **protistes**, **algues** et **protozoaires**.

c) La taille des microorganismes

Les micro-organismes sont souvent décrits comme unicellulaires, quelques protistes unicellulaires sont visibles à l'œil nu et quelques espèces multicellulaires sont microscopiques. La taille moyenne des cellules bactériennes est de 0,5 à 1 µm, mais il existe certaines bactéries ayant une taille de plus de 50 µm. Les cellules eucaryotes ont un diamètre allant de 5 à 20 µm. Les micro-organismes unicellulaires étaient les **premières formes de vie** à se développer sur Terre, il y a approximativement quatre milliards d'années. On trouve les micro-organismes dans tous les types d'environnement présents dans la nature : ils colonisent tous les **écosystèmes**, comme les sols, les eaux douces et les eaux marines, l'air, mais aussi des environnements plus hostiles tels que les **pôles**, les **déserts**, les **geysers**, le fond des **océans**, etc. Les micro-organismes rencontrés dans des environnements extrêmes sont qualifiés d'extrémophiles. De nombreux micro-organismes sont associés aux **plantes** ou aux **animaux** avec lesquels ils peuvent entretenir des relations de **symbiose**, de **commensalisme** ou de **parasitisme**. Certains micro-organismes peuvent être pathogènes, c'est-à-dire entraîner une maladie chez les plantes ou les animaux.

I. Besoins des micro-organismes

Pour se nourrir, les micro-organismes ont besoin de :

- substances organiques :
 - glucides (sucres) : **glucose**, **lactose**... apport de carbone et d'énergie.

Utilisation soit par respiration (dégradation totale : gaz), soit par fermentation (composés divers issus du « découpage » plus ou moins important des sucres).

Les produits de ces fermentations sont des déchets et sont donc rejetés dans le milieu naturel.

- Protides (**Protéines**) : apport de substances azotées.
 - Dégradation plus ou moins importante des protéines avec libération d'acides aminés, peptides, voire ammoniac : c'est la protéolyse.
- **Lipides** : éventuellement – apport de carbone et d'énergie.
 - Libération d'acides gras : appelée la lipolyse.
 - La quantité de lipides a un effet protecteur sur la destruction des bactéries par de hautes températures.
- Substances minérales : sels.
- Facteurs de croissance : vitamines.
- Eau.

Par le froid, on stoppe la croissance de la majorité des micro-organismes qui vont se maintenir en état de dormance, sans multiplication.

L'importance du temps de chauffe permet, pour une température donnée, de parvenir à une destruction plus ou moins complète ; une augmentation de température impliquant une diminution du temps de chauffe. Les principaux traitements thermiques sont la **pasteurisation** et la **stérilisation**.

À une température favorable adaptée et optimale, on permettra le développement de certaines espèces :

- **psychrophiles** : température optimale de 12 à 15 °C
- **psychrotrophes** : température optimale de 25 à 30 °C
- **mésophiles** : température optimale de 30 à 45 °C

- **thermophiles** : température optimale de 55 à 75 °C

L'interaction de micro-organismes différents peut varier :

- la **métabiose** : succession sur un même milieu de micro-organismes ; les premiers préparent le « terrain » pour les suivants, puis stoppent leur multiplication et enfin disparaissent.
- la **symbiose** : développement sur un même milieu et en même temps de plusieurs espèces microbiennes, ces espèces se favorisant mutuellement.
- l'antibiose : il en existe plusieurs formes
 - par compétition, lié au nombre et à la virulence d'une espèce ; la plus combattive occupant le milieu, celui-ci devient impropre au développement de l'espèce la plus faible.
 - par inhibition : les **antibiotiques**.
 - par parasitisme : les **bactériophages** ou virus dont la multiplication est 25 à 100 fois plus rapide que celle des bactéries.

L'activité des micro-organismes dans la biosphère et leur rôle dans les **cycles biogéochimiques** sont essentiels pour toutes les formes de vie sur Terre.

La **microbiologie** est la science qui étudie les micro-organismes.

II. UTILISATION DES BIOTECHNOLOGIES DANS LE DOMAINE DE LA SANTE

Le secteur de la **santé** (humaine et vétérinaire) fait un appel croissant aux biotechnologies, pour découvrir, tester et produire de nouveaux traitements (ex : **vaccins**, **protéines recombinantes**, **anticorps monoclonaux**, **thérapie cellulaire** et **génique** (non-virale)), mais aussi pour **diagnostiquer** et comprendre les causes des **maladies**. Ceci suppose un effort de **recherche** très important pour comprendre le fonctionnement des organismes, et concevoir des **médicaments** capables d'agir sur d'éventuelles perturbations, et pour mieux différencier la part du génétique et de l'environnemental dans l'**étiologie** et l'**épidémiologie** des maladies. Ces biotechnologies sont encore désignés sous le terme "biotechnologies rouges".

1. A. LES BIOTECHNOLOGIES ROUGES

Les biotechnologies rouges concernent les domaines de la santé, du médicament, du diagnostic, de l'ingénierie tissulaire ainsi que le développement de procédés génétiques ou moléculaires ayant une finalité thérapeutique. C'est dans cette catégorie que les efforts les plus importants ont été entrepris. Des nouveaux médicaments seront issus, directement ou indirectement, des biotechnologies modernes, ce qui explique l'engouement des industriels et des financiers. C'est aussi dans cette catégorie que les biotechnologies utilisant les cellules souches embryonnaires, les techniques du clonage et les outils de diagnostic génétique posent de redoutables questions d'éthique et imposent des limites d'emploi. Grâce aux outils du génie génétique et à la connaissance du génome humain, on obtient de nombreuses informations permettant d'identifier des cibles moléculaires nouvelles qui sont d'une grande importance dans l'approche thérapeutique des pathologies humaines ou animales. On peut estimer entre 5000 et 10000 le nombre de ces cibles potentielles, alors que, aujourd'hui, seules moins de 500 d'entre elles sont exploitées. Repérer dans cette abondance les plus pertinentes représente un véritable défi. C'est avec la production de molécules complexes, issues du vivant (hormones, etc.), que les biotechnologies ont acquis leurs lettres de noblesse. L'usine cellulaire, qu'elle soit bactérienne ou eucaryote, se révèle d'une remarquable efficacité, capable de fabriquer, de manière plus ou moins fidèle, des molécules ou des substances qu'aucun chimiste ne pourrait synthétiser. De plus, les produits biotechnologiques sont, généralement, beaucoup plus sûrs que les extraits d'organes humains ou animaux qui peuvent être contaminés par des virus ou d'autres éléments. L'histoire tristement célèbre de l'hormone de croissance nous le rappelle dramatiquement. Ces biomédicaments représentent, d'ailleurs, une suite logique des recherches visant à extraire du monde animal, végétal ou microbien des principes actifs connus en médecine traditionnelle. Les biomédicaments anciens étaient des molécules chimiques plus ou moins simples (aspirine provenant du saule, colchicine du colchique, taxol de l'if, pénicilline de moisissure). Aujourd'hui, le regard nouveau porté sur les médecines traditionnelles chinoises, indiennes, africaines ou autres, allié aux outils du génie génétique, mobilise de nombreux laboratoires publics ou privés dans la recherche de nouvelles substances d'intérêt thérapeutique. En plus d'être un réservoir

naturel de molécules médicaments, les plantes peuvent être utilisées comme des usines de production de médicaments biotechnologiques. Pour cela, on insère dans leur génome le gène «d'intérêt» qui leur permet de produire la protéine souhaitée. Ainsi, par exemple, la lipase, intervenant dans le traitement de la mucoviscidose, est produite dans du maïs transgénique. De même, le tabac peut produire, en 48-72 heures, assez de protéines de bonne qualité pour rivaliser avec les micro-organismes usine. À côté de ces innombrables développements que l'on regroupe sous l'appellation «biotechnologies rouges moléculaires», des progrès notables sont accomplis dans les «biotechnologies rouges cellulaires» dus à une meilleure connaissance de la physiologie cellulaire. Ainsi, on peut en quelques semaines reproduire in vitro, à partir de quelques cellules souches de l'épiderme, une peau complète pour traiter un grand brûlé. Cet exemple illustre une nouvelle dimension de la médecine régénérative ou de reconstruction dans laquelle les cellules souches, qu'elles soient embryonnaires ou somatiques, sont appelées à jouer un rôle primordial, notamment dans les maladies neurodégénératives.

a- Méthodes, domaines et principes des biotechnologies

METHODES	DOMAINES D'APPLICATION	PRINCIPAUX RESULTATS OU PRODUITS
identification de nouvelles cibles moléculaires pertinentes pour le traitement des pathologies humaines et la découverte de nouveaux médicaments	maladies génétiques : - maladies neuromusculaires, drépanocytose, progéria, déficits immunitaires, maladie de Huntington, mucoviscidose, etc. maladies fréquentes : - cancer - neuropathologies (Parkinson, Alzheimer, sclérose en plaque, migraine, schizophrénie, anxiété, pharmacodépendance, etc.) - maladies cardio-vasculaires (trouble du rythme cardiaque, athérosclérose, mort subite du nourrisson) - maladies de système : diabète, obésité, etc. microbiologie	gènes de prédisposition impliqués dans ces pathologies oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs, etc. gènes de résistance et nouveaux antibiotiques
identification de cibles moléculaires pour des agents ou des médicaments connus	cyclo-oxygénases cibles moléculaires cellulaires	aspirine actinides
identification de nouveaux médicaments à partir de plantes,		antibiotiques, antifongiques

micro-organismes, champignons, etc.		anticancéreux, médicaments cardio-vasculaires, anti- inflammatoires , etc.
production de nouveaux vaccins	1re génération 2e génération 3e génération	virus, bactéries atténuées ou tuées, vaccins multi-antigéniques protéines antigéniques purifiées : hépatite B, herpès utilisation de l'ADN codant l'antigène comme support vaccinal ou utilisation de cellules dendritiques, adjuvants vaccinaux.
production de protéines thérapeutiques	diabète retard de croissance reproduction hépatite B et C, maladies virales, cancer sclérose en plaque granulomatose septique cancer, leucémies, anémies, neutropénie, aplasie cancer, rhumatisme articulaire, sclérose en plaque, maladie de Crohn, rejet de greffe pathologies de la coagulation, arthrose gériatrie, insuffisance rénale maladies génétiques	insuline hormone de croissance hormones : LH, FSH interférons alpha interférons bêta interférons gamma facteurs de croissance - hématopoïétique : Interleukines, GM-CSF, érythropoïétine - vasculaire : VEGF, FGF, etc. plus de 500 anticorps monoclonaux facteur VIIA, VIII, facteurs IX, activateurs du plasminogène protéines nutritionnelles enzyme
thérapie génique (ADN-médicament)	maladies génétiques rares cancer neuropathologies	morpholinos
thérapie cellulaire	thérapie cellulaire thérapie cellulaire modifiée : - organes bio-artificiels - organes artificiels	épiderme, cellule nerveuse embryonnaire, cellules souches hématopoïétiques, etc. thérapie génique cellulaire dans les maladies génétiques rares

		telles que l'immunodéficience de l'enfant foie, pancréas, vessie, rein oreilles artificielles ou implants cochléaires, rétines artificielles.
diagnostic, nouveaux outils, nouvelles approches	biopuces, laboratoires sur puce (lab-on-chips) et nanobiotechnologies pharmacogénétique médecine légale génétique des populations	

III. BIOTECHNOLOGIE ET GENIE GENETIQUE

1- Qu'est-ce que le génie génétique ?

Depuis des temps immémoriaux, l'être humain s'est efforcé d'utiliser les végétaux et les animaux et de les façonner selon sa volonté pour assurer son bien-être. C'est ainsi qu'il a croisé les plantes de la nature et domestiqué les animaux sauvages. Des douzaines de races de chiens sont dérivées de leur ancêtre, le loup ; les graminées de la nature sont devenues des céréales productives et résistantes. Tout cela au gré de croisements et d'améliorations portant sur des siècles de sélection. Le génie génétique tend à accélérer ce développement en s'appliquant à modifier l'information génétique qui commande ces processus naturels.

On est parvenu aujourd'hui à modifier certaines parties du patrimoine génétique d'un organisme, spécifiquement et au-delà des limites d'une espèce déterminée, en transférant des gènes isolés ou en créant des séquences artificielles de l'information génétique. Ces progrès ont été possibles parce que les mécanismes moléculaires de l'hérédité et le rôle des gènes ont été élucidés dans une large mesure ces dernières décennies.

Le porteur de l'information génétique au sein d'une cellule d'un organisme est l'acide désoxyribonucléique (ADN) ; un gène est un élément d'information de l'ADN. Aujourd'hui, on peut modifier le patrimoine génétique de façon ciblée en faisant appel aux enzymes de restriction. Ce sont des enzymes qui reconnaissent des séquences ciblées de l'ADN et peuvent les sectionner. C'est pour cette raison aussi que ces enzymes ont été baptisés « ciseaux de l'ADN ». D'autres enzymes, les ligases, permettent de ressouder les séquences.

Dans la biotechnologie moderne, ces connaissances ont permis de réarranger les informations du code génétique d'une cellule au moyen de la « méthode de recombinaison de l'ADN » ou « recombinaison génétique » et de reprogrammer la synthèse de leurs protéines afin d'en faire une application industrielle. Cela vaut, par exemple, pour la production d'insuline utilisée par les diabétiques, ou d'interféron utile pour le traitement de certaines affections virales, de certains types de cancer, ou encore de la sclérose en plaques.

2- Qu'est-ce que la thérapie génétique?

Il s'agit d'une intervention dans le génome d'une cellule différenciée adulte. Certaines cellules seront prélevées dans l'organe malade ou défectueux. Ensuite le gène défectueux sera « réparé » en utilisant des techniques du génie génétique, et ces cellules génétiquement saines seront

multipliées en dehors de l'organisme puis réimplantées, si possible directement dans le tissu défectueux. Ethiquement, cette approche ressemble à la transplantation d'organes. Elle n'entraîne pas une modification du patrimoine héréditaire, et par conséquent, ne touche pas à l'intégrité de la personnalité. La thérapie génétique a éveillé de grands espoirs pour corriger des maladies héréditaires. Le temps de cette euphorie a vite passé face aux résultats cliniques décevants. Par exemple, il n'y a toujours pas de possibilité de traiter par cette approche la maladie de la mucoviscidose dont le gène défectueux a été décrit en détail en 1989. C'est ce qui a déclenché l'intérêt actuel pour les cellules souches embryonnaires qui pourraient représenter une alternative à la thérapie génétique.

3- Défis éthiques

La fécondation in vitro oblige à définir quand la vie humaine commence. La transplantation d'organe force à définir quand la vie humaine se termine.

Un médicament, produit de la biotechnologie moderne, la cyclosporine, est à la base de tout le développement de la transplantation d'organes qui a amélioré la qualité de vie d'un grand nombre de patients. Pensons à l'insuffisance rénale qui nécessite des transfusions régulières et pénibles. Il a fallu définir le moment de la mort avant de pouvoir légalement prélever des organes, pour que ce prélèvement n'entraîne pas la mort d'un être humain. Finalement, c'est la mort cérébrale qui a été choisie comme repère respectant la dignité humaine et l'interdiction de l'homicide.

La fécondation extracorporelle, ou fécondation in vitro, est un processus qui permet de reproduire à l'extérieur du corps humain ce qui se produit naturellement au moment de la conception d'un enfant. En principe, au moins trois ovules sont prélevés chez la femme, puis sont fécondés in vitro, et incubés jusqu'à la formation d'un embryon de plusieurs cellules. Un seul embryon est réimplanté chez la femme. Que faire avec les embryons en surplus ? A-t-on le droit de les éliminer ? Souvent ils ne sont même pas répertoriés. C'est à partir de tels embryons que des lignées de souches embryonnaires humaines ont été établies (voir plus bas).

Le génie génétique rend possible l'analyse du patrimoine génétique des embryons bien avant la naissance de l'enfant. Cette analyse permet de diagnostiquer des maladies qui affecteront l'enfant au moment de la naissance, ou même bien plus tard, dans sa vie d'adulte. Quelle attitude faut-il avoir face à cette médecine prédictive ? Le diagnostic prénatal peut être fait en vue d'une intervention thérapeutique qui sauvera la vie de l'enfant ; c'est le cas idéal. A l'opposé, et malheureusement, le diagnostic prénatal peut être fait en prévision d'un avortement, ce qui est totalement à rejeter.

4- Vaccins

Pour le développement de vaccins également, le génie génétique est de plus en plus utilisé. Le premier vaccin produit par génie génétique a été autorisé en 1985. Il protège les personnes vaccinées de l'hépatite B, l'une des plus importantes maladies infectieuses du monde. On devrait bientôt disposer de vaccins par génie génétique contre l'arthrite et différentes tumeurs. Les scientifiques mènent également des recherches intensives sur des vaccins contre les parasites, par exemple contre l'agent de la malaria qui tue chaque année deux à trois millions de personnes en Afrique. Quelques vaccins sont tirés du sang humain. Ce faisant, il existe toujours un certain risque d'infection, ce risque ne pouvant jamais être totalement écarté. Dans ce cas, les vaccins produits par génie génétique offrent des avantages. En effet, lors d'une production par génie génétique, seule des parties bien précises de l'agent pathogène sont nécessaires, et non plus tout le virus. Ainsi, non seulement la production devient plus sûre, mais le risque d'une contamination des patients peut aussi encore être limité. Au total, plus d'une douzaine de vaccins produits par génie génétique ont été autorisés en Suisse et sont disponibles dans le commerce.