



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

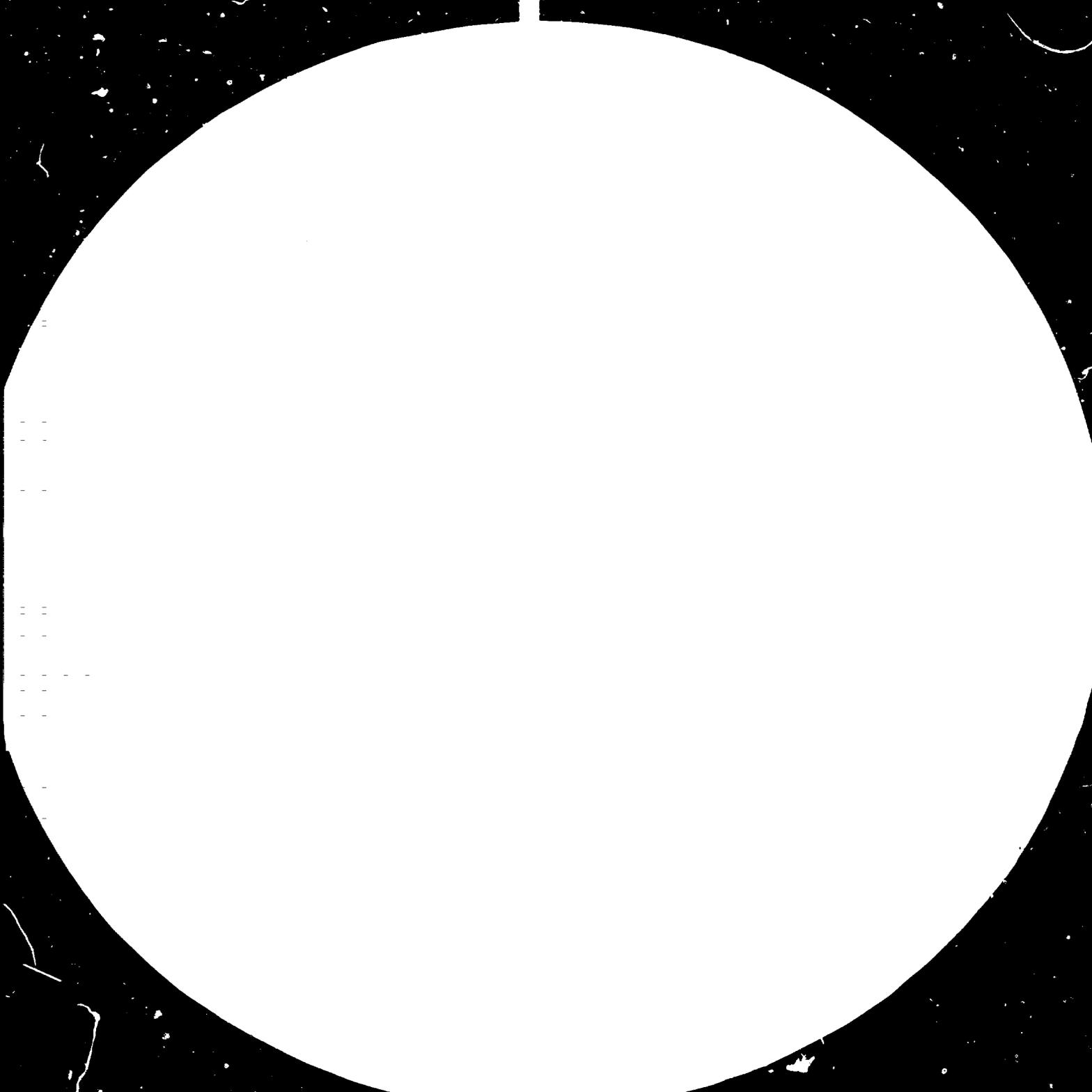
FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org





2.8

2.5

3.6

2.2



2.0

1.8

1.25

1.4

1.6

.....

.....



11732-F



Distr. LIMITEE

ID/WG.382/2/Add.4
20 septembre 1982

Organisation des Nations Unies pour le développement industriel

FRANCAIS
Original : ANGLAIS

Réunion de haut niveau sur l'établissement
d'un Centre international pour le génie
génétique et la biotechnologie

Belgrade (Yougoslavie), 13 - 17 décembre 1982

~~11732-F~~

APPLICATION DU GENIE GENETIQUE ET DE LA BIOTECHNOLOGIE
A LA PRODUCTION DE VACCINS AMELIORES POUR L'HOMME ET LES ANIMAUX,
NOTAMMENT EN CE QUI CONCERNE LES MALADIES TROPICALES *

Préparé par
Ahmad Bukhari**
et
Ulf Pettersson***

003089

* Les opinions exprimées dans le présent document sont celles des auteurs et ne reflètent pas nécessairement celles du Secrétariat de l'ONUDI. Traduction d'un document n'ayant pas fait l'objet d'une mise au point rédactionnelle.

** Scientifique confirmé, Laboratoire de Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor, New York 11724, Etats-Unis d'Amérique.

*** Professeur, Département de génétique médicale, Biomedical Center, Université d'Uppsala, Box 589, 751 23 Uppsala, Suède.

TABLE DES MATIERES

	Page
A. CONTEXTE ET JUSTIFICATION	1 - 3
Maladies infectieuses graves	3 - 4
Techniques impliquées dans la résolution des problèmes	4
Construction d'ADN recombinant	4 - 5
Technologie cellulaire	5 - 6
Utilisation potentielle de la technologie de l'ADN recombinant pour la production de vaccins humains et animaux	6 - 8
Recherche en cours	9 - 11
Préparation du plan de travail	11 - 13
 B. ACTIVITES	 13 - 22
Formation	22
 C. PLAN DE TRAVAIL	 23 - 25
 D. COLLABORATION AVEC D'AUTRES INSTITUTIONS ET INTERACTION AVEC DES LABORATOIRES DE RECHERCHE ET CLINIQUES	 26 - 27
 E. PREALABLES	 28
 F. BESOINS FINANCIERS	 29
Budget quinquennal	30
 ANNEXE I	
Tableau 1 - Principales maladies infectieuses de l'homme dans les pays en développement pour lesquelles des vaccins doivent être mis au point	31
Tableau 2 - Principales maladies animales dans les pays en développement. Evaluation du potentiel du génie génétique pour l'amélioration des vaccins	32
 ANNEXE II	
BESOINS D'EQUIPEMENT	33 - 34
Tableau 1 - Installations et équipement à partager avec d'autres groupes au CIGGB	35

A. CONTEXTE ET JUSTIFICATION

Le développement de nos connaissances en ce qui concerne le processus de la vie au niveau moléculaire nous a amenés au seuil d'une nouvelle technologie et d'une nouvelle industrie. De nombreux problèmes biologiques éminemment complexes qui semblaient hors de portée des scientifiques il y a quelques années encore peuvent aujourd'hui être étudiés et résolus grâce aux nouvelles techniques. Une grande partie des travaux effectués actuellement entraînera dans les années à venir des applications pratiques dont l'impact en termes humains et économiques sera extrêmement important. Une des premières applications des nouvelles technologies sera de résoudre les problèmes des maladies infectieuses toujours présentes dans le monde. Les maladies tropicales affectent des centaines de millions d'êtres humains. Comme les spécialistes de la biologie moléculaire sont à même d'aborder ces problèmes avec de bonnes chances de succès, il convient que nous nous attaquions à ceux-ci afin de soulager les maux de milliers d'êtres humains aussi rapidement que possible. Jusqu'à présent, tous les travaux faisant appel à la technologie moderne et portant sur la lutte contre les grandes maladies régnant dans les pays en développement ont été effectués en Occident. Ainsi, près d'un tiers de la population mondiale vit dans des zones où règne la malaria ; presque toutes ces zones se situent dans les pays en développement. Cependant, la recherche portant sur un vaccin anti-malaria faisant appel aux techniques de génie génétique a été effectuée aux Etats-Unis et en Europe. Une des raisons de cet état de faits est la situation médiocre de la recherche scientifique et technologique, particulièrement en ce qui concerne les nouvelles biotechnologies, dans les pays en développement. Une partie de la recherche effectuée dans les pays développés est liée à des intérêts commerciaux et l'on ne sait pas encore très bien comment les problèmes de production seront résolus.

Il est donc nécessaire qu'un programme sur les maladies tropicales soit lancé au Centre international pour le Génie génétique et la Biotechnologie (CIGGB). Comme tous les problèmes ne peuvent pas être résolus en même temps et qu'il existe certaines contraintes en ce qui concerne les ressources, nous devons nous demander :

- a) quels problèmes nous devrions résoudre en premier lieu ? et
- b) comment nous pourrions essayer de les résoudre ?

Ce programme de travail évoque certaines réponses de caractère général et propose certains projets spécifiques à appliquer et à lancer immédiatement.

Une étude des produits pharmaceutiques et des médicaments au cours des années à venir ne devrait pas être limitée aux maladies de l'être humain et devrait couvrir les maladies des animaux et peut-être même certaines maladies phytologiques ayant une importance économique. Cependant, une évocation de toutes ces maladies graves, même à titre d'information, n'est pas possible en raison du grand nombre de maladies qu'il faudrait couvrir. C'est pourquoi, nous insisterons principalement sur les maladies de l'homme ; dans certains cas, l'approche spécifique des problèmes des maladies animales serait la même que celle utilisée pour certaines maladies humaines.

Les maladies de l'homme peuvent être classées en trois catégories principales :

- a) maladies infectieuses ;
- b) troubles génétiques ;
- c) troubles pathologiques généraux de l'organisme.

De nombreuses maladies infectieuses sont encore très répandues dans les pays en développement et des milliers d'êtres humains vivant sous les tropiques en souffrent chaque année. Les maladies génétiques, comme celles qui affectent les éléments constitutifs du sang et des hormones se retrouvent partout dans le monde ; cependant, certaines de ces maladies peuvent régner dans des groupes de population ou des régions particulières (un exemple : l'hémolyse pathologique règne parmi les populations africaines et la bêta-thalassémie parmi les populations du bassin méditerranéen). Les maladies de type général ignorent les frontières ; le cancer, les maladies cardiaques, les maladies respiratoires, les maladies dégénératives, etc, constituent des problèmes majeurs dans les pays industriellement développés. Cependant, il convient de noter que parallèlement au développement industriel et à l'utilisation accrue des produits chimiques, l'incidence de ces maladies dans ces pays augmente rapidement. Ces derniers consacrent une part importante de leurs budgets et de

leurs efforts à la compréhension des mécanismes à l'origine de ces maladies. Ces études sont des programmes de développement à long terme dont les buts sont très généralement définis. Le problème est plus simple dans le cas des maladies tropicales. Nous connaissons les agents causatifs de ces maladies. Ainsi, si nous pouvons empêcher l'agent infectieux d'entrer dans l'organisme, ou si l'on parvient à bloquer sa croissance une fois qu'il a pénétré dans l'organisme, ou encore si l'on peut tuer cet organisme une fois que la maladie s'est installée, l'on peut éliminer le problème lié à une maladie particulière. C'est en raison de l'existence même de cet objectif défini avec précision (combattre l'organisme infectieux soit grâce à un vaccin soit grâce à un médicament), et de même la possibilité réelle d'atteindre ce but, que le programme de travail sur les maladies tropicales promet d'être pleinement justifié et extrêmement productif.

Maladies infectieuses graves

Les maladies infectieuses peuvent être classées en trois catégories :

- a) celles causées par les parasites ;
- b) celles causées par des bactéries ;
- c) celles causées par des virus.

Les tableaux 1 et 2 reprennent des exemples les plus courants de ces maladies. Certaines maladies d'origine bactérienne sont endémiques dans les pays en développement. Les maladies parasitaires provoquées par des vers ou des protozoaires ont un taux d'incidence très élevé et affectent de très nombreux individus. Il y a environ cent cinquante millions de cas de malaria chaque année et dans de très nombreux pays, le nombre de cas continue à augmenter. En Afrique, plus d'un million meurent encore chaque année des suites de cette maladie. On a estimé qu'en Amérique Latine dix millions de personnes sont infectées par des trypanosomes causant la maladie de Chaga. Cette maladie entraîne l'insuffisance ventriculaire droite et a d'autres effets débilissants, il n'existe encore aucun traitement efficace pour la guérir. D'autres trypanosomes sont la cause de la maladie du sommeil chez les humains ; l'on enregistre dix mille nouveaux

cas chaque année en Afrique, mais la maladie menace en permanence de prendre les proportions d'une épidémie comme ce fut le cas au début de ce siècle. Si cette maladie n'est pas soignée, elle peut être mortelle en raison de l'invasion et de la destruction du système nerveux central. En outre, la trypanosomiase animale est un obstacle important au bien-être de l'homme en raison de son incidence économique et de son effet dans l'agriculture. Le bétail accuse une perte de trois millions d'unités par an en raison des diverses formes que revêt cette maladie, et l'élevage du bétail bovin, ovin et caprin est impossible sur une superficie de 10.000.000 de kilomètres carrés en Afrique. Même ces chiffres paraissent négligeables lorsque l'on examine l'incidence des maladies causées par les vers. Le tableau 1 reprend certaines maladies graves qui affectent l'être humain. Les maladies graves qui pourraient devenir la cible de la recherche et du CIGGB sont : la malaria, la shistosomiase, la filariose, la diarrhée infantile, la lèpre et la trypanosomiase.

Techniques impliquées dans la résolution des problèmes

Le potentiel des nouvelles technologies dont on a déjà tant parlé et qui devraient nous aider à créer de nouveaux vaccins et anticorps est dû à deux inventions capitales en biologie.

Construction d'ADN recombinant

La compréhension de la structure et du fonctionnement de l'information génétique codée dans l'ADN au cours de la dernière décennie a entraîné le développement du génie génétique, la possibilité de manipuler l'ADN à volonté. L'ADN d'un organisme peut être recombiné avec l'ADN d'un autre organisme dans une éprouvette, et l'on obtient un ADN recombinant. L'ADN recombinant peut être apporté à un organisme vivant. De cette manière, les gènes d'une bactérie peuvent être additionnés aux gènes d'une autre bactérie et on parvient à combiner les propriétés utiles des deux bactéries. De même, les gènes d'une plante ou d'un animal peuvent être transférés à une bactérie de façon à ce qu'ils se multiplient en même temps que les gènes de la bactérie. Comme les bactéries se multiplient rapidement, le temps de génération peut être de vingt minutes seulement, et qu'elles peuvent très facilement être cultivées en laboratoire, l'on

peut par conséquent obtenir un transfert massif de gènes dans ces bactéries. De plus, il est possible de "forcer" les gènes de s'exprimer dans ces bactéries ; ceci nous permet d'accéder facilement à des produits d'origine génétique très difficiles à obtenir en grandes quantités par d'autres moyens. Il est également possible de transférer des gènes favorables à des plantes ou à des animaux.

Technologie cellulaire

Au cours des vingt dernières années, on a assisté au progrès constant de la technologie cellulaire qui peut être définie comme la manipulation de cellules entières. La technologie cellulaire revêt divers aspects ; l'un de ces aspects est la modification du contenu de la cellule, en implantant de nouveaux gènes dans les cellules ou en leur ajoutant des protéines ou d'autres substances pour en étudier les propriétés. La matière étrangère peut être injectée avec précision dans le cytoplasme, ou dans le noyau grâce à des techniques de micro-injection utilisant des aiguilles ultra-fines. D'autres techniques ont également été mises au point ; elles permettent d'introduire la matière dans la cellule en l'enfermant dans des sacs ou capsules microscopiques appelés "liposomes" et constitués de substances grasses qui fusionnent aisément avec la membrane cellulaire. Un autre aspect de la technologie cellulaire est la culture de tissus multicellulaires à partir d'une cellule unique. Jusqu'à présent, ce type d'opération n'a pu s'appliquer qu'avec des plantes ; dans ces cas, une plante complète peut être obtenue à partir d'une cellule unique. Cette opération n'a pas encore été possible chez les animaux. En général, en ce qui concerne les animaux, seuls des systèmes embryonnaires sont utilisables pour les manipulations génétiques. Dans le cas de la grenouille par exemple, les noyaux de cellules embryonnaires peuvent être transplantés dans des oeufs dont les noyaux ont été extraits ; on a ainsi obtenu des embryons viables. Il a également été possible de produire des souris identiques grâce à des procédures similaires.

Ces techniques nous permettent d'étudier en détail les gènes et leurs produits impliqués dans la pathogénèse. On peut déjà identifier les antigènes d'un organisme pathogène entraînant une réponse

immunitaire chez l'homme et chez l'animal. Les gènes nécessaires pour ces antigènes peuvent ensuite être clonés grâce à des techniques d'ADN recombinant dans des cellules hôtes adaptées qui peuvent facilement être propagées. L'antigène peut ensuite être purifié à partir de ces nouvelles cellules hôtes et des anticorps contre ces cellules hôtes peuvent être obtenus par des techniques d'hybridome.

Utilisation potentielle de la technologie de l'ADN
recombinant pour la production de vaccins
humains et animaux

Les techniques pour la production de vaccins efficaces sont connues depuis plus d'un siècle et il est notoire que l'éradication de la variole dans le monde est due à un programme de vaccination réussi. Il en va de même pour la poliomyélite, le programme de vaccination contre cette maladie a été d'importance capitale pour l'humanité tout entière. Les méthodes classiques de production des vaccins sont cependant, à de nombreux égards, encombrantes et onéreuses en raison de la nécessité de procéder à des cultures cellulaires à grande échelle pour produire des vaccins permettant de lutter contre les virus animaux. Certains micro-organismes de grande importance en médecine sont cependant très difficiles à propager dans des conditions de laboratoire. On suppose que le génie génétique devrait permettre de surmonter ces obstacles et être utilisé pour produire des vaccins efficaces. L'importance de programmes de vaccination réussis dans les pays en développement est dès lors plus qu'évidente. Les vaccins obtenus grâce à l'utilisation de la technologie de l'ADN recombinant, bien que n'étant pas encore utilisée en pratique, devraient en principe avoir un grand nombre d'avantages par rapport aux vaccins produits à l'aide des méthodes conventionnelles :

- a) Le vaccin ne contiendra pas l'agent infectieux tout entier, ce qui permet donc d'éliminer les risques de propagation de l'infection au cours du processus de fabrication ou lors de la manipulation de grands volumes de l'agent infec-

tieux. Ce problème est capital, par exemple dans le cas de la production de vaccins contre le virus provoquant la fièvre aphteuse.

- b) Aucun processus d'inactivation n'est nécessaire et la perte d'effet résultant de ce type d'opération est évitée.
- c) Aucun examen d'innocuité du vaccin n'est nécessaire, du moins en termes d'infectivité résiduelle.
- d) La culture à grande échelle, techniquement compliquée, de cellules de mammifères n'est plus nécessaire.
- e) Grâce à l'utilisation des technologies de l'ADN recombinant de beaucoup plus grandes quantités de n'importe quel vaccin peuvent être produites. Ainsi, les lacunes en ce qui concerne l'efficacité du produit peuvent être surmontées par l'échelle de la production.
- f) La manipulation de vaccins sera moins exigeante puisque les vaccins peuvent être produits sans intervention d'un processus de réfrigération et la grande prudence de manipulation requise dans le cas des vaccins traditionnels. Ceci facilitera le stockage et la distribution.
- g) Les coûts de production devraient également être réduits et les quantités de produit disponible plus grandes, une fois qu'un recombinant approprié aura été mis au point pour la production de vaccins.

A cette liste d'avantages on peut encore ajouter le fait que la technologie de l'ADN recombinant permettra la production de vaccins pour lutter contre les micro-organismes qu'il est difficile, dangereux ou impossible de produire en laboratoire. Des maladies graves comme l'hépatite et la malaria figurent dans cette catégorie.

Les causes de maladies de l'homme et des animaux dans les pays en développement sont bactériennes, virales de même que protozoologiques pathogènes. Les trois catégories d'agents pathogènes sont très importantes dans la plupart des pays en développement, mais il convient de noter que le génie génétique est plus aisément applicable et potentiellement avantageux pour la manipulation des virus

par rapport à celle des bactéries et des protozoaires.

Le principe sous-jacent de l'utilisation du génie génétique pour la production de vaccins est qu'un gène, ou un nombre limité de gènes, d'un agent pathogène concerné est inséré dans un vecteur qui ensuite est transféré à un hôte adapté pour expression. Un préalable à la création de souches produisant des vaccins est que le gène comprenant le code de l'antigène ou des antigènes qui génèrent les anticorps soit connu. Dans le cas de certains virus, l'antigène protecteur est connu et par conséquent il est relativement facile d'identifier le gène approprié puisque la plupart des virus contiennent une information génétique relativement limitée. Ce n'est pas le cas lorsqu'il s'agit d'agents pathogènes plus complexes comme les protozoaires et un grand travail de recherche fondamentale sera nécessaire pour parvenir à identifier l'antigène adéquat et ensuite isoler le gène correspondant afin que ce dernier s'exprime dans une cellule réceptrice. Parmi les problèmes qu'il faudra résoudre avant que la technologie de l'ADN recombinant devienne une méthode générale de production de vaccins, il convient de mentionner les points suivants :

- a) La structure et la régulation des gènes dans les agents pathogènes plus complexes.
- b) Identification d'antigène(s) créant des anticorps protecteurs.
- c) Haut degré d'expression de la part des antigènes actifs en ce qui concerne l'induction d'anticorps au sein du récipiendaire. Cette nécessité requerra parfois la modification de la protéine et/ou clivage..
- d) Purification de(s) antigène(s) approprié(s). Il s'agit là d'un problème crucial puisque de grandes quantités d'antigènes seront nécessaires dans de nombreux cas.
- e) Procédures de production de préparations d'antigènes puissants et stables produisant une immunité forte et de longue durée.
- f) Problèmes liés aux variations d'antigènes.

Recherche en cours

L'utilisation potentielle de la technologie de l'ADN recombinant pour la production de vaccins fut reconnue il y a longtemps et plusieurs laboratoires sont déjà engagés dans la création de vaccins contre quelques agents pathogènes importants dans les pays en développement. Parmi les projets en cours, on notera la production d'un vaccin contre le virus de la fièvre aphteuse (FA). Le gène générant l'anticorps neutralisant dans le cas de la FA a été cloné et s'est exprimé correctement. Un essai du vaccin réalisé sur un petit nombre de bovins a donné des résultats prometteurs et les problèmes liés à l'application de la technologie de l'ADN recombinant pour la production du vaccin contre la FA semblent avoir été résolus en principe. Il faut encore créer des vaccins multivalents, optimiser l'expression, élaborer des procédures de purification simples et élaborer des préparations d'antigènes puissants. Cependant, il est certain que la technologie de l'ADN recombinant jouera un grand rôle dans la solution du problème de la FA.

L'hépatite B constitue un autre problème médical important qui a été abordé par le biais du génie génétique au cours des dernières années. Le génome du virus de l'hépatite B a été cloné et l'on connaît sa structure du point de vue du nucléotide bien que l'on ne parvienne pas encore à propager le virus dans les cellules tissulaires. L'antigène de surface nécessaire à la production du vaccin entraîne un problème plus difficile à résoudre que dans le cas de la FA ; il s'agit en effet d'une glycoprotéine. L'expression de l'antigène naturel de surface dans les bactéries est difficile à réaliser et la modification adéquate de l'antigène ne se réalisera pas dans un hôte procaryotique. Le moyen de circonscrire le problème semble être l'utilisation d'un système d'hôte/vecteur eucaryotique et des résultats prometteurs ont été obtenus grâce à l'utilisation de levures ou de cellules animales en tant qu'hôtes pour la production de l'antigène de surface.

Le virus de la grippe est un autre exemple intéressant puisqu'il illustre le problème de la variation de l'antigène. Les gènes comprenant le code des antigènes de plusieurs souches de virus de la

grippe ont été clonés dans des bactéries et la base des variations antigéniques a été élucidée. Des vaccins multivalents peuvent probablement être produits grâce à des procédures de génie génétique bien qu'un travail complémentaire soit nécessaire pour atteindre ce but.

Dans le cas de parasites plus complexes, les progrès sont moins spectaculaires. L'on a obtenu des résultats extrêmement encourageants dans les travaux sur les trypanosomes et les études moléculaires de ce parasite avancent remarquablement bien. Plusieurs laboratoires des Etats-Unis et d'Europe Occidentale travaillent actuellement dans le domaine de la biologie moléculaire des parasites de la malaria. Bien que d'importants progrès aient été réalisés, il semble bien que le moment où l'on pourra procéder au clonage des antigènes de la malaria et leur expression grâce au génie génétique soit encore loin. Les résultats des travaux récents indiquent cependant que le projet est réalisable.

L'objectif général du programme de travail sur les maladies tropicales serait quadruple :

- 1) Comprendre de manière détaillée les mécanismes par lesquels divers agents infectieux causent les maladies. Cette compréhension découlera de l'étude des cycles de vie des organismes pathogènes grâce aux nouvelles techniques ; par le clonage et l'analyse des gènes, l'élaboration de processus permettant d'amplifier les produits des gènes en produisant des anticorps monocloniques contre les produits génétiques pertinents. Ces études devraient dès lors amener à la création de médicaments, de vaccins et de diverses stratégies pour combattre les maladies.
- 2) Produire des vaccins moins chers et plus efficaces contre les agents pathogènes particulièrement importants dans les pays en voie de développement. L'objectif immédiat sera de sélectionner un nombre limité d'agents pathogènes pour une étude détaillée et, ensuite identifier de la manière la plus efficace les antigènes utiles pour la production de vaccins.

Dans le cas de moyens de production de vaccins déjà établis comme pour la FA, le Centre devrait immédiatement résoudre les problèmes liés à la production pilote, à la purification et à la distribution des vaccins.

- 3) Former des scientifiques originaires des pays en développement dans le domaine des nouvelles technologies de haut niveau, de façon qu'ils puissent établir des programmes pour étudier les maladies qui peuvent avoir une importance particulière dans leur pays.
- 4) Organiser des groupes de travail et des réunions ayant pour but d'accroître les communications entre les scientifiques des pays en développement et ceux des pays développés et améliorer l'état de la connaissance des troubles et maladies divers.

Préparation du plan de travail

Une sélection soigneuse concernant les projets du CICGB devra être effectuée. Un grand nombre d'agents pathogènes est responsable des principales maladies infectieuses dans les pays en développement, il en va de même pour les agents pathogènes produisant les maladies graves du bétail. Un grand nombre de ces agents pathogènes sont candidats pour la production de vaccins. Un programme réussi doit cependant être centré sur un nombre limité d'agents pathogènes et les priorités devraient être choisies sur base de la faisabilité et de la demande. Les tableaux 1 et 2 reprennent un certain nombre de projets candidats. La décision finale quant à la sélection des projets devrait être prise par le Conseil des Conseillers scientifiques lorsque le Centre sera établi. Les priorités devront être établies en ce qui concerne le choix des projets concernant les maladies de l'homme par rapport à celles des animaux. Dans ce contexte, il convient de noter que plusieurs instituts de pays développés ont déjà entrepris certains efforts pour produire des vaccins, pour lutter contre des agents pathogènes humains et une certaine priorité devrait être accordée aux vaccins pour les animaux. Hormis la FA et quelques cas similaires, la production de vaccins pour les

animaux sera probablement moins rentable et obtiendra un niveau de priorité inférieur de la part des entreprises déjà établies en Europe Occidentale et aux Etats-Unis. La perte de bétail affecte gravement les conditions de vie de la population humaine dans les pays en développement et un vaccin animal efficace aurait à tous égards un impact aussi important que celui de programmes destinés à lutter contre les maladies infectieuses de l'homme. Les vaccins pour les animaux présentent également l'avantage de requérir moins d'essais de longue durée et coûteux avant de pouvoir être utilisés.

Il faut encore souligner que la production de vaccins grâce au génie génétique n'est pas toujours la méthode idéale pour combattre les maladies infectieuses. Des vaccins puissants sont dans certains cas produits grâce aux méthodes traditionnelles et le génie génétique n'offre pas toujours un avantage évident. De plus, il est parfois extrêmement difficile de créer un vaccin contre les agents pathogènes plus complexes, particulièrement dans le cas où des variations antigéniques se produisent fréquemment. C'est pourquoi la chimiothérapie devrait toujours être considérée comme une solution de rechange à la production de vaccins. Le programme de vaccins et le programme de chimiothérapie contre les maladies tropicales requerront de grands efforts quant à la recherche fondamentale, afin d'élucider la biologie moléculaire et le métabolisme des agents pathogènes les plus complexes. Ces deux programmes devraient par conséquent être intimement coordonnés. Ainsi, lorsqu'on examine les projets à entreprendre au CIGGB, il faut considérer les questions suivantes :

- a) La vaccination est-elle une approche rationnelle ?
- b) Existe-t-il déjà des vaccins, et si oui, sont-ils satisfaisants du point de vue de la qualité et de la quantité ?
- c) Le génie génétique offre-t-il un avantage évident par rapport aux méthodes conventionnelles de production des vaccins ?

Un programme de recherche devrait aussi être établi en ce qui concerne la schistosomiase et certaines autres maladies liées aux

vers afin de créer des vaccins et des procédures de diagnostic pour ces maladies, bien que le temps nécessaire à la réalisation de ce projet puisse dépasser cinq ans.

B. ACTIVITES

Le programme de travail sur les maladies tropicales devrait comporter les trois composantes suivantes.

- 1) Recherche et développement.
- 2) Formation.
- 3) Groupes de travail et réunions.

La recherche devrait comprendre un travail en profondeur sur un agent pathogène donné au niveau moléculaire ; il faudrait particulièrement se centrer sur le mécanisme de la pathogénèse et de la réponse immunologique. Des études sur l'organisation génétique d'un agent pathogène, ses protéines de surface, son mode d'attachement à des cellules de surface ou sur son métabolisme, contribueraient à élaborer des stratégies pour la prévention (création de vaccins et autres médicaments à caractère préventif), diagnostic (identification des individus courant des risques) et traitement (création de médicaments et produits pharmaceutiques). La réalisation de ces études exigera des laboratoires pour le clonage des gènes, pour la culture des cellules, pour la séquence de l'ADN et des protéines, pour la synthèse de l'ADN et des protéines et pour la création d'anticorps monocloniques. Ainsi, un programme efficace requerra un large éventail de techniques modernes. Une des lignes de force du CIGGB sera qu'il s'agira d'un centre complet étayé par une grande expérience dans le domaine de la génétique et de la biologie moléculaire, grâce à cette caractéristique, divers problèmes importants pourront être traités de manière concertée.

La question principale est de savoir s'il faudrait entreprendre la recherche d'abord. Il semble que le lancement de programmes de clonage de gènes pour les anticorps et certaines hormones (comme l'insuline) bien connus ne serait pas fructueux. Il faudrait donc que le CIGGB entreprenne les projets et activités suivantes :

- a) Génétique des parasites.
- b) Création de vaccins contre les agents pathogènes complexes.
- c) Génétique de certaines bactéries pathogènes et production toxique.
- d) Vaccins contre les virus, comme la FA, l'hépatite, etc...
- e) Banque des gènes d'organismes pathogènes.
- f) Biologie moléculaire des cellules des mammifères.
- g) Groupes de travail.
- h) Services de conseils et autres services.
- i) Procédure alternative.
- j) Diagnostique de micro-organismes.
- k) Examens cliniques.

a) Génétique des parasites

La parasitologie est maintenant à l'avant-garde de la biologie moléculaire. Il s'agit là d'une conséquence normale des progrès enregistrés dans le domaine de la biologie moléculaire. Les premiers développements apparurent dans l'étude des bactéries, ensuite les levures devinrent les organismes les plus étudiés et actuellement on peut aborder des systèmes un peu plus complexes comme les protozoaires ; ainsi, le travail de recherche avance rapidement et est très prometteur quant à sa valeur. Des programmes de recherche solides devraient être établis pour étudier les parasites complexes et des parasites plus simple (protozoaires).

Un parasite complexe important est le shistosoma mansoni. Un travail conséquent sur la schistosomiase peut entraîner le développement d'un vaccin et peut-être aussi un médicament à utiliser en combinaison avec le vaccin. Les infections d'origine schistosomatiques sont déclenchées par des larves présentes dans l'eau et d'un serpent, hôte intermédiaire. Les larves pénètrent la peau de l'hôte mammifère et se transforment rapidement en parasites physiologiquement adaptés nommés schistosomules. Ensuite, les schistosomules entrent dans une période migratoire et de maturation durant quatre semaines, cette migration les amènera tout d'abord via le système veineux aux poumons où on les trouvera en grands nombres ; on les

retrouvera ensuite dans les vaisseaux porteurs de la cellule hépatique où les larves achèveront leur développement et deviendront des vers adultes. Une fois établis dans le système sanguin, les schistosomes peuvent provoquer des infections chroniques qui peuvent durer des décennies. Au cours de cette période, les parasites évoquent apparemment une réponse immunitaire. Une grande variété de réactions humorales et cellulaires contre les antigènes schistosomaux a été observée chez les êtres humains chroniquement infectés et sur des hôtes expérimentaux. Les animaux de laboratoire porteurs de schistosomes adultes acquièrent une résistance partielle ou totale en ce qui concerne des infections subséquentes. Ainsi, la réponse protectrice est induite par un parasite qui lui-même n'est pas touché par la réponse. Ce phénomène d'évasion d'immunité, dans le cas de schistosomiase, soulève deux questions intéressantes.

- 1) Quelle est la cible et le mécanisme effecteur de la réponse immunitaire protectrice ?
- 2) Quelle est la nature de l'adaptation permettant aux parasites d'échapper à cette réponse ? Les réponses à ces questions seront importantes dans l'établissement d'approches immunologiques pour le contrôle de la schistosomiase et permettront d'obtenir une connaissance en profondeur des maladies parasitaires.

Parmi les parasite protozoaires, le parasite de la malaria est un choix évident pour une étude au CIGGB. Les travaux de plusieurs laboratoires (Wellcome Laboratories, au Royaume Uni ; l'Université de New York, par exemple) progressent systématiquement et sont dirigés vers la découverte d'un vaccin contre la malaria. Bien que le parasite de la malaria soit un agent pathogène extraordinairement important pour l'être humain, on connaît extrêmement peu de choses concernant la biologie moléculaire de ce parasite. La cause de l'inexistence de telles études est que les scientifiques ne disposent pas des outils ou des moyens pour étudier les arcanes d'organismes plus complexes que les bactéries. Cependant, grâce au progrès de la biologie moléculaire, de nouveaux outils sont aujourd'hui disponibles et par conséquent, le domaine de la parasitologie est en

pleine révolution. Des quatre parasites de la malaria, plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovale et P. malariae, seul P. falciparum, cause de la malaria aiguë, peut être facilement cultivée in vitro. Sa culture réussie fut annoncée en 1976 et les travaux effectués sur ce parasite ont été facilités par ce succès. Néanmoins, les travaux sur d'autres plasmodia continuent dans certains laboratoires. Un des projets clairement établis serait d'identifier les antigènes importants dans ces parasites de la malaria, d'isoler le messager ARN pour ces antigènes, de faire des copies ADN et ARN et de procéder ensuite au clonage de l'ADN dans E. coli de façon à ce que l'antigène puisse être fabriqué dans des cellules bactériennes. Cette procédure pourrait amener à la création d'un vaccin très utile et à des anticorps monocloniques qui pourraient être immédiatement utilisés pour protéger les individus à haut risque.

Les organismes pathogènes, comme tous les autres organismes, deviennent résistants aux médicaments à la suite de diverses mutations. De même, les organismes peuvent aussi devenir résistants aux anticorps en modifiant leur structure antigénétique. C'est pourquoi des études génétiques au niveau cellulaire sont devenues très importantes pour comprendre la nature de la variation antigénétique. Ainsi, des études génétiques du plasmodium devraient faire partie intégrale du programme de recherche. Certains croisements génétiques de P. falciparum ont été réalisés par injection de parasites de type de reproduction opposé dans des animaux. Peut-être pourrait-on élaborer de bonnes procédures de reproduction in vitro et ceci, en combinaison avec l'isolation de mutants, serait un bon départ pour la compréhension de la génétique de cet organisme.

b) Vaccins contre des agents pathogènes complexes comme les protozoaires (malaria, trypanosomes, etc...)

Un problème lié aux agents pathogènes comme plasmodium falciparum est qu'ils sont transportés par des vecteurs (dans le cas de la malaria, il s'agit d'un moustique). L'agent pathogène apparaîtra sous diverses formes au cours de son cycle de vie dans l'organisme humain et dans celui de l'insecte. Les divers stades de parasite

comportent des propriétés antigéniques différentes qui entravent le développement de vaccins par le génie génétique. En outre, les génomes de protozoaires sont très complexes et il est donc très difficile d'identifier le gène ou les gènes nécessaires pour une expression antigénique adéquate. Une stratégie pour la création de vaccins contre la malaria comprendrait les éléments suivants :

- 1) Installations pour la culture d'agents pathogènes en quantités suffisantes pour la production d'ADN, de messenger ARN et d'antigène.
- 2) L'utilisation de modèles animaux afin d'identifier le(s) antigène(s) protecteur(s).
- 3) La production d'anticorps monocloniques pour l'identification d'anticorps protecteurs.
- 4) Etude structurelle des antigènes parasitaires.
- 5) Le fractionnement du messenger ARN et translation in vitro. Construction de bibliothèques de gènes et de cADN.
- 6) Identification de gène(s) adéquat(s). Cette tâche sera difficile et plusieurs stratégies différentes pourraient être envisagées, comme la sélection de messenger ARN sur de l'ADN cloné suivi par une immunoprécipitation avec des anticorps monocloniques. Une autre méthode serait d'utiliser un transfert de gènes suivi par l'identification d'antigènes de surface spécifiques. Des oligonucléotides de synthèse pourraient également être utilisés pour l'identification à condition que cette partie de la séquence de la protéine soit connue.
- 7) Une fois que le(s) gène(s) est/sont identifié(s), il conviendra d'entreprendre une étude afin de parvenir à l'expression d'antigène(s) adapté(s) à la production de vaccins.

c) Maladies causées par les bactéries et leurs toxines

La lèpre et la tuberculose sont deux maladies bactériennes graves. La diarrhée infantile est également extrêmement grave dans les

pays en développement où cette maladie est une cause importante d'affaiblissement et de la mortalité infantile. Plusieurs autres maladies bactériennes sont endémiques dans l'ensemble des pays en développement. La création d'une procédure de diagnostique et la production d'anticorps protecteurs contre la lèpre constituerait un projet très intéressant. Un autre projet serait le développement d'anticorps protecteurs contre les toxines provoquant la diarrhée infantile (des vaccins et des anticorps seraient dès lors disponibles pour lutter contre ces deux maladies).

Dans le cas de la lèpre, le travail de recherche comporterait l'identification d'antigènes importants et le clonage de leurs gènes dans E. coli, de manière à ce que les antigènes pertinents puissent être produits en grandes quantités. Il convient de noter que jusqu'à présent mycobactérium leprae, l'agent responsable de la lèpre, ne peut être cultivé que dans des tatous vivant dans la partie méridionale des Etats-Unis. Une combinaison d'anticorps protecteurs et de médicaments pourrait être un moyen efficace de lutte contre la lèpre. La disponibilité des anticorps pertinents permettra d'établir des procédures de diagnostique, et une connaissance plus détaillée de l'organisme peut nous permettre de développer de nouvelles procédures pour cultiver les organismes qui en leur temps nous permettront de créer de nouveaux médicaments.

Les études portant sur la toxine du choléra et une entérotoxine liée à E. coli responsable de diarrhées aiguës chez l'homme et chez l'animal ont atteint un niveau où un essai de création d'un vaccin efficace peut être effectué. En ce qui concerne le choléra, le problème est que alors que l'infection naturelle par vibro cholerae provoque une immunité à long terme, les vaccins à cellules entières existants n'offrent qu'une protection limitée et de courte durée. Le clonage de gènes de toxines est une tâche technique aisée. Une fois clonés, ces gènes peuvent être manipulés (mutés in vitro par exemple) pour produire des toxines immunogéniques, mais non actives. Des études impliquant la mutogénèse spécifique in vitro de telles toxines seraient très précieuses dans de nombreux domaines et devraient constituer une des activités du CIGGB.

d) Production de vaccins contre des virus comme ceux de la fièvre aphteuse, l'hépatite, la grippe, etc...

Une solution satisfaisante au problème de la production d'un vaccin contre la fièvre aphteuse a déjà été offerte. Le principe sous-jacent de cette approche est relativement simple puisque le gène encodant les antigènes protecteurs a été identifié. Des copies de cADN de l'ARN viral sont insérées dans le vecteur bactérien et l'expression est obtenue en utilisant des signaux déjà existants dans le vecteur. Le résultat sera dans la plupart des cas l'obtention d'une protéine fusionnée consistant de séquences bactériennes et virales. Cette propriété particulière ne semble pas être un problème et pourrait même constituer un avantage pour la purification de l'antigène. Bien que des souches bactériennes produisant un antigène pour la FA adaptées à la production de vaccins aient déjà été produites, l'optimisation sera nécessaire puisque de très grandes quantités du produit sont nécessaires afin d'effectuer des programmes d'éradication satisfaisants. C'est pourquoi des systèmes de rechange d'hôtes vecteurs plus faciles à manipuler, moins chers à produire et exportant l'antigène dans le milieu de culture devront être considérés. Enfin, l'immunogénicité de l'antigène doit être évaluée avec soin et des préparations offrant une protection à long terme devront être créées. Cette dernière exigence peut impliquer une manipulation très sophistiquée du gène encodant l'antigène de façon à ce qu'une protéine modifiée soit produite, celle-ci serait un agent immunogène plus puissant que les antigènes naturels.

La stratégie fondamentale pour la construction de micro-organismes produisant des vaccins est la même que celle décrite plus haut. Dans les cas où l'antigène de protection est connu, le fragment d'ADN approprié portant le gène ou un cADN d'un ARN viral est introduit dans un vecteur approprié afin d'obtenir une expression, l'expression réussie étant contrôlée par immunoprécipitation. Une attention particulière sera requise si l'antigène est modifié par glycolyse ou clivage. Dans ce cas, le rôle de la modification sur l'induction d'anticorps devra être soigneusement évaluée. Si la modification est d'importance, il conviendra d'adopter une stratégie plus élaborée, elle impliquerait des systèmes d'hôte/vecteur eucaryotique.

Le problème de la variation de l'antigène doit également être considéré. Dans certains cas, des études sur le terrain devront être réalisées afin d'évaluer le rôle de la variation de l'antigène et diverses stratégies devront être adoptées dans les cas individuels.

e) Banques de gènes d'organismes pathogènes

Une des fonctions éminemment utiles du CIGGB serait de procéder au clonage et au stockage systématique de génomes complets de divers agents pathogènes infectieux et de leur vecteur. Une telle tâche ne sera pas entreprise par d'autres institutions ou d'autres scientifiques qui sont plutôt intéressés par des projets spécifiques. La disponibilité d'une telle banque au CIGGB transformera le Centre en dépositaire de matériel biologique de première importance. Ce matériel sera utilisé par les scientifiques au Centre ou en dehors de celui-ci.

f) Biologie moléculaire des cellules des mammifères

Comme des techniques sophistiquées de culture de cellules seront nécessaires pour de nombreux autres projets du Centre, il serait utile qu'un petit groupe de travail s'attachant à certains aspects fondamentaux de la génétique des cellules des mammifères (humaines par exemple). Un projet potentiellement intéressant serait d'étudier les effets des médecines phytothérapeutiques sur la croissance et l'expression des gènes de cellules de mammifères.

g) Groupes de travail

Des groupes de travail spécialisés et des assemblées générales devraient faire partie intégrante du programme d'activités du CIGGB. Ces divers éléments contribueraient à la promotion et à l'accélération de la recherche vitale et permettraient aux scientifiques des pays en développement de communiquer avec d'autres collègues du même domaine de façon continue.

h) Services de conseils et autres services

Une fonction importante du CIGGB sera de fournir des services

de conseils. Cette activité peut être offerte de plusieurs manières :

- 1) Conseils quant au choix de projets dans les laboratoires des pays en développement.
- 2) Conseils concernant une stratégie adaptée à la solution d'un problème en particulier.
- 3) Conseils techniques concernant le choix des méthodes en particulier. Le Centre devrait fournir des manuels de laboratoire, des feuilles d'information, etc...
- 4) Conseils sur les outils de recherche requis pour la réalisation de projets.

Le génie génétique est une technologie très exigeante quant aux fournitures consommables. Plusieurs réactifs coûteux comme des enzymes de restriction, des films autoradiographiques, des filtres nitrocellulosiques, des isotopes à courte durée de vie, etc... sont cruciaux pour les chercheurs de ce domaine d'activité. Une activité de service importante au Centre sera de produire des réactifs comme des endonucléases de restriction et de les mettre à la disposition des laboratoires des pays en développement qui ne peuvent pas les obtenir à partir des sources commerciales. Le CIGGB devrait encore fournir des produits tels que : vecteurs, souches de bactéries, oligonucléotides, anticorps monocloniques, etc... Le Centre devrait encore contribuer à la distribution d'isotopes rares, très coûteux et à courte durée de vie de même que d'autres produits chimiques très spécialisés. Un groupe de travail du Centre pourrait en outre procurer de l'équipement produit "sur mesure" pour certaines activités de recherche.

i) Procédures alternatives

On a annoncé récemment une procédure alternative pour la production d'anticorps spécifiques. Si les séquences d'acides aminés d'un antigène sont connues, il est possible de synthétiser un peptide court identique à une région de l'antigène. De tels peptides peuvent être injectés à des animaux pour produire des anticorps. Actuelle-

ment, il existe diverses méthodes pour la synthèse chimique de polypeptides courts. Cette procédure a été appliquée avec succès pour la production d'anticorps spécifiques contre des antigènes rares. Son utilisation potentielle sans la production de vaccins n'a pas encore été totalement évaluée bien que les résultats obtenus quant à la FA soient très encourageants.

j) Diagnostiques de micro-organismes

Le génie génétique peut également être utilisé pour l'identification et le classement en types de micro-organismes. Il s'agit là d'un projet essentiel au CIGGB.

k) Examens cliniques

L'évaluation clinique des vaccins ne devrait pas être entreprise au Centre. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) devraient être impliquées dans cette partie du programme.

Formation

Le Centre devrait recevoir et former des scientifiques au niveau post-doctoral ainsi que du personnel technique. Les techniques impliquées dans ce programme sont généralement très exigeantes et requièrent une très solide connaissance en biochimie, génétique et microbiologie. Par conséquent, il est très important que les candidats soient très soigneusement sélectionnés pour la formation au Centre. Il faut également tenir compte du fait que de nombreuses activités de ce programme requièrent un nombre critique de scientifiques pour être productifs.

C'est pourquoi il est important que les équipes de scientifiques soient formés ensemble plutôt que de choisir individuellement des scientifiques isolés de divers pays. Le Centre pourrait également fournir des cours de formation et des manuels de laboratoire qui faciliteraient le travail des débutants. Une fois que ces activités auront été établies dans les pays en développement, le CIGGB devrait fournir des cours de formation intensifs couvrant des sujets spécialisés.

C. PLAN DE TRAVAIL

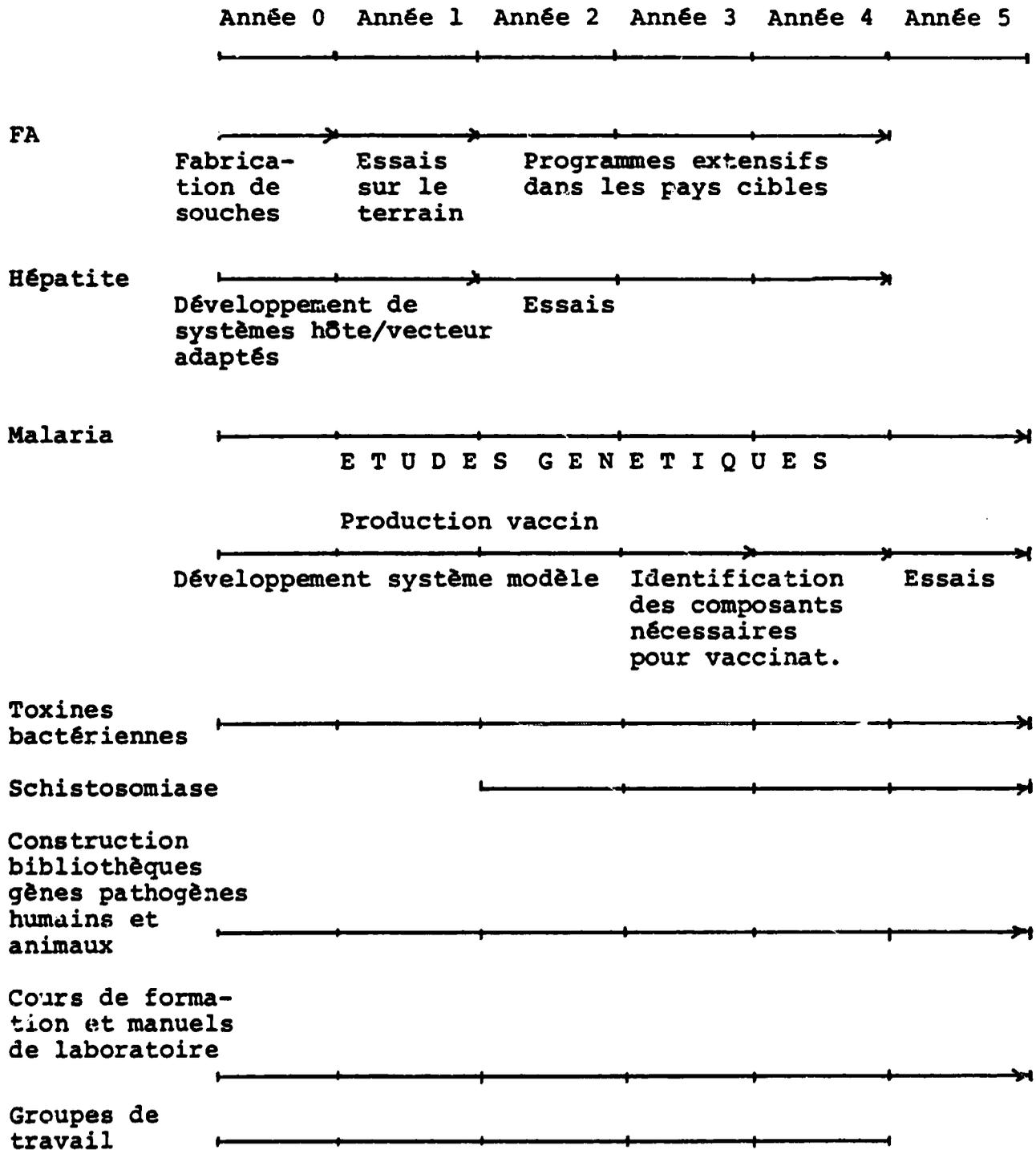
Le calendrier pour les résultats obtenus au CIGGB dépendra des diverses composantes du programme, étant donné que certaines tâches entreprises seront beaucoup plus difficiles à remplir que d'autres. Les dates-cibles établies pour certains produits utiles, lorsqu'elles peuvent être établies, seront assez peu fiables pour d'autres éléments du programme. Cependant, il faudrait que les activités inscrites dans le cadre du programme soient entamées sans tarder et les résultats de plusieurs activités devraient déjà se manifester au cours de la première année. Voici une liste de résultats prévus :

- a) Le programme de formation devrait débiter immédiatement et cinq scientifiques devraient être formés annuellement, leur formation ayant lieu au niveau post-doctoral. Etant donné que les candidats à ce niveau post-doctoral devraient passer un minimum de deux ans au Centre afin de bénéficier d'une formation suffisante dans les domaines les plus importants de ce champ d'activité complexe, les premiers résultats devraient se manifester deux ans après le lancement du programme. Un autre résultat important de cet aspect du programme est la formation de personnel technique (techniciens et mécaniciens) et il faudrait arriver à la formation de deux ou trois membres de personnel technique par an.
- b) La préparation de manuels de laboratoire devrait commencer immédiatement et les services de conseils relatifs aux activités déjà engagées devraient être offerts pendant la première année.
- c) Les cours de formation et les activités des groupes de travail devraient commencer au cours de la première année d'activité du Centre. Un ou deux cours devraient être organisés annuellement par ce département du Centre. Les différents programmes du CIGGB devront être coordonnés si l'on désire que le programme de formation soit un succès. Le programme de groupe de travail et les réunions d'experts devrait être lancé au cours de la première année. Cette activité permettra de recruter des scientifiques au plus haut niveau. En

outre, il est primordial que des relations avec des instituts de recherche des pays développés soient établies, ceci afin d'assurer un haut degré de qualité pour la recherche dès le début du programme. Les réunions d'experts sont nécessaires pour dégager les priorités parmi les divers sujets à aborder au CIGG).

- d) Les activités de services devraient être entamées sans retard afin de renforcer les activités en cours et une division distincte devrait être établie pour fournir les outils de recherche tels que : enzymes de restriction, vecteurs de clonage, etc... pour les laboratoires en dehors du Centre. Le Centre devrait contribuer à la fourniture et à la distribution de produits commercialement disponibles tels que les isotopes à courte durée de vie par exemple, ceci en raison des difficultés éprouvées par les pays en développement pour se les procurer en quantités suffisantes. Le Centre pourrait également assister à l'obtention de conditions favorables lors de l'achat de réactifs onéreux.
- e) Le but le plus important de ce programme sera, bien sûr, de construire des micro-organismes manipulés produisant des antigènes utilisables pour la vaccination. La production variera en fonction des divers projets et il est difficile d'établir un calendrier fiable étant donné que les projets bénéficiant de la plus haute priorité au Centre devront être indiqués par le Conseil des Conseillers Scientifiques une fois que le Centre aura été établi. L'activité au sein de ce programme sera centrée sur quelques grands projets. En outre, il est difficile en ce moment d'évaluer la faisabilité des projets les plus élaborés de ce programme. Néanmoins, il semble que certaines prévisions fiables puissent être établies en ce qui concerne plusieurs projets repris dans les tableaux 1 et 2 en raison de l'accumulation rapide d'informations dans ce domaine.

Calendrier :



D. COLLABORATION AVEC D'AUTRES INSTITUTIONS ET
INTERACTION AVEC DES LABORATOIRES DE RECHERCHE
ET CLINIQUES

Une collaboration étroite avec certains laboratoires travaillant sur certains problèmes fondamentaux de biologie moléculaire aux Etats-Unis et en Europe permettrait de maintenir un haut niveau intellectuel et technique. Certains choix concernant l'interaction sont évidents ; il s'agit des laboratoires de membres du groupe de conseil (Ulf Pettersson, Université d'Uppsala ; Ray Wu, Université de Cornell ; A.I. Bukhari, Cold Spring Harbor Laboratory ; A. Chakrabarty, Université de l'Illinois ; S. Narang, Conseil National de la recherche, Canada).

Le CIGGB doit établir des liens de travail étroits avec d'importants groupes des pays en développement. Certains de ces groupes seraient à même de fournir une information technique intéressante de même que des matériaux biologiques utiles aux travaux du CIGGB. Citons quelques possibilités :

Lèpre - All India Institute of Medical Sciences, New Delhi ;

Malaria - Postgraduate Medical Research Institute, Lahore,
Pakistan ;

Trypanosomes - International Laboratory for Research on Animal
Diseases, Nairobi, Kenya ;

Hépatite - Un groupe de recherche en République
Populaire de Chine ;

Fièvre aphteuse - Un groupe de recherche en Argentine.

Dans certains cas, la collaboration permettra de fortement accélérer les travaux. Ainsi, plusieurs anticorps monoclonaux contre mycobactérium leprae ont été préparés au All India Institute of Medical Sciences. Ces anticorps monoclonaux peuvent être employés pour l'identification et le clonage de gènes pour des antigènes spécifiques. Etant donné le travail déjà réalisé, de grands progrès pourraient être rapidement obtenus. De même, des travaux sur les trypanosomes ont été effectués au International Research Laboratory for Animal Diseases (ILRAD) de Nairobi au Kenya. Le groupe de recherche de l'ILRAD peut être intéressé par l'utilisation des installations du CIGGB.

Une collaboration spéciale avec des programmes en cours d'organisations internationales comme l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture (UNESCO) et d'autres organisations sera promue.

E. PREALABLES

Comme nous l'avons déjà souligné dans la section précédente, les scientifiques admis au Centre dans le cadre du programme de formation devront être soigneusement sélectionnés : le génie génétique requiert en effet une connaissance approfondie de divers sujets comme la biochimie, la génétique, la microbiologie, la biologie moléculaire, etc... Un préalable fondamental pour le Centre et son succès sera que des niveaux très élevés de recherche soient établis et maintenus, non seulement pour la production physique du Centre, mais aussi si le Centre veut recruter des scientifiques étrangers du plus haut niveau. Les stagiaires admis au Centre doivent par conséquent être sélectionnés avec soin et la décision finale devra être prise par le Conseil des Conseillers scientifiques du CIGGB. Les candidats devront non seulement être acceptés en fonction de leurs titres, mais aussi de leur capacité à réaliser des travaux de laboratoire très précis.

La possibilité d'établir des laboratoires d'ADN recombinant dans les pays en développement dépendra d'efforts concentrés. Les besoins futurs d'un pays en particulier doivent être examinés en rapport avec les activités en cours au Centre. Une masse critique de personnel qualifié sera également nécessaire pour établir de manière adéquate les activités d'un nouveau Centre ; c'est pourquoi il convient donc de sélectionner un groupe de scientifiques pour la formation en tant qu'équipe et non pas en tant que stagiaires individuels provenant de divers pays du monde. La sélection de candidats à former au Centre devrait donc être fondée sur :

1. Titres universitaires
2. Capacité prouvée de réaliser des travaux pratiques qualifiés.
3. Expérience en relation avec les activités du CIGGB.
4. Possibilités futures des stagiaires d'établir des activités dans leur pays d'origine.

Le paramètre décisif quant à la sélection de techniciens et d'ingénieurs à former au Centre sera le besoin futur d'assistants dans les équipes de scientifiques dans un pays en développement particulier.

F. BESOINS FINANCIERS

L'activité que nous proposons sera très exigeante tant du point de vue humain que de l'équipement et des biens consommables. Le personnel suivant sera nécessaire à la réussite du programme :

1. Deux scientifiques confirmés assumeront un rôle de coordinateurs du programme. Ces personnes devraient avoir de l'expérience en biologie moléculaire ou en microbiologie, ou mieux encore, dans les deux domaines .
2. Dix assistants scientifiques.
3. Huit techniciens.
4. Six candidats au niveau post-doctoral, la plupart d'entre eux originaires de pays en développement. Ils devraient avoir une expérience pratique de la technique de l'ADN recombinant ou dans des domaines étroitement liés à celle-ci.

Parmi les scientifiques, les catégories suivantes devraient être comprises : un chimiste spécialiste des nucléotides, un immunologue, un microbiologiste, un spécialiste de la biologie moléculaire et des biochimistes. Des experts en maladies infectieuses et des scientifiques ayant une formation dans le domaine vétérinaire seraient requis en qualité de conseils.

Au cours des cinq premières années d'activité, nous prévoyons un total de 20 stagiaires bénéficiant des activités proposées. Le tableau suivant donne une estimation du coût de fonctionnement pour cinq ans d'activité.

Budget quinquennal

Personnel

(Première année 40% et deuxième année 60% de l'opération complète)

		(\$EU milliers)
Scientifique confirmé	8 années/homme	600
Scientifique	40 années/homme	1 800
Candidats post-doctoral	24 années/homme	576
Techniciens	32 années/homme	544
Sous-total		<u>3 520</u>
Gestion du Centre		233,5
Personnel auxiliaire		703,5
Total personnel		<u>4 457</u>
<u>Activités de fonctionnement</u>		
Scientifiques visiteurs	64 mois/homme	320
Réunions du groupe d'experts	4	100
Services conseil	30 mois/homme	300
Formation	40 années/homme	900
Matériel d'information		30
Achats produits chimiques etc...		1 040
Association		150
Divers (voyages, téléphone, poste, etc...)		138
Sous-total		<u>2 978</u>
TOTAL PROGRAMME DE TRAVAIL		<u><u>7 435</u></u>

ANNEXE I

Tableau 1

Principales maladies infectieuses de l'homme dans les pays
en développement pour lesquelles des vaccins doivent être
mis au point

Malaria

Schistosomiase a)

Leishmaniose a)

Filariose a)

Trypanosomiase (maladie du sommeil) a)

Lèpre

Tuberculose

Choléra b)

Bactérie entérique produisant des toxines

Trachôme

Hépatite B b), c)

Rage

Hépatite A

Virus de la poliomyélite b)

Rotavirus

Arbovirus (fièvre jaune, encéphalite, fièvre de la vallée du Rift,
etc...) b)

Grippe b)

- a) On ne sait pas encore si la vaccination à l'aide de vaccins génétiquement créés est réalisable dans tous les cas.
- b) Des vaccins produits par les méthodes conventionnelles sont disponibles mais on pense que le génie génétique pourrait être appliqué pour produire des vaccins améliorés et/ou moins chers.
- c) Résultats prometteurs pour l'application du génie génétique.

Tableau 2

Principales maladies animales dans les pays en développement
Evaluation du potentiel du génie génétique pour l'amélioration des vaccins

<u>MALADIE</u>	<u>Catégorie d'importance</u>	<u>Priorité génie génétique pour création de vaccin</u>
A. <u>Maladies virales</u>		
Fièvre aphteuse	1	élevée
Peste bovine	1	faible
Rage	1	élevée - rage transmise par chauve-souris au bétail.
Stomatite vésiculaire	2	moyenne
Blue tongue	2	élevée
Peste porcine	2	faible
Fièvre porcine africaine	2	inconnue - élevée en tant qu'outil de recherche
Fièvre équine africaine	2	élevée
Encéphalomyélite équine vénézuélienne	2	faible
Fièvre catharrale maligne	3	faible
Adénomatose pulmonaire	3	élevée
Maladie d'Aujesky	3	moyenne
B. <u>Maladies virales de la volaille</u>		
Maladie de Newcastle	1	moyenne
Maladie de Marek	2	faible
C. <u>Maladies bactériennes</u>		
Tuberculose	1	élevée
Brucellose	1	faible
Infections clostridiennes	1	faible
Anthrax	2	faible
Pleuropneumonie	3	faible
Leptospirose		
D. <u>Maladies protozoaires</u>		
Trypanosomiase	Ces maladies, et en particulier les deux premières, sont économiquement très graves en Afrique. Le progrès de la recherche n'est pas encore parvenu au stade où la vaccination est réalisable. L'on arrivera à ce stade mais alors de nombreux problèmes connexes devront être évalués afin de décider d'une stratégie adaptée. (Source : The potential of Genetic Manipulation for Improvement of Vaccines against Animal Diseases in Developing countries, UNIDO/IS.273)	
Theileriose		
Anaplasmose		
Babesiose		
Coccidiose		

ANNEXE II

BESOINS D'EQUIPEMENT

Lorsqu'il sera totalement opérationnel, le programme devra comprendre toutes les techniques modernes nécessaires à l'identification et l'expression des gènes dans divers systèmes de vecteurs hôtes. De telles techniques comprendraient :

- a) Installations et procédures pour la culture et la purification des microbes pertinents. Le problème peut être complexe pour de nombreux micro-organismes particulièrement importants pour les pays en développement.
- b) Techniques de base pour le clonage moléculaire, c'est-à-dire techniques pour la construction de bibliothèques d'ADN, clonage cADN, etc... Les méthodes de clonage utilisant *E. coli*, *B. subtilis* et des levures devraient être établies sous forme de procédures de routine.
- c) Techniques et réactifs pour l'identification des antigènes pertinents, c'est-à-dire anticorps poly et monoclonaux, modèles animaux, etc...
- d) Techniques pour l'identification des produits de gènes pertinents, par exemple : translation in vitro en combinaison avec l'immunoprécipitation.
- e) Analyse séquentielle de l'ADN.
- f) Méthodes de synthèse chimique d'oligonucléotides.
- g) Electromicroscopie pour les études sur les acides nucléiques.
- h) Technologie des vecteurs. Il est probable que de nouveaux systèmes améliorés d'hôtes vecteurs eucaryotiques soient nécessaires pour la production de vaccins efficaces. Des systèmes d'hôtes vecteurs moins exigeants et meilleur marché utilisables dans des conditions assez rudimentaires doivent également être développés.
- i) Procédures pour le transfert de gènes, c'est-à-dire micro-injection et transfection. Méthodes immunofluorescentes.

- j) Techniques de cultures de tissus.
- k) Méthodes de culture à grande échelle de microbes et purification d'antigènes. Ce problème devrait être abordé en relation étroite avec d'autres programmes du CIGGB.
- l) Installations et techniques pour la purification et la préparation de vaccins stables et puissants.

L'équipement repris ci-dessous serait nécessaire :

L'équipement lourd requis par l'unité se compose comme suit :

- 4 ultracentrifugeuses
- 4 centrifugeuses à vitesse moyenne
- 5 centrifugeuses Eppendorf
- 4 autres centrifugeuses de table
- 1 machine à glace
- 5 bains-marie
- 2 lyophilisateurs
- 2 compteurs de scintillation
- 1 compteur gamma
- équipement d'électrophorèse comprenant les prises d'alimentation pour le séquençement de l'ADN
- 3 balances
- 2 congélateurs (-70°)
- microscopes à fluorescence et à lampes
- incubateurs
- spectrophotomètre
- HPLC
- ph-mètre
- étuve à vide
- installation pour la culture tissulaire et celle de bactéries.

Tableau 1

Installations et équipement à partager
avec d'autres groupes au CIGGB

- Lave-vaisselle et autres équipements de cuisine
- Equipements pour la préparation de bouillons (cellules animales, protozoaires et bactéries)
- Equipements de cultures tissulaires
- Laboratoire de retenue (P3)
- Unité d'électromicroscopie
- Unité FACS
- Laboratoire de séquençement des protéines (analyseurs d'acides aminés, séquenceurs, etc...)
- Unité de synthèse d'oligonucléotides (HPLC, équipement NMR, etc...)
- Equipement de synthèse des peptides
- Unité de production d'anticorps monoclonaux
- Equipement pour l'élevage des animaux de laboratoire
- Ordinateur et équipement accessoire
- Traitements de texte.



