

Les vers à soie : influence des pesticides, production d'interféron

Cécile Rigoulot Vignal

▶ **To cite this version:**

Cécile Rigoulot Vignal. Les vers à soie : influence des pesticides, production d'interféron. Sciences pharmaceutiques. 1996. dumas-01773961

HAL Id: dumas-01773961

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01773961

Submitted on 23 Apr 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UFR de Pharmacie
UNIVERSITÉ Grenoble Alpes
BIBLIOTHÈQUES UNIVERSITAIRES Grenoble Alpes
UNIVERSITÉ Grenoble Alpes
Grenoble INP

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n’a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l’utilisation de ce document.

D’autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

1er exemplaire

D 115 017956 0

UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE 1
U.F.R de PHARMACIE
Dmaine de la merci - La Tronche

ANNEE : 1996 **N° ORDRE** : 7022

LES VERS A SOIE : INFLUENCE DES PESTICIDES PRODUCTION D' INTERFERON

THESE

Présentée à l' université Joseph FOURIER - GRENOBLE 1
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par
Mme RIGOULOT ép. VIGNAL CECILE
[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 04 juillet 1996

Devant Madame le professeur PERA Président du jury
Monsieur TAILLANDIER
Monsieur RICHARD

BIBLIOTHEQUE INTERUNIVERSITAIRE
GRENOBLE
MEDECINE-PHARMACIE

UNIVERSITE Joseph FOURIER - GRENOBLE 1
U.F.R de PHARMACIE
Dmaine de la merci - La Tronche

ANNEE : 1996 **N° ORDRE** :

LES VERS A SOIE : INFLUENCE DES PESTICIDES PRODUCTION D' INTERFERON

THESE

Présentée à l' université Joseph FOURIER - GRENOBLE 1
pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par
Mme RIGOULOT ép. VIGNAL CECILE
[Données à caractère personnel]

Cette thèse sera soutenue publiquement le 04 juillet 1996

Devant Madame le professeur PERA Président du jury
Monsieur TAILLANDIER
Monsieur RICHARD



REMERCIEMENTS

Je remercie Madame PERA pour les conseils qu' elle m'a prodigué pour l' élaboration de cet ouvrage, et toute ma famille pour la patience et le soutien qu' elle m' a apporté.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

A) PHYSIOLOGIE DU VER A SOIE BOMBYX MORI

A-1 LA LARVE

A-1-1 DESCRIPTION

A-1-2 RESPIRATION ET CIRCULATION

A-1-3 L' APPAREIL DIGESTIF

A-1-4 LE SYSTEME NERVEUX

A-2 MODALITES DU DEVELOPPEMENT DU VER A SOIE

A-2-1 CYCLE DU DEVELOPPEMENT

A-2-2 LA MUE LARVAIRE

A-2-3 CONTROLE DES MUES ET DE LA METAMORPHOSE

A-3 SYNTHESE DE LA SOIE

A-3-1 ANATOMIE

A-3-2 SYNTHESE DE LA FIBROINE

A-4 LA SOIE

A-4-1 LA SERICINE OU GRES

A-4-2 LA FIBROINE

A-4-3 LE FIL DE SOIE

A-4-4 L' ELEVAGE DU VER A SOIE, BOMBYX MORI

A-5 LA NYMPHE OU CHRYSALIDE

B) LE SYNDROME DE NON FILAGE DU VER A SOIE

B-1 HISTORIQUE

B-2 CARACTERISTIQUES DU PHENOMENE

B-3 CAUSES DU SYNDROME DE NON FILAGE

B-4 LE FENOXYCARBE

B-4-1 FORMULE

B-4-2 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

B-4-3 FORMULATION
B-4-4 DESCRIPTION
B-4-5 EFFETS SUR LES INSECTES/ EFFICACITE INSECTICIDE

B-5 EFFETS DU FENOXYCARBE SUR LES VERS A SOIE
B-5-1 APLLICATIONS TOPIQUES
B-5-2 ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE
B-6 MODE D' ACTION DU FENOXYCARBE

C) LA SOIE EN COSMETOLOGIE

C-1 INTRODUCTION
C-2 PROPRIETES DES DERIVES DE SOIE
C-3 APPLICATIONS ET FONCTIONS

D) PRODUCTION D' INTERFERON CHEZ LE VER A SOIE

D-1 L' INTERFERON
D-1-1 MODE D' ACTION DES INTERFERONS
D-1-2 L' INTERFERON ALPHA
D-2 METHODE DE FABRICATION ACTUELLE DE L' INTERFERON
D-2-1 CLONAGE DES GENES DE L' INTERFERON ALPHA
D-2-2 EXPRESSION DE L' INTERFERON ALPHA
D-2-3 PRODUCTION DE L' INTERFERON ALPHA HUMAIN RECOMBINANT CHEZ E. COLI
D-3 VER A SOIE ET INTERFERON
D-3-1 METHODE DE PRODUCTION DE L' INTERFERON CHEZ LE VER A SOIE
D-4 LES APPLICATIONS THERAPEUTIQUES DE L' INTERFERON
D-4-1 LES INTERFERONS ALPHA
1) L' HERPES SIMPLEX VIRUS
2) LES PAPILLOMAVIRUS HUMAINS : HPV
3) TRAITEMENT DE L' HEPATITE B CHRONIQUE
4) TRAITEMENT DE L' HEPATITE C CHRONIQUE

5) LE SARCOME DE KAPOSI
6) LA LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE
7) LA LEUCEMIE A TRICHOLEUCOCYTES

D-5 LES EFFETS SECONDAIRES DE L' INTERFERON

D-5-1 TOXICITE AIGUE
D-5-2 TOXICITE CHRONIQUE

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Les insectes sont présents dans tous les biotopes et, à part quelques espèces, passent inaperçus aux yeux de la plupart des gens. A la suite de conditions particulières, dues ou non aux activités de l'homme, certaines espèces peuvent se mettre à proliférer et devenir de véritables fléaux. Pour cette raison, de tout temps, les hommes ont cherché à éliminer ces concurrents qui consommaient leurs cultures ou affaiblissaient hommes et animaux. Les méthodes de protection ont considérablement progressé ces dernières décennies en utilisant diverses approches. La plus importante reste l'emploi de molécules chimiques de synthèse : la lutte chimique.

La lutte chimique est principalement pratiquée avec des molécules neurotoxiques qui agissent en empoisonnant le système nerveux des insectes. Or, le fonctionnement du système nerveux des insectes est très comparable à celui des Vertébrés d'où des risques de toxicité pour ceux-ci. Malgré tout, ils restent limités car la toxicité d'une matière active fait appel à la notion de concentration, c'est-à-dire à une quantité de toxique par kg d'organisme traité. La taille restreinte de l'insecte limite la quantité nécessaire mettant partiellement à l'abri les Vertébrés de taille nettement supérieure. Toutefois, par le jeu des concentrations au cours des chaînes alimentaires, tout risque toxique ne peut être écarté. D'un niveau à l'autre, les taux accumulés augmentent, jusqu'à atteindre des valeurs très élevées dans les maillons terminaux (carnivores, rapaces, homme...) entraînant des risques de toxicité chronique.

Cette accumulation est également fonction de la stabilité de la molécule. Les molécules stables s'accumulent dans l'environnement et contaminent tous les organismes qui y vivent.

Deux notions sont fondamentales :

- la **rémanence**, à savoir la résistance du produit dans l'environnement et les êtres vivants, en relation avec leur stabilité chimique : les insecticides organochlorés (DDT, HCH, aldrine...) ou arsenicaux sont beaucoup plus persistants que les organophosphorés ou les pyréthrinoïdes ;

- l'**affinité pour** les tissus biologiques, en particulier la lipo-solubilité (solubilité dans les graisses) qui conditionne la fixation prolongée dans les organismes vivants.

Ces deux conditions nécessaires et suffisantes confèrent à un agent chimique un

pouvoir bio-cumulatif, c'est-à-dire une capacité à s'accumuler à partir du milieu dans les êtres vivants et à y persister.

Les insecticides organochlorés représentent le type même de ces substances bio-cumulatives, du fait de leur stabilité et de leur liposolubilité, ce qui leur vaut une toxicité chronique importante, d'où leur interdiction dans la plupart des applications agronomiques et vétérinaires .

Parmi les organochlorés,certains comme le lindane(isomère gamma de l' HCH) présentent un pouvoir bio-cumulatif et une toxicité chronique, nettement plus faibles, du fait d' une stabilité moindre.

De plus, la rémanence d' un insecticide peut présenter aussi des aspects positifs dans la mesure où elle permet une action anti-parasitaire nettement plus longue par rapport au produits moins stables et des traitements beaucoup moins fréquents.

En fait, depuis l' interdiction des organochlorés, la grande majorité des pesticides agricoles sont peu bio-cumulatifs, soit parce qu' ils sont dégradés assez rapidement, soit parce que, bien que persistants, ils ne sont pas liposolubles.

Cependant, une substance peu bio-cumulatives peut exercer une toxicité chronique non négligeable lors d' expositions répétées : l' accumulation de pesticides chez les espèces cibles peut entraîner des intoxications secondaires ou de relais, lorsque celles-ci sont ingérées par des prédateurs. C 'est le cas des pesticides anticoagulants qui s' accumulent dans le foie des rongeurs, dont la consommation répétée par des animaux domestiques ou des rapaces peut entraîner des mortalités par hémorragie.

En plus de tout cela, la présence constante des matières actives dans l' environnement, au même titre que leur utilisation répétée, provoquent l' apparition des phénomènes de résistance : pour obtenir la même efficacité, les quantités d' insecticides à employer seront plus importantes, ce qui va à nouveau amplifier les risques de résidus et de résistance. Une telle dynamique conduit à l' échec des traitements phytosanitaires et à la contamination de l' environnement.

La résistance est également favorisée lorsque le mode d' action est toujours le même ; il y a adaptation de la cible. Les molécules de structures différentes, mais de même mode d' action, perdent leur efficacité sur la cible. Afin de limiter les risques de

résistance, il faut donc diversifier les matières actives insecticides employées en prenant en compte leur mode d' action.

Il est donc nécessaire de poursuivre la recherche de molécules nouvelles ayant de nouveaux modes d' action et agissant sur d' autres cibles.

Il est important que ces nouvelles molécules ne soient pas toxiques sur les Vertébrés : il convient de choisir des cibles présentes chez les insectes et absentes ou minoritaires chez les Vertébrés. Pour cela, il est primordial de posséder une bonne connaissance de la biologie et de la physiologie des insectes et des Vertébrés. De nombreuses différences existent, au niveau des modalités de croissance, d' où la mise au point de nouvelles molécules appelées **REGULATEURS DE CROISSANCE DES INSECTES.**

Ces régulateurs de croissance d' insectes, agissant spécifiquement sur des cibles propres aux insectes ne sont en théorie pas toxiques chez les Vértébrés. Par contre, on a pu récemment observer des dégâts au sein des insectes utiles (vers à soie, abeilles...) après utilisation d' un de ces régulateurs de croissance, le fénoxycarbe. Ce phénomène a été observé en premier en Italie dans les élevages de vers à soie. Ceux-ci ne filaient plus de cocons.

Dans une première partie, nous étudierons la physiologie du ver à soie, Bombyx mori, afin de mieux comprendre l' action du fénoxycarbe sur celui-ci.

Une seconde partie traitera du syndrôme de non filage chez le ver à soie. Nous développerons l' action du fénoxycarbe sur Bombyx mori.

Une troisième partie développera l' intérêt du ver à soie en cosmétologie.

Enfin, une quatrième partie traitera de l' intérêt du ver à soie Bombyx mori en thérapeutique et de la production d' interféron par celui-ci lors d' une infection par un baculovirus recombinant.



A)PHYSIOLOGIE DU VER A SOIE BOMBYX MORI

Les insectes sont divisés en plusieurs familles et il est impossible d' expliquer la physiologie de tous les insectes. Nous nous baserons donc ici sur le ver à soie ou Bombyx Mori, de l' ordre des Lépidoptères et de la famille des Bombycidés.

Le ver à soie est un insecte holométabole, c' est à dire à métamorphose complète avec passages successifs de l' oeuf à la larve, puis à la nymphe ou pupe ou chrysalide, et enfin à l' adulte ou imago.

Après l' accouplement, les embryons, à l' intérieur des oeufs, ont une vie ralentie pendant plusieurs mois avant d' éclore : ce temps variable est appelé diapause.

Seule la larve s' alimente et elle se nourrit exclusivement de feuilles de mûriers. On dit que le ver à soie est un insecte monophage.

Les caractéristiques de l' ordre des Lépidoptères sont :

- deux paires d' ailes membraneuses recouvertes d' écailles chez l' adulte
- des pièces buccales de type suceur chez l' adulte
- une larve éruciforme ressemblant à une chenille
- la nymphe est immobile

La famille des Bombycidés a pour caractéristique principale l' absence de trompe chez l' adulte qui ne se nourrit pas.

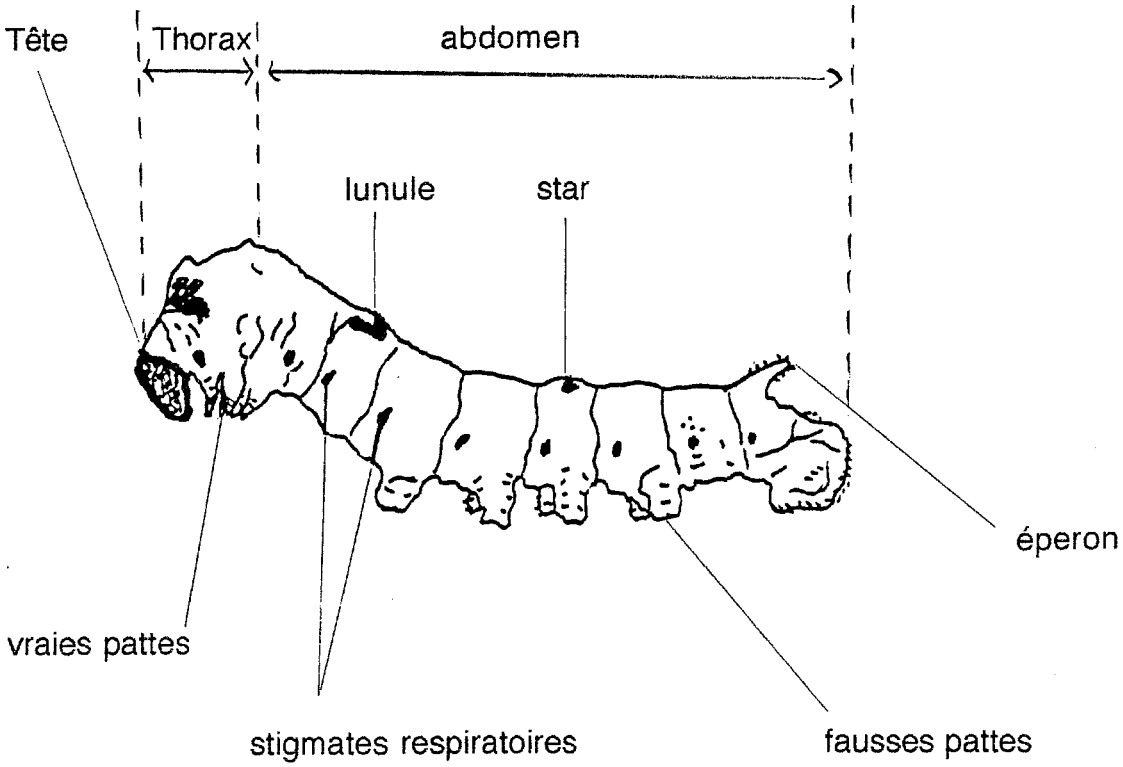
A . 1 LA LARVE

A . 1 . 1 DESCRIPTION

La larve de Bombyx Mori comprend trois parties:

_ la tête, de petite taille , porte deux antennes , deux groupes de six yeux ou ocelles et l'ensemble des pièces buccales composées :

- en haut, le labre et une paire de mandibules qui servent à découper la nourriture
- en bas, la lèvre inférieure comprenant une paire de mâchoires ou maxilles sans rôle masticateur , et le labium soudé à l' hypopharynx. Au centre du labium, la filière permet l'émission de la soie .



LARVE ERUCIFORME DE BOMBYX MORI (45)

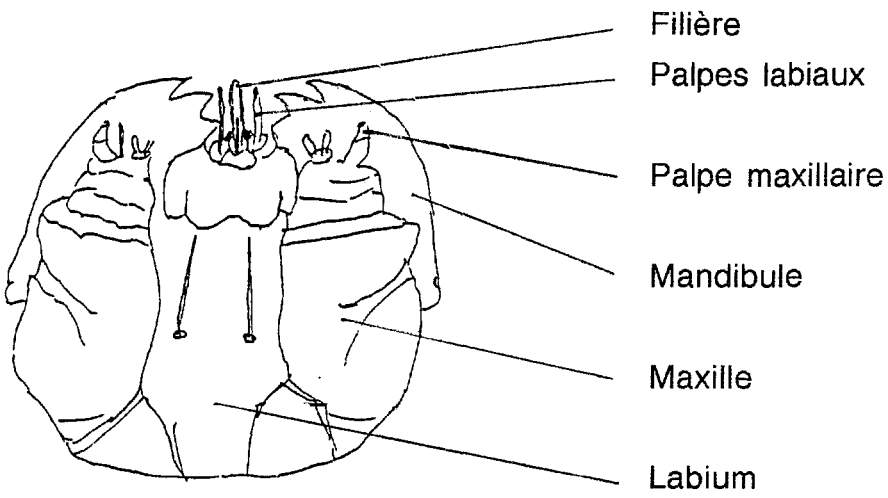
- le thorax est composé de trois segments :

  - le prothorax
  - le mésothorax
  - le métathorax

Ces trois segments portent chacun une paire de vraies pattes non fonctionnelles mais jouant un rôle mécanique et peut-être sensitif dans l' identification de la nourriture.

_ l'abdomen comprend neuf segments dont cinq portent une paire de fausses pattes munies de crochets , servant à la locomotion.

La chenille respire par neuf paires de stigmates disposés de chaque coté du corps.La cavité générale est remplie par des cellules graisseuses organisées en tissu adipeux.



LEVRE INFERIEURE DE CHENILLE(45)

A . 1 . 2 RESPIRATION ET CIRCULATION

Le corps de la larve est recouvert d'un tégument chitineux , la cuticule formée de trois couches :

- l' endocuticule
- l'exocuticule
- l'épicuticule

La cuticule est recouverte de soie et porte les glandes de Verson. Elle est percée de neuf paires de stigmates par où l'air pénètre et arrive dans deux troncs latéraux d'où partent des trachées qui se ramifient en trachéoles.

Il existe une spécialisation des stigmates , inspirateurs à l'avant , et expirateurs à l'arrière . Les trachéoles ne laissent plus passer l'air gazeux: elles sont remplies d' un liquide qui sert de transporteur pour les gaz dissous.

L'appareil circulatoire comporte un vaisseau médian dorsal ou " coeur " fermé à l'arrière. Il est constitué d'une série de chambres ou ventricules bordés de muscles: les muscles aliformes qui représentent le diaphragme dorsal.

Chaque chambre communique avec la cavité péricardiale par deux orifices: les ostioles.

A partir du thorax, l'appareil circulatoire est un simple tube ou " aorte " ouvert au niveau de la tête. Lorsque les muscles aliformes se contractent , les ostioles s'ouvrent et le sang rentre dans les ventricules. Le relâchement des muscles aliformes entraîne la contraction des ventricules et le sang est propulsé vers l' avant. De l' aorte, il tombe dans les lacunes du corps , chemine de l'avant vers l'arrière dans le sinus périneural poussé par les contractions du diaphragme ventral. Le sang repasse dans la cavité péricardiale et à nouveau dans le vaisseau dorsal.

Sur le diaphragme dorsal se trouvent des cellules péricardiales ou néphrocytes qui auraient un rôle d'épuration .

Le nombre de battements est sensible à l'activité du ver : ils sont plus importants quand la larve se déplace ou s'alimente , et diminuent proportionnellement lors d'une baisse de température .

Le liquide circulant appelé hémolymphe contient des substances diverses apportées par l'alimentation et des éléments spécifiques : les hémocytes dont les

plus importants sont les granulocytes . Ces derniers jouent un rôle dans la phagocytose et lors de la coagulation de l'hémolymphe.

A . 1 . 3 L' APPAREIL DIGESTIF

Les glandes salivaires sont dites mandibulaires , elles se déversent dans la bouche à la base des mandibules . Les glandes labiales très développées représentent les glandes séricigènes.

Le tube digestif se compose de trois parties :

- L' intestin antérieur
- L' intestin moyen
- L' intestin postérieur

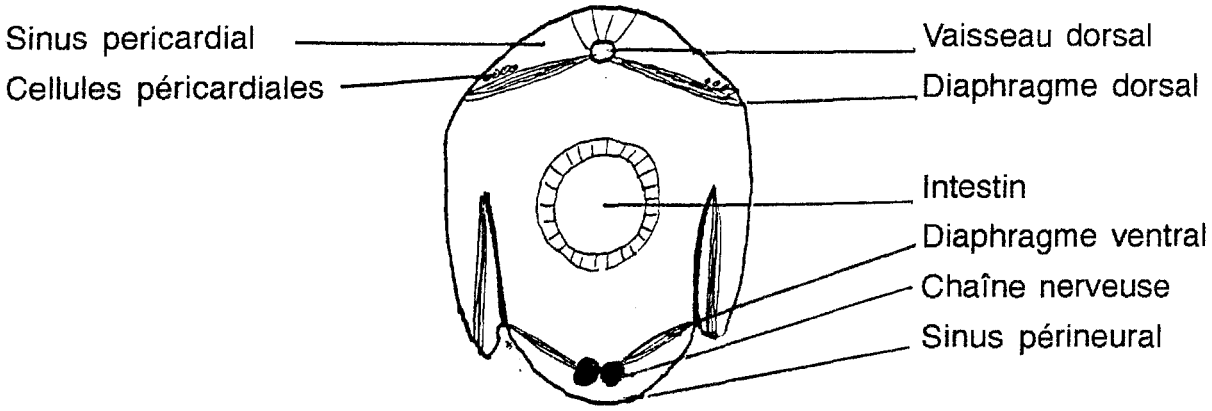
L'absorption digestive ne se fait qu'au niveau de l'intestin moyen. Les intestins antérieur et postérieur d' origine ectodermique ont leur paroi interne recouverte de cuticule imperméable .

La larve n'émet que des excrétats solides , provenant du tube digestif et des tubes de Malpighi. L' intervalle entre deux excrétions est très régulier, de soixante à quatre vingt dix minutes . Lorsque le ver est malade ,la fréquence des excrétions augmente , ce qui permet de contrôler son état de santé.

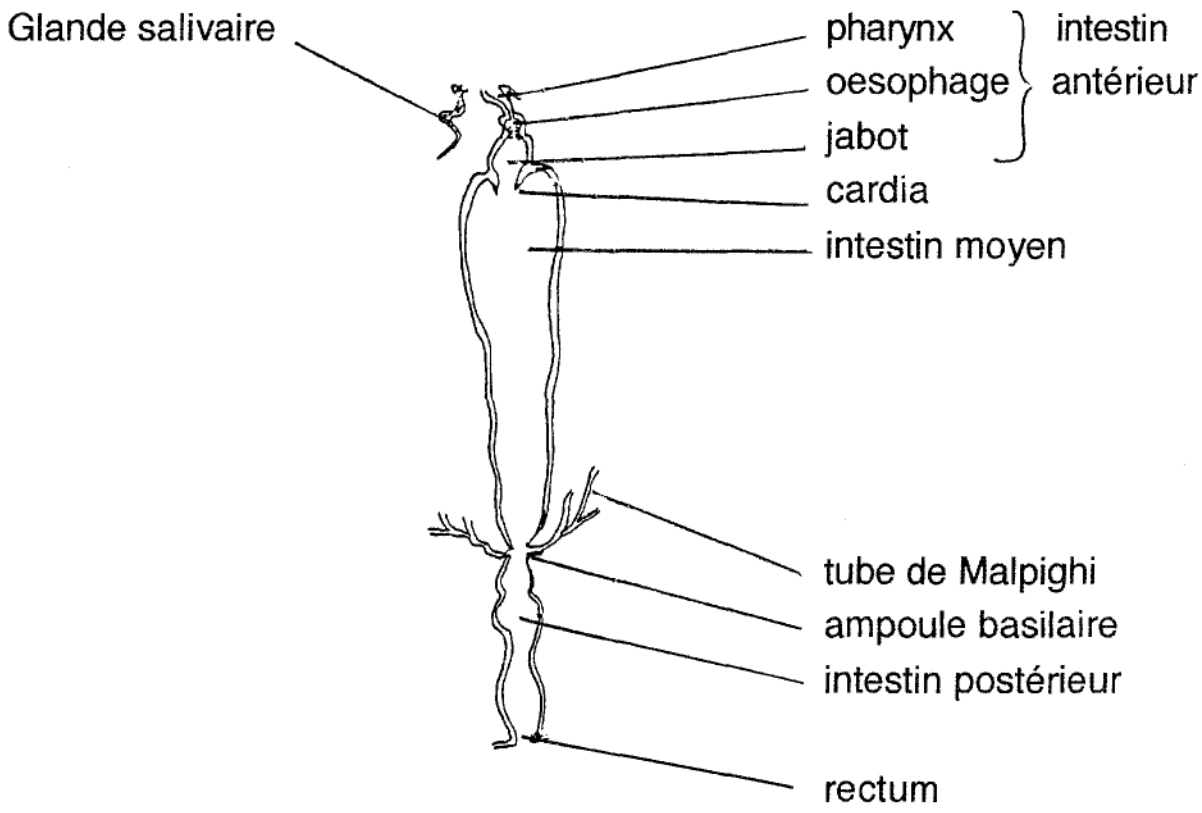
Les tubes de Malpighi ont une fonction excrétrice et régulatrice de l'eau prélevée au niveau de l'intestin postérieur.

Les tubes de Malpighi accumulent des substances provenant du rectum et du sang qui cristallisent et qui sont évacuées lors de la mue avec l' ancienne cuticule.

L'eau représente 50 % des excrétions.



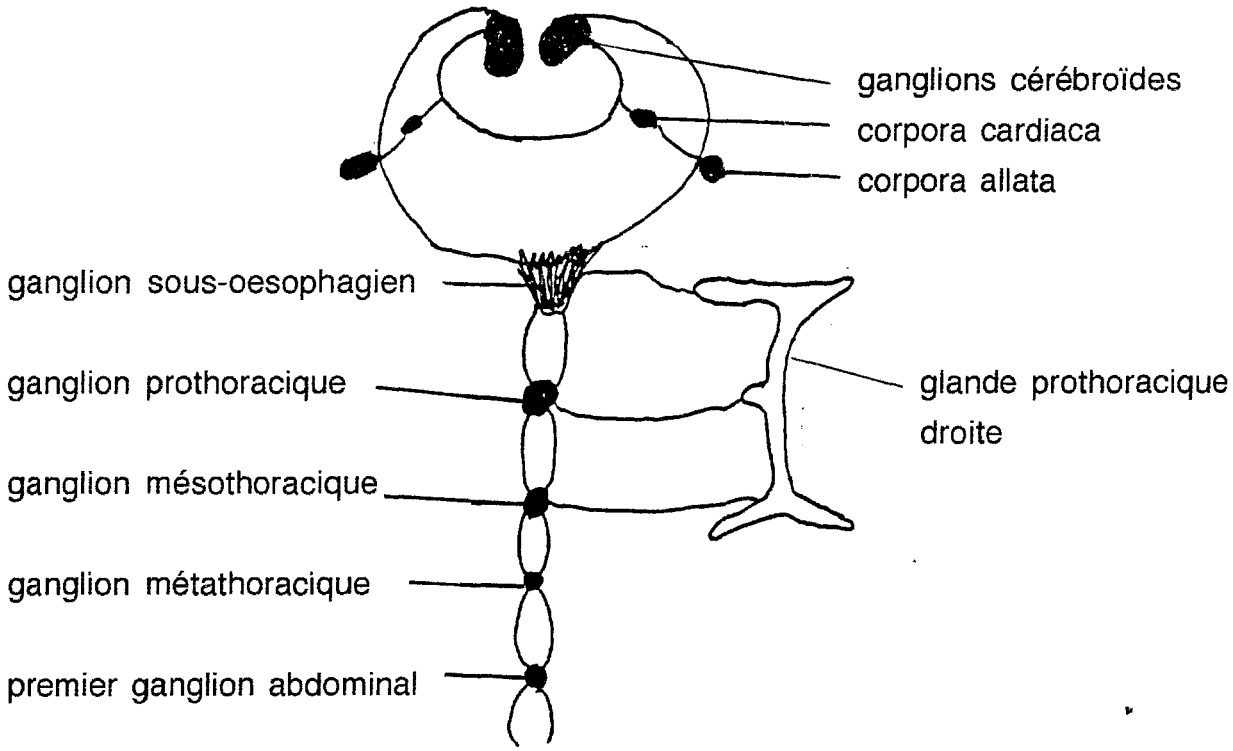
COUPE TRANSVERSALE D' ABDOMEN (45)



SHEMA DU TUBE DIGESTIF DE LA CHENILLE (45)

A .1 . 4 LE SYSTEME NERVEUX

Les organes du système nerveux sécrètent les hormones qui contrôlent la mue. Les organes sont composés de la tête de ganglions cérébroïdes contenant les cellules de la Pars intercerebralis.
Parmi les hormones sécrétées , la PTTH (hormone prothoracotrope) stimule la glande prothoracique.
Les deux glandes prothoraciques produisent l' ecdysone.
Les corps allâtes (corpora allata ou CA) produisent l'hormone juvénile.
Le ganglion sous-oesophagien produit l' hormone de diapause.
Il existe une chaîne ganglionnaire ventrale à double filet nerveux et comportant trois ganglions thoraciques et sept ganglions abdominaux.
Les corpora cardiaca (CC) sont un relais aux neurohormones.



SYSTEME NERVEUX CHEZ LA LARVE (45)

A . 2 MODALITÉS DU DÉVELOPPEMENT DU VER A SOIE

A . 2 . 1 CYCLE DU DÉVELOPPEMENT

La femelle pond ses oeufs à la surface du végétal qui servira de nourriture pour les larves à venir . Après quelques jours , une jeune larve appelée chenille éclot . Sa taille est très réduite . Très rapidement, la jeune chenille commence à s'alimenter . Au bout de quelques jours , elle arrête de se nourrir , s'immobilise et s'extrait d'un fourreau qui reste fixé au végétal . L' activité de la chenille reprend et elle recommence à s' alimenter.

La croissance larvaire est interrompue par quatre mues . Ces mues définissent cinq stades larvaires successifs ou âges , dont la durée totale est d' environ un mois . A la naissance, la chenille mesure trois millimètres et pèse 0,5 milligramme . Elle est velue et noire , mais en grandissant elle perd ses poils et devient blanche . Le cinquième stade est le plus important car de la taille de la larve dépendra la taille du cocon .Cette larve adulte mesure près de huit centimètres . Elle pèse environ 4,5 grammes , les femelles étant plus lourdes que les mâles .

La croissance permet de distinguer deux grandes phases :

- Une croissance régulière du premier au troisième âge
- Une croissance plus importante concernant les quatrième et cinquième âges où certains organes ont un développement considérable , comme les glandes séricigènes , les ébauches génitales ou les glandes mandibulaires .

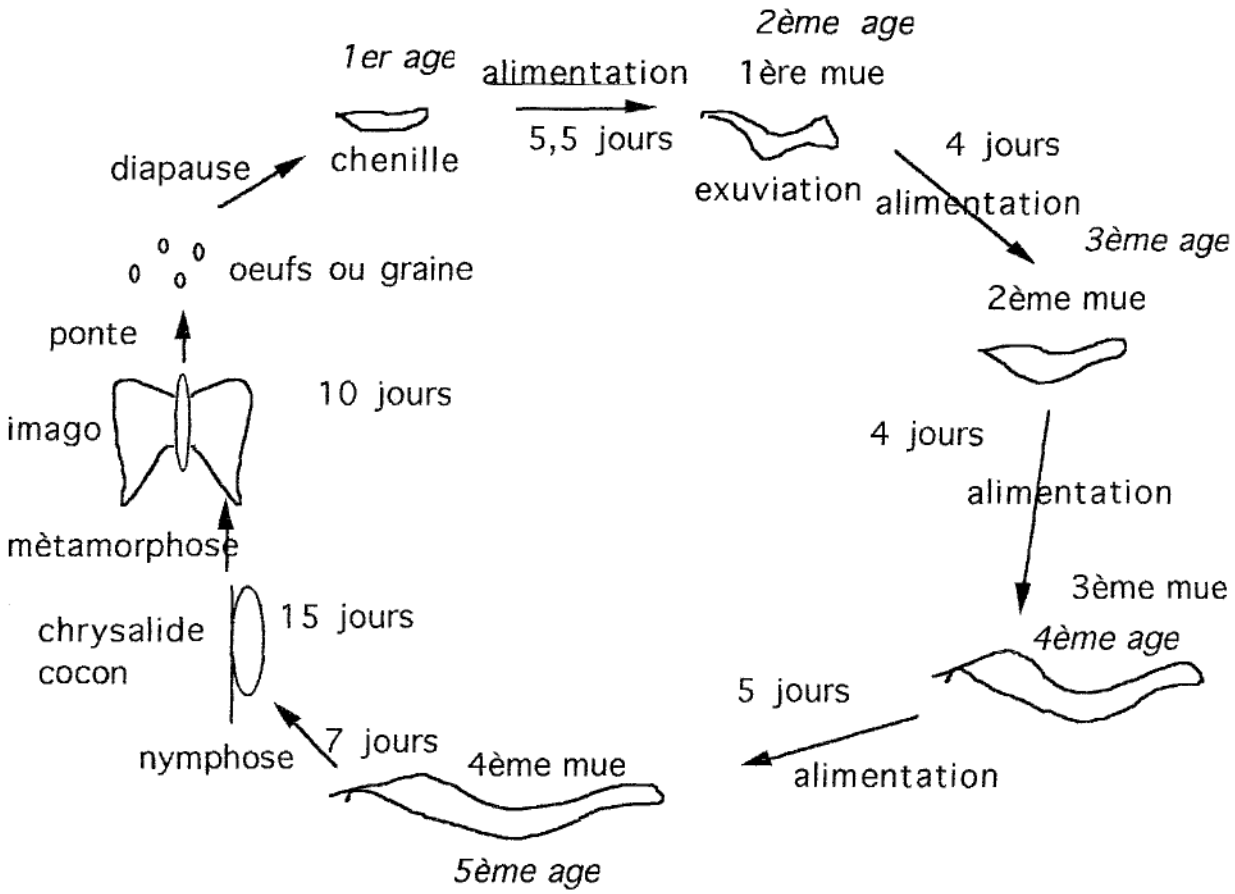
Le ver à soie a donc son poids multiplié par 10 000 par rapport à l' éclosion . Cette croissance est l' une des plus rapides que l' on connaisse dans le règne animal .

A la fin de la vie larvaire, la chenille est très vorace . Au bout de quelques jours, elle arrête de s'alimenter et part à la recherche d'un emplacement où elle commence à tisser un tapis de soie . Elle y fixe l'extrémité de son abdomen et s'entoure d'une ceinture . Immobile dans cette position, une déchirure se produit à l' arrière de la tête et laisse apparaître une nouvelle forme : **la chrysalide** .

Comme au cours des mues précédentes , la cuticule larvaire est éliminée . En fait, la

mue correspond au changement du revêtement externe de la larve , c'est à dire à un renouvellement de la cuticule . Cette étape favorise la croissance de l'insecte .
La chrysalide a une biologie particulière . Lors de la métamorphose , elle se transforme en adulte . La cuticule se déchire à son tour en fin de stade nymphal et en sort le papillon adulte . Ainsi recommence un nouveau cycle de développement .

CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE BOMBYX MORI



Le développement est ainsi constitué de mues , étapes nécessaires pour permettre la croissance de l'insecte se matérialisant par un renouvellement de la cuticule produite par les cellules épidermiques .
Tous les muscles sont fixés sur la cuticule , ce qui implique qu' ils s'en détachent lorsqu'elle est éliminée au moment de la mue .

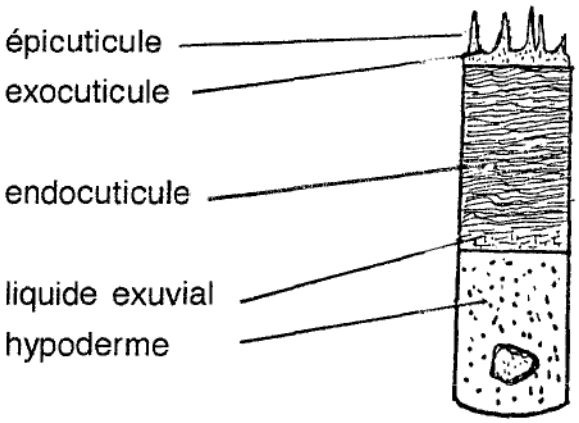
A . 2 . 2 LA MUE LARVAIRE

L'insecte est enveloppé d'un tégument constitué de cellules épidermiques internes et d'une cuticule externe . La cuticule est une production des cellules épidermiques qui se fait de façon discontinue pendant les stades du développement . Les cellules épidermiques sont donc le siège de la synthèse de tous les éléments constitutifs de la cuticule : c'est de ce fait un tissu cible à atteindre pour altérer la mise en place de la cuticule .
Cette dernière est une structure principalement composée de protéines et de chitine. La chitine est un polymère d'un sucre , **le Nacétylglucosamine** . Chitine et protéines sont exportées par les cellules épidermiques et associées à d'autres composants pour donner à la cuticule ses propriétés mécaniques .

DEVELOPPEMENT DE LA MUE

a - APOLYSE

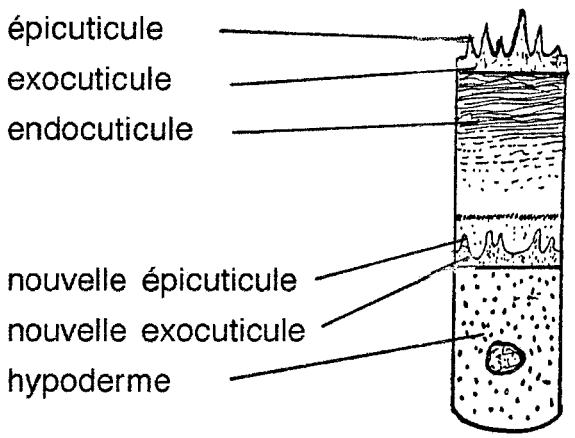
Décollement cuticulaire et sécrétion du liquide exuvial



L'épicuticule est imperméable ; elle contient de la cire , des lipides et des tanins . L'exocuticule est constituée de chitine et de sclérotine pigmentée . L'endocuticule est riche en chitine non pigmentée .
A chaque mue, l'alcalinité du milieu intérieur augmente . Les glandes de Verson , situées sous le tégument , sécrètent des enzymes qui digèrent l'endocuticule. Seules l' épi- et l'exocuticule sont éliminées au moment de la mue .

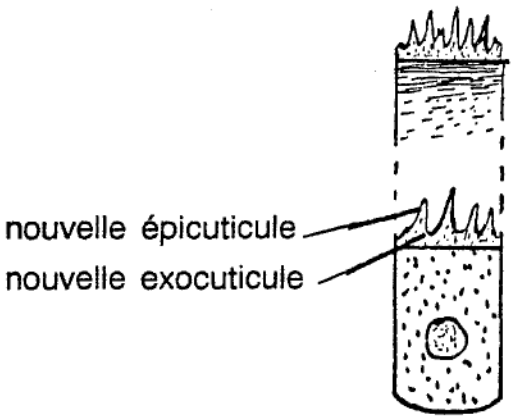
b - DIGESTION DE L'ENDOCUTICULE

Nouvelle synthèse de l'exocuticule et de l'épicuticule.

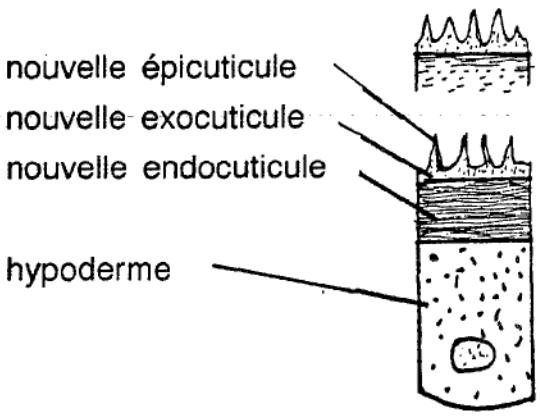


c - EXUVIATION OU ECDYSIS

Détachement de la vielle cuticule



d - EDIFICATION DE LA NOUVELLE ENDOCUTICULE



Il y a ecdysis entre chaque stade larvaire 1-2, 2-3, 4-5, 5- chrysalide et chrysalide papillon .
Pour que les mouvements nécessaires à la mue puissent avoir lieu, il faut que les muscles soient opérants, c'est à dire qu'ils soient fixés à la cuticule .
La cuticule larvaire du stade 5 est donc présente avant l'ecdysis 4-5 . Le liquide exuvial contient plusieurs enzymes capables de digérer les composants principaux de l'endocuticule , à savoir des protéases qui dégradent les protéines et une chitinase et chitobiase qui digèrent la chitine en chitobiose puis en Nacétylglucosamine .
La dégradation de la cuticule assure trois fonctions :

- Fragiliser la cuticule pour favoriser son déchirement au moment de la mue

- Dissocier la cuticule en particulier dans les zones d'ancrage des muscles

- Rendre réutilisables les constituants de la cuticule par les cellules épidermiques comme apport d' énergie pour la synthèse de la cuticule du stade suivant.

Nous pouvons donc constater que toute altération de la mise en place de la cuticule sera préjudiciable à la survie de l'insecte . Un insecte qui ne peut pas muer ne survit pas .
Il est à noter que de telles mues se produisent également dans l'oeuf car il existe toujours une ou plusieurs mues embryonnaires .

A-2-3 CONTROLE DES MUES ET DE LA METAMORPHOSE

La mue n'est pas un phénomène aléatoire . Pour une espèce donnée , elle apparaît à des intervalles de temps réguliers pour chacun des stades larvaires . Il existe donc des mécanismes de contrôle qui harmonisent l' activité des cellules pour que tout soit en place au moment de la mue . **Il s'agit d'un contrôle hormonal** .
Des signaux perçus au niveau du cerveau déclenchent la synthèse de médiateurs chimiques qui vont activer les glandes endocrines : glandes prothoraciques et corps allâtes .

Les glandes prothoraciques synthétisent l' hormone de mue , qui après transformation , va déclencher les synthèses nécessaires à la mue dans les cellules épidermiques . La production de l'hormone de mue est indispensable à chaque stade . Il n' y aura plus d' hormone de mue chez les adultes .

Les corps allâtes synthétisent les hormones juvéniles qui vont déterminer le type de la mue . Tant que la concentration des hormones juvéniles est importante, la mue garde son caractère juvénile, c'est à dire larvaire .
Lorsque la concentration d' hormone juvénile diminue , la mue perd en partie les caractères juvéniles , ce qui provoque une mue nymphale .
En l'absence d'hormone juvénile , la transformation conduit à l'obtention des adultes.
Contrairement aux hormones de mues, les hormones juvéniles sont à nouveau synthétisées chez l' adulte où elles interviennent dans la reproduction en favorisant la maturation ovocytaire.
Les hormones sont libérées dans le sang de l' insecte en très faible quantité et pendant des périodes limitées . Après avoir atteint les tissus cibles , les hormones sont métabolisées et inactivées. Toute interférence sur le mode d' action de ces hormones perturbe la formation de la cuticule d'où mort de l'insecte .

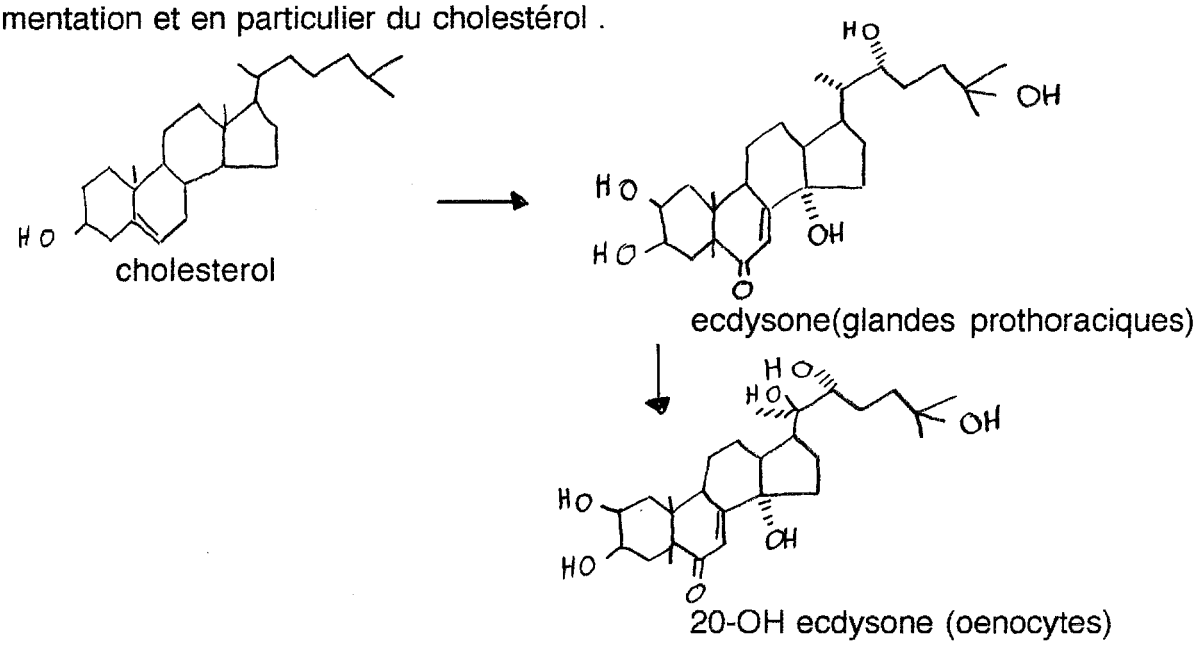
a) LES HORMONES DE MUE

La mue résulte de l'action des hormones de mue et des hormones juvéniles . Les hormones de mue sont des stéroîdes . On trouve l' ecdysone .
L' ecdysone est un stéroîde dérivé du cholestérol . Elle est sécrétée par la glande prothoracique et est activée par une neurohormone, ***la PTTH***, synthétisée par la pars intercerebralis .
L' ecdysone n' est pas seulement l 'hormone de mue : les pics hormonaux qui précèdent les quatre mues larvaires ainsi que la mue nymphale sont très faibles en comparaison aux très fortes concentrations observées durant les périodes précédant le développement larvaire .
L'essentiel de son action est en fait étroitement lié à d' importants phénomènes morphogénétiques tels que la formation de l'oeuf ou le développement de l'embryon.

L' ecdysone n' est pas l' hormone active chez la larve : c'est l' ecdystérone ou 20-OH ecdysone qui est active . Sa synthèse se fait surtout à la fin du cinquième stade , en vue de la mue nymphale .

Les oenocytes seraient le siège de la conversion ecdysone-ecdystérone. Ce sont de grosses cellules groupées au voisinage des stigmates et en relation avec le réseau trachéen.

Les hormones sont synthétisées à partir des stérols que l' insecte trouve dans son alimentation et en particulier du cholestérol .



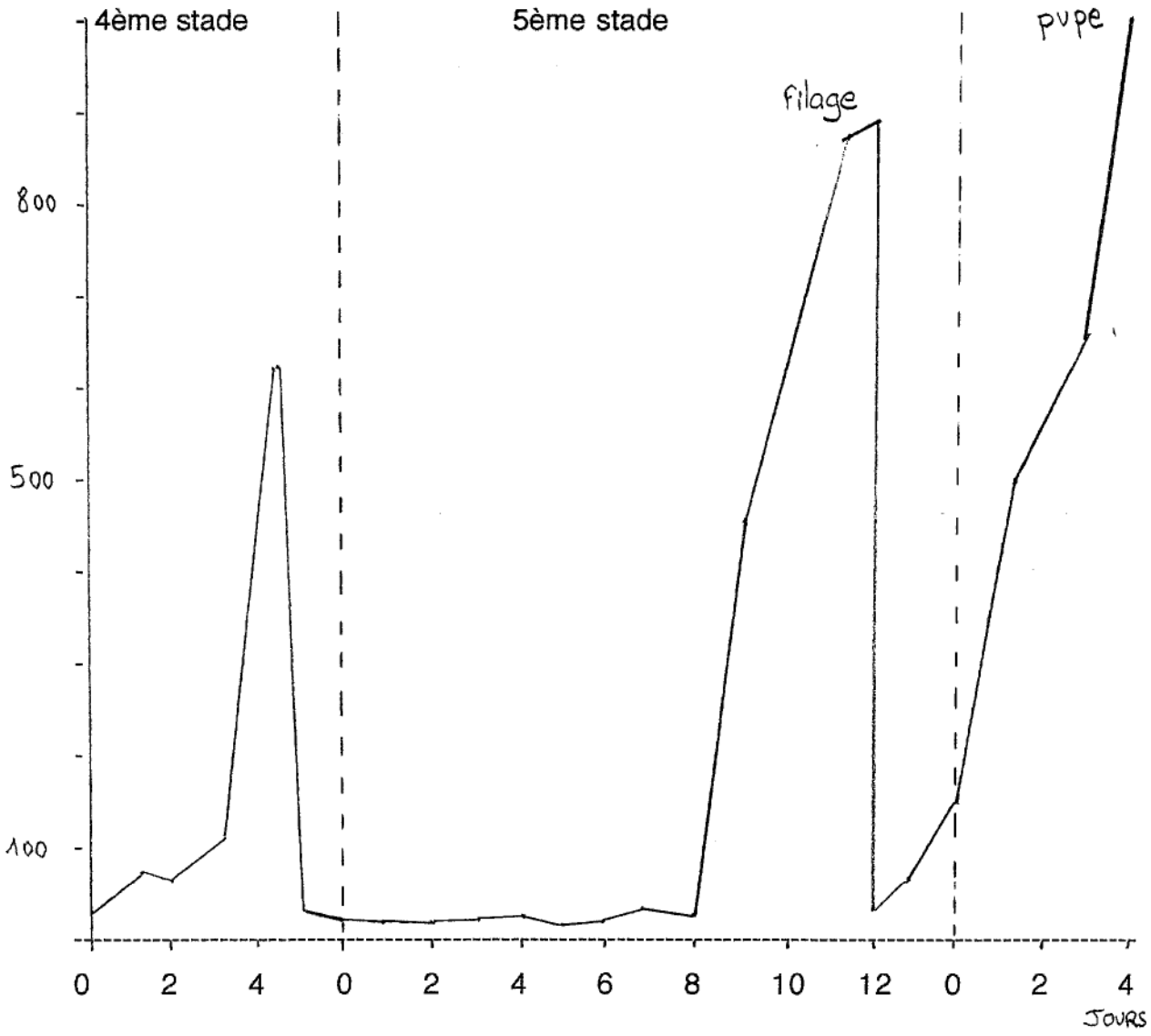
SYNTHESE DE L' ECDYSONE CHEZ LA LARVE

Avant chaque mue larvaire , il y a accumulation de PTTH au niveau cérébral . Celle-ci est déversée dans la glande prothoracique , ce qui déclenche la synthèse de l'ecdysone .

Pendant la période d' alimentation , le taux d' ecdysone reste bas . Un bref pic apparaît peu avant la mue au moment de la période de jeûne qui la précède . Il existerait une relation entre la prise de nourriture et la sécrétion d' ecdysone . La prise de nourriture inhiberait la sécrétion d' ecdysone ou l'inverse .

cette hypothèse est confirmée par l'expèrience suivante : l'injection d' ecdysone au quatrième ou cinquième stade entraîne l' arrêt de la prise de nourriture .

L' ecdystérone provoque par l'intermédiaire d' enzymes la synthèse de la nouvelle épicuticule superficielle et la digestion de l'endocuticule .
Elle active la synthèse de la fibroïne et accélère la maturation de la larve au cinquième stade . Elle agirait sur la lyse de la glande séricigène après le filage .
Quand on injecte de l'ecdysone au cinquième stade , des signes de cytolyse apparaissent dans la glande séricigène , alors que normalement , on met ces signes en évidence lors de la métamorphose en nymphe .
L'injection de l'ecdystérone après la quatrième mue amène la formation d'une nouvelle épicuticule et des mues surnuméraires .



VARIATION DU TAUX D' ECDYSONE AU COURS DU 5ÈME STADE MESUREE PAR RADIOIMMUNOLOGIE (45)

b) LES HORMONES JUVENILES

Les hormones juvéniles sont synthétisées au niveau des corps allâtes et transportées , liées à des protéines , jusqu'aux tissus cibles . La quantité d'hormones juvéniles dans le ver à soie est de l'ordre de quelques picogrammes . Il s'agit de molécules très efficaces .Elles sont présentes à des moments bien précis de chaque stade de développement .

Pendant les premiers stades larvaires, les hormones juvéniles sont toujours présentes et sont à l'origine du maintien des caractères larvaires . L' application d' analogues ou de mimétiques pendant ces périodes de développement reste sans effet . Ce n'est que lorsque la teneur en hormones juvéniles diminue que l' on modifie le déterminisme de la mue , en maintenant les caractères larvaires .

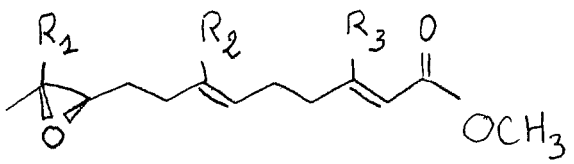
En fait, les hormones juvéniles prolongent la vie larvaire , elles induisent la pigmentation dans la glande séricigène et inhibent la spermatogénèse .

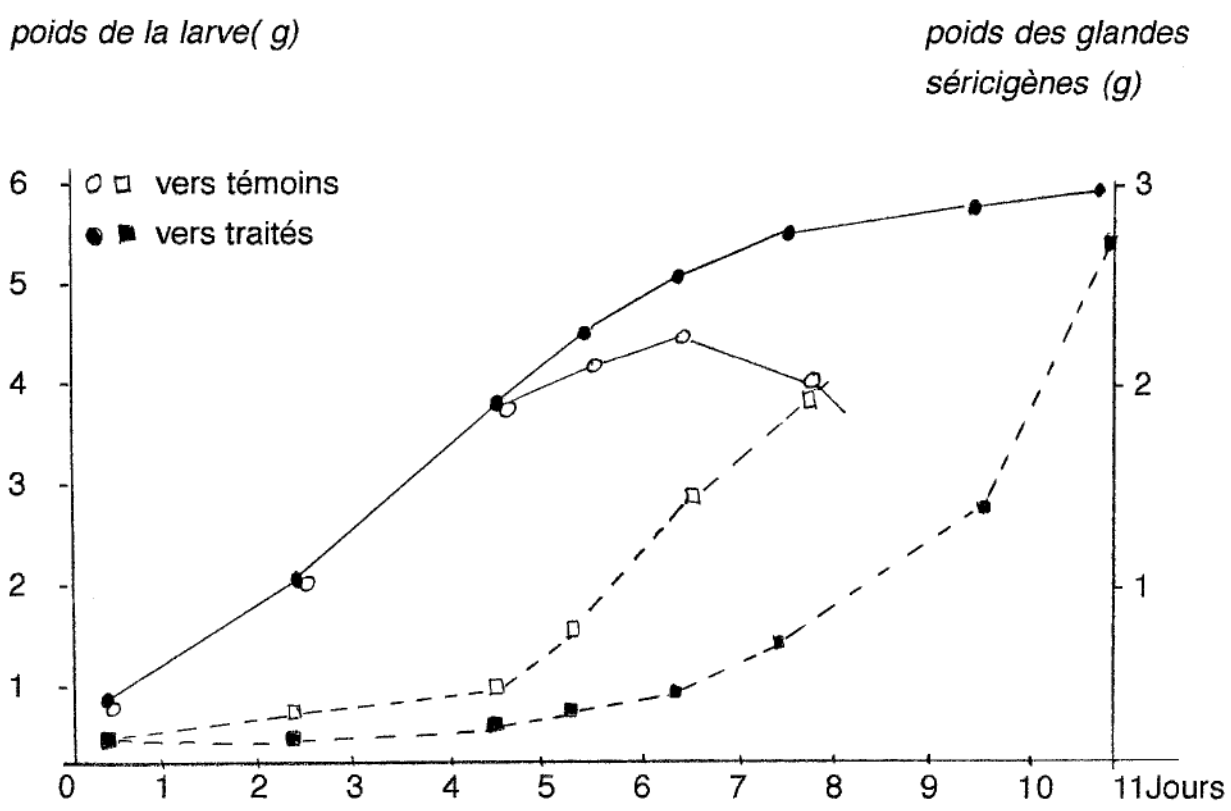
L'inhibition des corps allâtes permet une mue nymphale : si on retire les corps allâtes à une larve, elle subit une mue nymphale précoce. Les hormones juvéniles contrôlent également la coloration du corps larvaire et des ornementations tégumentaires pendant la mue .

Les hormones juvéniles peuvent être utilisées pour accroître la production de soie . On utilise pour cela des analogues synthétiques de l'hormone juvénile . Lorsque ces dérivés sont pulvérisés sur des larves en cinquième stade , on obtient des larves plus grandes , aux glandes séricigènes plus développées et fournissant des cocons plus gros . En fait, le moment de la pulvérisation est très important . Au milieu du stade , elle provoque un arrêt du développement de la glande séricigène . A la fin du stade , les larves ne filent pas et font une mue supplémentaire avant de mourir , en raison du taux élevé d' ecdysone et de l' apport d ' hormones juvéniles . Au début du stade , au troisième ou quatrième jour, la pulvérisation entraîne une amplification de la synthèse de la soie de l'ordre de cinquante pour cent .

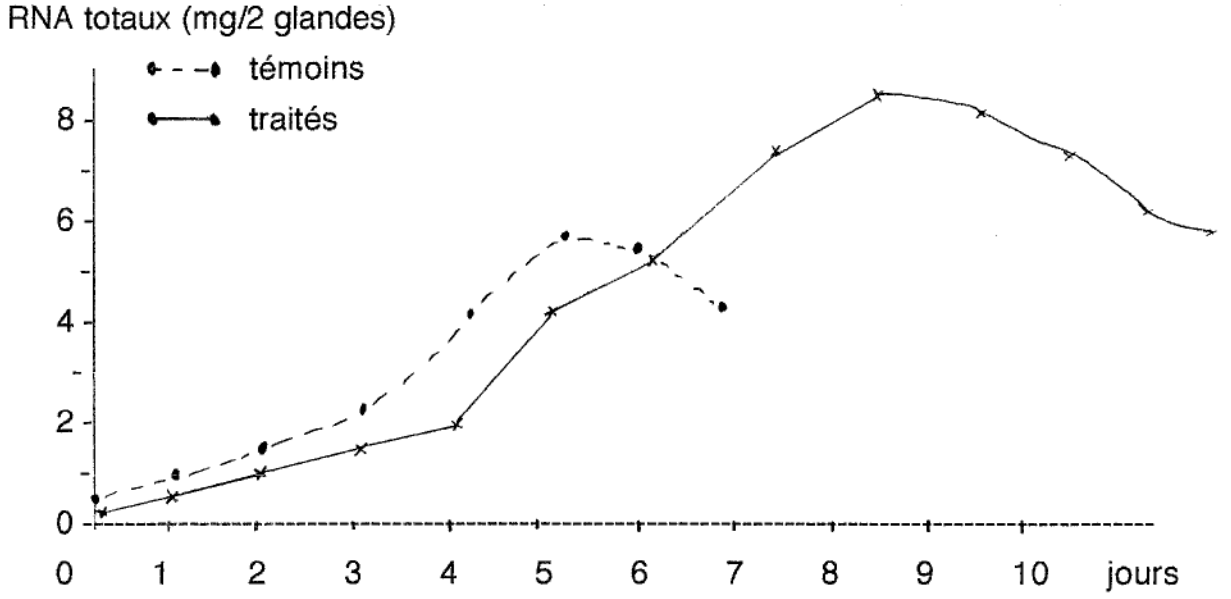
Structure chimiques des hormones juvéniles

HJ 0 : R1 = R2 = R3 = C2H5
HJ1 : R1 = R2 = C2H5; R3 = CH3
HJ2 : R1 = C2H5 ; R2 = R3 = CH3
HJ3 : R1 = R2 = R3 = CH3





EFFETS DE L' HORMONE JUVENILE SUR LE POIDS DE LA LARVE (⟶), ET DES GLANDES SERICIGENES (⟵ - ⟶) . (45)



AUGMENTATION DE LA QUANTITE DE RNA TOTAUX DANS LES GLANDES SERICIGENES SOUS L' ACTION DE L'HORMONE JUVENILE (45)

c) INFLUENCE DE L'ALIMENTATION SUR LES MUES LARVAIRES

Dans des conditions standards , (22 ° C et quatre repas par jour) , les mues ont lieu au bout d'un nombre constant de repas .

STADE	DUREE	NOMBRE DE REPAS
1	5,5 jours	20 à 22
2	4 jours	16 à 18
3	4 jours	16 à 18
4	5 jours	20 à 22
5	7 jours	28 à 30

L'intermue est caractérisée par deux périodes :

- Une période d' alimentation obligatoire de durée variable , dépendant du poids du ver , donc de la prise de nourriture . c'est une période d' accumulation des réserves et si on soumet la larve au jeûne , la mue suivante n'aura pas lieu .

- Une période d'alimentation facultative de durée fixe , indépendante du poids et qui , si on soumet le ver au jeûne n'empêchera pas la mue .

En dehors du jeûne absolu , lorsque les conditions d' alimentation ne sont pas satisfaisantes , il se produit une cinquième mue larvaire . Par contre , en cas de suralimentation , il n' y aura pas de quatrième mue .

Le cinquième stade est dépendant des périodes d'alimentation obligatoire (1) et facultative (2) .

Le ver est programmé pour un développement larvaire jusqu'à la fin de la période 1 : le quatrième jour. A partir du cinquième jour, débute la période 2 : le programme nymphal est en préparation , mais il ne sera déclenché que par l'augmentation du taux des ecdystéroïdes à partir du huitième jour . L'injection artificielle d'ecdysone à partir de cette période 2 provoque une mue nymphale complète , alors que si l'ecdysone est injectée pendant la période 1 , le ver fera une mue larvaire supplémentaire .

A . 3 SYNTHESE DE LA SOIE

La synthèse de la soie se fait par l' intermédiaire des glandes séricigènes .

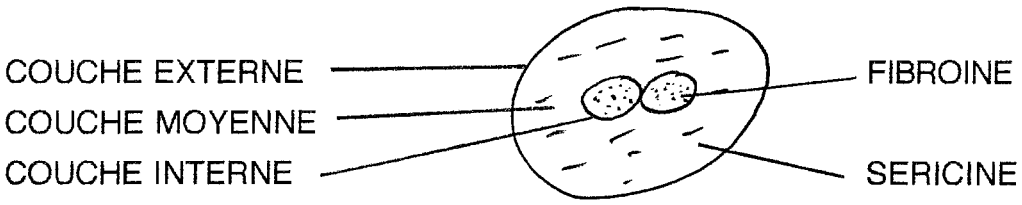
A-3-1- ANATOMIE

Les glandes séricigènes de la larve sont en fait les glandes labiales . Ce sont des organes pairs .

Chacune d'elles , étroite et allongée , présente trois zones distinctes :

- Une partie postérieure , le sécréteur qui produit la fibroïne
- Une partie moyenne , le réservoir qui produit la séricine ou grès
- Une partie antérieure , le conducteur .

La séricine est formée de trois couches provenant de différents niveaux du tube moyen . Les deux conducteurs se rejoignent pour former le tube fileur. A ce niveau arrivent les sécrétions des glandes de Lyonnet ou de Filippi dont on ne connaît pas le rôle exact . Les deux fils s' accolent l' un à l' autre au moyen de la couche de grès qui les entoure . Ensuite, la soie passe par la presse , renflement fortement musclé du tube fileur. A ce niveau , la lumière du tube , en coupe transversale a la forme d' un croissant . Le fil est aplati et comprimé . Après ce passage , les deux fils sont accolés par la couche interne de fibroïne .



COUPE TRANSVERSALE D' UN FIL DE SOIE

A l' extrémité du tube fileur , se trouve la filière , petit cône membraneux et mobile par où sort le fil .

Le cocon se forme en deux jours . Le fil est déposé sur un support . La larve construit un réseau lâche , la blaze , qui entoure le cocon . A l ' intérieur de ce réseau , le ver à soie dépose son fil de façon régulière sous la forme de huit , serrés les uns contre les

autres .

Les glandes séricigènes sont fonctionnelles très tôt , au huitième jour de la vie larvaire . La signification physiologique de la production de soie n'est pas bien connue, l'enlèvement de la glande ne modifiant pas le développement larvaire.

Par contre, si on cautérise l ' ouverture de la presse , empêchant le filage , le ver meurt, la sécrétion de la soie étant peut-être un moyen d' excrétion azotée.

La soie à proprement dite est la fibroïne, la séricine , soluble dans l'eau est éliminée .

La fibroïne produite par le ver à soie est composée d'une chaîne lourde H (350 kD) et d' une chaîne légère L (25 kD) qui sont connectées par des ponts disulfures .

La chaîne H est une protéine fibreuse très riche en glycine , alanine et sérine . La chaîne L est non fibreuse et contient une grande quantité de leucine , isoleucine et valine . Les gènes des chaînes H et L sont exprimés en coordination dans les cellules de la glande postérieure du ver à soie . Un polypeptide P 25 (25 kD) et son ARN messager ont aussi été détectés dans la glande postérieure . Ce polypeptide ne semble pas jouer un rôle prépondérant dans la formation de la fibroïne .

La feuille de mûrier contient les acides aminés nécessaires à la synthèse de la fibroïne . Ces acides aminés sont transportés directement dans la glande postérieure par l ' hémolymphe .

A la fin de la vie larvaire , lorsque le ver arrête de manger , la synthèse de la soie est maintenue aux dépens des autres tissus . Pendant le cinquième stade larvaire , les besoins quantitatifs pour les acides aminés majeurs de la fibroïne ne sont plus couverts par l'alimentation . La sérine , la glycine et l'alanine sont donc synthétisées en partie directement dans la glande à partir d' autres acides aminés précurseurs . La tyrosine , elle , est entièrement captée au niveau de l' hémolymphe et provient en partie de la phenylalanine .

Il a été démontré qu' il n' existe pas de corrélation entre les pools d' acides aminés de la feuille , de l'hémolymphe et de la glande postérieure . De plus , les acides aminés libres de la glande ne reflètent pas quantitativement la fibroïne .

A-3-2 - SYNTHESE DE LA FIBROINE

Lors de l ' adaptation de la cellule à la synthèse de la fibroïne , trois périodes peuvent être distinguées dans le sécréteur , au cours du cinquième stade :

- une phase de croissance , les quatre premiers jours du stade , pendant laquelle les dernières synthèses d' ADN se produisent tandis que s' installe un réseau de

réticulum endoplasmique granulaire .

- Une phase de sécrétion maximale , les quatre jours suivants, au cours de laquelle la production de fibroïne dans le tube sécréteur représente au moins 75 % des synthèses protéiques totales . A ce stade, 90 % des ribosomes sont liés au réticulum , certains sous forme de polysomes synthétisant exclusivement la fibroïne . Ils sont transportés par le réticulum dans les vésicules de Golgi . La fibroïne synthétisée est excrétée par exocytose dans la lumière du tube et va être stockée grâce à des microfilaments contractiles autour de la lumière .

La synthèse de la soie est discontinue pendant la vie larvaire . Au moment des mues celle-ci diminue . L' ARN messager de la fibroïne n'est plus détectable , le réticulum endoplasmique et l' appareil de Golgi disparaissent , les structures étant lysées .

L'intermue est une période d' adaptation cellulaire où l'ARN messager de la fibroïne réapparaît surtout au cours du cinquième stade .

Pendant la phase de filage , qui dure environ deux jours , la sécrétion s'affaiblit jusqu' à s' annuler . Le déclenchement du filage serait lié à un certain taux d' accumulation de fibroïne dans les glandes .

La glande séricigène est complètement lysée pendant la mue nymphale .

A . 4 LA SOIE

La bave formée des deux fils de fibroïne réunis par la séricine qui entoure chacun d' eux, est une solution colloïdale. Au sortir de la presse, les deux brins sont accolés. Cet effet mécanique de pression et le contact de l' air font passer la soie de l' état amorphe liquide à l' état cristallin solide par changement de conformation.

A . 4 . 1 LA SERICINE OU GRES

La séricine est formée de cinq polypeptides principaux dont trois sont sécrétés au niveau de la partie moyenne et deux au niveau de la partie antérieure du tube séricigène.

La composition en acides aminés est la même que celle de la fibroïne mais les taux

sont différents. Les trois acides aminés majeurs sont la sérine, la glycine, et l'acide aspartique.

La séricine est soluble dans l' eau et sera éliminée lors de la préparation du fil de soie. Elle peut cependant devenir insoluble lorsqu' elle est soumise à des absorptions d' eau à température élevée puis à des désorptions d' eau.

A . 4 . 2 LA FIBROÏNE

Alors que la séricine existe à l' état amorphe et dans une seule forme cristalline (type béta) , la fibroïne , outre une forme amorphe, existe sous deux formes cristallines différentes :

- une structure béta à feuillets plissés stable
- une structure alfa appelée soie primaire instable.

La soie alfa est soluble dans l' eau. Lorsqu' on la soumet à des chocs mécaniques ou à des étirements, elle se transforme en soie béta insoluble.

La soie alfa à l' intérieur de la glande est sous forme de sphères contenant des fibrilles de fibroïne non ordonnées et enroulées. Lorsque la soie progresse le long de la glande , les fibrilles s' orientent.

La cristallisation serait due à cette orientation et au déroulement des fibrilles sous l' effet des chocs. il est possible de définir un seuil de secousses critiques au delà duquel la fibroïne alfa passe sous la forme béta.

L' orientation provient du passage à travers la presse et du rétrécissement en forme d' entonnoir vers l' orifice du tube fileur. Les chocs sont dus aux mouvements de la tête du ver qui étire la bave et à la vitesse du filage.

La fibroïne est une glycoprotéine formée au niveau de la glande postérieure. La séquence de la fibroïne a pu être déterminée, la glycine alternant avec chaque acide aminé. La séquence simplifiée est de type (Ala-Gly-Ala-Gly-Ser-Gly-)n .

A . 4 . 3 LE FIL DE SOIE

Le fil de soie d' un cocon mesure environ 1,5 km. Son diamètre , environ 2 micromètres, varie au cours de l' émission. L' irrégularité du diamètre du fil est due aux différences de tension appliquées au sortir de la filière. La vitesse de filage est d' environ 1 cm par seconde.

Le rendement en soie est lié au diamètre, les fibres les plus grosses se dévident avec un minimum de cassures.

Les élevages de printemps ont un fil de diamètre supérieur à ceux d' automne.
La soie se titre en denier, un denier étant le poids en gramme de 9000 mètres de fil.

A . 4 . 4 L' ELEVAGE DU VER A SOIE, BOMBYX MORI

Le ver à soie est élevé dans des magnaneries. La température de la pièce est constante (23° C) et le taux d' humidité est contrôlé.
Les oeufs ou graine sont mis à éclore dans un incubateur. Un papillon pond environ 500 oeufs. Un gramme d' oeufs correspond à environ 2000 oeufs qui donneront naissance à 1500 vers.

Il faudra 10 mûriers pour nourrir ces 1500 vers. Les vers à soie nouveau nés sont ensuite posés sur les feuilles de mûriers récoltées. Ils sont isolés selon leur âge. Chaque âge est différencié par les mues.
Les feuilles de mûriers sont posées sur des filets pour permettre d' évacuer les débris de feuilles plus facilement.

Au cinquième stade larvaire, le ver va filer son cocon. Il existe deux types de récoltes des cocons :

- l'encabannage traditionnel sur des rameaux de genêts, bruyères, buis
- l' encabannage sur des buissons artificiels.

Le filage des cocons se fait vers le huitième jour du cinquième âge. La fabrication des cocons prend 4 jours.
La nymphose correspond au passage du ver à soie en chrysalide : ce stade dure 8 jours.
La métamorphose correspond au passage de la chrysalide en papillon ou imago. Le papillon ne s' alimente pas. Il s' accouple : la femelle pond ses oeufs et meurt.
Dix mois plus tard, un nouveau cycle recommence.

A . 5 LA NYMPHE OU CHRYSALIDE

La mue nymphale a lieu 24 heures après la fin du filage, le ver se transforme alors en nymphe ou chrysalide. La nymphe ne ressemble plus à une chenille. Dans le cocon, c' est par une série de gonflements et de rétractions que l' animal se dégage, d' abord l'abdomen, puis le dos et il repousse peu à peu l' exuvie qui se tasse vers l' arrière du cocon.

La nymphe est alors molle, très fragile et de couleur blanc jaunâtre; la peau est transparente, puis progressivement en deux ou trois heures, le tégument durcit, se pigmente et brunit. L' aspect extérieur ne se modifiera plus sensiblement pendant 15 jours, puis le tégument brunit encore et se détache visiblement de l' hypoderme, en particulier aux joints des anneaux de l' abdomen : c' est la mue imaginale.

La durée de la mue nymphale n' est modifiée ni par le sexe, ni par les conditions alimentaires contrairement à la vie larvaire.

La nymphe ne s' alimente pas. Elle respire mais les échanges gazeux sont ralentis. Le phénomène le plus important est le développement des organes génitaux et la synthèse des produits génitaux.

Il existe un dimorphisme sexuel. Les cocons femelles sont plus lourds que les cocons mâles. Ce n' est pas la coque soyeuse qui est plus lourde mais la chrysalide femelle. La différence de poids (2,5 grammes pour les femelles contre 2 grammes pour les mâles) est pratiquement égale au poids des oeufs de la ponte.

B- LE SYNDROME DE NON FILAGE DU VER A SOIE

B-1 HISTORIQUE

Le syndrôme de non filage du ver à soie est apparu en juin 1986 dans le midi de la France. Les élevages des particuliers ou des instituteurs présentent un cinquième stade larvaire interminable au cours duquel les animaux continuent à s' alimenter et à grossir de manière anormale sans filer de cocons.

Après un délai variable de douze à vingt jours après la quatrième mue, les animaux meurent.

Au mois de juin 1989, la récolte de la région Veneto en Italie est pratiquement perdue, 5 % des vers ayant filé leur soie.

C' est la première apparition du syndrôme en Italie, les vers à soie présentant les mêmes caractéristiques qu' en France.

Depuis, toutes les récoltes de printemps de cette région ont été nulles ou presque. Sur le plan saisonnier, le syndrôme n' apparaît qu' au printemps aussi bien en France qu' en Italie. Tous les élevages d' automne sont indemnes. Cependant, la période critique qui était essentiellement les mois de mai et juin en 1986, 1987 et 1988 en France tend à s' allonger.

B-2 CARACTERISTIQUES DU PHENOMENE

Le syndrôme se manifeste essentiellement au dernier stade larvaire du ver à soie.

A partir du cinquième stade, on observe une croissance plus importante qui conduit à des poids larvaires maximum pouvant atteindre 10 à 11 grammes (contre 5 grammes normalement) .

La croissance se poursuit bien au delà de la date "normale" de filage, qui se situe vers les huitième ou neuvième jours du cinquième stade larvaire.

Les vers à soie présentant le syndrôme de non filage continuent à manger jusqu' au quinzième voire vingtième jour après la sortie de mue. Ensuite, les animaux meurent de causes diverses. Quelquefois, de petites tâches apparaissent sur le tégument : ce sont des tâches de mélanisation.

L' examen des animaux présentant le syndrôme montre que ces vers à soie sont sains. Beaucoup plus gros que les témoins, ils ne présentent pas de signe

d'infection.
Les glandes sériciqènes, dont le réservoir est rempli de soie accumulée au cours du cinquième stade larvaire paraissent normales mais leur taille n' augmente pas proportionnellement à celle des chenilles. De plus, la soie qu' elles contiennent est alors complètement solidifiée.

B-3 CAUSES DU SYNDROME DE NON FILAGE

L' incapacité des larves de vers à soie à filer leur cocon a été apparentée à la poussée des pesticides agricoles ayant une action hormone juvénile(HJ).
En effet, la cause de ce syndrôme n' est pas génétique : les races de vers à soie utilisées en Italie sont des polyhybrides importés du Japon chaque année, ainsi qu' en France. Dans tous les cas, le syndrôme apparaît pour les différentes races, en même temps, sur les mêmes lieux. Il faut noter que les races japonaises donnent d' excellents résultats au Japon et ailleurs.

Les mêmes oeufs provenant du même grainage effectué à l' Unité séricicole de la Mulatière donnent des vers non fileurs au printemps et des vers producteurs de cocons en septembre.

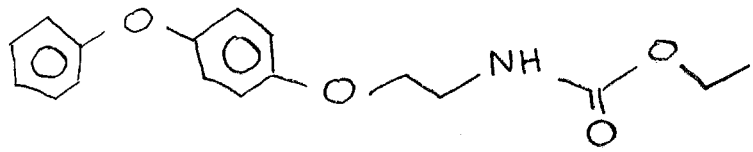
Par ailleurs, il a été démontré que ce n' était pas non plus un phénomène infectieux.
Les analyses de l' eau (HPLC et chromatographie en phase gazeuse) en lavant les feuilles de mûriers montrent la présence de fénoxycarbe, utilisé en Italie et en France, spécialement dans les vergers.
Les applications de fénoxycarbe dans les vergers ont lieu de la fin de l' hiver à mai.

Les effets observés sur les vers à soie ont été observés pendant la même période, mais à la fin du mois de juin, le filage recommençait.
Lors d' élevage de printemps, si les vers sont nourris avec des feuilles de mûriers prélevées sur des arbres en plein champ, ils présentent le syndrôme de non filage.
Par contre, si les vers à soie, provenant des mêmes oeufs, sont élevés en parallèle avec de la nourriture artificielle achetée au Japon, ils filent leur cocons à 100 %.
De même, un élevage séparé en deux lots, dont l' un est nourri avec de la feuille provenant de Veneto (Italie) et l' autre avec de la feuille provenant de Calabre donnera dans le premier cas zéro % de cocons et des vers ayant un cinquième stade

interminable, et dans le second cas, 100 % de cocons à la date prévue.
Le syndrôme de non filage des cocons est donc associé à un déséquilibre hormonal, vraisemblablement induit par le fénoxycarbe.

B-4 LE FENOXYCARBE

B-4-1 FORMULE



RO 13-5223(OMS 3010, AL 3-29460)
Ethyl 2-(4-phenoxyphenoxy) ethyl carbamate
C17 H19 O4 N

B-4-2 PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

- solide cristallin, blanc, inodore
- soluble dans les solvants organiques (250g/l de solvant)
  (acétone, chloroforme, diethylether, dimethylformamide, méthanol, toluène)
- peu soluble dans l' eau (6 ppm) stable dans les conditions normales : aucune hydrolyse n' a été observée en solution aqueuse à pH 3,7 et 9, à 35 °C et 50 °C.
- molécule active stable durant deux ans quand elle est stockée à température ambiante (inférieure à 40 °C) dans des containers fermés.

B-4-3 FORMULATION

	USAGE	CODE
INSEGAR	protection des plantes	ACR - 2907 B
LOGIC	fourmis	ACR - 2913 G

TORUS	puces, cafards	ACR - 5288 B
PICTYL	larves de moustiques	ACR - 2984 F ACR - 2907 B

B-4-4 DESCRIPTION

Le fénoxycarbe est un insecticide qui perturbe le développement des animaux en tant que régulateur de croissance des insectes, et plus spécifiquement, Analogues de l' Hormone juvénile.

Il se rapporte à une troisième génération de pesticides semblant prometteuse en composés. La seconde génération a été constituée par les hydrocarbones chlorés tels que le DDT. La première génération est composée des pesticides inorganiques comme l' arseniate de plomb.

La molécule de fénoxycarbe a été découverte et testée par le laboratoire ROCHE-SOCAR et MAAG.

C' est un carbamate non térpénique et non neurotoxique, du fait de son mode d' action spécifique aux insectes, manifestant une forte activité d' hormone juvénile.

B-4-5 EFFETS SUR LES INSECTES/ EFFICACITE INSECTICIDE

a) Sur les larves

-- Il inhibe la métamorphose du stade adulte, et de ce fait bouleverse le développement des insectes avant qu' ils ne se multiplient. Chez certaines espèces , il interfère aussi avec la mue des larves en stade précoce et a des effets larvicides certains retardés.

Cette métamorphose perturbée peut conduire à :

- une larve permanente avec possibilité d' obtenir des adultes normaux avec une nourriture non traitée chez les blattes *Blattella germanica*

- un stade larvaire surnuméraire avec possibilité d' obtenir des adultes normaux sur une nourriture non traitée chez les lépidoptères *Galleria mellonella*.

- une larve permanente incapable de donner des adultes normaux sur nourriture non traitée chez le lépidoptère *Spodoptera littoralis*

- des intermédiaires larves/ nymphes chez le lépidoptère *Adoxophyles reticulana* et des intermédiaires larves/ adultes chez la punaise *Oncopeltus fasciatus*.

- l' inhibition de la deuxième partie de la métamorphose seulement pour l' ecdysis de l' adulte chez la mouche *Culex pipiens*.

b) Sur les oeufs

- il inhibe l' embryogénèse et agit comme ovicide préventif. Des traitements très précoces sont cruciaux pour avoir un succès fiable. L' activité diminue rapidement chez les oeufs âgés de 24 heures.

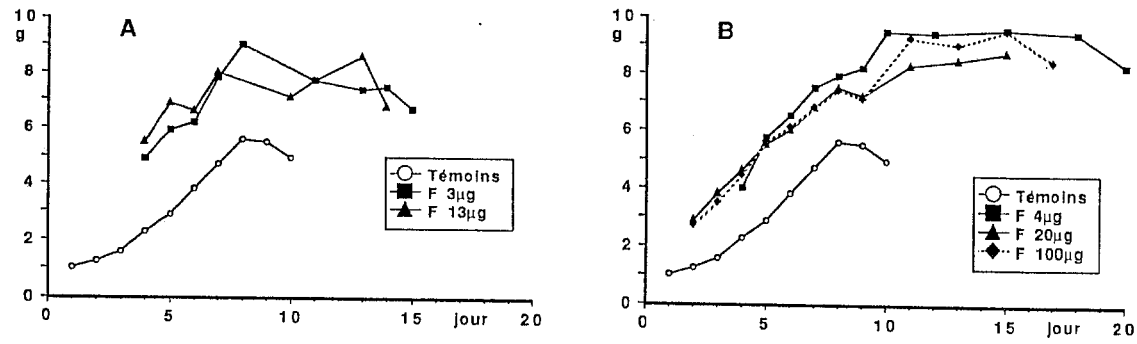
Le fénoxycarbe possède également des effets sur la reproduction, la production de phéromone, la différenciation des castes ou la diapause. Il possède également des effets non spécifiques à l' hormone juvénile.

B-5 EFFETS DU FENOXYCARBE SUR LES VERS A SOIE

B-5-1 APPLICATIONS TOPIQUES

La croissance pondérale larvaire est représentée sur la figure 1

figure 1 : *Masse moyenne (g) des larves de Bombyx mori, en fonction de leur âge (jour) au dernier stade pour les larves traitées par application topique de fénoxycarbe (F) au stade 2, (A) ou 3, (B), et les témoins. (41)*



Les chenilles traitées sont plus lourdes que les témoins dès le début du stade et ceci d' autant plus que le traitement a été précoce .

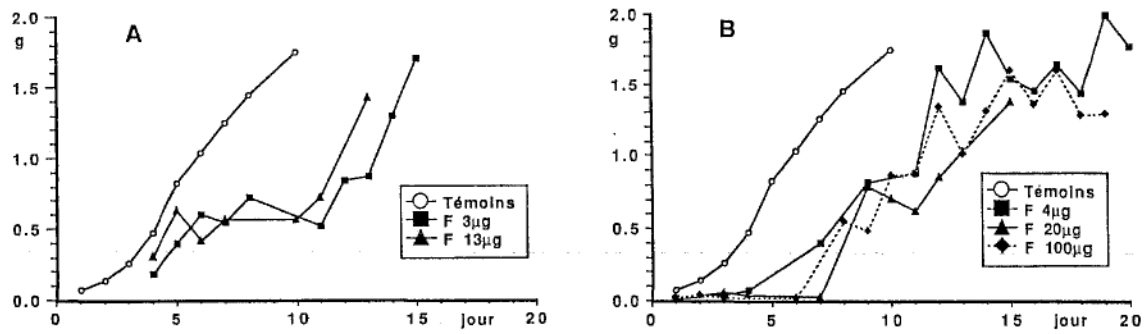
L' effet du fénoxycarbe sur la croissance pondérale est sensible au moins dès le stade 4 , et sans doute plus précocement . Les courbes de croissance des larves traitées sont grossièrement parallèles à celles des témoins , avec un décalage de deux grammes .

La prise de poids peut se poursuivre jusqu' au quatorzième jour alors que le maximum est atteint le huitième jour pour les témoins . La masse maximale moyenne varie entre 8 et 9,5 grammes par larve selon les différents lots traités , alors qu' elle atteint seulement 5,5 grammes pour les témoins .

Les larves traitées peuvent se maintenir à leur masse maximale pendant huit jours , ensuite elles meurent .

Nous avons également étudié la croissance pondérale des glandes séricigènes . L'action du fénoxycarbe se traduit par un retard du développement et un ralentissement de la croissance des glandes séricigènes . En effet, la masse maximale moyenne (1,75 grammes) est atteinte au dixième jour environ chez les témoins contre quatorze ou quinze jours chez les larves traitées .
Peu avant la mort des larves traitées , les glandes séricigènes deviennent très fragiles et se désagrègent souvent lors du prélèvement . La masse relative de ces glandes est plus faible que chez les témoins en raison de l'augmentation de masse des chenilles traitées.

figure 2 : *Masse moyenne (g) des deux glandes séricigènes des larves de Bombyx mori, en fonction de leur âge (jour) au dernier stade, pour les larves traitées par application topique de fénoxycarbe (F) au stade 2, (A) ou 3, (B) , et les témoins. (41)*



Pour les larves en stade cinq, la largeur des capsules céphaliques est plus importante chez les larves traitées en stade 2 , 3 et 4 (4,15 mm , 4,3 mm et 4,31 mm respectivement) que chez les témoins (3,70 mm) .
Le taux d' hormones juvéniles de l' hémolymphe est relativement constant pendant toute la durée de vie des larves (jusqu'à vingt jours) . Ce taux est toujours plus élevé chez les larves traitées que celui des témoins avant filage et peut dépasser 1, 5 .10 -7 M .
Les valeurs moyennes obtenues sont de 82,9 .10-9 M , 10,5 . 10-9 M et 33,0 .10-9 M pour des larves traitées respectivement aux stades 2 , 3 ou 4 contre 5,4 . 10-9 M pour les témoins .

Le fénoxycarbe semble donc être plus un stimulateur de la sécrétion d' hormones juvéniles et /ou un inhibiteur de sa dégradation qu' un mimétique de cette hormone. Le taux d' ecdystérone chez les vers traités et les pseudotémoins mesuré au cinquième stade larvaire est maintenu jusqu' à la mort à un niveau très faible : Il est de 5. 10-10 M ce qui est dix fois inférieurs au taux des témoins .

B-5-2- ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE

La figure 3 représente les pourcentages de mortalité cumulée des chenilles en stade cinq , en fonction de leur âge compté à partir de la dernière mue larvaire , pour les larves traitées par ingestion de fénoxycarbe au stade 3 , 4 ou 5 et pour les pseudotémoins (larves n'ayant pas reçu de fénoxycarbe dans leur alimentation mais maintenues au voisinage des larves traitées) .

Les larves traitées au stade 3 ou 4 présentent une mortalité importante dès le début du stade 5 : elle dépasse 60 % au jour 8 et atteint 100 % au quinzième ou seizième jour .

Pour les larves traitées au début du stade 5 , on enregistre une mortalité de 15 % dès le dixième jour et de 100 % le dix-neuvième jour . Les pseudo témoins ne montrent aucun signe de filage ni de métamorphose . La mortalité intervient le seizième jour et atteint 100 % le vingtième jour .

Le fénoxycarbe administré par voie orale a une toxicité très élevée : une dose d' environ 0,8 microgramme pour des larves traitées au stade 3 entraîne une mortalité totale au quinzième jour du stade 5 .

Dans le cas d' une application topique , une dose de 100 microgrammes chez des larves en stade 3 n'aboutit à 100 % de mortalité qu ' au delà du vingtième jour du stade 5 .

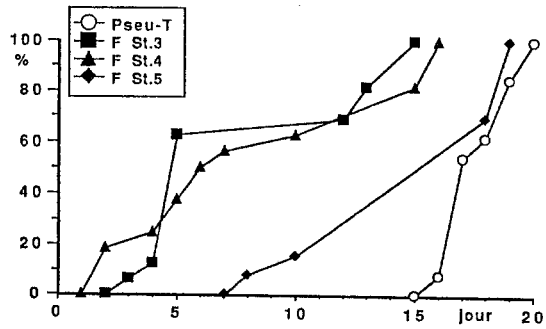
La prise répétée de quantités réduites de fénoxycarbe se révèle donc très toxique. Le fait que les pseudotémoins présentent un syndrôme de non filage et une non nymphose souligne l' extrême sensibilité du ver à soie face au fénoxycarbe. Seules 120 000 molécules suffisent à inhiber le filage des vers.

En résumé, quelque soit le stade larvaire traité, le type de traitement ou la dose utilisés, toutes les larves arrivent au dernier stade larvaire et meurent avec un maximum de vingt jours après la dernière mue sans avoir montré aucun signe de filage ni de nymphose.

Les larves traitées atteignent un poids élevé par rapport aux témoins, tandis que la croissance des glandes séricigènes diminue.

Le niveau d ' hormones juvéniles dans l' hémolymphe est beaucoup plus élevé chez les larves traitées que chez les témoins.

figure 3 : *pourcentage de mortalité cumulée des larves de Bombyx mori, en fonction de leur âge (jour) au dernier stade, pour les larves traitées par ingestion de fénoxycarbe (F) au stade 3, 4 ou 5, et pour les pseudotémoins (larves n' ayant pas reçu de fénoxycarbe dans leur alimentation, mais maintenues au voisinage des larves traitées.) (41)*



B-6 MODE D' ACTION DU FENOXYCARBE

Le mode d' action exact est inconnu. La partie carbamoyl est connue pour inhiber l' activité des estérases spécifiques de l' hormone juvénile.
Le groupe NH du carbamate semble important car son remplacement par un atome d' oxygène réduit l' activité de la molécule.
Le fénoxycarbe pourrait bouleverser à la fois la biosynthèse de l' hormone juvénile par les corps allâtes et leur catabolisme par l' inhibition de l' estérase de l' hormone juvénile.

Cependant, les effets obtenus sont souvent différents in vivo et in vitro.
Simon Grenier (19) a effectué une série de tests sur la mite du tabac : Manduca sexta pour la mesure des effets liés à l' hormone juvénile. Cet insecte est particulièrement pratique car les larves répondent à un excès ou à une déficience en hormones juvéniles par des changements distincts de couleur.
Après un traitement topique par le fénoxycarbe, le niveau d' hormones juvéniles des larves en quatrième âge diminue, lié à la concentration de fénoxycarbe.
Pour baisser la concentration d' hormones juvéniles de 50 % chez les larves en quatrième âge, il suffit de seulement 0,001 microgramme de fénoxycarbe contre 0,1 microgramme d' hydropène pour avoir le même résultat.

Il existe un système négatif de régénération : un excès d' agoniste d' hormones juvéniles abaisse la synthèse d' hormones juvéniles par les corps allâtes, tandis qu' un mimétique d' hormones juvéniles appliqué extérieurement prend le rôle de l' hormone juvénile endogène.
Le fénoxycarbe semble agir sur le programme de libération de l' hormone juvénile.
L' action du fénoxycarbe n' est pas réduite par le processus digestif. En fait, le fénoxycarbe est rapidement métabolisé et excrété par l' intestin : 70 % du composé sont excrétés après 24 heures.Les métabolites majeurs observés ont subi une hydroxylation des groupes aromatiques, ce qui augmente la polarité de la molécule et facilite son élimination.
Les métabolites observés n' ont pas d' action d' hormones juvéniles.
Les effets observés pendant le cinquième stade ne semblent pas provenir de la persistance du fénoxycarbe chez les larves traitées en début de quatrième stade, puisqu' il est très rapidement éliminé.

Le fénoxycarbe ne semble pas agir directement sur les cellules épidermiques : il perturbe probablement le rendement normal des hormones juvéniles par les corps allâtes ainsi que le système endocrine tout entier.

Le fénoxycarbe perturbe également la synthèse des protéines chez le ver à soie. Normalement, les taux de protéines dans l' hémolymphe augmentent de façon importante avant la métamorphose. Après traitement par le fénoxycarbe, ces protéines sont supprimées.
En fait, le fénoxycarbe agit en régulant le niveau d' ARN messager des protéines de l' hémolymphe.

Normalement, chez l' insecte, une fois la nourriture suffisante apportée et le poids critique atteint, le taux d' hormone juvénile diminue, entraînant une libération de PTTH et d' ecdysone. La métamorphose est alors amorcée.
Les applications topiques de fénoxycarbe sur des larves retardent significativement l' apparition de PTTH et d' ecdysone. Ainsi, la métamorphose est repoussée et les larves continuent de grossir. (50 % de poids supplémentaire).
Un effet similaire est observé avec l' hormone juvénile II ou même avec un inhibiteur de l' éstérase de l' hormone juvénile : EPPAT : O-ethyl-S-phénylphosphoramidothiolate.
L' accumulation endogène d' hormone juvénile chez les larves traitées avec l' EPPAT ou le fénoxycarbe conduit à une mue larvaire supplémentaire.

Enfin, le fénoxycarbe possède une action au niveau génétique. Il inhibe l' incorporation de la thymidine dans l' ADN in vitro chez Trypanosoma cruzii, Leishmania mexicana et également chez les lymphocytes sanguins humains.

EFFETS TOPIQUES NON SPECIFIQUES

Outre ces effets d' hormones juvéniles, le fénoxycarbe possède également des effets non spécifiques :

- il possède des effets différentiels selon le sexe chez Choristoneura occidentalis, Aonidiella autantii. Pour Aonidiella, il n' est efficace que contre les mâles.

- il possède des effets cytotoxiques et une toxicité directe sur les embryons et les larves

- on a pu également observer une perturbation du comportement chez certains poissons lorsque le fénoxycarbe était incorporé à l' eau pour lutter contre les larves de moustiques.

Le fénoxycarbe est un insecticide possédant une grande rémanence. Dans les vergers, 95 % de son efficacité sont conservés après un mois, en dépit des chutes de pluies. Dans les huches à grains, deux ans après traitement, il reste efficace contre les coléoptères et les lépidoptères.
La bioaccumulation a permis la mise en évidence d 'effets secondaires non désirés sur des insectes ou animaux non ciblés. Le ver à soie est très sensible à cette molécule : seules 120 000 molécules de fénoxycarbe perturbent son comportement.
Le fénoxycarbe a été interdit dans plusieurs régions d' Italie où se pratique l' élevage des vers à soie.
En France, aucune mesure d' interdiction n' a été décrétée à l' encontre du fénoxycarbe. Il serait souhaitable de revoir les conditions d' utilisation de cet insecticide.

Après avoir étudié la physiologie du ver à soie et sa très grande sensibilité au fénoxycarbe, nous allons voir que Bombyx mori peut avoir de grands intérêts en thérapeutique.

En effet, des chercheurs se sont aperçus que le ver à soie, infecté par un virus particulier de la famille des Baculovirus, pouvait fabriquer dans ses cellules un molécule proche de l' interféron humain alpha.
Le ver à soie pourrait être un matériel génétique intéressant pour la fabrication de l' interféron car il peut être élevé facilement et à moindre coût.
Nous verrons successivement les méthodes de production actuelles de l' interféron, et en particulier celles de l' interféron alpha. Ensuite, nous étudierons la production d' interféron alpha par le ver à soie.
Mais en premier lieu,il est important de définir l' interféron, et ses différentes familles.
En dernier lieu,nous verrons les multiples applications thérapeutiques de l' interféron en médecine.
Dans une première partie, nous allons étudier l' usage du ver à soie dans l' industrie cosmétologique.

C/ LA SOIE EN COSMETOLOGIE

C-1 INTRODUCTION

Les dérivés des protéines de soie possèdent un excellent concept marketing . Le terme de soie est largement reconnu et transmet une connotation positive : en effet , la soie est douce , souple , un délice à toucher et à tenir dans ses mains .
Toutefois, La soie dans l'industrie cosmétique a un usage plutôt limité : elle est utilisée dans les shampooings et quelques crèmes pour le visage . Pour pouvoir utiliser les dérivés de protéines de soie , une forme de soie soluble dans l' eau est nécessaire .
Crosilk liquid , Crosilk 10000 et Silk protein complex représentent les gammes de dérivés de soie solubles dans l' eau . Ces dérivés sont fabriqués par l' hydrolyse des fibres de soie dans des conditions de contrôle strictes .

-Crosilk liquid se compose principalement des acides aminés libres se trouvant dans la soie .

- Crosilk 10000 est une protéine de la soie soluble dans l' eau , d' un poids moléculaire de 10000 et elle contient des polypeptides ayant un poids moléculaire allant jusqu'à 50000 .

- Silk protein complex est une solution hydrolysée de protéines de soie , ayant une gamme de poids moléculaires différents allant d' acides aminés libres jusqu' aux polypeptides d' un poids plus lourd .

SPECIFICITE

	Crosilk liquid	Crosilk 10000	Silk protein complex
Couleur	jaune pale	ambre foncé	jaune
odeur	caractéristique	caractéristique	caractéristique
% total de solides	27 à 31	20 à 23	25 à28
Tx de cendres	12 à 16	8 max	12 à 14
% nitré	2,0 à 2,5	1,6 à 2,4	1,8 à 2,2
% protéine	12,5 à 15,6	10,0 à 15,0	11,2 à 13,8
[redacted]			
pH	3,7 à 4,5	4 à 6	4 à 6
PM moyen	90 approx	10000	1000

COMPOSITION EN ACIDES AMINÉS

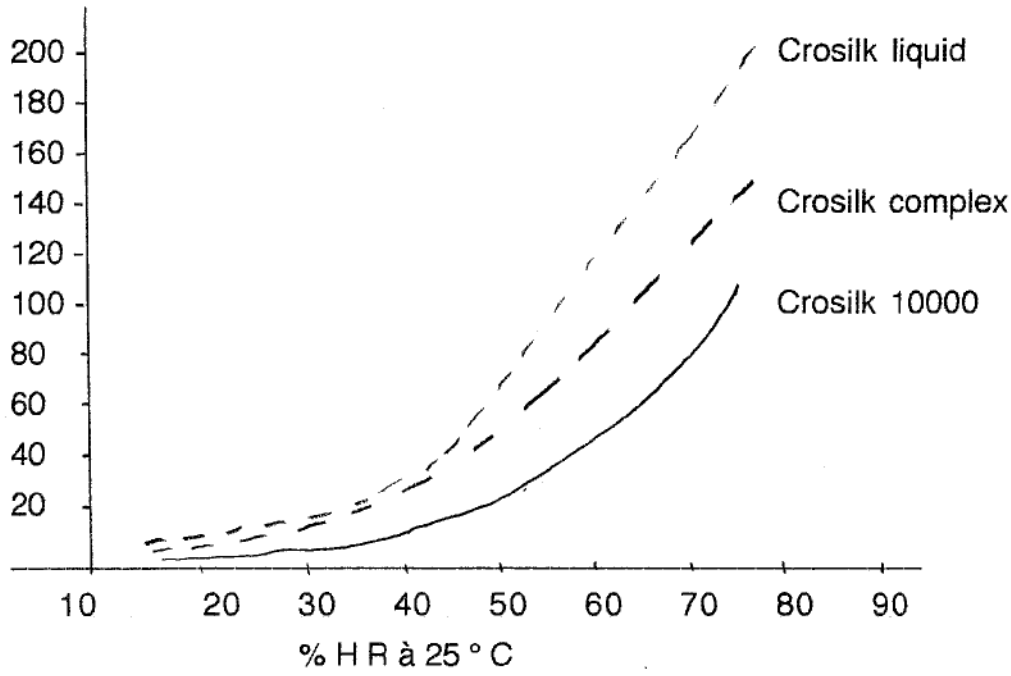
aa	Crosilk liquid % poids/poids	Crosilk 10000 % poids/poids	Silk protein complex % poids / poids
Ac aspartique	4,7	13,3	5,6
Thréonine	1,9	4,3	2,1
Sérine	15,4	20,3	11,6
Ac glutamique	4,1	10,2	4,7
Proline	1,2	1,3	1,2
Glycine	34,7	16,1	32,8
Alanine	28,4	12,8	26,8
Cystine	0,1	0,1	0,1
Valine	2	2,6	2,1
Méthionine	0,2	0,2	0,2
Isoleucine	0,8	0,9	0,8
Leucine	1,2	1,1	1,2
Tyrosine	0,6	4,7	1
Phenylalanine	0,9	1	0,9
Histidine	0,8	3,6	1,1
Lysine	1,4	4,4	1,7
Arginine	1,5	3,3	1,7

La solubilité restreinte de la tyrosine comme acide aminé libre incite à une contenance plus faible en tyrosine dans Crosilk liquid que dans le Crosilk 10000 où la tyrosine est présente dans la chaîne polypeptidique .

C-2/ PROPRIETES DES DERIVES DE SOIE

Les acides aminés de Crosilk ainsi que d' autres mélanges d' acides aminés possèdent des pouvoirs d' hydratation élevés .

Pouvoirs d' hydratation des acides aminés de Crosilk (52)



Les protéines partiellement hydrolysées de Crosilk 10000 possèdent également des propriétés d' hydratation .

Le niveau élevé de molécules amino-acides de P M faible dans Crosilk liquid et Silk protéin complex devrait améliorer leur pénétration au niveau des cheveux et de la peau . Des techniques de traçages radioactifs ont démontré qu' ils possèdent une affinité très élevée pour ces substrats .

Expérience = Traitement des cheveux

Des cheveux vierges bruns ont été utilisés uniquement .

Des mèches doubles de 100 mg ont été traitées avec des doses de 10 ml de solution Crosilk liquid pendant quinze minutes .

Trois rinçages de quinze secondes sont effectués avec des doses de 10 ml d' eau

distillée afin d' éliminer les acides aminés non liés .
Les mèches de cheveux ont été séchées dans un mouchoir en papier et hydrolysées dans 10 ml d' acide chlorhydrique concentré dans des tubes scellés pendant quarante huit heures .

Comptage des échantillons = des quantités de 0,05 ml d' hydrolysat ont été mélangées à 10 ml de solvant et comptées automatiquement par un compteur de scintigraphie Hewlett Packard.
Les eaux de lavage du traitement des cheveux ont été vérifiées afin de confirmer le succès du procédé de lavage .

Marquage radioactif de Crosilk liquid
Les trois acides aminés solubles dans l' eau , Glycine, Alanine et Sérine qui représentent environ 85 % des acides aminés de Crosilk Liquid sont fournis par le centre radiochimique comme matière radioactive au C14.
Ils sont mélangés puis ajoutés à du Crosilk liquid non marqué afin d' avoir une quantité suffisante pour le maniement.

Résultats=	Test N° 1	Test N°2	Moyenne
2 % Crosilk liquid	6,,3 mg/g cheveu	6,7 mg/g cheveu	6,5mg/g cheveu

Ces résultats montrent que le Crosilk liquid a une haute affinité sur des cheveux vierges .

C-3/ APPLICATIONS ET FONCTIONS

Crosilk liquid , Crosilk 10000 et Silk protein complex sont une gamme d' additifs et de conditionnement solubles dans l' eau . Ils sont recommandés dans les préparations de soins pour les cheveux et pour la peau .
Le PM faible de Crosilk liquid indique que les molécules peuvent pénétrer le cuir chevelu et l' épiderme de la peau .
Ceci , combiné à son haut pouvoir d' hydratation, peut produire un effet durable .
L' addition de Crosilk liquid , Crosilk 10000 ou silk protein complex à des shampooings ou crèmes entraînera une amélioration dans la texture , le toucher, le brillant et la souplesse du cheveu.

Crosilk 10000 a la propriété de gainer le cheveu abîmé , d' où un avantage pour le cheveu abîmé car on peut augmenter son hydratation en surface .
Il existe un autre dérivé de soie = Le solu-silkSF . Celui-ci, est fabriqué à partir de fibres de soie hydrolysées, sous contrôle sévère .
Les principaux acides aminés de solu-silk SF sont la glycine , l' alanine et la sérine . La tyrosine est enlevée à cause de son manque de solubilité .
Il sera facile d' utiliser solu-silk SF en cosmétique , grâce à son taux réduit de poussières . De nombreuses études ont montré que les amino-acides peuvent pénétrer la peau. Les acides aminés libres sont très hygroscopiques et devraient pouvoir améliorer les propriétés d' hydratation des cheveux et de la peau .
Solu-silk SF possède des propriétés cationiques à des PH faibles.

D - PRODUCTION D' INTERFERON CHEZ LE VER A SOIE

D-1- L' INTERFERON :

C' est en 1957 que l' interféron a été découvert par Alick Isaacs et Jean Lindenmam () . Ceux-ci étudiaient l'infection des cellules par les virus. Ils avaient déjà découvert qu'un virus qui se multiplie dans les cellules d'un organisme ou dans les cellules en culture bloque l'infection de ces mêmes cellules par d'autres virus.

De plus grâce à Pasteur, les chercheurs savaient également que le système immunitaire au cours de sa lutte contre un premier virus, apprend à lutter ultérieurement contre les assauts de ce même virus.
Ces deux chercheurs découvrirent que cette résistance provenait d'une substance sécrétée par les cellules infectées.
Ils l'appelèrent interféron. Ils découvrirent de plus que cet interféron était une protéine qui n'interagissait pas directement avec les virus.

L' interféron provoque la production d'autres protéines antivirales par les cellules malades et par les cellules avoisinantes.
En fait, l' interféron n'est pas une molécule unique : l'organisme utilise plusieurs interférons différents pour lutter contre les diverses infections virales.
Il existe trois types connus d'interférons, produits par différents types de cellules dans des conditions différentes.
Ces trois types d'interférons sont nommés alpha, béta et gamma. La classification est fondée sur la séquence en acides aminés de ces protéines.
La classe alpha, composée de vingt molécules, est la plus variée. Les classes béta et gamma ne sont représentées que par une molécule. Deux autres classes d'interférons ont été ajoutées aux trois initiales : ce sont les interférons oméga et tau, ils ressemblent aux interférons de la classe alpha, mais ils sont légèrement plus gros.

On a reclassé les interférons en deux types :
_ type I avec les interférons alpha et béta, qui sont structurellement et fonctionnellement analogues, et les interférons omega et tau, protéines apparentées partageant environ 20% de leur séquence.
_ type II avec l' interféron gamma.
Les interférons de type I favorisent l'apparition d'une résistance cellulaire à l'infection virale. L' interféron de type II orchestre les défenses du système

immunitaire.

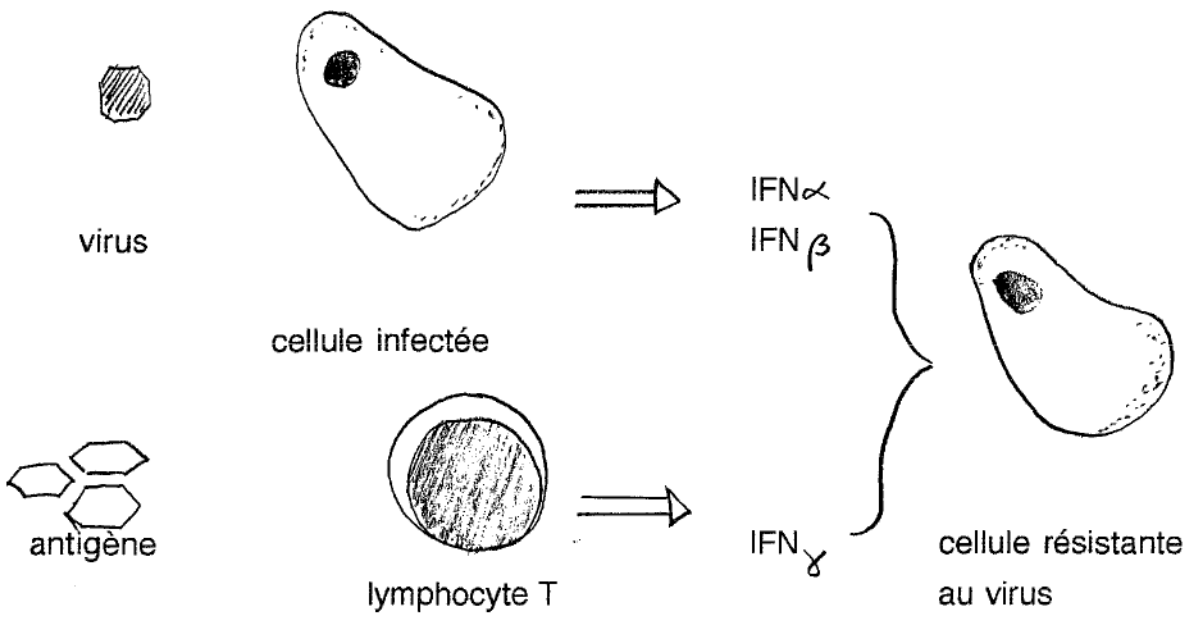
D-1-1 MODE D' ACTION DES INTERFERONS :

Les interférons de type I sont produits par des cellules infectées par un virus. Les interférons de type II sont sécrétés par les lymphocytes T activés par un antigène ou les cellules tueuses du système immunitaire. En réponse à une infection virale, les lymphocytes synthétisent l' interféron alpha alors que l'infection des fibroblastes induit la formation d'interférons béta. L' interféron gamma n'est pas induit par une infection virale. Il est synthétisé par les lymphocytes T en réponse à des mitogènes (agents qui stimulent la division cellulaire) ou à des antigènes.

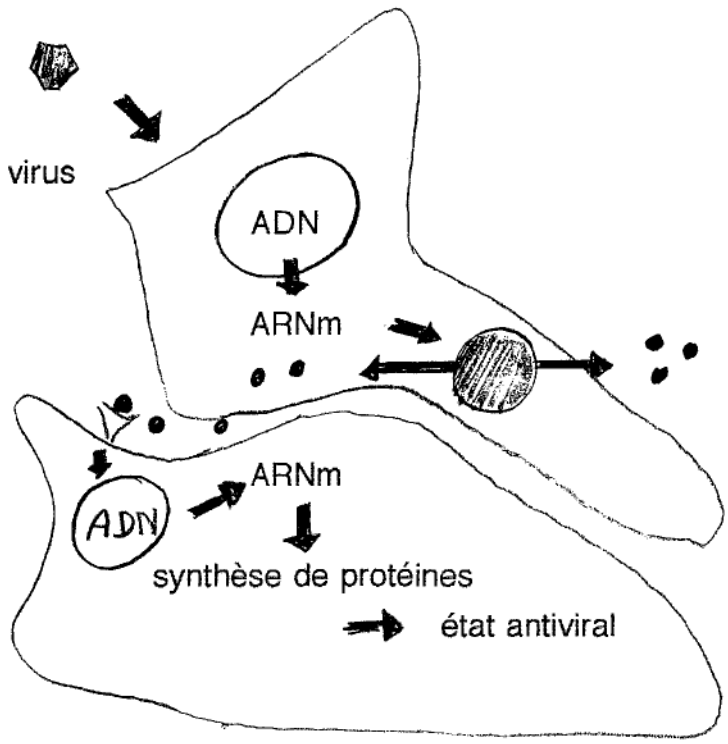
L' interféron ne protège pas directement les cellules contre l'infection virale. Il modifie le métabolisme de la cellule de diverses manières, de sorte qu'elle devient moins appropriée en tant qu'hôte pour une réplication virale.

Cette situation est appelée **l'état antiviral.**

Les interférons agissent en se liant à des récepteurs spécifiques à la surface cellulaire. Les récepteurs activés transfèrent alors un signal à l'intérieur de la cellule.



Quand les cellules sont infectées par un virus, elles peuvent produire des interférons, les interférons alpha IFNα et/ ou beta IFN β qui sont sécrétés par différents types cellulaires.



Action des interférons.(21)

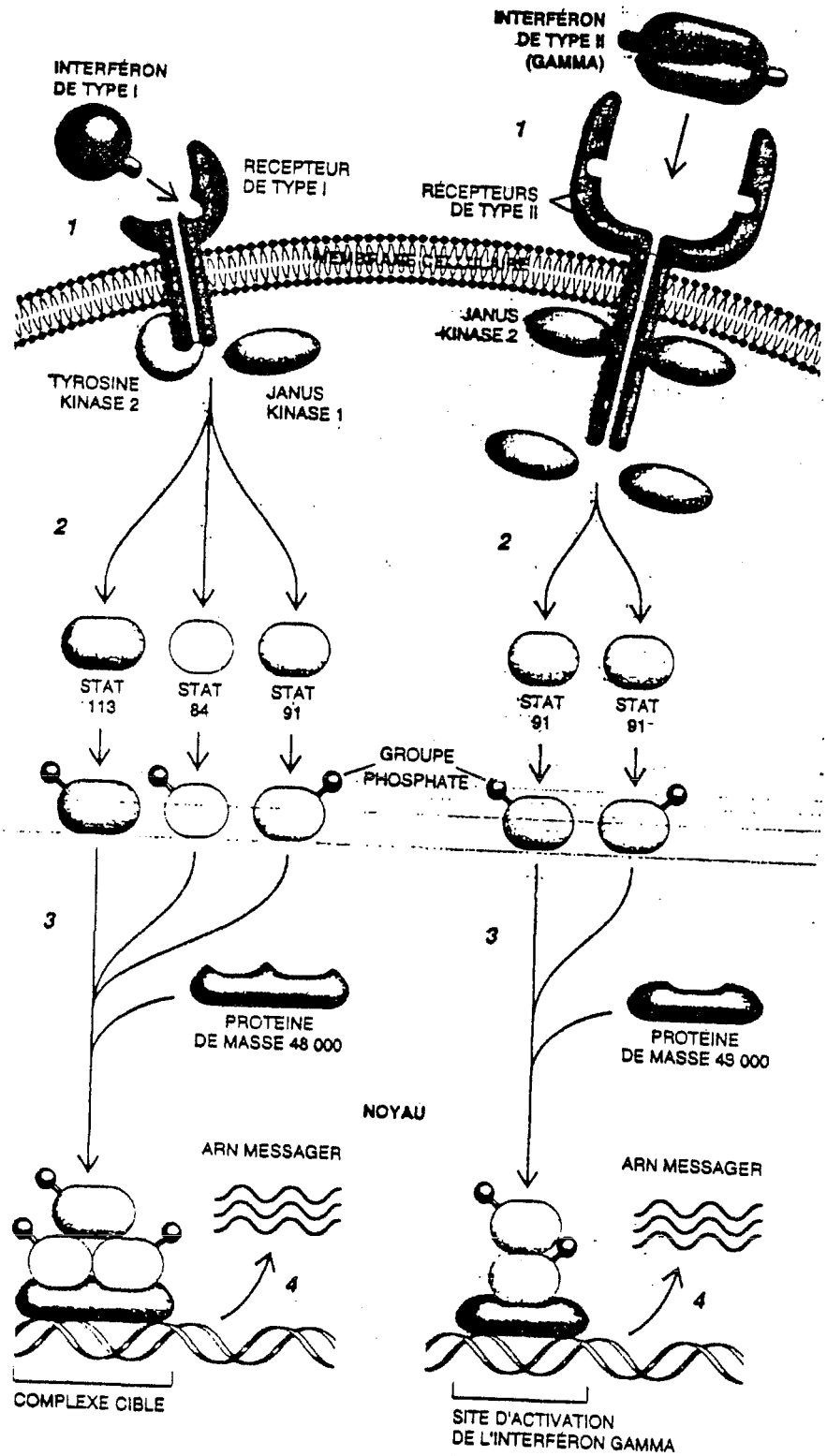
Les interférons des deux types se lient à des récepteurs cellulaires différents. Les effets des interférons sont très directs, contrairement à ceux d'hormones. Aucun messager secondaire n'intervient dans les voies de transduction des interférons, qui agissent en activant des enzymes nommées **Janus Kinases.**
Découvertes en 1990, ces protéines sont des **tyrosine kinases**, qui ajoutent des groupes phosphates à un des acides aminés, la tyrosine, dont les protéines sont composées.
Janus provient du dieu romain à deux têtes, parce que ces enzymes ont deux sites qui peuvent assurer l'ajout de groupe phosphate (la réaction d'ajout de groupe phosphate est nommée phosphorylation).

On pense que tous les interférons de type I reconnaissent le même récepteur. La

fixation des interférons de type I sur leur récepteur active l'enzyme nommée tyrosine kinase 2 qui semble liée à la partie intracellulaire du récepteur. De plus, cette fixation active simultanément la Janus kinase 1.
Les enzymes phosphorylent trois protéines dénommées STAT 113, STAT 91 et STAT 84 (stat signifie **Signal Traducer and Activators of Transcription**, c'est à dire "transductrices de signaux et activatrices de transcription").
Le nombre correspondant à chaque protéine indique sa masse moléculaire.

Quand leurs tyrosines sont phosphorylées, ces protéines s'associent et se lient à une protéine de PM= 48000, formant un complexe qui se place sur certains gènes. Ce complexe commande la cellule qui transcrit ces gènes en ARN messagers.
Les gènes activés possèdent un promoteur (c'est une séquence génétique qui commande la transcription des séquences plus en aval. Le promoteur possède une séquence spécifique nommée "**élément de réaction stimulée par l' interféron**".

LIAISON DES INTERFERONS SUR LEURS RECEPTEURS (21)



La fixation de l' interféron gamma (type II) sur son récepteur active deux Janus kinases : **JA K1**, comme pour l' interféron alpha, et **JA K2**, qui semble être liée au récepteur. Ces deux enzymes phosphorylent la protéine STAT 91 qui figure dans la voie des transductions des interférons de type I.
Ainsi modifiée, STAT 91 forme alors un complexe en se liant à une autre protéine de PM= 43000, et à un autre exemplaire de STAT 91. Le complexe se lie aux gènes dont le promoteur renferme une séquence nommée **"site d'activation de l' interféron gamma"**. Puis les gènes sont transcrits.

On ne connaît pas le mécanisme exact de l'activation des tyrosine kinases à l'intérieur de la cellule suite à la fixation des interférons sur leurs récepteurs.
Une fois les gènes transcrits, on a synthèse de protéines qui nous protègent. On connaît aujourd'hui plus de trente protéines dont la synthèse est commandée par les interférons : nombre de ces molécules jouent des rôles déterminants dans l'inhibition de la réplication virale.
Lorsque les virus infectent une cellule, ceux-ci utilisent pour se reproduire le matériel cellulaire. Ils font produire leurs propres protéines virales par les systèmes de transcription et de traduction des cellules infectées.

Les ARN messagers, viraux ou non, sont traduits en protéines par les ribosomes. Ces complexes moléculaires se déplacent le long de l'ARN, enchaînant successivement les acides aminés, pour former une chaîne protéique, ceci s'appelle **la traduction**.
Avant la traduction, il faut l'assemblage des ribosomes : un ribosome est formé de deux sous-unités. Plusieurs molécules s'assemblent sur l'ARNm pour former la plus petite des deux sous-unités du ribosome, puis la plus grosse sous-unité se fixe.
Les trois types d'interférons accélèrent la formation d'une protéine importante :
l' **eIF-2-alpha protéine kinase.**
Cette kinase, une fois activée, phosphoryle l'un des constituants nécessaire à l'élaboration de la plus petite des sous-unités du ribosome. Ceci bloque la fabrication des sous-unités de ribosomes, ce qui stoppe la synthèse protéique.

L' eIF-2 alpha protéine kinase n'est active que lorsqu'elle est en présence d'un ARN à deux brins. Cet ARN à deux brins n'est présent dans une cellule que lorsqu'un virus s'y réplique.
Ainsi, l'enzyme bloque la synthèse des protéines dans les cellules infectées par le

virus, mais elle ne perturbe pas la traduction dans les cellules saines.
D'autres protéines sont produites sous l'action des interférons : les **2'-5'-oligo(A) synthétases.**
Ces synthétases, en activant d'autres enzymes permettent la destruction de l'ARN avant qu'il ne soit traduit. Ceci perturbe donc la production des protéines virales. Ces protéines ne sont actives qu'en présence d'un ARN bicaténaire.

Les protéines dont la synthèse est réglée par les interférons sont si variées qu'elles sont capables d' inhiber la prolifération de nombreux virus. Elles peuvent également intervenir dans le ralentissement de la croissance de tumeurs.

D-1-2 / L' INTERFERON ALPHA

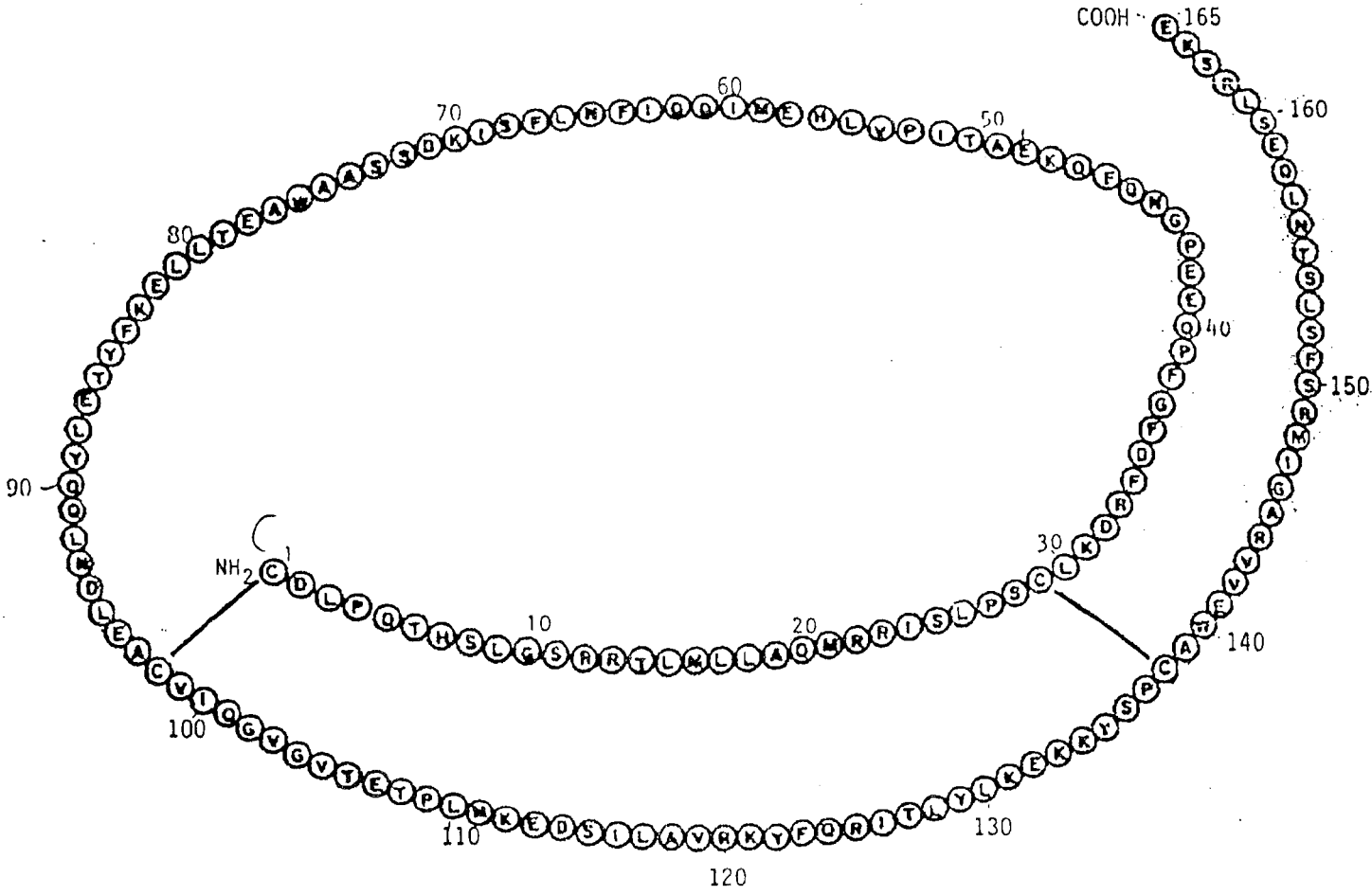
L' interféron alpha est un mélange de protéines apparentées, allant d'un poids moléculaire de 16 000 à 27 000.
La composition en acides aminés et les séquences sont très similaires. Les protéines sont légèrement acides. La plupart des interférons alpha ont 166 acides aminés : deux n'en ont que 165.
Il a été prouvé que l'activité de l' interféron n'est pas influencée par les dix acides aminés terminaux de la chaîne terminale COOH. L'extrémité terminale COOH n'est pas requise pour la liaison au récepteur et pour déclencher les réponses biologiques.

Tous les interférons alpha ont quatre résidus cystéines situés aux mêmes positions : 1, 29, 99 et 139.
Chez l' interféron alphab, la troisième cystéine est en position 98. Ces cystéines forment deux ponts disulfures en position 1-98(99) et 29-139. (21)

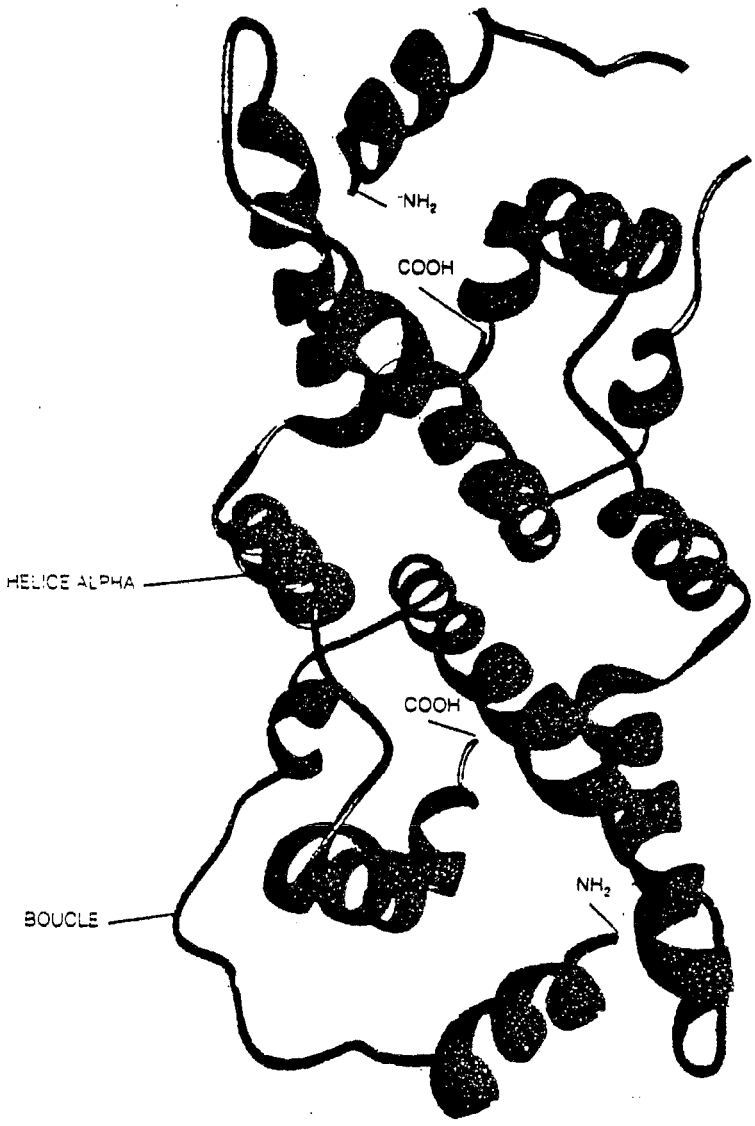
Le pont disulfure entre la cystéine 29 et 138 est essentiel pour obtenir l'activité antivirale.
De plus, il joue un rôle prépondérant dans la stabilité de la molécule, contre les dénaturations thermiques. Par contre, le pont disulfure entre la cystéine 1 et 98 joue

un rôle mineur dans la stabilisation de la structure.
La sérine en position 150 est indispensable pour obtenir l'activité antivirale, ainsi que les douze acides aminés la précédant.
La cystéine en position 1 est également essentielle pour l'activité de l' interféron.

Representation shématique de la structure de IFN alpha 2 b montrant les ponts disulfures (21)



Structure de l' interféron gamma humain (21)



D-2- METHODE DE FABRICATION ACTUELLE DE L' INTERFERON

L' interféron humain naturel est produit en de trop faibles quantités chez l'homme pour pouvoir être utilisé à grande échelle.
Grâce aux techniques d'ADN recombinant, on a pu cloner plusieurs gènes humains intéressants et ainsi produire des substances biologiques rares en quantité abondante. Il existe en France deux interférons recombinants commercialisés :
l' interféron Alpha2b ou INTRON A(R) commercialisé par les laboratoires Schering-Plough et l' interféron Alpha2a ou ROFERON(R) commercialisé par les laboratoires Hoffman Laroche.

Depuis plusieurs années, les gènes codant pour les interférons chez l'homme et chez plusieurs espèces animales (souris, porc, rat.....) ont pu être isolés et exprimés chez Escherichia Coli. La technologie de l'ADN recombinant a rendu possible la production de ces gènes étrangers dans les bactéries.

Pour la fabrication industrielle, il a donc fallu procéder en plusieurs étapes :
- clonage des gènes des interférons
- expression de ces gènes dans des systèmes eucaryotes ou procaryotes
- production des organismes recombinants en grande quantité
- désintégration des cellules et purification de la protéine.

D-2-1 CLONAGE DES GENES DE L' INTERFERON ALPHA

Tous les gènes codant pour les interférons sont situés sur le chromosome 9, sur le bras court.
Dans les huit dernières années, au moins 24 gènes différents ont été dénombrés. Quinze de ces gènes sont fonctionnels, tandis qu'au moins six d'entre eux sont apparus être pseudogènes.
Pour pouvoir fabriquer un interféron alpha, il a fallu isoler le gène (portion d'ADN) et le cloner, c'est à dire multiplier ce gène. Le clonage du premier ADN complémentaire de l' interféron a été achevé en 1980 par une équipe japonaise. Pour cela, ils ont

utilisé des leucocytes humains activés par une infection virale. Ils ont pu ainsi isoler une fraction 12S d'un ARNmessager PolyA, qui avait une activité d' interféron alpha lorsqu'il était exprimé dans des oocytes congelés.
Cette fraction d' ARNm PolyA a été utilisée pour fabriquer une banque d' ADN complémentaire grâce à une transcriptase reverse.
Ensuite, pour identifier le clone d' interféron alpha, ils ont dosé l' ARNm hybridé.

Une autre équipe a utilisé une approche un peu différente pour identifier les clones d'interférons alpha. Dans ce cas, la fraction 12S de l' ARNm PolyA provenait d'une lignée cellulaire KG-1 (leucémie myeloblastique) activée par l'infection virale du virus sendaï.
Cette fraction 12S de l' ARNm PolyA a été utilisée pour construire la banque d' ADNc. Des amorces d' ADN synthétiques ont été fabriquées, en se basant sur la séquence aminoacide de fragments d' interférons alpha. Ces amorces ont été utilisées pour préparer des sondes d' ADN provenant de la fraction 12S des cellules KG1 activées par le virus sendaï et non activées.
Les clones positifs ont été identifiés comme ceux qui hybridaient l' ARN des cellules activées mais pas celui des cellules non activées.

La séquence de l' ADN cloné a été déterminée et exprimée chez Escherichia Coli. En fait, on effectue une greffe d' ADN humain sur l' ADN d' Escherichia Coli. Le gène de l' interféron est greffé dans Escherichia Coli. L' avantage de ce gène, c'est qu'il ne possède pas d' introns. L' épissage de l' ARNm n'est donc pas nécessaire.

D-2-2 EXPRESSION DE L' INTERFERON ALPHA

L' expression de l' interféron alpha peut être effectuée soit à travers un système procaryote comme Escherichia Coli, soit à travers un système eucaryote comme Saccharomyces cerevisiae. L' expression du gène de l' interféron consiste en la transcription de l' ADN du gène en ARN messager.
Le gène est une partie de l ' ADN qui contient les informations pour coder les protéines. Les gènes structuraux sont transcrits en ARN messager.
Escherichia Coli est l' hôte de choix pour l' expression du gène de l' interféron. Un plasmide pBR 322 est utilisé comme vecteur. A ce plasmide, on intègre l' ADN complémentaire fabriqué à partir de l' ARN messager de l' interféron au site Pst 1 du plasmide. Ce vecteur est ensuite incorporé dans les cellules d' Escherichia Coli.
ROFERON R (IFN alpha 2 a) comporte un résidu lysine en position 23 et INTRON A R (IFN alpha 2 b) possède un résidu arginine en position 23.
Un autre système d' expression a été également utilisé : la levure unicellulaire Saccharomyces cerevisiae. Le système Escherichia Coli reste cependant le plus simple avec un bon niveau d' expression d' IFN alpha .

D-2-3 PRODUCTION DE L' INTERFERON ALPHA HUMAIN RECOMBINANT CHEZ E. COLI(3)

Les comparaisons littéraires des rendements d' IFN par culture cellulaire et ceux obtenus dans les bactéries ou les levures ont permis d'établir que ces derniers systèmes étaient préférables à la culture cellulaire : en effet, le coût de production est plus faible et les rendements élevés (10 puissance 8 à 10 puissance 9 U / l de milieu de culture).
Plusieurs autres rapports ont mentionné des rendements de l'ordre de 2.10 puissance 8 U / l avec les systèmes E. Coli et de 3.10 puissance 9 U / l avec les systèmes de levures.

La production intracellulaire d'une protéine thérapeutique recombinante dans les bactéries consiste en plusieurs stades :
- la production de masse et la culture des organismes recombinants.
- la désintégration des cellules, la suppression des débris cellulaires.
- la purification de la protéine interféron, le choix de la méthode de purification est

dépendant du micro-organisme utilisé pour l' expression, et de la protéine elle-même.

La culture des cellules bactériennes recombinantes a lieu dans de grandes cuves de fermentation. Plusieurs paramètres sont nécessaires pour obtenir un bon réglage. La purification de l' interféron se fait en plusieurs étapes. l' IFN recombinant, produit par E. Coli, est initialement contaminé par des impuretés microbiologiques. Ces impuretés sont interdites pour un usage thérapeutique. La purification de l' interféron est donc primordiale.

Les méthodes utilisées pour purifier l' IFN sont assez diverses. On a utilisé des procédés tels que **la chromatographie d' affinité, le chromato-liquide haute performance (CLHP) et l' électrophorèse sur gel de polyacrylamide sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE).**

L'utilisation d'anticorps monoclonaux a aussi été mise au point, pour effectuer ensuite une purification rapide sur colonne d' immunoaffinité.

Les débris cellulaires sont supprimés après centrifugation. L'extrait clarifié contenant l' IFN est concentré par ultrafiltration. L'étape suivante est une purification par chromatographie d' immunoaffinité en utilisant des anticorps monoclonaux de l' IFN. Cette étape a été suivie d'une chromatographie au "cuivre chélaté" pour séparer les différentes formes d' IFN Alpha2a.
Une colonne finale de filtration sur gel a été utilisée comme ultime étape de purification. L' IFN recombinant peut être stocké et congelé.

Une autre méthode de purification a également été étudiée par Leibowitz et ass.(3) : cette méthode est résumée par Baron et Naula(3).
La suspension cellulaire a subi une acidification suivie d'une neutralisation. L' IFN Alpha2b a été extrait du substrat cellulaire. Le surnageant obtenu de la suspension cellulaire neutralisée a été précipité et concentré pour former un précipité d' interféron alpha brut.
Une série d'extractions sélectives et de précipitations de chromatographie et une filtration stérile terminale ont abouti à l'obtention d'un interféron pur.

Ces procédés décrits pour l'extraction et la purification de l' IFN Alpha2a et Alpha2b synthétisés chez E. Coli ont réalisé un produit d'une pureté maximale et utilisant des procédés reproductibles.

Nous avons vu que l' interféron était produit à partir de bactéries tel que E. Coli et de levure.

D-3 VER A SOIE ET INTERFERON

Le ver à soie peut être utile pour la production à grande échelle de gènes étrangers. Nous allons expliquer comment le ver à soie peut être utilisé pour fabriquer de l' interféron alpha.
Un des buts du génie génétique est d'augmenter la production d'un gène désiré. Les hôtes utilisés le plus souvent pour la production de masse sont E. Coli, comme nous avons pu le voir dans la production de masse, mais aussi d'autres bactéries.

Dans cette partie, nous verrons que l'usage du ver à soie peut être intéressant.

D-3-1 METHODE DE PRODUCTION DE L' INTERFERON CHEZ LE VER A SOIE

Les différentes étapes à effectuer pour obtenir de l' interféron humain chez le ver à soie sont :
_ En premier lieu, il faut développer un virus recombinant pour introduire le gène de l' interféron dans le ver à soie.
Pour cela, il faut introduire le gène de l' interféron dans le génôme viral. Il faut donc fabriquer des plasmides vecteurs.

Le virus de Bombyx mori, Bombyx mori nuclear polyhedrosis virus (BmNPV), fait partie des virus polyhedrosis nucléaires, de la famille des Baculoviridae. Ce virus entraîne la polyhédrose chez le ver à soie, causant sa mort.
Ce virus possède un ADN viral circulaire à double brin. Lors de l'infection dans les larves de vers à soie, les particules virales sont enveloppées dans des inclusions polyhédrales, qui sont principalement composées d'une protéine : **la polyhédrine**. Cette protéine polyhédrale constitue 10% des protéines des cellules infectées, et elle n'est pas indispensable pour la production des virus. Ce virus est utilisé comme vecteur d'expression du gène de l' interféron en remplaçant son gène de la polyhédrine par celui de l' interféron.

En utilisant le ver à soie et le BmNPV recombinant, nous avons pu obtenir un

niveau de production élevé d' interféron alpha humain dans l'hémolymphe des larves de vers à soie.

a) Fabrication du virus recombinant (28)

Le but est donc de fabriquer un virus recombinant possédant le gène de l' interféron dans son génôme.
La première étape est donc de déterminer la position du gène polyhédrine sur l' ADN viral, puisque c'est ce gène que l'on veut remplacer par le gène de l' interféron.
Pour identifier le gène de la polyhédrine sur le génôme viral, on utilise l'ARNm isolé à partir des cellules infectées. Cet ARNm va être utilisé comme sonde. Grâce à une transcriptase reverse, on peut synthétiser de l'ADN cloné.

L'ADN viral est clivé avec des endonucléases de restriction pour obtenir un brin monocatenaire. On met en présence l'ADN viral et l'ADNc : il se forme alors de l'ADN hybride.

Sur cet ADN, on isole le fragment EcoRi 10,5 kb que l'on clone dans un plasmide pBR322 au site EcoRi. On obtient ainsi le plasmide pBmE36. Ce plasmide pBmE36 possède le gène entier de la polyhédrine.

PBmE36 est clivé pour obtenir un fragment Hind III de 3,9 kb, contenant le gène entier de la polyhédrine. Ce fragment est inséré dans un autre plasmide, le pUC9 au site Hind III. Le plasmide résultant est le p9H18 qui contient le gène de la polyhédrine. p9H18 est à son tour clivé avec des exonucléases Bal31. Les fragments coupés de p9H18 sont liés à pUC9 au site Hind III - Sm I. On obtient le plasmide p9B310 qui ne contient plus que le promoteur du gène de la polyhédrine.

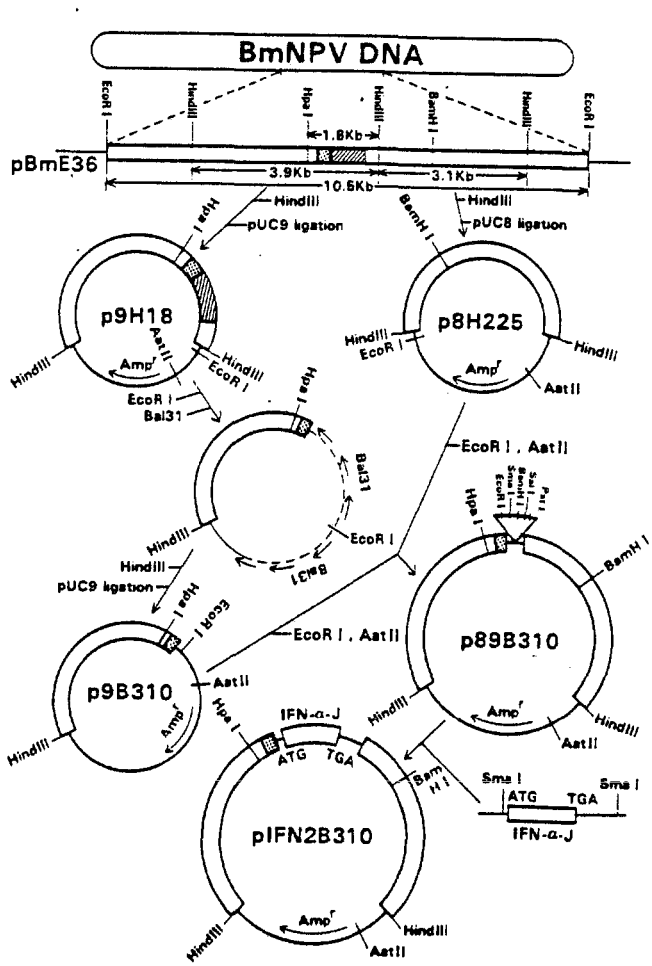
D'un autre côté, un fragment du plasmide pBmE36 en aval du gène de la polyhédrine est lié au plasmide pUC8. On obtient le plasmide p8H225 qui est clivé en EcoRi et Aat II. On obtient un fragment d'ADN qui est lié à p9B310. On obtient alors le plasmide hybride p89B310.

Ce plasmide possède le promoteur, et en aval des sites caractéristiques dont le site Sma I. Il s'agit maintenant d'ajouter le gène de l' interféron alpha au plasmide p89B310. Le gène IFN alpha possède un site Sma I juste avant la séquence signal. Il

est intégré à p89B310 au site Sma I. On obtient donc le plasmide vecteur pIFN2B310.

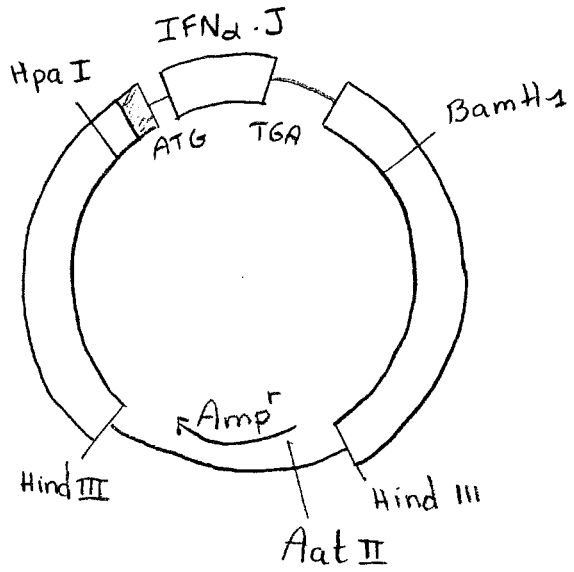
La dernière étape avant l'obtention du virus recombinant est la suivante : des cellules BM-N (de ver à soie) sont à la fois infectées par le plasmide vecteur pIFN2B310 et par le génôme viral.
Le virus va intégrer dans son génôme les informations du plasmide. Les virus recombinants vont être repérés et ils ne produiront pas d'inclusions polyhédrales. Ils sont isolés à partir des liquides cellulaires récoltés après cinq jours d'infection. Le virus recombinant est appelé le BmIFN2B310.

EXPRESSION DU GENE DE L' INTERFERON HUMAIN ALPHA DANS LE VER A SOIE (20).



CARTE PHYSIQUE DE pIFN2B310. (29)

Les plasmides pUC8 et pUC9 ont été utilisés pour la construction. Le gène de l' interféron humain alpha a été inséré entre la séquence en amont et en aval du gène de la polyhédrine.



b) Production d' interféron chez le ver à soie

Lorsque les cellules BM-N ont été infectées par le virus BmIFN2B310, elles ont montré des effets cytopathiques typiques deux jours après l'infection. La courbe de croissance de BmIFN2B310 a été similaire à celle du type sauvage. On a pu observer une production d' interféron allant jusqu'à 10 puissance 6 unités (ml de liquide cellulaire) quatre jours après l'infection.

Les larves vivantes de vers à soie en cinquième stade ont été infectées par le BmIFN2B310. L'hémolymphe a été collectée dans un tube après ouverture des corps larvaires. La cinétique de production d' interféron a été équivalente à celle des cellules BM-N infectées. La production d' interféron a été maximale au quatrième jour après l'infection : 4.10 puissance 7 U / ml.
L'activité antivirale a ensuite diminué à six jours de post-infection.

Production d'IFN dans les cellules BM-N et les larves de ver à soie

	Activité interféron	
VIRUS RECOMBINANTS	CELLULES BM-N	LARVES DE VER A SOIE
Bm IFN2B310	5.10^{6}	5.10^{7}
Bm IFN2B241	3.10^{5}	1.10^{6}
Bm IFN2B323	5.10^{4}	$2,5.10^{5}$
Bm IFN2B587	-10^{3}	-10^{3}
Bm BM034-H7	1.10^{7}	$1,9.10^{8}$

(U. ml^{-1})

Le Bm BMO34-H7 est un virus recombinant qui possède une séquence d'ADN identique à celle du gène polyhédrine située entre le promoteur et le codon start translationnel.La production d' interféron par les larves de vers à soie après infection par BmBMO34-H7 a été environ quatre fois plus importante que celle obtenue par l'utilisation de Bm $IFN_{2}B_{310}$.

c) Caractéristiques de l' interféron alpha produit chez le ver à soie (29)

L' hémolymphe a été chromatographiée sur une colonne. Les fractions éluées ont été soumises à un titrage de l' interféron. Une analyse par électrophorèse sur le gel de polyacrylamide a été effectuée. Le PM déduit a été de 19,5. La molécule extraite a montré une activité d' interféron.
Une analyse par immune blot a montré que l'anticorps marqué de l' IFN alpha humain réagissait avec l'IFN récolté des vers à soie.

Il n'existe pas de différence entre l' interféron produit chez les vers à soie et celui issu de leucocytes humains activés. La purification de l' IFN alpha n'est pas difficile.
L' interféron produit est probablement déposé dans l'hémolymphe comme sont stockées les protéines principales des glandes séricigènes lors du dernier stade larvaire.
Il ne subit pas de dégradation enzymatique, et peut être purifié sans perte d'activité.

Le ver à soie offre une alternative excitante pour la production de masse de gènes étrangers. De plus, il est maintenant possible de l'élever en très grandes quantités et à moindre coût.

D-4 LES APPLICATIONS THERAPEUTIQUES DE L' INTERFERON

D-4-1 LES INTERFERONS ALPHA

	INTERFERON ALPHA		INTERFERON BETA
APPROBATION	Hépatite chronique B et C	leucémie	Sclérose en plaques
	Crête de coq	Sarcome de Kaposi	
EN COURS D'ESSAIS CLINIQUES	Infections de la gorge par papillomavirus	Tumeurs du colon	Carcinome basal
	Infection à VIH	Tumeurs des reins	
	Leucémie chronique myélogène	Cancers de la vessie	
	Lymphome	mélanome malin	
	INTERFERON GAMMA		
APPROBATION	Maladie chronique granulomateuse		
EN COURS D'ESSAIS CLINIQUES	Tumeurs des reins Leishmaniose		

Deux formes d'alpha interféron ont été approuvées comme médicaments en France : l' interféron alpha-2b (INTRON A, schering- Plough), et l' interféron alpha-2a (ROFERON A, Roche).

INTRON A est utilisé dans la maladie des crêtes de coq (infection par papillomavirus), dans la leucémie à tricholeucocytes, dans le sarcome de Kaposi,

dans l'infection par HIV, dans le carcinome cutané des cellules basales et dans les hépatites B et C.
ROFERON A est utilisé contre la leucémie à tricholeucocytes et le sarcome de Kaposi dans l'infection par HIV, ainsi que dans l'hépatite B, le cancer rénal métastasé.

WELLFERON (WELLCOME), l' interféron alpha-n1 n'a pas encore l'autorisation de mise sur le marché en France. D'autres indications sont en cours d'essais cliniques : l' interféron alpha semble avoir une activité prometteuse dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique, l'hépatite B et C.
La première fonction des IFN Alpha est antivirale, antiprolifération et antitumorale .
L' IFN ALPHA n'est pas réellement immunomodulateur . L' utilisation dans les maladies virales de l' IFN est basée sur ses effets antiviraux in vitro.
L' interféron ALPHA a une action sur diverses infections virales telles que l' herpès simplex virus , papillomavirus humain, l'infection HIV .
Il permet également de traiter à des degrés moindres des tumeurs cutanées telles que le lymphome cutané , le sarcome de KAPOSI , le mélanome malin .

1/ L'HERPES SIMPLEX VIRUS

L'administration sous-cutanée de l' IFN ALPHA recombinant à des doses de
5. 10 5 UI/KG par jour pendant quinze jours entraîne la suppression et la diminution de la durée de l' infection du virus Herpès simplex , chez des patients ayant des rechutes fréquentes .
Un traitement court de trois jours d' IFN ALPHA à une dose de 6.10 6 UI par jour en sous-cutané après une première rechute donne une réduction significative de
l' infection virale . L' application locale de l 'IFN ALPHA en onguent ou gel dans le cas d' Herpès labial ou génital s'est montré efficace et permet de réduire les réapparitions et la durée des éruptions cutanées .
Cependant , aucune étude comparative n' a évalué si l' IFN ALPHA avait des résultats supérieurs par rapport aux applications topiques de l'acyclovir (ZOVIRAX) .
L' interféron ALPHA recombinant a également une action bénéfique sur les symptômes de l' Herpès Zoster , qui est d' une importance particulière chez les patients immunodéprimés . Le traitement systémique de l' Herpès zoster avec l ' IFN ALPHA recombinant et l ' Acyclovir a été comparé , ne montrant aucune différence significative .Les effets secondaires ont cependant été plus fréquents dans le groupe des patients traités par l ' IFN ALPHA .

2/ LES PAPILLOMAVIRUS HUMAINS : HPV

Les HPV sont des virus à ADN entraînant les condylomes anogénitaux . Cinq types d' HPV sont rattachés aux condylomes , HPV 6 reste le plus fréquent .Dans la majorité des cas , ces végétations sont transmises à l' occasion d' un rapport sexuel . La contagiosité est relativement élevée . La durée d 'incubation varie de quelques semaines à quelques mois . Le diagnostic est clinique : ce sont des lésions type verrue sur la peau et les muqueuses , et quelques unes d' entre elles ont été associées au développement de tumeurs cutanées malignes . Le traitement repose sur la destruction locale :

- La résine de podophylline (10à 20 % diluée dans un excipient liquide) est utilisée dans le traitement des condylomes de la marge anale et des organes génitaux .

- La cryothérapie : application d' azote liquide en cas de condylomes cutanés .

- L' électrocoagulation , sous anesthésie , si les condylomes sont profus .

- Le laser CO 2 : dans le traitement des condylomes cervicovaginaux et anaux .

- Le Fluoro 5 uracile (EFUDIX) : les applications de cette crème sont très irritantes .

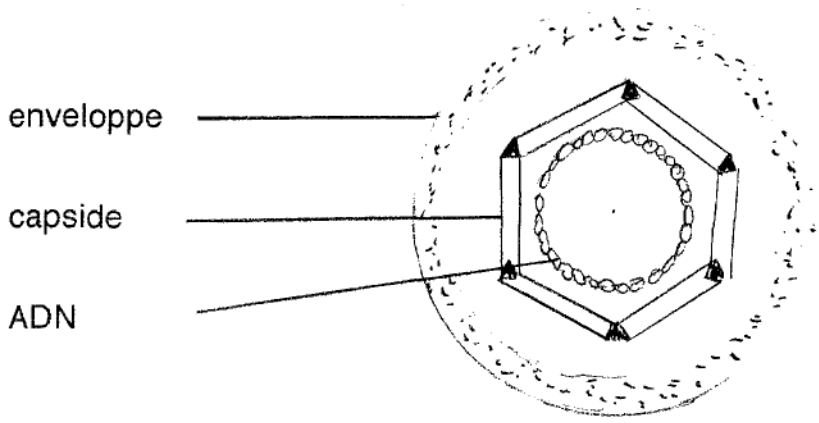
Les rechutes relativement élevées sous thérapie conventionnelle ont entraîné plusieurs études de traitement par l' IFN des maladies dues à HPV .
Une utilisation d' IFN à la dose de 10. 6 UI par jour en sous cutané ou intralésion trois fois par semaine pendant trois semaines a entraîné une rémission complète chez 30 à 80 % des patients traités par l' IFN ALPHA recombinant (49) . Aucune rechute n' a été observée dans les douze mois suivants . Les lésions avec transformation néoplasique semblent bien répondre à la thérapie de l' IFN ALPHA . Aucun bénéfice n'est apporté par une dose plus élevée . Dans tous les cas , la voie d' administration (IM , SC ou intra lésion) n' influence pas significativement la réponse .

Un cas de papillomatose virale buccale traité avec l' IFN ALPHA 2a à la dose de 3M UI par jour à raison de trois fois par semaine pendant trois mois a obtenu une

régression globale de 50 % (8).
La combinaison avec la chirurgie au laser CO2 a permis une rémission complète des zones traitées . Le moyen le plus prometteur de traitement semble être la combinaison de la thérapie conventionnelle avec une administration d' IFN ALPHA .
Les résultats ainsi obtenus sont optimistes .

3/ TRAITEMENT DE L' HEPATITE B CHRONIQUE (4)

L' hépatite B est due au virus HBV de la famille des Hépadnavirus . Il s' agit d' un virus à ADN constitué d' une capside et d' une enveloppe . L' antigène HBS correspond à l' enveloppe virale . La capside virale est associée à des antigènes , HBc et HBe .
Le virion complet infectant (particule de Dane) est composé de l' enveloppe entourant la capside . A l' intérieur de la capside se trouve l' acide nucléaire viral ainsi que deux enzymes jouant un rôle dans la réplication et la maturation du virus B: l' ADN polymérase et une protéine kinase .



particule de DANE(40)

L' hépatite B aiguë aboutit à la maladie chronique dans 5 à 10 % des adultes infectés. L'âge jeune d' exposition apparaît entraîner un risque plus élevé de développer un état porteur ; une infection néo-natale aboutit dans 90 %des cas à une hépatite chronique .

Il existe 200 millions de porteurs de l' hépatite B estimés dans le monde .
En Afrique, Alaska, le mode de transmission majeur est périnatal. Aux USA , le mode le plus fréquent de transmission est parentéral et sexuel .
Les individus à haut risque sont les hémophiles, hémodialysés, prostituées et homosexuels.
La plupart des patients progressant vers la chronicité ont peu ou pas de symptômes pendant l'infection aiguë .
Le diagnostic d' hépatite B chronique est fait par la persistance de l' antigène de surface du virus HBV = HBs Ag dans le sérum pendant plus de six mois .
Les patients ne progressant pas vers la maladie chronique perdent HBs Ag trois à quatre mois après l' infection aiguë. La réplication virale active est détectée par la présence de HBe Ag.
Les patients ayant une persistance de HBs Ag supérieure à six mois et une positivité de HBe Ag sont des candidats à la thérapie de l' interféron . L' absence de HBe Ag n' exclue pas une réplication virale et une infectivité .
Chez les patients ayant un HBs Ag positif et un HBe Ag négatif, le dosage de HBV-ADN sera effectué.
Si HBV-ADN est positif , la réplication virale est présente et le traitement à l' interféron est indiqué .
Les buts de la thérapie sont d' éliminer la réplication virale , manifestée par la perte de HBe Ag , l' apparition d' HBe Ac et éventuellement la perte de HBs Ag, et enfin par la normalisation des enzymes hépatiques.

Critères de sélection des patients pour obtenir une meilleure réponse au traitement

- patients ayant un taux ALT > 200 UI .
  ayant un taux faible de HBV-DNA < 100 pg
  ayant acquis la maladie pendant l'âge adulte .
  de sexe féminin

-Augmentation passagère des transaminases pendant le deuxième ou troisième mois de traitement .
Ceci indique une augmentation de la réponse immunitaire de l' hôte induite par l' interféron .

- Acquisition de la maladie après la naissance .

Une étude a été effectuée sur des enfants ayant une hépatite B chronique . Les enfants ayant acquis la maladie au moment de leur naissance (transmission verticale) n' ont pas répondu au traitement .

- Patients ayant une maladie du foie bien compensée .

- Evidence sérologique de réplication virale de l' hépatite B
  HBe Ag positif depuis plus de six mois
  HBV-DNA positif

- Evidence chimique de maladie hépatite chronique = transaminases deux fois supérieures à la normale .

Doses d' interféron utilisées

L' interféron ALPHA 2b (INTRON A, Shering-Plough) est le seul interféron ayant de bons résultats dans le traitement de l' hépatite virale chronique .
La dose d' IFN utilisée pour traiter l' hépatite B chronique est soit =
5.10.6 UI par jour en SC pendant quatre mois soit 10. 10.6 UI par jour trois fois par semaine en SC pendant quatre mois .

Ce traitement arrive à l' arrêt de la réplication virale et à l' amélioration de la maladie hépatique dans 40 à 50 % des cas .
La résolution de la maladie est plus vraisemblable si les patients ayant des critères favorables sont sélectionnés .
Les patients sous thérapie requièrent une surveillance très stricte . En plus des tests sanguins de routine , une détermination périodique de HBe Ag et HBs Ag sera effectuée .
Les patients qui répondent à la thérapie produisent habituellement une élévation passagère des aminotransférases, suivie par la conversion à un HBe Ag négatif et à l' apparition d' anticorps anti HBe .
La disparition de HBs Ag a lieu dans 10 à 15 % des patients pendant la thérapie mais le plus couramment , cette perte s' effectue dans 65 à 80 % des cas dans les trois à cinq ans suivants .
Une rechute a lieu chez 5 à 10 % des individus ayant eu une séroconversion d' HBe Ag . Ceci arrive habituellement au cours de la première année suivant l' arrêt du traitement . Cependant, la majorité des patients ayant une hépatite B chronique et

répondant au traitement de l' interféron connaît une rémission soutenue .

4/ TRAITEMENT DE L' HEPATITE C CHRONIQUE (4;10)

Le virus de l' hépatite C (HCV) appartient à la famille des Flavivirus ; Il s' agit d' un virus à ARN . Le virus lui-même n' a pas été isolé .
La contamination se fait par le sang selon des modalités voisines de celles de l' infection par le HBV . L 'hépatite post-transfusionnelle est la plus fréquente . Elle peut également être transmise par du matériel contaminé par du sang infecté et mal stérilisé . Elle peut atteindre le personnel de santé , et elle est très fréquente chez les toxicomanes . La transmission sexuelle est beaucoup moins fréquente que pour l' hépatite B .
L' hépatite C aiguë est fréquemment asymptomatique et ne sera pas détectée , à moins que le taux de transaminases ne soit mesuré .

Plus de 50 à 60 % des cas progresseront vers une hépatite chronique et 20 à 25 % développeront une cirrhose ou un carcinome hépatocellulaire . La progression vers la maladie chronique est lente : un développement en hépatite chronique active aura lieu cinq à dix ans après l' exposition , un développement vers la cirrhose aura lieu quinze à vingt ans après l' exposition et la progression vers un carcinome hépatocellulaire seulement trente ans après l' infection aiguë .

-Diagnostic

Il repose sur la sérologie . La séroconversion anti-HCV est tardive : dans 40 % des cas , elle ne se fait que deux à douze mois après le premier pic des transaminases d' une primo infection . D' autre part, les tests sérologiques ne distinguent pas les malades porteurs chroniques du virus des sujets guéris d' une hépatite C .
Le test anti-HCV est un test ELISA qui détecte la présence d' anticorps non neutralisants contre des portions du génôme HCV . Les patients atteints d' une hépatite C chronique auront un test anti-HCV positif .

TESTS SEROLOGIQUES POUR L' HEPATITE C

A **Anti-HCV** (ELISA seconde génération)

Faux positif

-Hépatite autoimmune

-Etats hypergamaglobulinémiques

-Patients ayant des tests hépatiques normaux et aucun facteur de risque .

Faux négatif

- 5 à 8 % de faux négatif

B **RIBA :**

- Test de confirmation d' hépatite C
- Positif dans plus de 98 % des cas d' hépatite C chronique .

C **HCV-ARN :**

- Standard pour le diagnostic de l' hépatite C
- Aide dans les cas difficiles de diagnostic mais test onéreux .

Chez les patients ayant un anti-HCV positif, un test sérologique de confirmation RIBA (essai recombinant immunoblot) sera effectué . La combinaison d' un anti-HCV positif et RIBA est un diagnostic d' infection active au HCV . Cependant, il faut éliminer toute infection par le HBV (absence de HBs Ag) , par l' hépatite A (absence d' IgM anti-HAB) , par le virus d' Epstein-Barr (absence d' IgM anti-VCA) et cytomegalovirus (absence d' IgM anti CMV) et éliminer toute prise de médicaments hépatotoxiques .

Une biopsie du foie permet d' établir la sévérité de la maladie car l' élévation des transaminases ne permet pas de distinguer une simple hépatite chronique d' une cirrhose .

Les patients ayant une preuve sérologique et histologique d' une hépatite C chronique devraient être traités par l' interféron ALPHA .

- Critères de sélection des patients

Les patients ayant une sérologie d'infection HCV , des tests hépatiques anormaux d' une durée supérieure à six mois , une biopsie hépatique prouvant une hépatite chronique et aucune autre cause pour expliquer les anomalies des tests , sont candidats pour la thérapie à l' interféron .

Les patients ayant une maladie hépatique décompensée telle que la présence d' ascite , d' hémorragie variqueuse , une coagulopathie ou une encéphalopathie ne sont pas candidats pour la thérapie à l' interféron . Il faudrait envisager pour ces patients une transplantation hépatique à la place .

-Buts de la thérapie

Les efforts thérapeutiques en vue de contrôler l' hépatite C chronique sont justifiés par la course insidieuse de la maladie, le risque de développer une cirrhose et le peu de rémission de la maladie .
Le but à long terme doit être la réduction du risque de progression histologique et fonctionnelle de la maladie . Le but est donc de normaliser les taux de transaminases hépatiques . Malheureusement , il n' existe pas de patients caractéristiques qui répondront favorablement au traitement .

-Action de l' interféron ALPHA

L' interféron ALPHA agirait par inhibition directe de la réplication de HCV par de multiples mécanismes :

- Il inhiberait l' attachement du virus à son enveloppe
- Il induirait la formation de protéines intracellulaires ayant des propriétés antivirales .
- Il amplifierait la réponse immune spécifique (lymphocytes T cytotoxiques) et non spécifique (natural killers) face aux antigènes viraux .

-Résultats du traitement à l' interféron ALPHA

Les doses utilisées dans les études sont de l' ordre de 3 M UI trois fois par semaine pendant six mois . Une réaction nette au dosage a été observée et l' utilisation de

3 M UI trois fois par semaine en sous-cutanée a été plus efficace que 1 M UI trois fois par semaine . Le traitement se fait à long terme .

Des essais cliniques internationaux traitant de l' interféron ALPHA dans l' hépatite C chronique ont montré un taux de 40 à 50 % de réponses complètes (normalisation des transaminases) et un taux de 10 à 15 % de réponses presque complètes (diminution de 50 % des transaminases) .
Cependant , le taux de rechute après arrêt de la thérapie apparaît être élevé , variant entre 50 et 80 % . La plupart des rechutes a lieu pendant les trois premiers mois suivant l' arrêt du traitement . Un nouveau traitement entraîne rapidement une réponse positive avec la même dose d' interféron ALPHA . Des doses plus élevées ne semblent pas donner des taux de rémission plus élevés .

Quelques patients , rechutant très tôt après l' arrêt de la thérapie peuvent normaliser leurs transaminases spontanément : ainsi une période d' observation est recommandée avant d' initier un nouveau traitement , afin d' identifier les patients qui auront une rémission spontanée .
Bien que l' interféron soit efficace dans le traitement de l' hépatite C chronique, les résultats de la thérapie sont modestes . Des études sont en cours sur une thérapie à long terme pour obtenir des rémissions durables .
Pour expliquer ce taux de rechute , il existe plusieurs théories :

- Les dosages de l' interféron ne sont pas adéquats .

- Le virus pourrait se répliquer dans un site protégé des effets antiviraux de l' interféron , mais ceci semble improbable .

- Le virus pourrait développer une résistance aux inhibiteurs des protéines virales

- Des anticorps anti-interféron pourraient neutraliser les effets de l' interféron .

- Le taux de réponse initiale au traitement à l' interféron serait dépendant du taux de virémie et du génotype viral . Les patients ayant un taux faible d' HCV ont une chance plus grande d' obtenir une réponse au traitement . De même , les patients ayant le génotype de HCV prévalent au Japon (Okamoto type III) sont plus aptes à répondre au traitement . Ce génotype est par contre peu courant aux USA et en Europe .

- L' interféron sélectionnerait des sous-types de HCV résistants .

5 / LE SARCOME DE KAPOSI

51/ Associé au VIH

5 11/ Pathogénèse des tumeurs

Le sarcome de Kaposi disséminé se développe chez 25 à 35 % des patients atteints du SIDA . Le sarcome de Kaposi est un néoplasme vasculaire cutané malin .
Les lésions cutanées chez les patients atteints du SIDA se situent sur les jambes , bras , sur le corps , elles peuvent être solitaires ou innombrables . La maladie peut être d' une progression lente ou rapide . On ne sait pas si le VIH type I a un rôle direct dans la pathogénèse du sarcome de Kaposi .
Il existe une prépondérance de la maladie chez les patients homosexuels . Par contre, le sarcome de Kaposi est rarement vu chez les toxicomanes , les hémophiles ou les hétérosexuels atteints du SIDA . Une telle prépondérance de la maladie chez les homosexuels serait peut-être liée à la présence de co-facteurs ou d' autres virus oncogéniques .

512 / Mécanismes de l' activité de l' interféron ALPHA

Les facteurs défavorables à une réponse au traitement sont :

- Une maladie extensive

- des symptômes constitutionnels tels que fièvre , sueurs nocturnes , perte de poids et un taux de CD 4 inférieurs à200 .

- Un historique d' infection opportuniste .

En fait , la réponse à l' interféron est corrélée avec la préservation du système immunitaire . L' activité de l' interféron ALPHA contre le sarcome de Kaposi chez des

patients sidéens a été confirmée .

Une dose de 18 M UI par jour en sous-cutané pendant trois mois suivie de la même dose trois fois par semaine les trois mois suivants a entraîné la stabilisation de la maladie chez 50 % des patients et une rémission complète chez 25 % .

L' augmentation de la dose d' interféron accroît les effets secondaires sévères mais n'améliore pas le statut du patient .

Le traitement pendant les stades précoces du sarcome de Kaposi chez les patients sidéens pourrait donner une rémission à long terme et une stabilisation de tous les cas cliniques .

Les effets cliniques et morphologiques de l' interféron sur les lésions du sarcome sont dus à l' effet antiprolifératif direct de l' interféron sur les cellules endothéliales microvasculaires et sur les cellules dérivées du sarcome .

L' interféron entraînerait également une augmentation du nombre de CD 4 et une diminution durable de HIV I - p 24 (HIV - Ag) pendant le traitement , ainsi qu' une amélioration des tumeurs .

L' amélioration de la fonction immune , mesurée par le taux de CD 4 a un rôle dans la régression du sarcome de Kaposi . L' augmentation du nombre de CD 4 pourrait être due en partie à l' activité antirétrovirale de l' interféron ALPHA , mesurée par la diminution de HIV - Ag .

IL est maintenant clair que le nombre de CD 4 influence les réponses . Les patients ayant plus de 200 CD 4 ont une réaction d' environ 30 % alors que la réaction peut être de 50 à 80 % pour ceux ayant plus de 400 CD 4 .

513 / Dosage de l' interféron

Les doses varient de 5 à 30 M UI d' unités par jour en intramusculaire ou sous-cutané trois fois par semaine . Le schéma thérapeutique le plus courant est de 36 M UI par jour trois fois par semaine pendant huit à douze semaines , suivi d' une dose de maintien de 18 à 36 M UI par jour trois fois par semaine .

Des données récentes suggèrent une possible synergie entre l' interféron ALPHA et la zidovudine (AZT) . Une telle association pourrait permettre une diminution des doses d' interféron ALPHA .

La durée du traitement est indéfinie, tant que le patient répond et que la maladie se stabilise.

modèles de traitement :

- Interféron alpha 2 a :

3 M UI en IM ou SC par jour pendant trois jours puis
9 M UI par jour pendant trois jours puis
18 M UI par jour pendant trois jours puis
36 M UI par jour pendant dix à douze semaines.

- Interféron alpha 2b :

30 M UI en IM ou SC trois fois par semaine tant que le patient répond et que la maladie se stabilise.

514/ Critères d' utilisation

Le traitement à l' interféron sera effectué chez des patients qui :

- n'ont pas d' autres symptômes reliés au SIDA

- n' ont pas de disfonctionnement immun trop sévère : taux de CD4 > 200

- n' ont pas de sarcome de Kaposi associé au SIDA viscéral ou progressif

- n' ont pas de symptômes constitutionnels : fièvre, sueurs nocturnes, perte de poids, historique de maladies opportunistes.

52/ Le sarcome de Kaposi classique

Le sarcome de Kaposi classique est un cancer multifocal rare, habituellement observé chez des sujets d' un certain âge, de type méditerranéen. Les patients présentent des macules rouge violacé, des plaques ou des nodules sur les membres

inférieurs . L' évolution est lente et n' implique pas couramment le pronostic vital, bien qu' il y ait des localisations osseuses, lymphatiques et viscérales.

Les traitements recommandés sont la radiothérapie et la chimiothérapie. La radiothérapie entraîne des taux de guérison de 30 à 90 % . La chimiothérapie est utilisée chez des patients ayant des lésions viscérales : une combinaison d' agents cytotoxiques est habituellement utilisée avec des degrés variables de succès.
Des agents viraux tels que le cytomegalovirus, le VIH, le virus humain papillomavirus sont impliqués comme facteurs précipitants du sarcome de Kaposi.

Une réponse immunitaire altérée serait aussi à l' origine de la forme classique du sarcome de Kaposi. En effet, dans le sarcome de Kaposi classique, des réponses lymphocytaires in vitro aux stimulis peuvent être anormales. De plus, le ratio CD4/CD8 peut être perturbé.

L' interféron ALPHA a été testé comme thérapie grâce à ses effets anticancéreux , antiviraux et immunomodulateurs . Récemment , des essais avec l' interféron ALPHA 2a ont montré qu' il pouvait inhiber la motilité des cellules endothéliales capillaires in vitro , ainsi que l' angiogénèse chez la souris . De plus, il a été efficace dans le traitement de l' angiome mortel chez l' enfant . Ces essais suggèrent que l' interféron ALPHA 2 a est un agent antiangiogénique efficace . Ceci peut être un atout dans le traitement du sarcome de Kaposi car cette maladie serait à l' origine d' un désordre vasculaire .

- Traitement du sarcome de Kaposi classique : résultats

Les résultats du traitement à l' interféron dans le sarcome de Kaposi classique sont assez contradictoires . Il existe peu d' études sur ce sujet .

Dans une étude effectuée par Mr MIRALLES et Associés (36), les patients traités par l' interféron ALPHA 2 A à faible dose n'ont eu aucune réponse favorable au traitement . Les doses utilisées ont été de l' ordre de 3 à 9 M UI par jour en IM pendant un à sept mois . Les patients traités par Mr MIRALLES avaient une maladie de peau disséminée , une implication viscérale et une détérioration immunologique .

résumée par Miralles (36)

Dans une autre étude effectuée par Mr TUR et Associés(36) , les patients traités ont tous répondu favorablement au traitement . Cependant , ces patients avaient une maladie moins extensive que dans le cas de Mr MIRALLES .

Dans une autre étude, Mr TRATTNER et Associés (53) ont injecté l' interféron ALPHA dans les lésions . Des dix patients traités , neuf ont eu une réponse de la lésion . La durée de traitement était de huit semaines . Les lésions distantes n' ont pas eu de réponse au traitement.
Il existe peut-être, pour expliquer ces résultats disparates , un modèle de patients répondeurs ou non répondeurs .De plus, l' étendue des tumeurs semble être déterminante dans la réponse thérapeutique . Ceci pourrait être inversement relié à la situation immunologique de l' hôte.
Des études ultérieures seront nécessaires pour déterminer la durée du traitement, les doses à administrer, et quels sont les candidats à la thérapie de l' interféron.

6/ LA LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE (52)

La leucémie myéloïde chronique LMC chromosome Philadelphie est une maladie néoplasique clonale qui est caractérisée par une phase initiale chronique avec maturation des séries myéloïdes. A ce stade, le traitement conventionnel avec
l' hydroxyurée ou le busulphan induit habituellement une rémission hématologique, mais le clone pathologique persiste.
Après une période moyenne de trois ans, tous les patients développent une crise blastique résistante à la chimiothérapie.
Le but de la thérapie dans la LMC est d' obtenir la suppression du clone Philadelphie et la restauration du caryotype normal.
Avec la transplantation allogénique de moelle osseuse, le clone Philadelphie peut être éradiqué mais seuls 20 % des patients pourront subir ce traitement.
Le traitement de la LMC avec l' interféron induirait une rémission hématologique chez 70 % des patients atteints de LMC philadelphie positif, et une suppression totale du clone Philadelphie dans 10 à 20 % des patients, avec une repopulation par des cellules hématopoïétiques normales.
La durée moyenne des rémissions hématologiques est de trois à quatre mois. La dose optimale de l' interféron ALPHA est de 5. 10 6/ m2 par jour. La réduction de la

dose menace la réponse au traitement.
Il existe un nombre élevé de rechutes avec la thérapie à l' interféron alpha. Il y aurait formation d' une résistance secondaire à l' interféron.
20 % des patients traités développent des anticorps neutralisants contre l' interféron. Chez les patients développant ces anticorps neutralisants, les taux de réponse au traitement sont plus faibles.

Une rémission a lieu plus souvent chez les patients ayant un taux de plaquettes normal, peu de cellules blastiques dans le sang périphérique et chez les patients répondant au traitement dans une période de huit mois suivant le début du traitement.
Le traitement à l' interféron augmente significativement la survie des patients par rapport aux traitements chimiothérapiques.
De plus, l' interféron permet d' induire plus de réponses caryotypiques (perte du chromosome Philadelphie) par rapport à l' hydroxyurée , pendant les deux premières années de traitement.

7/ LA LEUCEMIE A TRICHOLEUCOCYTES(49)

Un taux de réaction de plus de 70 % à l' interféron alpha a été constaté lors d' essais cliniques. Mais seuls 5 % des patients montrent une réaction hématologique complète. La splénectomie doit donc rester la thérapie de base.
Le mérite relatif de l' interféron alpha comparé à la splénectomie doit attendre encore quelques précisions.
Les doses employées dans les études de recherche varient de 0,2 à 10 millions d' unités quotidiennes trois fois par semaine.
Le dosage le plus fréquent est de 3 M UI par jour ou trois fois par semaine, soit en intramusculaire , soit en sous-cutané . La durée optimale de traitement doit être définie.

D-5 LES EFFETS SECONDAIRES DE L' INTERFERON

La toxicité de l' interféron ALPHA semble être liée au dosage et elle est réversible. Elle est plus souvent observée chez les personnes âgées.
La toxicité peut avoir des effets aigüs ou chroniques.

D - 5 - 1 LA TOXICITE AIGUE

La toxicité aiguë de l' interféron ALPHA se manifeste par un syndrôme de type grippal apparaissant quelques heures après les premières injections. Des symptômes tels que fièvre, myalgie, fatigue, tachycardie, maux de tête sont les effets défavorables les plus courants.
Ce syndrôme disparaît normalement sept à dix jours après le début du traitement : cette accoutumance s' appelle le tachyphylaxis.

C - 5 - 2 LA TOXICITE CHRONIQUE

Une fatigue intense, une faiblesse et une anorexie se développent lors d' un traitement à long terme.
Une leucopénie, une diminution du nombre des plaquettes, une augmentation des transaminases peuvent également se produire.
On a pu noté aussi une perte de poids, des diarrhées, nausées, une alopécie faible et un dysfonctionnement de la thyroïde lors d' un traitement à long terme.
Les patients ayant des désordres psychiatriques préexistants, particulièrement dépression ou désordres de la personnalité peuvent avoir une exacerbation de leur condition psychiatrique.
De même, un état de dépression peut apparaître chez des patients sans désordre psychiatrique.
Des ulcérations aux sites d' injections répétées de l' interféron ALPHA peuvent se développer. En tout, moins de 5 % des patients requièrent un arrêt précoce de la thérapie à cause des effets toxiques.
Une toxicité cardiovasculaire peut se manifester par une hypotension (légère à

modérée) observée chez environ 15 % des patients.
Dans certains cas, il faut équilibrer le dosage pour obtenir une toxicité acceptable sans compromettre l' activité clinique.
La formation d' anticorps contre l' interféron pourrait coïncider avec l' augmentation des effets secondaires.

Normalement, une cytopénie, une maladie autoimmune et des conditions psychiatriques sévères sont des causes de contre-indications au traitement à l' interféron ALPHA.

CONCLUSION

Dans une première partie, nous avons pu étudier la physiologie du ver à soie et sa capacité à filer de la soie et à former des cocons. Nous avons pu voir que chaque étape de la vie du ver à soie Bombyx mori est commandée par un contrôle hormonal.

Le fénoxycarbe, par son action mimétique de l' hormone juvénile perturbe le filage des cocons chez le ver. Il perturbe le taux d' hormones juvéniles chez le ver, ce qui induit un état larvaire prolongé : le ver à soie grossit sans jamais passer à l' état adulte. Le fénoxycarbe agit sur Bombyx mori à des doses très faibles, de l' ordre de 120 000 molécules. Des mesures d' interdiction ont été prises en Italie à l' encontre de cet insecticide. En France, ce problème n' a pas encore donné lieu à des interdictions.

Dans une dernière partie, nous avons pu étudier la formation d' interféron dans le ver à soie. Grâce à un baculovirus recombinant auquel on a introduit le gène de l' interféron humain, il a été possible d' obtenir des quantités importantes d' interféron dans l' hémolymphe du ver à soie. Bombyx mori représente un réel intérêt à l' avenir en tant que matériel génétique. Il pourrait y avoir ultérieurement une fabrication de médicaments grâce au ver à soie.

Nous avons pu également observer que l' interféron alpha est un médicament dont on ne connaît pas encore tous les modes d' action. Des études approfondies détermineront avec précision le rôle exact de l' interféron dans le traitement des maladies telles que le sarcome de Kaposi, la leucémie myéloïde chronique et les hépatites virales chroniques. Les données actuelles restent assez empiriques et les résultats de traitement peuvent être contradictoires (traitement du sarcome de Kaposi).

BIBLIOGRAPHIE

1. AGNELLO, V. ; KNIGHT, G. Interféron alfa 2a for cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N. Eng. J. Med. 1994 Aug, **331**(6), 400.*

2. ATKINS, CD. Interferon alfa 2a for chronic myeloid leukemia (letter). *N. Engl. J. Med., 1994 Aug 11, **331**(6), 401-402.*

3. BARON, E. ; NARULA, S. From cloning to a commercial realization : human alpha interféron. *Crit. Rev. Biotechnol. 1990,**10**(3) ,179-190.*

4. BERRY, A M. ; HERRERA, J. L. Diagnosis and treatment of chronic viral hepatitis. *Compr . Ther.1994, **20**(1),16-19.*

5. BONETTI, P. ; DIODATI, G. ; DRAGO, C. ; CASARIN, C. ; SCARRABAROZZI, S. ; REALDI, G. ; RUOL, A. ; ALBERTI, A. Interferon antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection treated with recombinant interféron alpha-2a. *J. Hepatol. , 1994 Mar, **20**, 416-420.*

6. BRUGUERA, M. ; GARCIA, O. ; LAMBRUSCHINI, N. ; CARNICER, J. ; BERGADA, A. ; MARTIN-ORTE, E. ; COSTA, J. ; SANCHEZ-TAPIAS, JM. ; RODES, J. Treatment of chronic hepatitis B in children with recombinant alfa interferon. Different response according to age at infection. *J. Clin. Gastroenterol., 1993 Dec, **17**(4), 296-299.*

7. CHAVANCY, G. ; PLANTEVIN, G. ; GRENIER, S. Le syndrôme de non filage des cocons par les vers à soie Bombyx mori et rôle probable du fénoxycarbe. Impact du fénoxycarbe sur l'entomofaune. 1991 Sept. *Plaquette bibliographique de la magnanerie de Saillans (Drôme).*

8. COLLANGETTES, D. ; CHOLLET, P. ; FONCK, Y. Oral florid papillomatosis. *Eur. J. Cancer. B. Oral. Oncol., 1993 Jan, **29 B**(1), 81-82.*

9. Criteria for use of interféron alpha-2a or interféron alpha-2b for selected indications in adults. *Am. J. Hosp. Pharm. , 1994 Apr 15, **51**(8), 1030-1033.*

10. DAVIS, L. ; LIM, H. Current status of interferon therapy for chronic hepatitis C : a hepatologist's perspective. *Infect. Agents. Dis. ,1993 jun,* ***2****, 150-154.*

11. DE STASIO, PR. ; TAYLOR, MW. Specific effects of interferon on the herpès simplex virus type 1 transactivation event. *J. Virol., 1990,* ***64****(6), 2588-2593.*

12. DE WIT, R. AIDS-associated Kaposi' s sarcoma and the mechanisms of interferon alpha's activity: a riddle within a puzzle. *J. Intern. Med. , 1992 Apr,* ***231****(4), 321-325.*

13. FRANS, E. ; BLOCKMANS, D. ; PEETERMANS, W. ; KNOCKAERT, D. ; BOBBAERS, H. Kaposi's sarcoma presenting as generalized lymphodema. *Acta. Clin. Belg., 1994,* ***49****(1), 19-22.*

14. GADENNE, C. ; GRENIER, S. ; PLANTEVIN, G. ; MAUCAMP, B. Effects of a juvenile hormone mimetic, fenoxycarb. *Experientia, 1990,* ***46****, 744-747.*

15. GALVANI, D. W. ; CAWLEY, JC. Mechanism of action of alpha interferon in chronic granulocytic leukemia : evidence for preferencial inhibition of late progenitors. *Br. J. Haemotol. 1989,* ***73****(4), 475 - 479.*

16. GAUDIN, JL. ; CAUSSE, X. ; ZOULIM, F ; CHEVALLIER, M. ; TREPO, C. Guérison d' une hépatite virale B-delta chronique par l' association zidovudine et interféron alpha recombinant chez un sujet ayant un sarcome de Kaposi associé au VIH. *Gastroenterol. Clin. Biol, 1992,* ***16****, 468-472.*

17. GENG, YJ. ; HANSSON, GK. ; HOLME, E. Interferon gamma and tumor necrosis factor synergize to induce nitric oxide production and inhibit mitochondrial respiration in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res., 1992,* ***71****(5), 1268-1276.*

18. GHYKA, G. ; ALECU, M. ; HALALAU, F. ; COMAN, G. Intralesional human leukocyte interferon treatment alone or associated with IL-2 in non-AIDS related Kaposi's sarcoma. *J. Dermatol., 1992 Jan,* ***19****(1), 35-39.*

19. GRENIER, S. ; GRENIER, AM. Fenoxycarb a fairly new Insect Growth Regulator: a review of its effects on insects. *Ann. Appl. Biol,1993,* ***122*** *(2), 369-403.*

20. HORIUCHI, T. ; MARUMOTO, Y. ; SAEKI, Y. ; SATO, Y. ; FURUSAWA, M. ; KONDO, A. ; MAEDA, S. High-level expression of the human alpha interferon gene through the use of an improved baculovirus vector in the silkworm, Bombyx mori. *Agric. Biol. Chen. , 1987,* ***51****(6), 1573-1580.*

21. JOHNSON, H. ; BAZER, F. ; SZENTE, B. ; JOUPE, M. Les interférons contre les maladies. *Pour la science, 1994 Jul,* ***201****, 78 - 85.*

22. KECK, G. Anti-parasitaires et intoxications. *Act. Pharm., 1993 Avr,* ***308****, 32-34.*

23. KENNEDY, BJ. Interféron alfa 2a for chronic myeloid leukemia (letter). *N. Engl. J. Med., 1994 Aug 11,* ***331****(6), 402.*

24. LANGER, A. ; PESTKA, S. Structure of Interferons. *Pharmac. Ther. 1985,* ***27****, 371-401.*

25. LEFEVRE, F. ; L'HARIDON, R. ; BORRAS-CUESTA, F. ; LA BONNARDIERE, C. Production, purification and biological properties of an Escherichia coli-derived recombinant porcine alpha interféron. *J. Gen. Virol. 1990,* ***71****(5), 1057-1063.*

26. MAAG. Technical Information : Fenoxycarb (Ro 13-5223), General information.

27. MAAG. Technical information : INSEGAR R : For Plant Protection.

28. MAEDA, S. ; KAWAI, T. ; OBINATA, M. ; FUJIWARA, H. ; HORIUCHI, T. ; SAEKI, Y. ; SATO, Y. ; FURUSAWA, M. Production of human alpha interferon in silkworm using a baculovirus vector . *Nature (London), 1985,* ***315*** *(6020), 592-594.*

29. MAEDA, S. ; KAWAI, T. ; OBINATA, M. ; CHIKA, T. ; HORIUCHI, T. ; MAEKAWA, K. ; NAKASUJI, K. ; SAEKI, Y. ; SATO, Y. Characteristics of human interferon alpha produced by a gene transferred by a baculovirus vector in the silkworm,Bombyx mori. *Proc. Jpn. Acad. , Ser. B, 1984,* ***60****(10), 423-426.*



30. MAUCHAMP, B. Les régulateurs de croissance d' insectes : principes et mode d' action. *Adalia. Bull. Inf. Tech" Club Protection Raisonnée Rhodiagri-Littorale", 1990 2eme trim,* ***14****, 2-6.*

31. .MAUCHAMP, B. Résistance des plantes aux insectes. *C. R. Acad. Agric. Fr., 1989,* ***75****(6), 107-114.*

32. MAUCHAMP, B. ; MALOSSE, C. ; SAROGLIA, P. Biological effects and metabolism of fenoxycarb after treatment. *Pestic. Sci., 1989,* ***26****, 233-301.*

33. McKENDRY, R. ; PELLEGRINI, S. ; KERR, IM. ; STARK, GR. Constitutive production of alpha and beta interferons in mutant human cell lines. *J. Virol. 1994,* ***68****(6), 4057-4062.*

34. MEHTA, J. Interféron alfa 2a for chronic myeloid leukemia (letter). *N. Engl. J. Med., 1994 Aug 11,* ***331****(6), 401.*

35. MIKAILOV, VS. ; ZEMSKOV, EA. ; ABRAMOVA, EB. Protein synthesis in pupae of the silkworm Bombyx mori after infection with nuclear polyhedrosis virus: resistance to viral infection acquired during pupal period. *J. Gen. Virol., 1992 Dec,* ***73****(12), 3195-3202.*

36. MIRALLES, ES. ; PEREZ, B. ; NUNEZ, M. ; LEDO, A. Low-dose recombinant interferon alfa 2a treatment for classic Kaposi' s sarcoma (letter). *Arch. Dermatol. , 1994 Jun,* ***130****(6), 799-801.*

37. ORLOW, SJ. ; FRIEDMAN-KIEN, AE. Cutaneous ulcerations secondary to Interferon Alpha therapy of kaposi' s sarcoma (letter). *Arch. Dermatol. , 1992 Apr,* ***128****(4), 566.*

38. PAWLOTSKY, JM. ; ROUDOT - THORAVAL, F. ; DUVOUX, C. ; DHUMEAUX, D. ; BANANY, G. Virological and biochemical responses to interferon alpha in chronic hepatitis C.(letter) *Lancet.,1994 Jan,* ***343****(8888), 54.*

39. PICCIOTO, A. ; BARDELLINI, E. ; BARZONE, S. ; SINELLI, N. ; BONANNI, P. ; BRUZZONE, B. ; ICARDI, GC. ; CELLE, G. Virological and biochemical responses to interferon alpha in chronic hepatitis C.(letter). *Lancet., 1994 Jan.,* ***343****(8888), 54-55.*

40. PILLY, E. Maladies infectieuses à l' usage des étudiants en mèdecine et des praticiens. *Editions C. et R. la Madeleine, 1991, 655 pp.*

41. PLANTEVIN, G. ; GRENIER, S. ; CHAVANCY, G. Effets d' un régulateur de croissance d' insectes, le fénoxycarbe, sur le développement postembryonnaire de Bombyx mori. *C. R. Acad. Sci. Paris, 1991,* ***313****(3), 513-519.*

42. PODZAMCZER, D. ; BOLAO, F. ; CLOTET, B. ; GARCIA, P. ; CASANOVA, A. ; PAGEROLS, X. ; GUDIOL, F. Low-dose interferon alpha combined with zidovudine in patients with AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *J. Intern. Med., 1993 Mar,* ***233****(3), 247-253.*

43. POWELL, CB. ; HORUCHI, T. ; KAO, MS. ; COLLINS, JL. Interferon alfa activates lytic mechanism in ovarian and cervical carcinoma cells. *Am. J. Obstet. Gynecol., 1993,* ***169****(3), 661-667.*

44. SAKURAI, T. ; UEDA, Y. ; SATO, M. ; YANAI, A. Feline interferon production in silkworm by recombinant baculovirus. *J. Vet. Med. Sci.,1992 Jun,* ***54****(3), 563-565.*

45. SEYDOUX PEREZ, S. Aspects biologiques et techniques de l' élevage du ver à soie Bombyx mori L. *Thèse Doctorat d' état, Université de Paris V, 1984.*

46. SHTALRID, M. ; LUGASSY, G. ; ROSENSAFT, J. ; BERREBI, A. Treatment of chronic myeloid leukemia with interferon alpha (ROFERON): results of the Israeli study group on CML. *Leuk. lymphoma, 1993,* ***11*** *Suppl 1,193-197.*

47. SMITH, G. E. ; SUMMERS, M. D. ; FRASER, M. J. Production of human Beta Interferon in insect cells infected with a baculovirus expression vector . *Mol. Cel. Biol., 1983 Dec,* ***3****(12), 2156-2165.*

48. STADLER, R. ; RUSZCZAK, Z. Interferons. New additions and indications for use. *Dermatol. Clin., 1993 Jan,* ***11****(1), 187-199.*

49. STUART-HARRIS, RC. ; LAUCHAN, R. ; DAY, R. The clinical application of the interferons: A review. NSW Therapeutic assessment group. *Med. J. Aust, 1992 Jun, **156**(12), 869-872.*

50. TAKEI, F. ; KIKUCHI, Y. ; KIKUCHI, A. ; MIZUNO, S. ; SHIMURA, K. Further evidence for importance of the subunit combination of silk fibroin in its efficient secretion from the posterior silk gland cells. *J. Cell. Biol. 1987 Jul, **105**, 175-180.*

51. Technical informations: CRODA cheminals. Silk proteins and amino acids.

52. The Italian Cooperative Study Group on Chronic Myeloid Leukemia. Interferon alfa 2a as compared with conventional chemotherapie for the treatment of chronic myeloid leukenia. *N. Eng. J. Med. 1994, Mar 24, **330**(12), 820-825.*

53. TRATTNER, A. ; REIZIS, Z. ; DAVID, M. ; INGBER, A. ; HAGLER, J. ; SANDBANK, M. The therapeutic effect of intalesional interferon in classical Kaposi' s sarcoma. *Br. J. Dermatol. 1993 Nov, **129**(5), 590-593.*

54. UEDA, Y. ; SAKURAI, T. ; YANAI, A. Homogeneous production of feline interferon in silkworm by replacing single amino acid code in signal peptide region in recombinant baculovirus and characterization of the product. *J. Vet. Med. Sci., 1993 Apr, **55**(2), 251-258.*



AUTORISATION D'IMPRESSION ET DE SOUTENANCE

De la Thèse dont l'intitulé est :

LES VERS A SOIE : Influence des pesticides - Production d'Interféron

CANDIDAT : M RIGOULOT ep. VIGNAL Cécile

Vu

GRENOBLE, le 30 Mai 96

Le Président du Jury

M.H. PERA

Vu

GRENOBLE, le 5/06/96

P/ Le Président de l'Université
Joseph FOURIER - GRENOBLE I
Sciences. Technologie. Médecine

Le Directeur de l'U.F.R.
Pharmacie

J. ROCHAT

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I
U.F.R. DE PHARMACIE