

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

DES Biologie Médicale
Cambodge - septembre 2009

CM 6.3
Vaccination

Bertrand Bellier
UPMC CNRS
Immunology Immunopathology Immunotherapy
Pitié-Salpêtrière - Paris - France
bertrand.bellier@upmc.fr

i³
immunology
immunopathology
immunotherapy

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

A l'origine de la vaccination

- Observation dès le 11ème S. que les personnes ayant préalablement survécu à une épidémie de peste sont relativement résistantes lors des épidémies ultérieures.
- Pratique de la variolisation en Chine au Xème S: injection à des sujets sains du pus prélevé dans les pustules des malades : pratique risquée (jusqu'à 10% mortalité) mais efficacité observée.
- De la variolisation à la vaccination:
 - S'inspirant de ces pratiques et des observations où les femmes chargées de la traite des vaches étaient résistante à la variole, Edward Jenner eu l'idée d'inoculer en 1796 à un jeune garçon de 8 ans le virus de la vaccine (variole de la vache) et démontra sa protection en injectant intentionnellement le virus de la variole.
 - Généralisation de la pratique au XVIII S et risques plus limités
 - Injection de la Vaccine (vacca = vache) = Immunisation = Vaccination





Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Les débuts de la vaccination

- **Louis Pasteur:**
 - 1880: souche vieillie de B Choléra chez la poule
 - 1885: vaccin contre la rage – par inoculation d'extrait de moelle épinière de lapin infecté par le virus de la rage
 - Travaux sur la découverte et l'atténuation des « microbes »
- **Généralisation du principe de la vaccination :**
 - Induire une protection contre un agent pathogène en administrant en préventif une forme inoffensive du pathogène
 - Innocuité obtenue par :
 - Inactivation (chaleur,...)
 - Atténuation de la souche
- **Développement des vaccins**



Table 1. The date of introduction of first generation of vaccines for use in humans*

1798	Smallpox	Variole
1885	Rabies	Rage
1897	Plague	Peste
1923	Diphtheria	Diphtérie
1926	Pertussis	Coqueluche
1927	Tuberculosis (BCG)	Tuberculose
1927	Tetanus	Tétanos
1935	Yellow Fever	Fièvre Jaune

After World War II

1955	Injectable Polio Vaccine (IPV)
1962	Oral Polio Vaccine (OPV)
1964	Measles
1967	Mumps
1970	Rubella
1981	Hepatitis B



Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

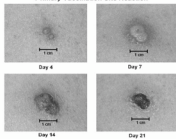
UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Variole: exemple d'efficacité vaccinale

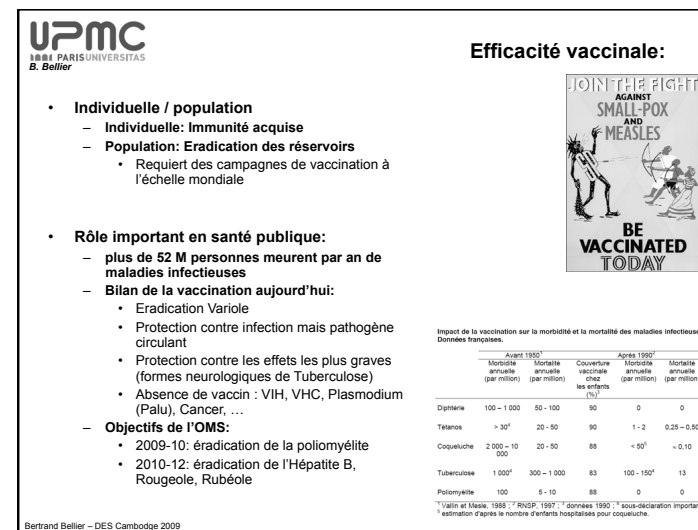
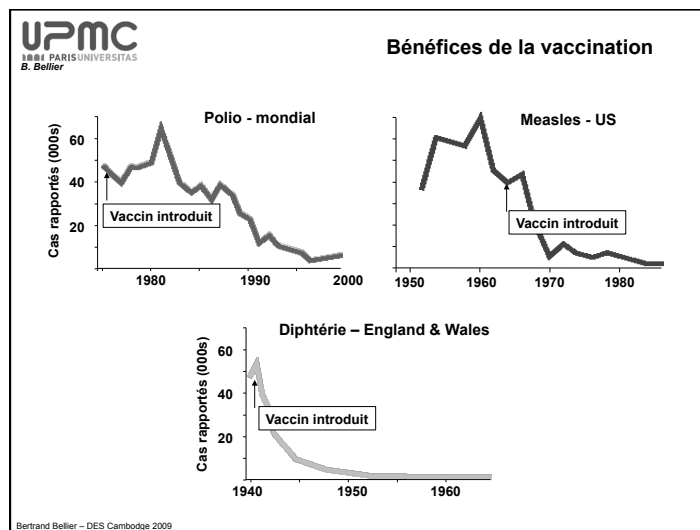
- **Vaccination anti-variole (smallpox):**
 - Virus de la Vaccine (vaccinia)
 - Souche Lister/Elstree
 - Primo-injection A1-2, Rappels A11, A21
- **Réponse à la vaccination:**
 - Réplication locale - lésion= prise vaccinale
 - Pustule+ aréole rouge: Jours 7-14 / fièvre
 - Adénite: Inflammation des ganglions lymphatiques
 - Au bout de 8-10 jours: Ac neutralisants (persistance >20 ans)
 - Croûte – cicatrice
- **Cadre juridique**
 - Obligatoire en France de 1901 à 1978
 - <26 ans (40% pop) non vaccinés
 - 27-35 ans: uniquement primo-injection
 - >35 ans: Primo* 1 ou 2 rappels
- **Efficacité de la vaccination**
 - Impact épidémiologique au XIX
 - Eradication déclarée en 1980 par l'OMS



Primary Vaccination Site Reaction



Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Notion de Bénéfice-Risque

- **Rapport Bénéfices-Risques en faveur de la vaccination.**

Types de complications	Complications de la Rougeole (nb/100 000 cas)	Complications de la vaccination (nb/100 000 cas)
Encéphalite	50 - 400	0,1
Panencéphalite sclérosante	0,5 - 2	0,05 - 0,1
Pneumonie	4000	0
Convulsions	500 - 1000	0,02 - 190
Mort	10 - 10 000	0,02 - 0,3

On observe une recrudescence des cas de rougeole chez des enfants ou des adultes non ou incomplètement vaccinés, soulignent les autorités, qui rappellent qu'un vaccin en 2 doses existe, qu'il n'est pas obligatoire, "mais fortement recommandé" et que sa prise en charge est "à 100 % pour les enfants jusqu'à 13 ans".

- **Cas de l' Hépatite B:**
 - Comité d'expertise de l'OMS conclut (2004) qu'il n'y a aucune évidence pour soutenir l'hypothèse d'une association entre la vaccination contre l'hépatite B et cas de SEP

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Immunisation Vaccination

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

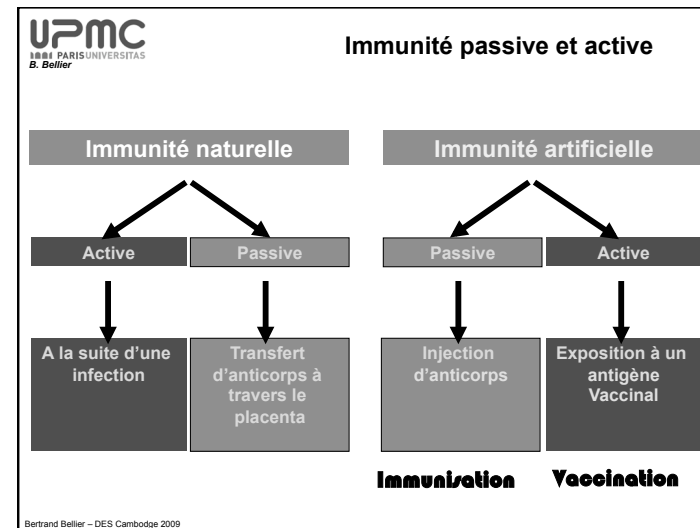
Quelques définitions

- Vaccin :**
Un vaccin est une préparation antigénique non pathogène et immunogène
Le vaccin contient des antigènes identiques ou proches de l'agent infectieux
Le vaccin induit une réponse immunitaire mémoire protectrice
- Antigène :**
Molécule capable d'être reconnue par le système immunitaire
Ag soi - Ag non-soi
- Immunogène;**
Antigène capable de déclencher une réponse immunitaire humorale ou cellulaire
- Immunisation:**
Procédé par lequel on confère à une personne ou à un animal la propriété de se défendre contre la maladie (protection).
Immunisation active = vaccination
Immunisation passive = sérothérapie
Immunisation préventive
Immunisation thérapeutique
- Immunité :**
Etat de résistance relative à une infection pouvant être acquise de façon
 - active: naturelle (infection) ou artificielle (vaccination)
 - passive naturelle (immunité maternelle) ou artificielle (sérothérapie)

Vaccination

Sérothérapie

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009



UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Immunisation passive La sérothérapie

Donneur (sujet immun)

Sujet immunisé passivement

Concentration en anticorps

Injection de Ig

Avantage:

- Protection immédiate

Désavantages

- Protection de courte durée
- Coût élevé
- Sécurité contestée

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Immunisation active : La Vaccination

Antigène (vaccin) administré à un sujet non-immun

Receveur (sujet non-immun)

Sujet immunisé activement

Concentration en anticorps

Injection du vaccin

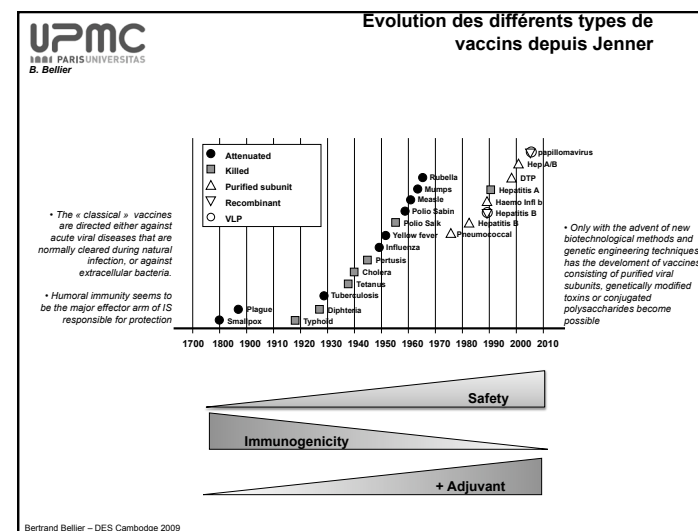
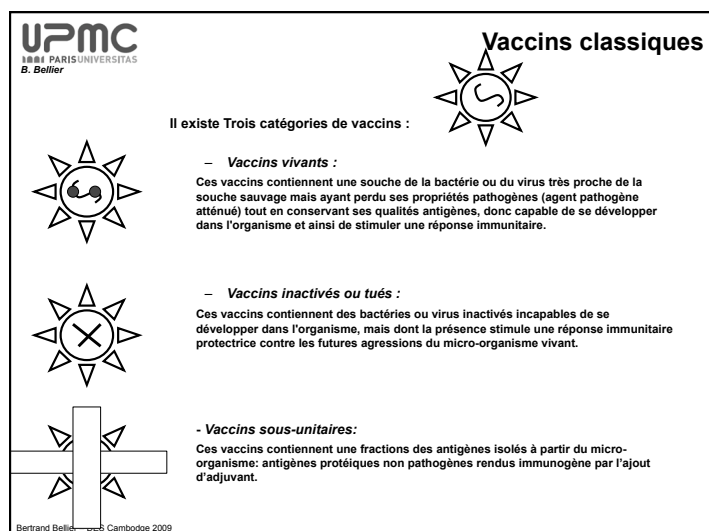
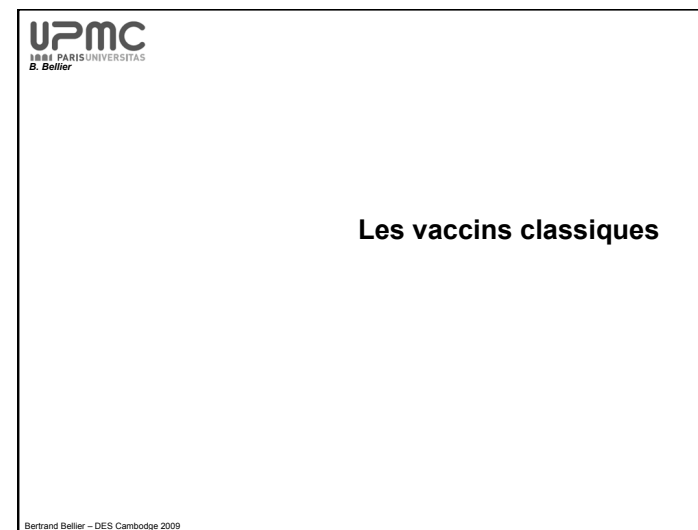
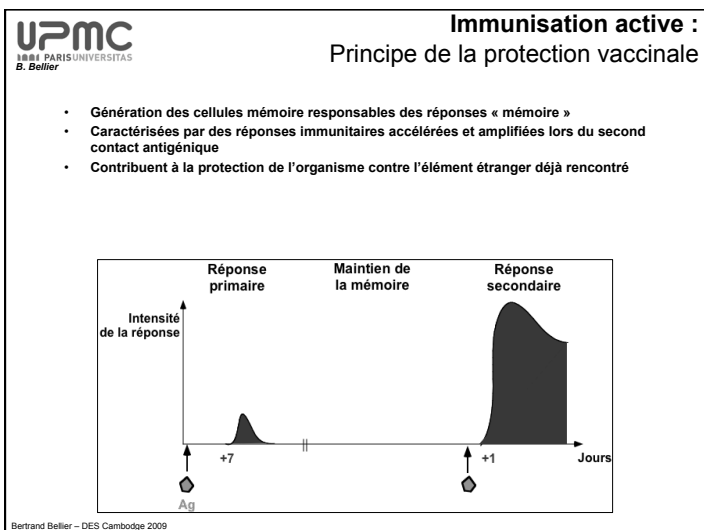
Les avantages:

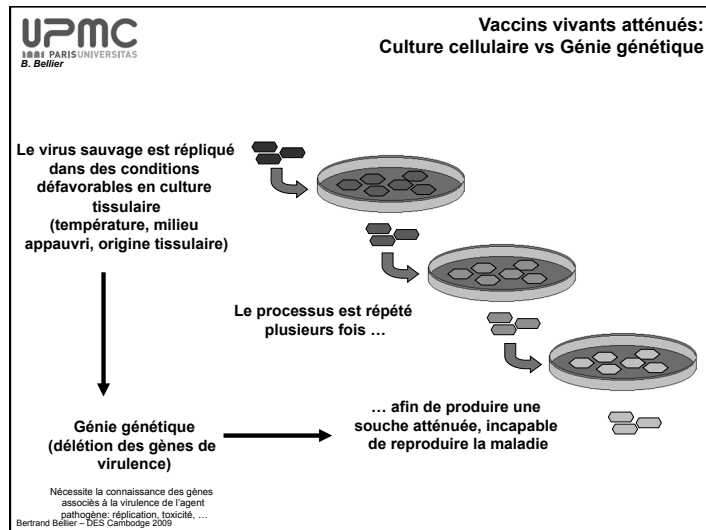
- Protection à long terme, suite à la génération des cellules mémoire
- Coût-efficacité
- Sécurité

Les limites:

- Cas des personnes ID, femmes enceintes
- Non-répondeurs
- Virus émergents

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009





UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Sélections des souches atténuées

- Atténuation non contrôlée en culture cellulaire (V) ou milieux appauvris (B)
 - Caractérisation capacité de réplication à 37°C sur cellules de mammifère
 - Identifications de mutants sélectifs
 - Nécessité de contrôler la stabilité de l'atténuation
- Atténuation dirigée par mutagenèse:
 - Sélection par anticorps monoclonaux ou séquencage du génome
- Mais essais à échelle limitée
- Seule l'utilisation à large échelle et sur le long terme permet à postériori de confirmer son innocuité.

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Exemples de Vaccins vivants atténués

- Virus
 - Rougeole
 - Oreillons
 - Rubéole
 - Variole
 - Varicelle
 - Fièvre jaune
 - Grippe (intranasal)
 - Polio oral, OPV= Sabin
 - Rotavirus (oral)
- Bactéries
 - BCG (tuberculose)
 - Typhoïde oral

© Copyright 2009
Reproduction rights reserved
www.cambridge.org

"NO, YOU ARE NOT CONNECTED THE OTHER!"

OPV is a live-attenuated vaccine, produced by the passage of the virus through non-human cells at a sub-physiological temperature. The attenuated poliovirus in the Sabin vaccine replicates very efficiently in the gut, the primary site of infection and replication, but is unable to replicate efficiently within nervous system tissue. The OPV proved to be superior in administration, and also provided longer lasting immunity than the Salk vaccine.

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

ROR
Rougeole – Rubéole - Rubéole

- première dose à 12 mois, deuxième dose un mois après la première, si possible avant l'âge de 24 mois

LES PROTÉGER AU PLUS VITE

OREILLONS
RUBÉOLE
ROUGEOLE

Pour en savoir plus, cliquez sur la tranche d'âge...

MENTIONS LÉGALES

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vaccins vivants atténués

Avantages:

- Forme atténuée de virus ou de la bactérie sauvage = **proche d'une infection naturelle**
- Ne cause pas la maladie mais induit une **immunité protectrice**
- Induction plus **rapide** d'une protection
- **Réponse immune complète** et similaire à l'infection naturelle
 - Assure l'élimination complète du pathogène
- Meilleure sollicitation de l'immunité cellulaire :
 - Antigènes intracytoplasmiques présentés efficacement par CMH-I
- Habituellement **efficace** avec une seule dose (titres anticorps peuvent persister)
- Injections de **rappel non nécessaires** pour certains vaccins : **Immunité durable**
- Induction d'une immunité locale
- **Absence d'adjuvant**

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vaccins vivants atténués

Inconvénients :

- **Obtention non aisée** (multiples passages)
- **Démontrer la non-pathogénicité** de la souche mutante
- **Peut garder une certaine pathogénicité**
- **Risque de mutation** et de réversion vers caractère virulent
- **Risque de dissémination**
- **Contre-indiqués** chez sujets immunodéprimés
- **Provocation éventuelle d'avortement**
- **Manipulation délicate**
- **Instable** : stockage au froid (stockage et transport difficile)

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vaccins cellulaires inactivés

Cas des vaccins viraux ou bactériens

Le virus ou la bactérie croît dans des conditions favorables

Est purifié ...

... traité par la chaleur ou des produits chimiques (Formaldéhyde)...

... est ainsi inactivé mais toujours immunogénique

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vaccins acellulaires inactivés

Cas des vaccins bactériens de type « Anatoxines »

Bactéries en culture

Purification des toxines bactériennes et traitement par la chaleur et/ou chimique ...

Toxines bactériennes

... ce qui a pour conséquence l'inactivation (anatoxine), mais reste immunogénique

Anatoxines bactériennes

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Exemples de Vaccins inactivés

- **Virus**
 - Rage
 - Grippe (classique en IM)
 - Polio (classique: Salk)
 - Hépatite A
- **Bactéries**
 - Coqueluche (classique « entier »)
 - Diphtérie (Anatoxine diphtérique / Formol)
 - Tétanos (Anatoxine Tétanique)
 - Choléra (B inactivés + ss-u B Toxine Cholérique)
 - Peste

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Vaccins inactivés

- **Avantages**
 - **Sécurité**: Pas de mutation, ni de réversion
 - Utilisables chez patients **immunodéficients**
 - **Protège contre formes graves** de la maladie
 - **Immunité humorale suffisante** après injections de rappel
- **Inconvénients**
 - Inactivation complète à contrôler
 - Généralement **pas aussi efficace** que les vaccins vivants
 - Requiert généralement 3-5 doses (car pas de réplication) : **Nécessitent des rappels**
 - Nécessite un **adjuvant**
 - Réponse immune généralement humorale (car pas de réplication)
 - **Réponse immune cellulaire limitée**
 - **Pas d'élimination complète du pathogène** lors de l'infection ultérieure
 - Pas d'immunité locale
 - Coûts supérieurs

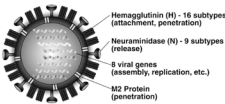
Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Premiers vaccins contre la Grippe

- **Virus inactivé**
 - Cultivé dans des œufs embryonnés de 12 jours
 - Inactivé par traitement chimique (FA)
 - adjuvant : alum
 - Homologue / hétérologue (NA#)
- **Les vaccins sont constitués:**
 - souches A : H1N1 et H3N2 (variant de l'année)
 - souche B
 - La composition du vaccin trivalent 2007/2008 pour l'hémisphère nord, conformément aux recommandations de l'Organisation mondiale de la santé est :
 - souche analogue à A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)
 - souche analogue à A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)
 - souche analogue à B/Malaysia/2506/2004
 - Modification chaque année des souches en raison de la dérive antigénique de HA et NA = mutation des séquences
- **Modalités**
 - 1 injection en IM ou SC
 - Pas de rappel mais immunité transitoire (6 mois)
- **Indications:**
 - Personnes âgées
 - Personnes souffrant d'insuffisances cardio et respiratoires chroniques
- **Efficacité:**
 - Prévention de la mortalité: 60-100% mais < chez enfants ou personnes âgées

Influenza A Virus

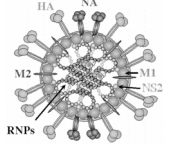



Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Problématique du développement d'un vaccin antipandémique

- **Quelle souche utilisée ?**
- **Modèle des vaccins saisonniers :**
 - A partir de la souche isolée, supposée pandémique
 - **Limites des vaccins classiques :**
 - Lenteur de la préparation du vaccin
 - 1 œuf < 1 dose (pour 1 milliard doses = 4 milliards d'œufs embryonnés)
 - Cycle abortif dans l'œuf si virus virulent
 - Immunité apparaît en 2 à 3 semaines et persiste 5 à 6 mois
- **Nécessité de nouveaux vaccins**
 - Production plus rapide
 - Indépendante de l'œuf ou non-abortive
 - Rapidité d'induction de l'immunité
 - Immunité plus robuste
- **Vaccin universel ?**
 - Antigène conservé
 - M2



Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Vaccins sous-unitaires

Vaccins sous-unitaires sont constitués de sous-unités antigéniques

- Purifiées à partir des cultures = sous-unitaires purifiés
- Produits par génie génétique = sous-unitaires recombinants

Ex: cas du vaccin de l'hépatite B

subunit vaccine

Séquence correspondant au déterminant antigénique

Construction plasmidique

Système d'expression

Purification

adjuvant

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Vaccins sous-unitaires anti-bactérien purifiés: Coqueluche

Depuis 1998, il existe 2 types de vaccins contre la coqueluche:

- Vaccin cellulaire inactivé: vaccin obtenu à partir de bacilles de Bordet-Gengou inactivé par l'aldéhyde
- Vaccin acellulaire sous-unitaire: nouveau vaccin constitué d'extraits antigéniques bactériens

Composants du vaccin acellulaire pertussis (coqueluche)

Bordetella pertussis cellule complète

Hémagglutinine filamenteuse (FHA)

Toxoïde Pertussis (PT)

Pertactine (PRN) (69 kDa outer membrane protein)

Etapes-clés du développement du vaccin acellulaire anti-Coqueluche (Pa)

- ♦ La production de quantités importantes de *Bordetella pertussis* en fermenteur (800 L et plus)
- ♦ La purification simultanée des 3 protéines (PT, FHA, 69k) à partir des bactéries tuées (56° C)
- ♦ La detoxification de la PT (sans destruction d'épitopes)
- ♦ La stabilisation de la FHA et de la 69k (Ac. Monoclonaux détectant les épitopes-clés)
- ♦ La formulation simultanée des 3 antigènes (desorption de la 69k en présence de tampon PO_4)
- ♦ Les tests d'immunogénicité en souris

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Vaccins polysaccharidiques purs ou conjugués

Polysaccharides purs

- Peu immunogène chez les enfants (<2 ans)
- Activent peu ou pas la mémoire immunitaire
- Effet « boost » limité
- Mauvaise activité fonctionnelle des anticorps
- Injections régulières

Polysaccharides purs liés à des protéines

- Associés à une protéine porteuse = Polyosides = Ag *thymo-dépendants*
- Immunogénique chez les enfants
- Activent la mémoire immunitaire
- Effet « boost » puissant

Ex de vaccins Polysaccharides purs

- Pneumocoques
- Meningocoques
- *Salmonella Typhi*

Ex de vaccins Polysaccharides conjugué

- *Haemophilus influenzae* type b
- Pneumocoques

Polysaccharide coating

1 mois

Réponse I

Réponse II

1 mois

IgM

IgG1A + E

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITAS
B. Bellier

Vaccins sous-unitaires : immunisation par des protéines - polypeptides

Avantages

- Sécurité (Immuno-déprimées)
- Réponse humorale +++; cellulaire (TH2)

Inconvénients

- Peu immunogène
 - Nécessite adjuvants: alum (ou IFA, CFA)
- Dégradation rapide
- Coût
- Fréquence de non-répondeurs supérieure
- Réponse CTL limitée à la cross-présentation
- Requiert des injections de rappel

Endogenous pathway

Cell membrane

MHC II presentation

ER

Golgi

Early endosome

Phagocytosis/Endocytosis of pathogens or proteins

MHC II + invariant chain

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Adjuvants

• « *adjuvare* » : aider, assister
 • Substance capable d'**augmenter la réponse immunitaire** dirigée contre un Ag administré simultanément.
 • Multiples / classification complexe (selon mode d'action - effets)

— Adjuvant minéraux : • Précipité insoluble: Alum (Hydroxyde ou Phosphate d'Alu) • AS04 (Alum+MPL) — Adjuvants huileux : • émulsion eau-huile: IFA (Adjuvant Incomplet de Freund) • émulsion huile-eau: MF59, AS03 — Constituants bactériens: • Mycobactérie inactivée (<i>Mycob tuberculosis</i>) ou constituants (<i>Mycob bovis</i>, BCG) : CFA — Toxines bactériennes • Toxine cholérique (CT) ou ss-u B purifiée (CTB), Toxine pertussique (PT)	— Oligodésoxynucléotides CpG • Séquence ADN bactérien non-méthylée (ODN CpG) ; interaction avec TLR-9 — Adjuvants vésiculaires • Bicouche lipidique, liposomes - virosomes — Cytokines • Médiateurs des RI: IL-2, IL-12, IFN-γ, GM-CSF
--	--

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Adjuvants Mode d'action

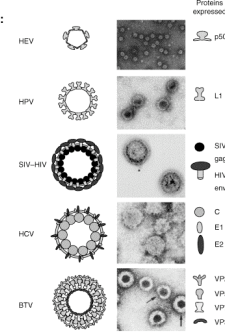
- **Action des adjuvants :**
 - Favoriser et prolonger la durée de l'interaction entre l'antigène et le système immunitaire
 - **Libération** progressive de l'Ag (Alum)
 - **Concentration** antigénique (alum, émulsions)
 - Protections contre **dégradation** (IFA, ISCOM, Liposome)
 - **Agrégats** multimoléculaires d'Ag (Alum)
 - **Routage** vers les organes lymphoïdes 2nd (IFA (sphérule d'huile))
 - Recruter et activer des cellules de l'immunité n naturelle pour qu'elles induisent la réponse adaptative
 - Les PAMP sont souvent de bons adjuvants
 - Certains molécules sont à la fois des antigènes et des PAMP
- Effet « **corps étranger** » (CFA, ISCOM, Virosome)
- Favorise **captation** par les APC (Alum, CFA, ISCOM, Virosome)
- **Activation** directement des APC (Alum, cytokines, imiquimod, CpG)
- Orientation de la réponse immunitaire vers **TH1** (CFA, cytokines, imiquimod, CpG)
- Orientation de la réponse immunitaire vers **TH2** (**alum**, cytokines)
- Favorise réponse **CTL** (ISCOM, liposome, virosome (Ag endogène))
- Activation du **complément** (Alum, IFA)

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vaccins sous-unitaires « particuliers »

- **Protéines virales purifiées qui s'assemblent en pseudo-particules virales :**
 « **Virus-like particles** » ou VLP
 - **Pseudo-virion**: complexe protéique # structure virale, # taille
 - Sans génome viral: déficients pour la réplication
- **VLP simples:**
 - Auto-assemblage des protéines de surface
 - Produites par génie génétique : système d'expression bactérien, levure, baculo
 - Ex: HBV. Auto-assemblage des protéines de surface HBs en VLP
 - Ex: HPV. Auto-assemblage des protéines de capside L1 en VLP
- **VLP complexes:**
 - Assemblage des protéines de core et d'enveloppe
 - Produites dans système cellulaire
- **Avantages**
 - Sécurité
 - Particules sont plus immunogènes que les protéines seules: Taille, Complexité
 - Induit des AC y compris AC neutralisants,
 - Induit une réponse cellulaire (cross-présentation des antigènes)
- **Limites**
 - Production (pour VLP enveloppées)
 - Coûts (purification)
 - Fragilité: Stockage au froid



Proteins expressed
p24
p30
L1
gp120
gp160
E1
E2
VP2
VP5
VP7
VP3

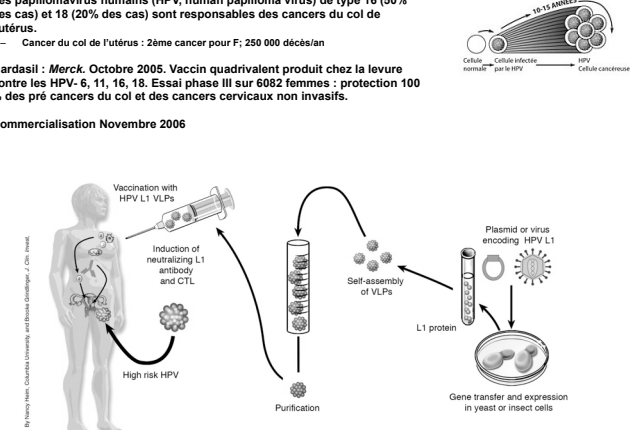
RENARD & MONTAGNE

Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vaccins HPV

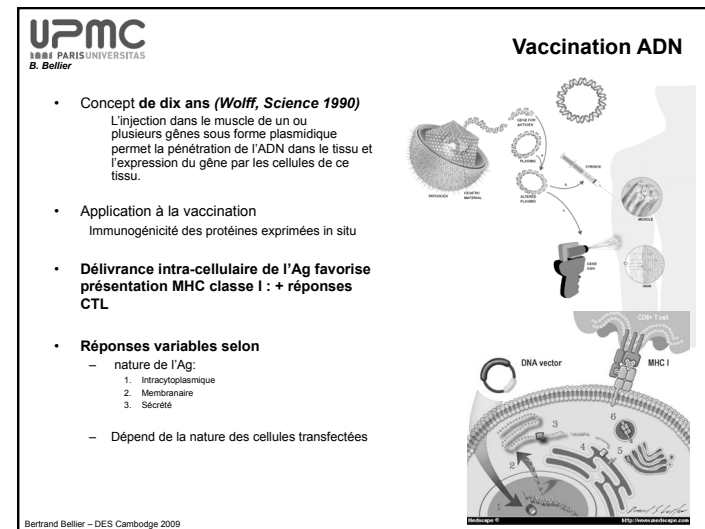
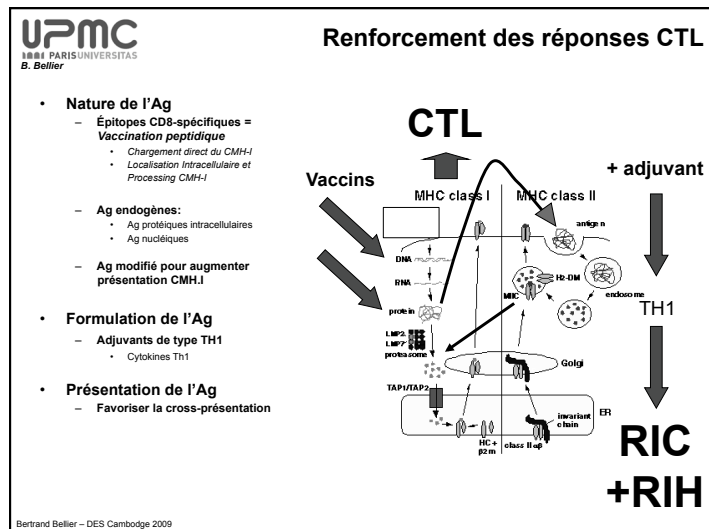
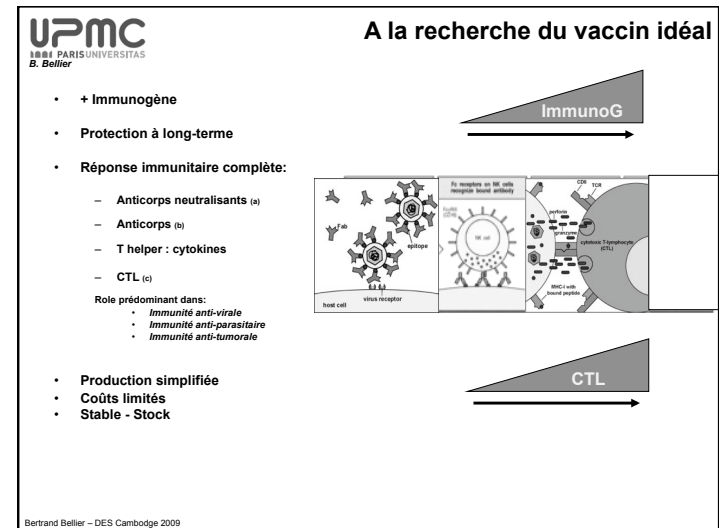
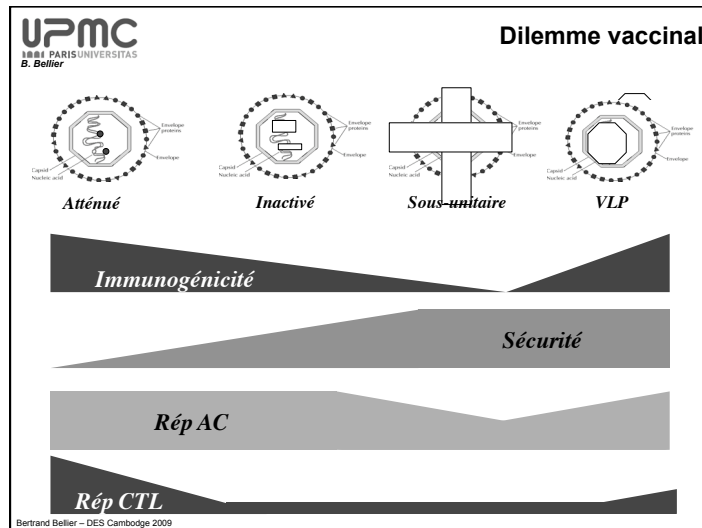
- **Les papillomavirus humains (HPV, human papilloma virus) de type 16 (50% des cas) et 18 (20% des cas) sont responsables des cancers du col de l'utérus.**
 - Cancer du col de l'utérus : 2ème cancer pour F; 250 000 décès/an
- **Gardasil : Merck. Octobre 2005. Vaccin quadrivalent produit chez la levure contre les HPV- 6, 11, 16, 18. Essai phase III sur 6082 femmes : protection 100 % des pré cancers du col et des cancers cervicaux non invasifs.**
- **Commercialisation Novembre 2006**



10-15 ANNEES

Cellule normale → Cellule infectée par le HPV → HPV → Cellule cancéreuse

Bertrand Bellier -

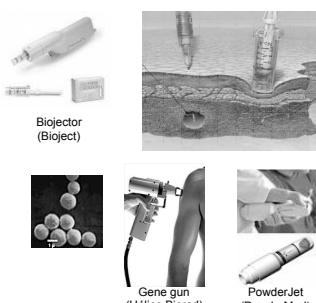


UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Modalités d'injection de l'ADN

- ADN nu intramusculaire**
 - Q = 100µg (souris)
 - + Cardiotoxine (modèles animaux)
 - ± adjuvants
- Electroporation**
 - Après IM
 - Perméabilisation membranes cellulaires
 - Q= 10µg
- Injection par jet**
 - Biojector-2000 ; Dermojet
 - Injection sous pression sans aiguille
 - Q=10µg
- Biolistique**
 - Gene Gun, PowderJet
 - ADN sur billes d'or
 - Injection sous pression de gaz
 - Q= 1µg
- Autres: Patch, Dermographe**
- Vectorisation de l'ADN**
 - Liposomes, Virosomes, ISCOM
 - Vecteurs viraux ou bactériens

	Cd	Ep	Dj	Gg
	Cardiotoxin	Electropo	Dermojet	Gene gun
DNA (µg)	100	10	10	0.5
injection	IM	IM	ID	ID

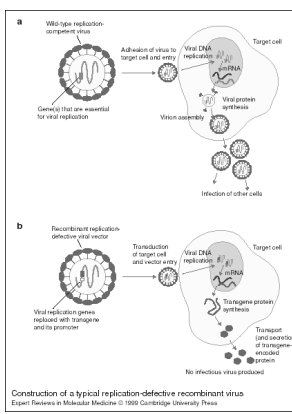


Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vecteurs viraux

- Vecteurs viraux**
 - Adénovirus**
 - Oncorétrovirus MLV
 - Lentivirus: HIV, SIN, FIV
 - Poxvirus**
 - Vaccine: MVA, NYVAC
 - Canarypox: ALVAC
 - Parvovirus**
 - AAV (dépendant)
 - MVM
 - Herpès HSV-1
 - Sindbis
 - VSV
 - Rougeole (MV)
 - Sandak
 - Poliovirus
- Augmente l'efficacité de transduction**
 - Permet de diminuer les quantités d'ADN
- Renforce l'immunogénicité:**
 - « visibilité » des complexes ISCOM, des vecteurs viraux ou bactériens
 - Prise en charge préférentielle par les APC



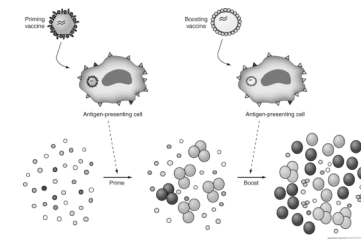
Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Vecteurs viraux recombinants : Limite des Vecteurs viraux

- Sécurité:**
 - Risque de recombinaison avec virus sauvages
 - Risque d'intégration (rétro – lenti)
- Pré-immunité naturelle:**
 - vecteurs adénovirus
 - espèces virales nouvelles
 - Modifications des déterminants antigéniques
- Immunité induite spécifique du vecteur:**
 - interdit des immunisations répétées

Prime-boost



Justification:
Contournement de l'immunité induite contre le 1er vecteur

Modalités:
Prime: J0 / Boost J30

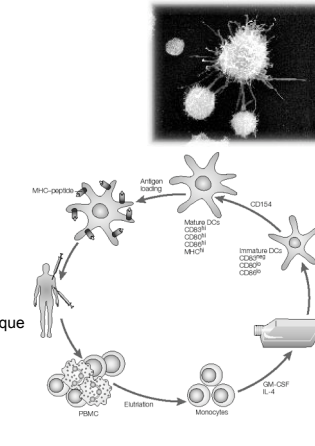
Avantages:
Expansion des lymphocytes mémoire à haute affinité

Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

UPMC
UNIVERSITÉ PARIS UNIVERSITÉS
B. Bellier

Immunothérapies cellulaires

- Injection de DC préparées ex-vivo**
- DC**
 - à partir des monocytes du sang périphérique
 - Maturation des DC
 - Chargement antigénique:
 - Antigène peptidique
 - Lysat tumoral
 - Transfection
 - Transduction
 - Fusion cellulaire
 - Injections (SC, IV, intra LN)
- Applications:**
 - Vaccination thérapeutique anti-tumorale (50 essais cliniques en cours)
- Avantages**
 - Renforce efficacité de vaccination peptidique
- Limitations**
 - Préparation à grande échelle



Bertrand Bellier – DES Cambridge 2009

