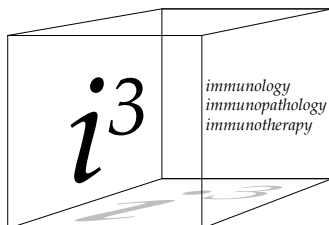


DES Biologie Médicale
Cambodge - septembre 2009

CM 6.3
Vaccination



Bertrand Bellier – DES Cambodge 2009

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

A l'origine de la vaccination

- Observation dès le II^{ème} 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 X^{ème} 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 résistantes à la variole, **Edward Jenner** eut 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^e S et risques plus limités
 - Injection de la Vaccine (vacca = vache) = Immunisation = **Vaccination**



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	<i>Variole</i>
○ 1885	Rabies	<i>Rage</i>
○ 1897	Plague	<i>Peste</i>
○ 1923	Diphtheria	<i>Diphterie</i>
○ 1926	Pertussis	<i>Coqueluche</i>
○ 1927	Tuberculosis (BCG)	<i>Tuberculose</i>
○ 1927	Tetanus	<i>Tétanos</i>
○ 1935	Yellow Fever	<i>Fièvre Jaune</i>

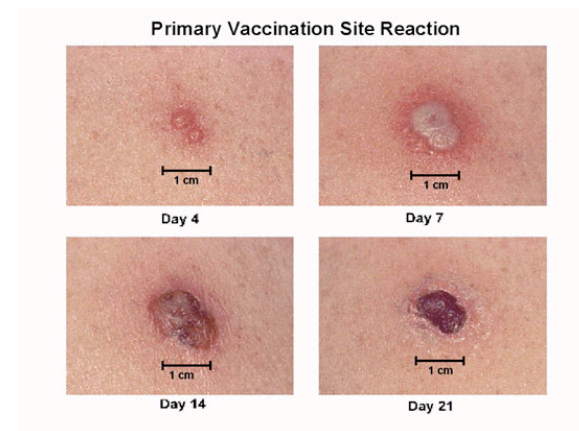
After World War II

- 1955 Injectable Polio Vaccine (IPV)
- 1962 Oral Polio Vaccine (OPV)
- 1964 Measles *Rougeole*
- 1967 Mumps *Oreillons*
- 1970 Rubella *Rubéole*
- 1981 Hepatitis B *Hépatite B*

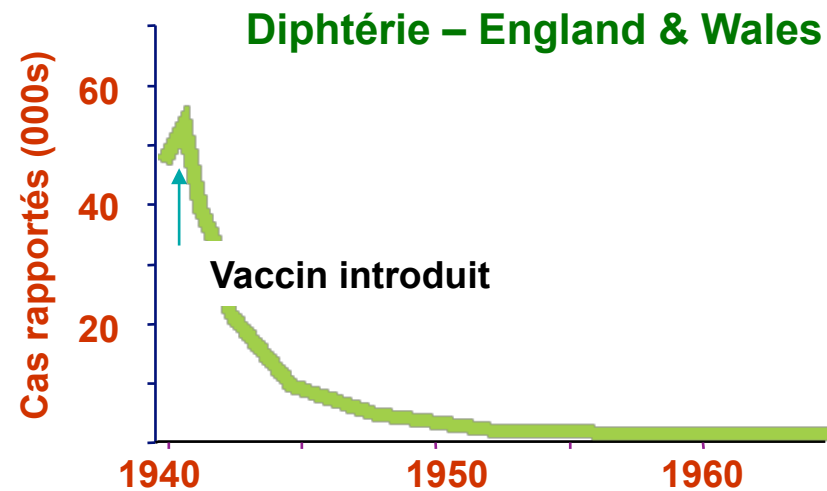
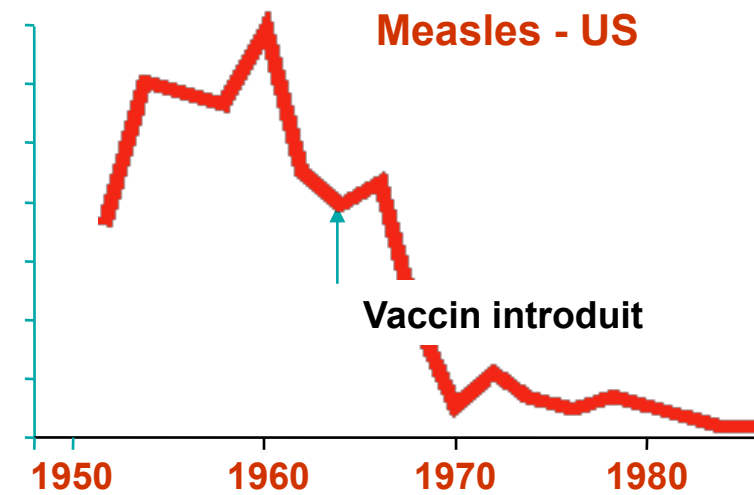
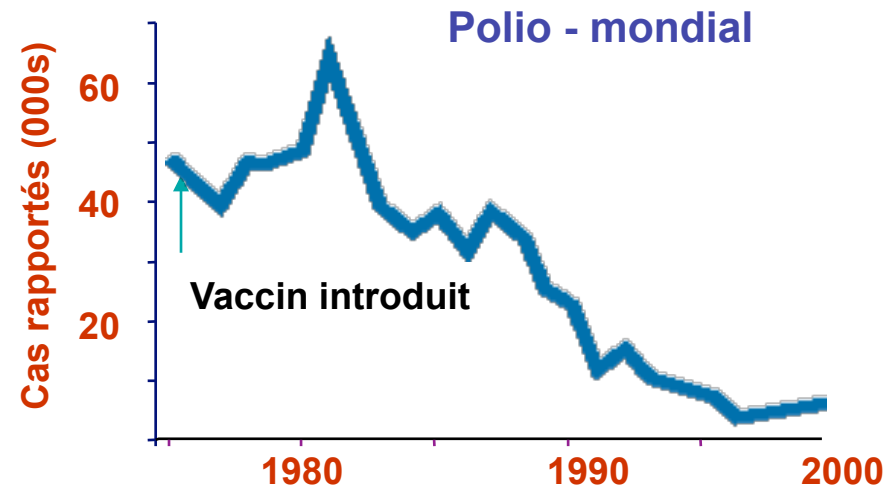


Variole: exemple d'efficacité vaccinale

- **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 vaccinées
 - 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

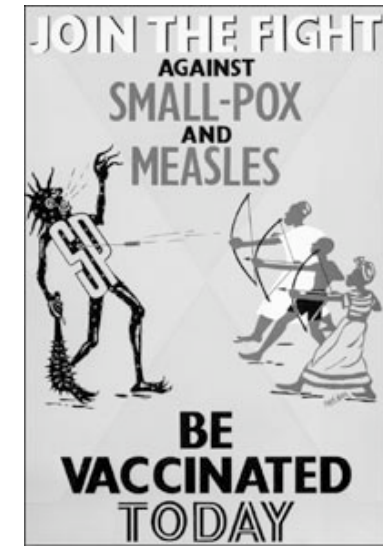


Bénéfices de la vaccination



Efficacité vaccinale:

- **Individuelle / population**
 - Individuelle: Immunité acquise
 - Population: Eradication des réservoirs
 - Requier des campagnes de vaccination à l'échelle mondiale
- **Rôle important en santé publique:**
 - plus de 52 M personnes meurent par an de maladies infectieuses
 - Bilan de la vaccination aujourd'hui:
 - Eradication Variole
 - Protection contre infection mais pathogène circulant
 - Protection contre les effets les plus graves (formes neurologiques de Tuberculose)
 - Absence de vaccin : VIH, VHC, Plasmodium (Palu), Cancer, ...
 - Objectifs de l'OMS:
 - 2009-10: éradication de la poliomyélite
 - 2010-12: éradication de l'Hépatite B, Rougeole, Rubéole



Impact de la vaccination sur la morbidité et la mortalité des maladies infectieuses – Données françaises.

	Avant 1950 ¹		Couverture vaccinale chez les enfants (%) ³	Après 1990 ²	
	Morbidité annuelle (par million)	Mortalité annuelle (par million)		Morbidité annuelle (par million)	Mortalité annuelle (par million)
Diphtérie	100 – 1 000	50 - 100	90	0	0
Tétanos	> 30 ⁴	20 - 50	90	1 - 2	0,25 – 0,50
Coqueluche	2 000 – 10 000	20 - 50	88	< 50 ⁵	≈ 0,10
Tuberculose	1 000 ⁴	300 – 1 000	83	100 - 150 ⁴	13
Poliomyélite	100	5 - 10	88	0	0

¹ Vallin et Mesle, 1988 ; ² RNSP, 1997 ; ³ données 1990 ; ⁴ sous-déclaration importante ; ⁵ estimation d'après le nombre d'enfants hospitalisés pour coqueluche.

- **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".

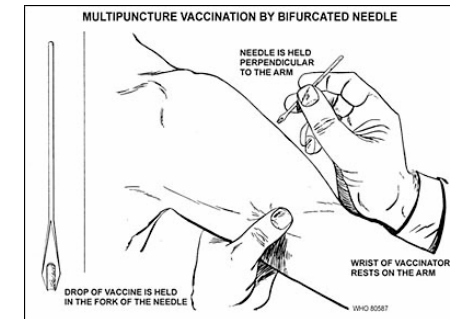
- **Cas de l' Hépatite B:**
 - **Comité d'expertise de l'OMS conclut (2004) qu'il n'y a aucune évidence pour soutenir l'hypothèse d'une association entre la vaccination contre l'hépatite B et cas de SEP**

Immunisation Vaccination

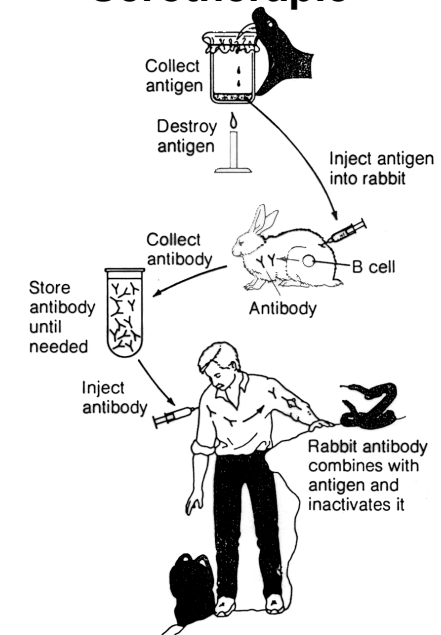
Quelques définitions

- **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)

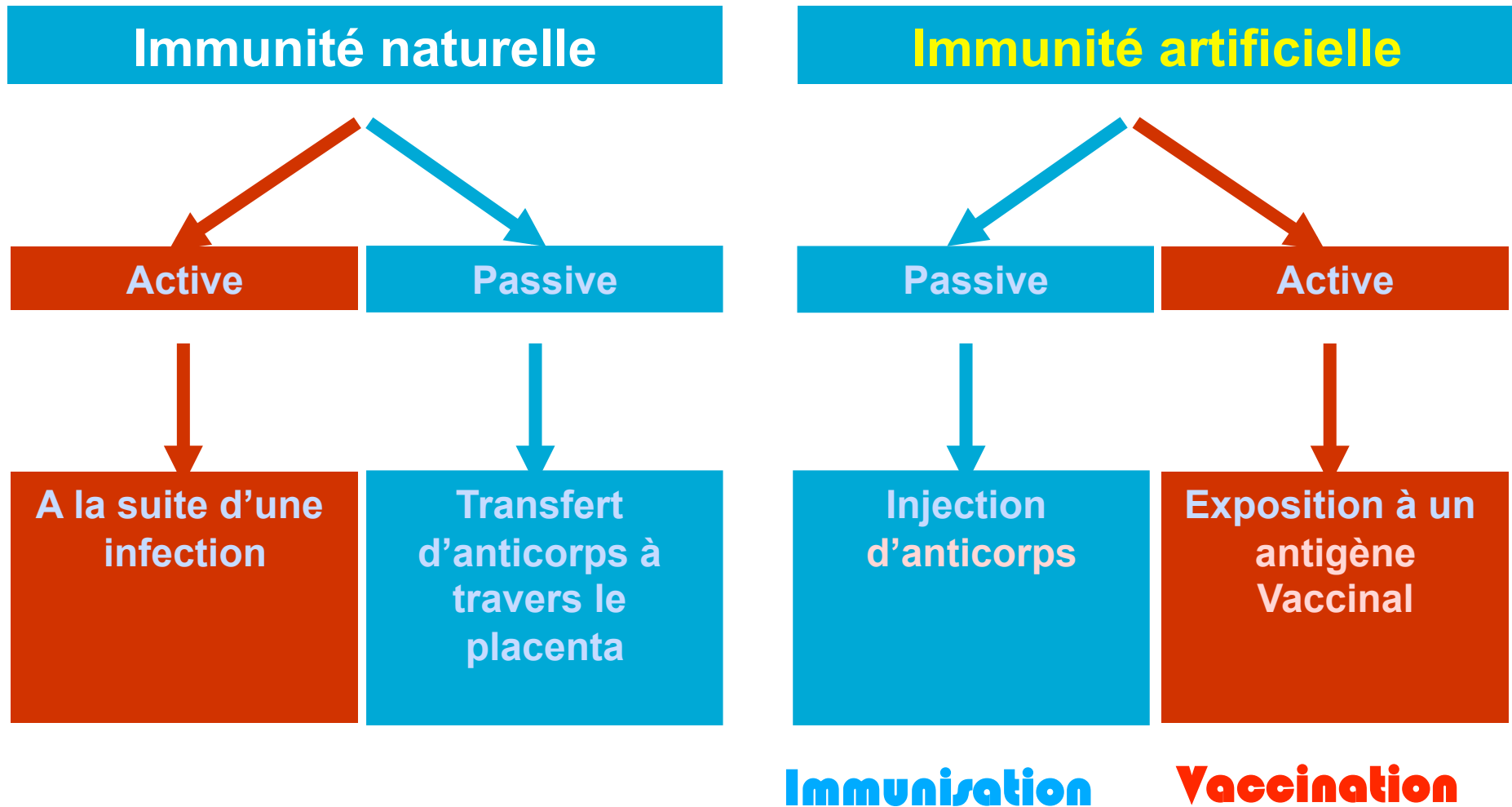
Vaccination



Sérothérapie



Immunité passive et active



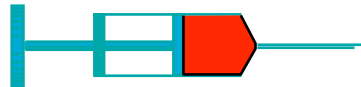
Immunisation passive

La sérothérapie

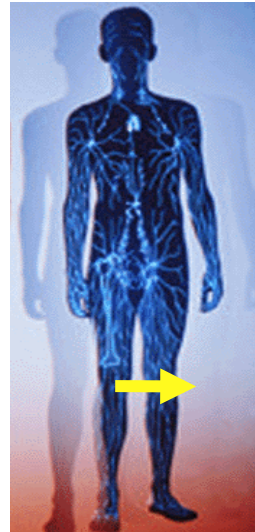


Donneur
(sujet immun)

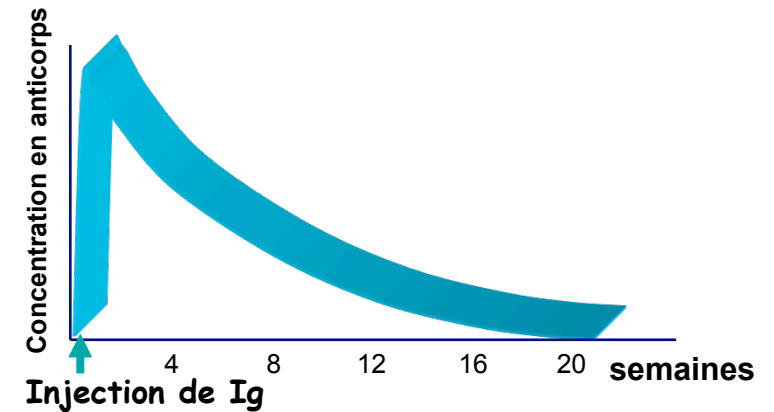
Immunoglobulines
provenant d'un
sujet immun



Immunoglobulines
administrées à
un sujet non-immun

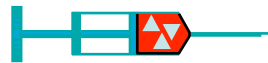


Sujet immunisé
passivement



- **Avantage:**
 - Protection immédiate
- **Désavantages**
 - Protection de courtes durée
 - Coût élevé
 - Sécurité contestée

Immunisation active : La Vaccination

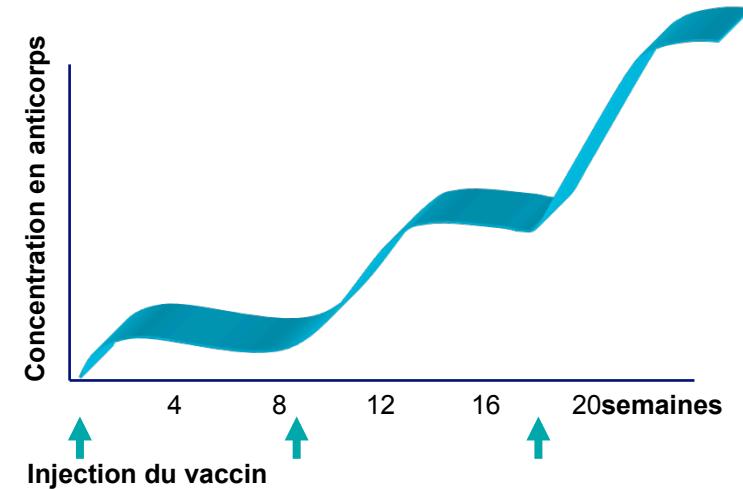


Antigène (vaccin)
administré à un
sujet non-immun



Receveur
(sujet non-immun)

Sujet immunisé
activement



• Les avantages:

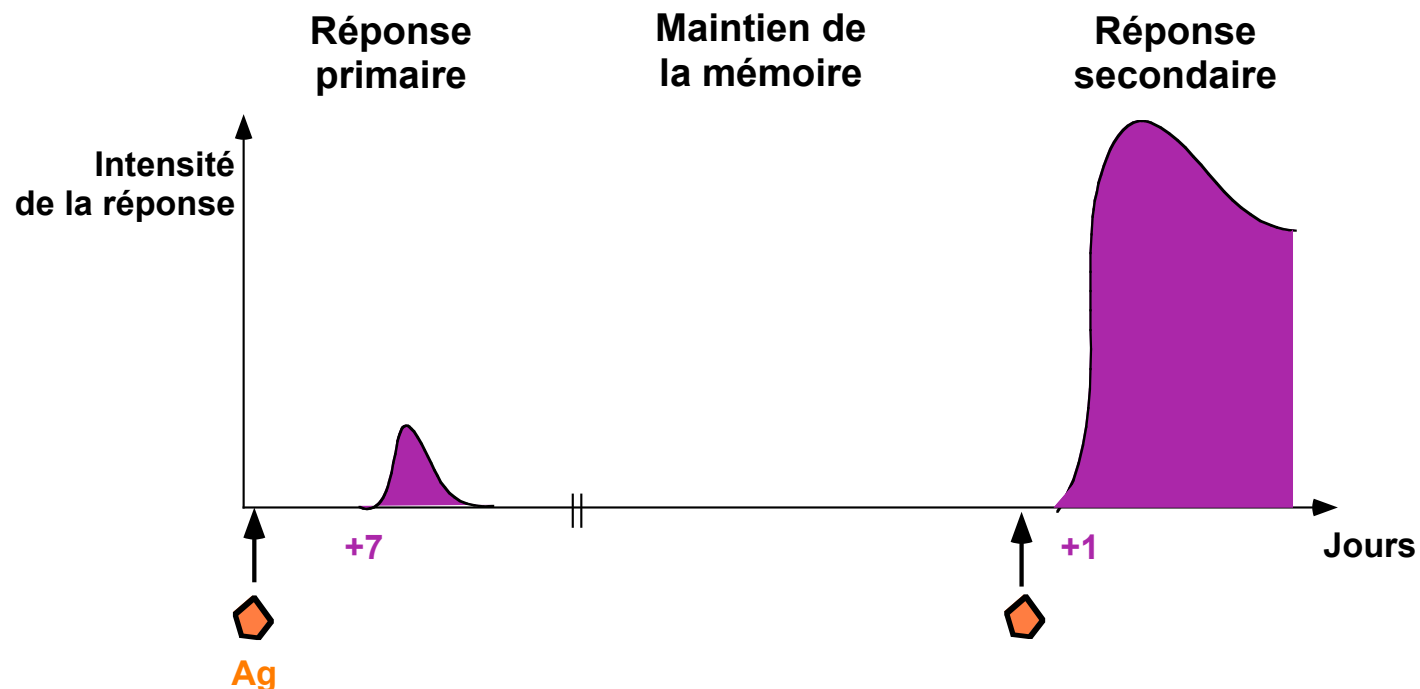
- Protection à long terme, suite à la **génération des cellules mémoire**
- Coût-efficacité
- Sécurité

• Les limites:

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

Immunisation active : Principe de la protection vaccinale

- Génération des **cellules mémoire** responsables des réponses « mémoire »
- Caractérisées par des réponses immunitaires **accélérées et amplifiées** lors du second contact antigénique
- Contribuent à la protection de l'organisme contre l'élément étranger déjà rencontré

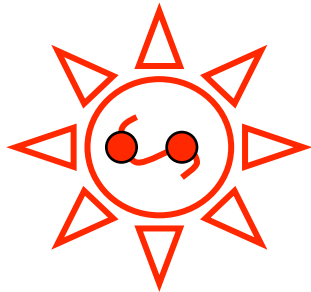


Les vaccins classiques

Vaccins classiques

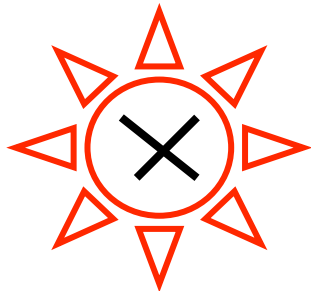


Il existe Trois catégories de vaccins :



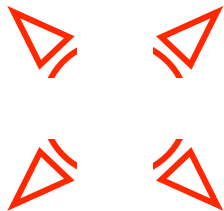
– ***Vaccins vivants :***

Ces vaccins contiennent une souche de la bactérie ou du virus très proche de la souche sauvage mais ayant perdu ses propriétés pathogènes (agent pathogène atténué) tout en conservant ses qualités antigènes, donc capable de se développer dans l'organisme et ainsi de stimuler une réponse immunitaire.



– ***Vaccins inactivés ou tués :***

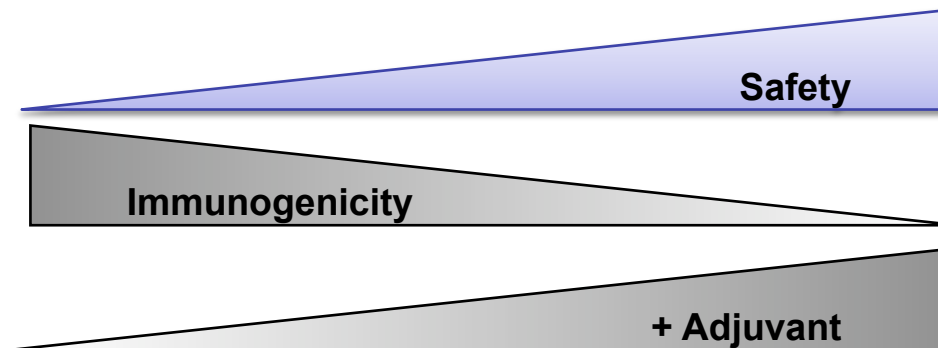
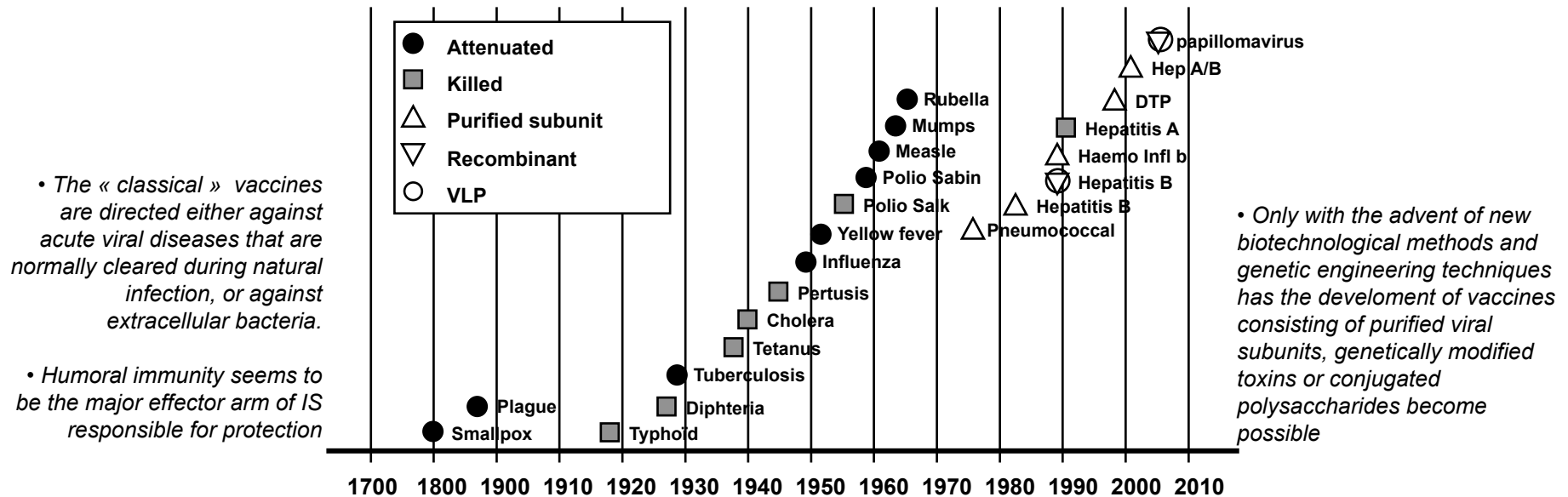
Ces vaccins contiennent des bactéries ou virus inactivés incapables de se développer dans l'organisme, mais dont la présence stimule une réponse immunitaire protectrice contre les futures agressions du micro-organisme vivant.



- ***Vaccins sous-unitaires:***

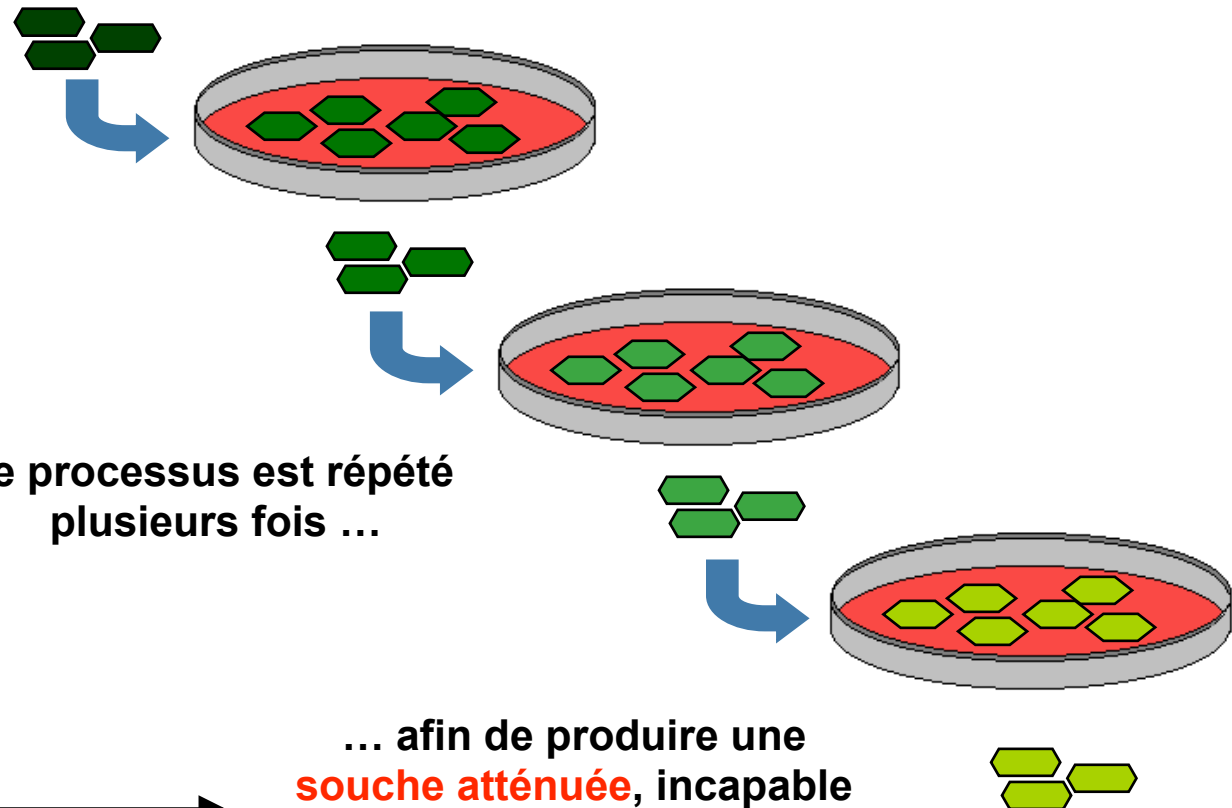
Ces vaccins contiennent une fractions des antigènes isolés à partir du micro-organisme: antigènes protéiques non pathogènes rendus immunogène par l'ajout d'adjuvant.

Evolution des différents types de vaccins depuis Jenner



Vaccins vivants atténués: Culture cellulaire vs Génie génétique

Le **virus sauvage** est répliqué
dans des conditions
défavorables en culture
tissulaire
(température, milieu
appauvri, origine tissulaire)



Génie génétique
(délétion des gènes de
virulence)

... afin de produire une
souche atténuée, incapable
de reproduire la maladie

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 mutagénèse:**
 - Sélection par anticorps monoclonaux ou séquençage du génome
- **Mais essais à échelle limitée**
- **Seule l'utilisation à large échelle et sur le long terme permet à posteriori de confirmer son innocuité.**

Exemples de **Vaccins vivants atténués**

- **Virus**

- Rougeole →
- Oreillons
- Rubéole
- Variole
- Varicelle
- Fièvre jaune
- Grippe (intranasal)
- Polio oral , OPV= Sabin →
- Rotavirus (oral)



- **Bactéries**

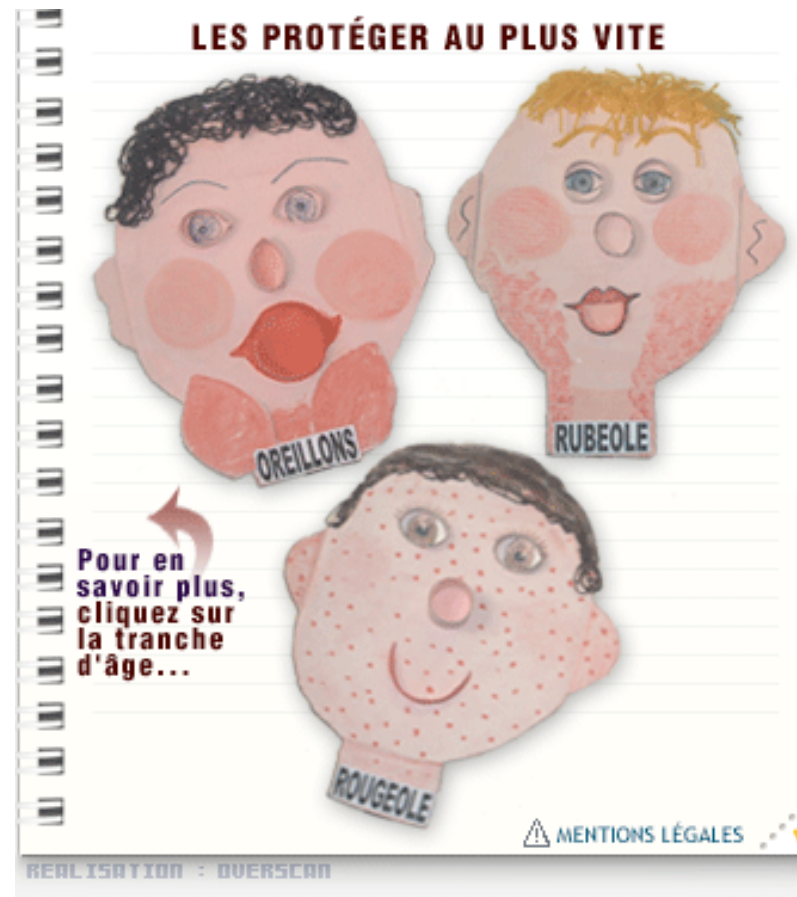
- BCG (tuberculose)
- Typhoïde oral



ALBERT SABIN, M.D.

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.

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



Avantages:

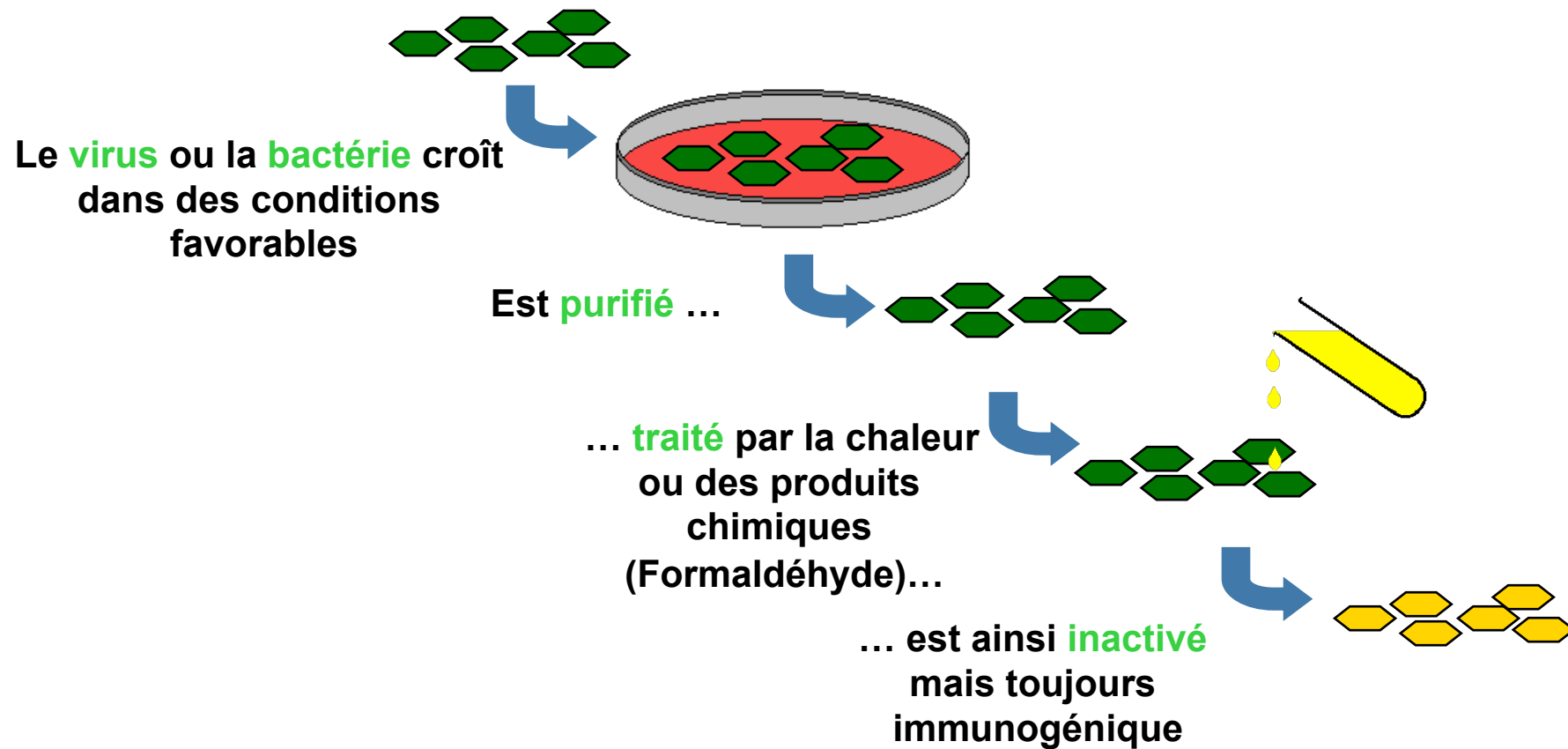
- Forme atténuée de virus ou de la bactérie sauvage = **proche d'une infection naturelle**
- Ne cause pas la maladie mais induit une **immunité protectrice**
- Induction plus **rapide** d'une protection
- **Réponse immune complète** et similaire à l'infection naturelle
 - *Assure l'élimination complète 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**

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)

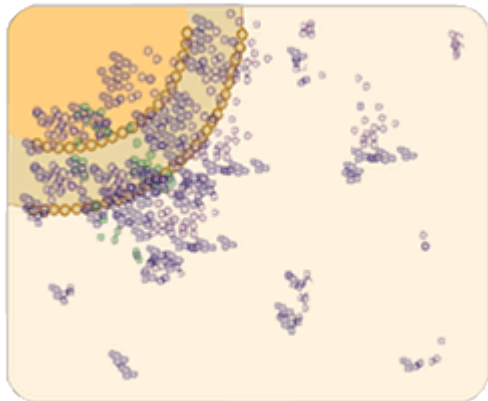
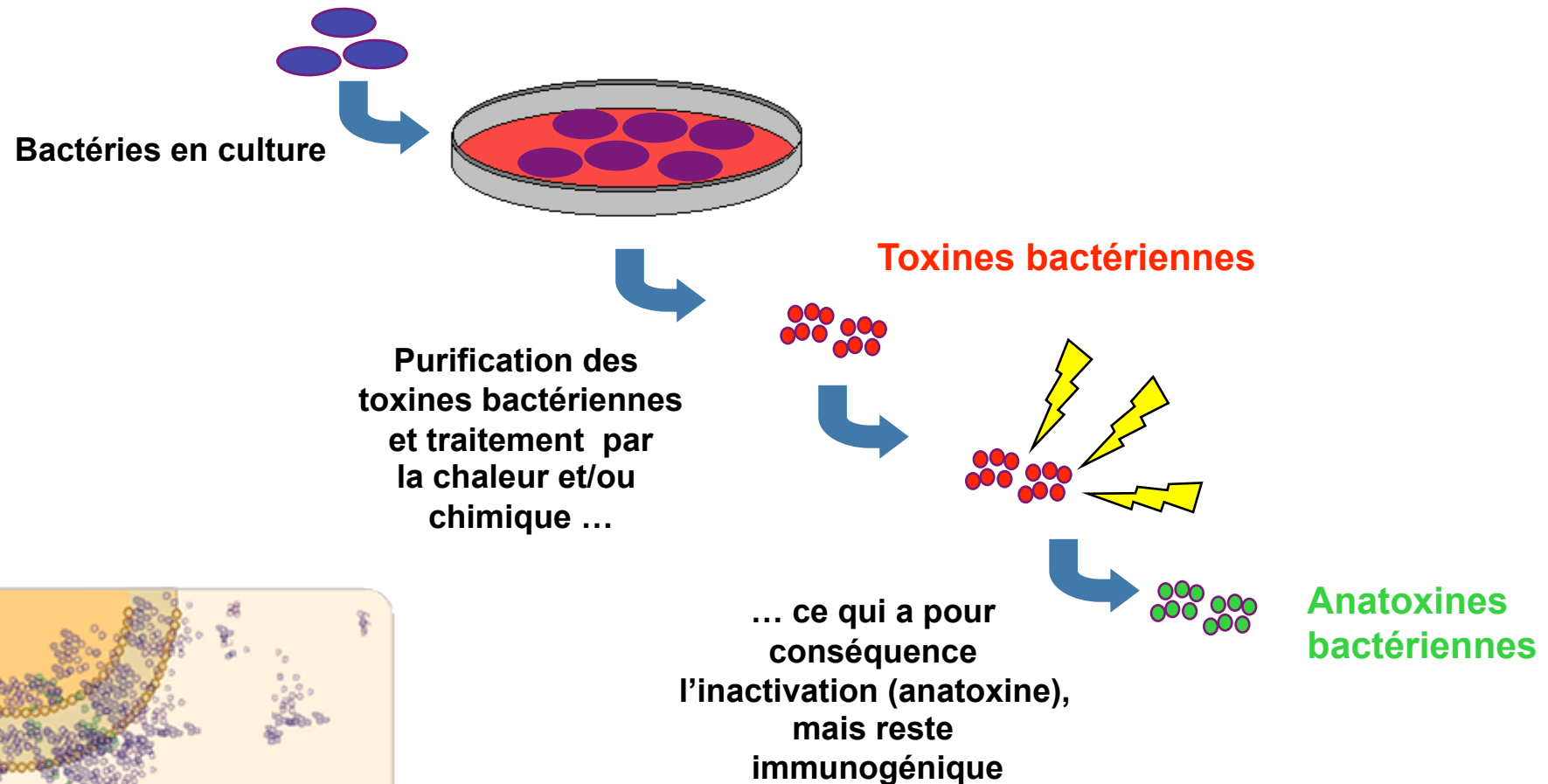
Vaccins **cellulaires** inactivés

Cas des vaccins viraux ou bactériens



Vaccins **acellulaires** inactivés

Cas des vaccins bactériens de type « Anatoxines »



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

- **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

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)

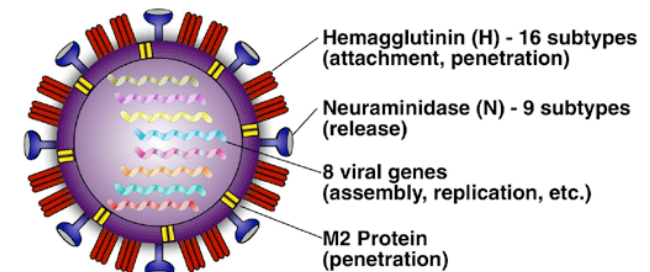
- **Indications:**

- Personnes âgées
- Personnes souffrant d'insuffisances cardio et respiratoires chroniques

- **Efficacité:**

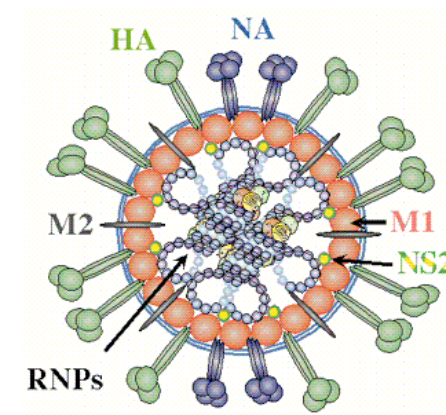
- Prévention de la mortalité: 60-100% mais < chez enfants ou personnes âgées

Influenza A Virus



Problématique du développement d'un vaccin antipandémique

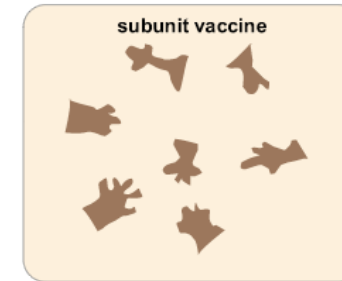
- **Quelle souche utilisée ?**
- **Modèle des vaccins saisonniers :**
 - **A partir de la souche isolée, supposée pandémique**
 - **Limites des vaccins classiques :**
 - Lenteur de la préparation du vaccin
 - 1 œuf < 1 dose (pour 1 milliard doses = 4 milliards d'œufs embryonnés)
 - Cycle abortif dans 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**



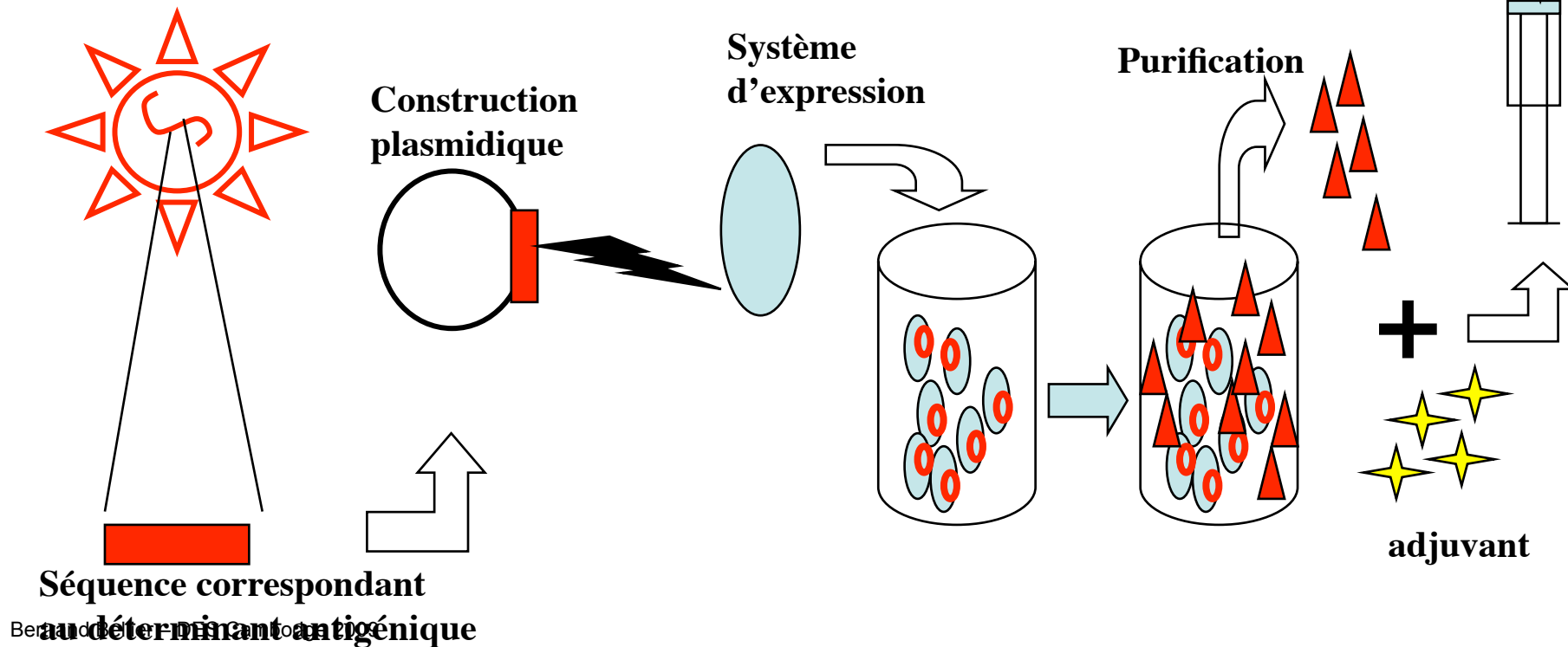
Vaccins sous-unitaires

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

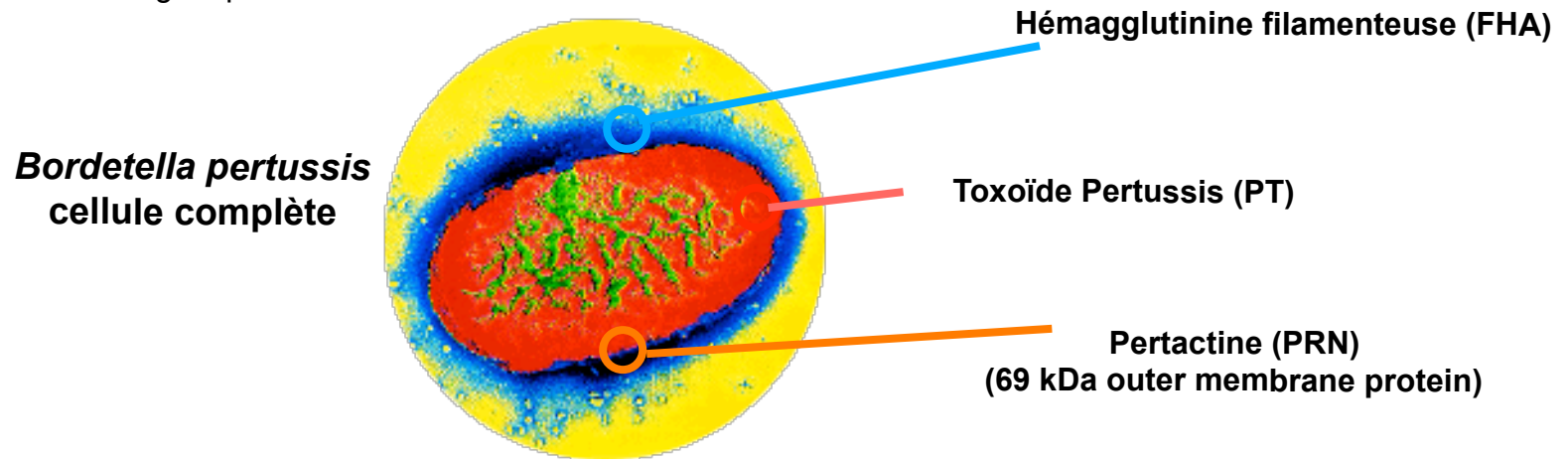


Vaccins sous-unitaires anti-bactérien purifiés: Coqueluche

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)



Étapes-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 détoxification 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 (désorption de la 69k en présence de tampon PO_4)
- ❖ Les tests d'immunogénicité en souris

Vaccins polysaccharidiques purs ou conjugués

Polysaccharides purs

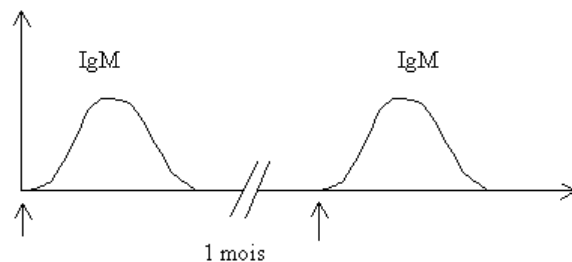
- Peu immunogène chez les enfants (<2 ans)
- Activent peu ou pas la mémoire immunitaire
- Effet « boost » limité
- Mauvaise activité fonctionnelle des anticorps
- Injections régulières

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

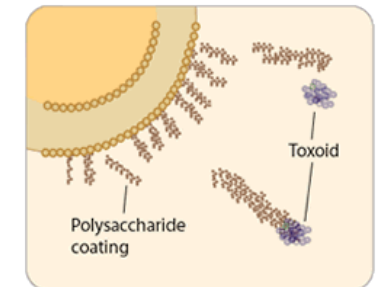
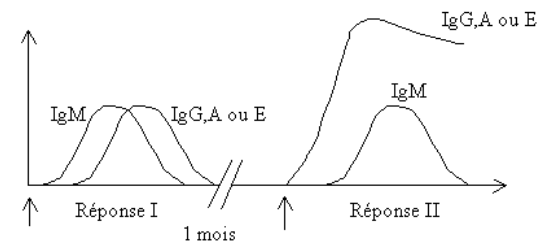
Ex de vaccins Polysaccharides pures

- Pneumocoques
- Meningocoques
- *Salmonella Typhi*



Ex de vaccins Polysaccharides conjugué

- *Haemophilus influenzae* type b
- Pneumocoques



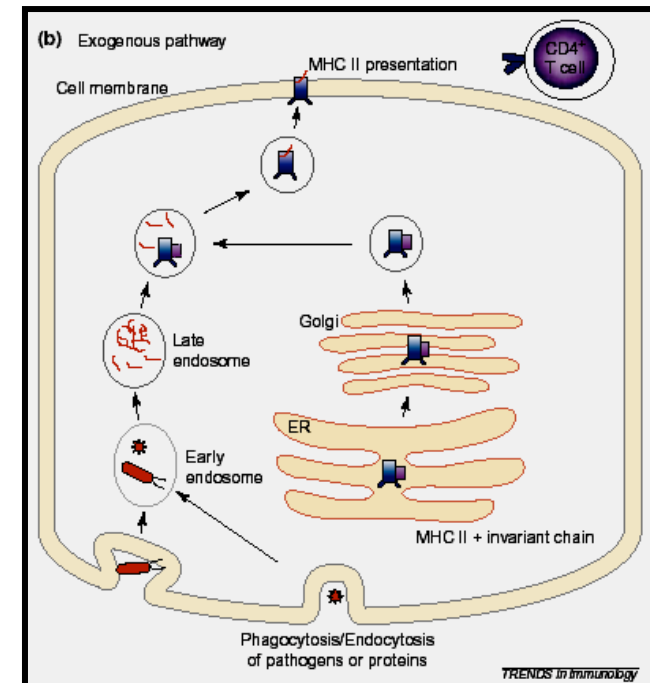
Vaccins sous-unitaires : immunisation par des protéines - polypeptides

- **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 es injections de rappel

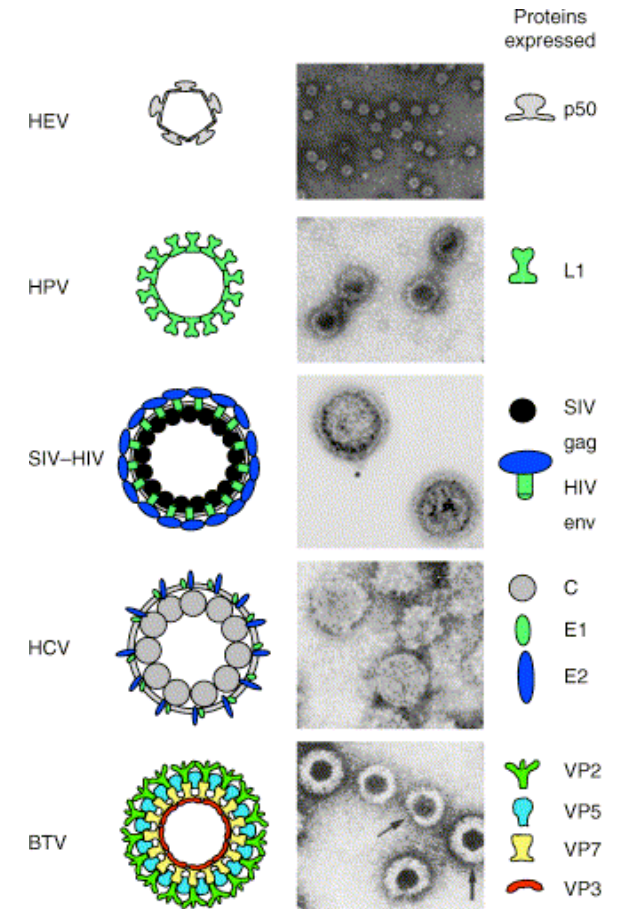


- « *adjuvare* » : aider, assister
 - Substance capable **d'augmenter la réponse immune** dirigée contre un Ag administré simultanément.
 - Multiples / classification complexe (selon mode d'action - effets)
-
- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">– Adjuvant minéraux :<ul style="list-style-type: none">• Précipité insoluble; Alum (Hydroxyde ou Phosphate d'Alu)• AS04 (Alum+MPL)– Adjuvants huileux :<ul style="list-style-type: none">• émulsion eau-huile: IFA (Adjuvant Incomplet de Freund)• émulsion huile-eau: MF59, AS03– Constituants bactériens:<ul style="list-style-type: none">• Mycobactérie inactivée (Mycob tuberculosis) ou constituants (Mycob bovis, BCG) : CFA– Toxines bactériennes<ul style="list-style-type: none">• Toxine cholérique (CT) ou ss-u B purifiée (CTB), Toxine pertussique (PT) | <ul style="list-style-type: none">– Oligodésoxynucléotides CpG<ul style="list-style-type: none">• Séquence ADN bactérien non-méthylée (ODN CpG) ; interaction avec TLR-9– Adjuvants vésiculaires<ul style="list-style-type: none">• Bicouche lipidique, liposomes - virosomes– Cytokines<ul style="list-style-type: none">• Médiateurs des RI: IL-2, IL-12, IFN-g, GM-CSF |
|--|---|

- **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, emulsions)
 - 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)

Vaccins sous-unitaires « **particulaires** »

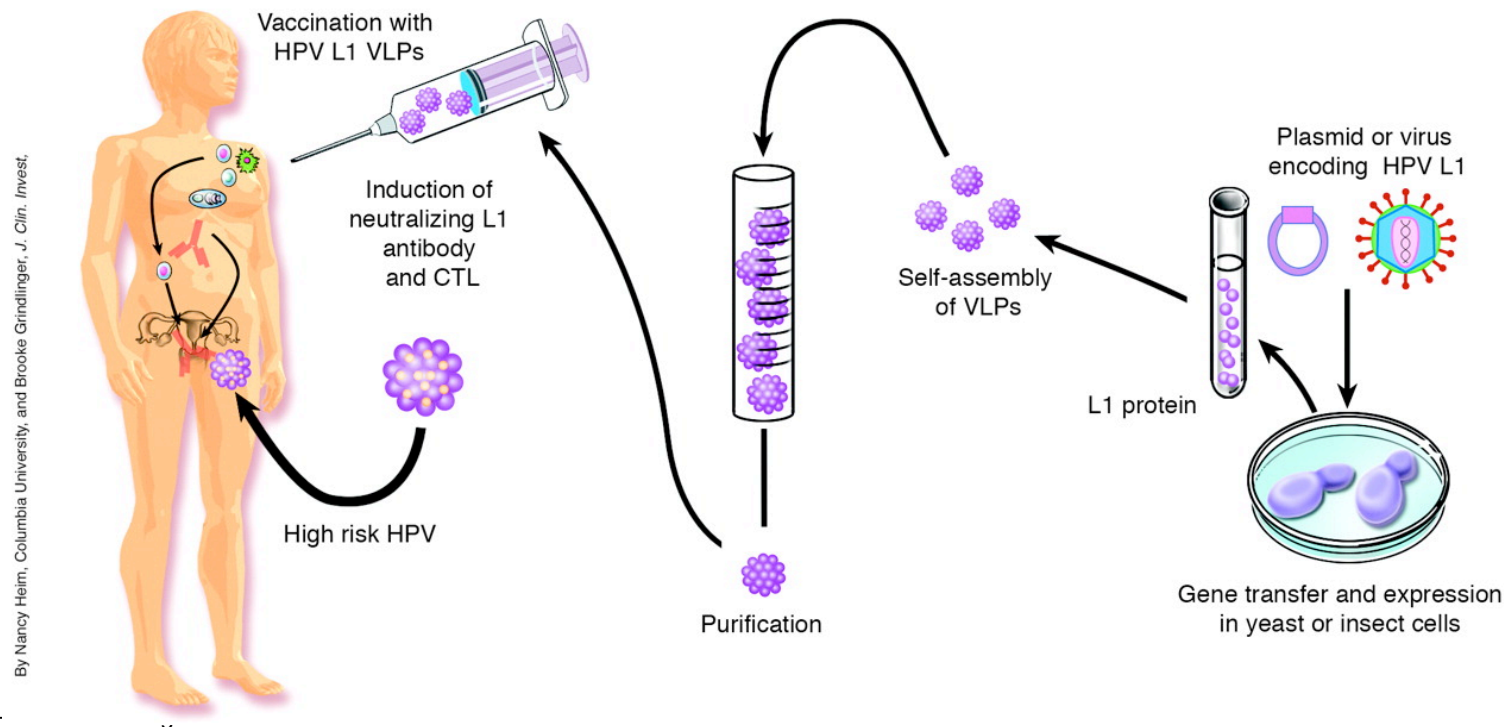
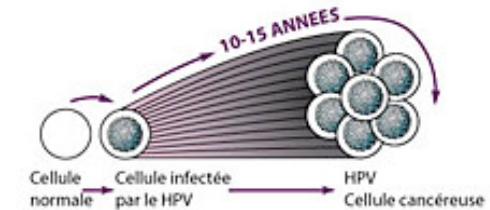
- Protéines virales purifiées qui s'assemblent en **pseudo-particules virales** :
« **Virus-like particles** » ou **VLP**
 - Pseudo-virion: complexe protéique # structure virale, # taille
 - Sans génome viral: déficients pour la réplication
- **VLP simples:**
 - Auto-assemblage des protéines de surface
 - 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



TRENDS in Microbiology

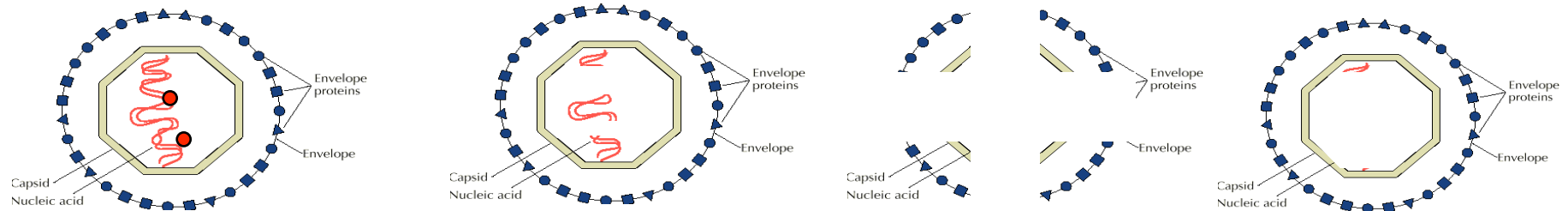
Vaccins HPV

- 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



By Nancy Heim, Columbia University, and Brooke Grindlinger, J. Clin. Invest.

Dilemme vaccinal



Atténué

Inactivé

Sous-unitaire

VLP

Immunogénicité

Sécurité

Rép AC

Rép CTL

A la recherche du vaccin idéal

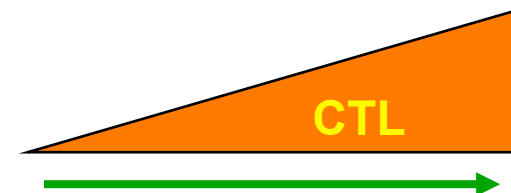
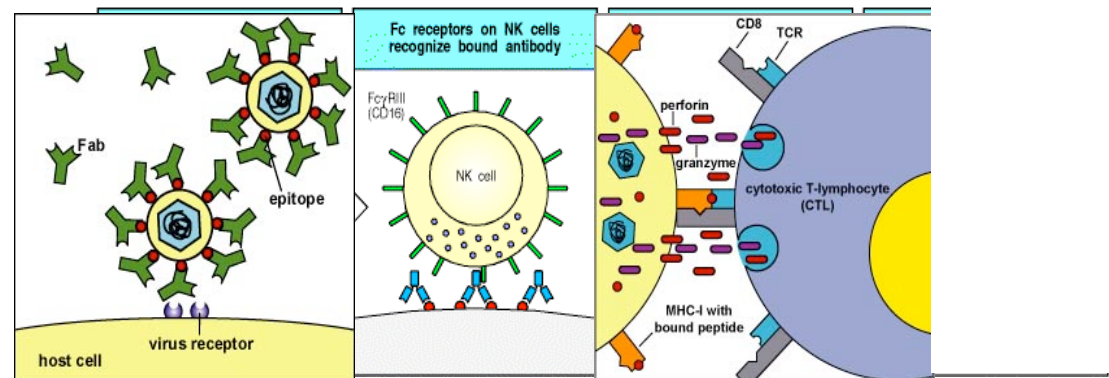
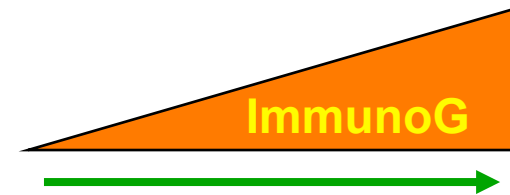
- **+ Immunogène**
- Protection à long-terme
- Réponse immunitaire complète:

- Anticorps neutralisants (a)
- Anticorps (b)
- T helper : cytokines
- **CTL (c)**

Role prédominant dans:

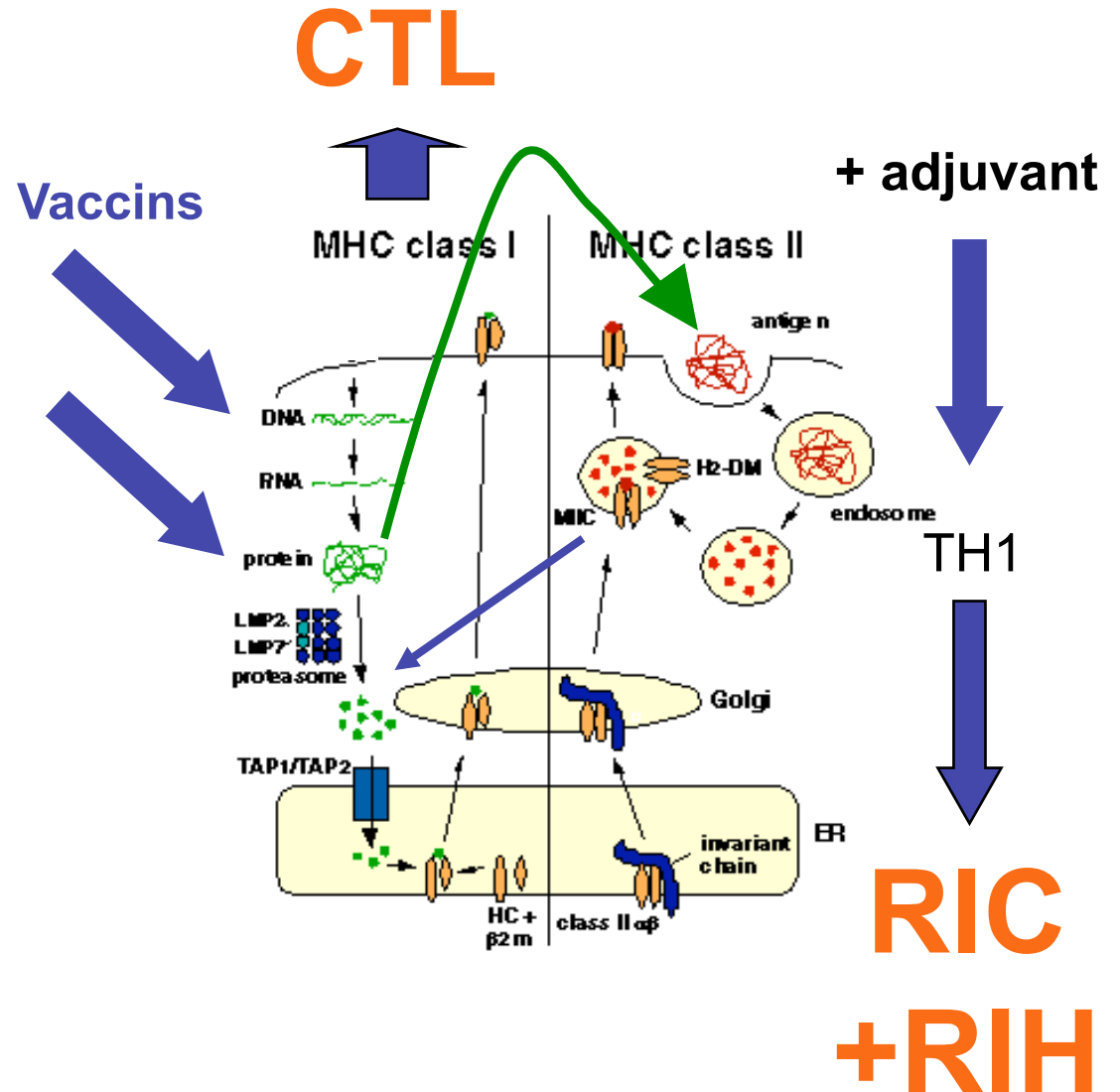
- *Immunité anti-virale*
- *Immunité anti-parasitaire*
- *Immunité anti-tumorale*

- Production simplifiée
- Coûts limités
- Stable - Stock



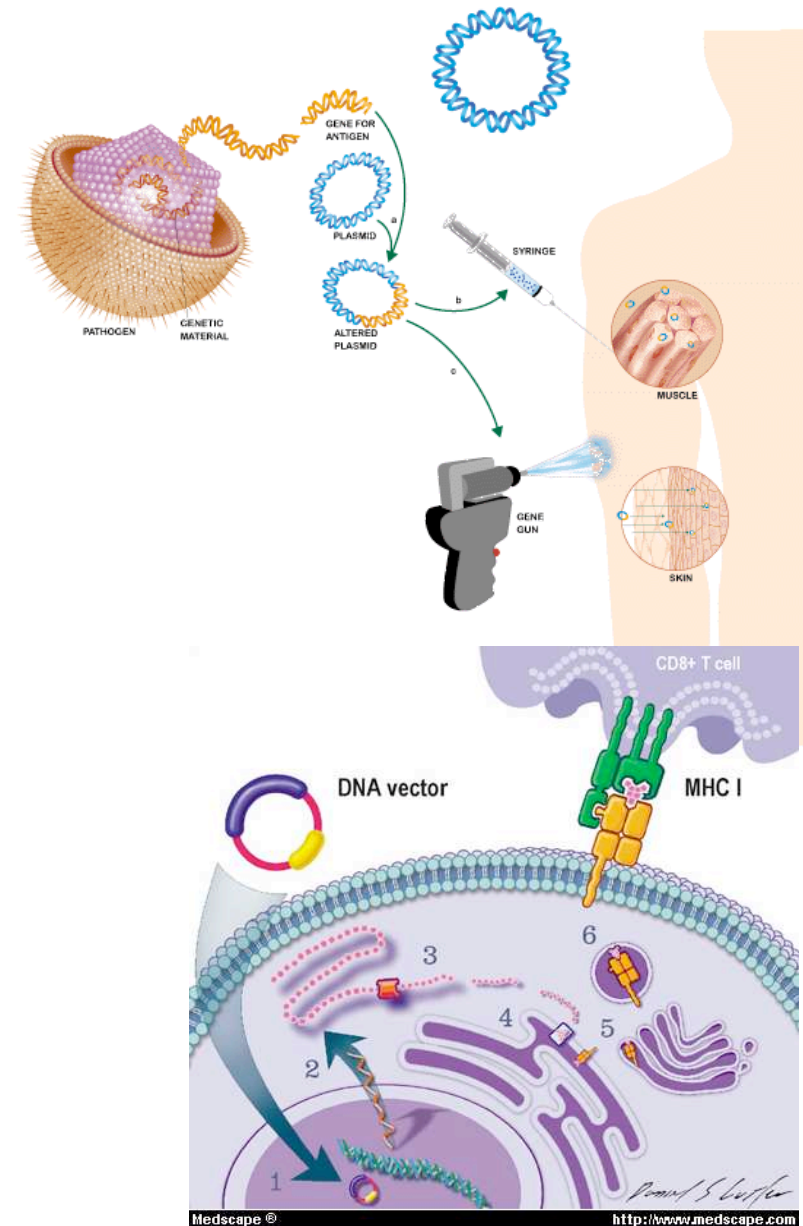
Renforcement des réponses CTL

- **Nature de l'Ag**
 - **Épitopes CD8-spécifiques = Vaccination peptidique**
 - *Chargement direct du CMH-I*
 - *Localisation Intracellulaire et Processing CMH-I*
 - **Ag endogènes:**
 - Ag protéiques intracellulaires
 - Ag nucléiques
 - **Ag modifié pour augmenter présentation CMH.I**
- **Formulation de l'Ag**
 - **Adjuvants de type TH1**
 - Cytokines Th1
- **Présentation de l'Ag**
 - Favoriser la cross-présentation



Vaccination ADN

- Concept de dix ans (*Wolff, Science 1990*)
L'injection dans le muscle de un ou plusieurs gènes sous forme plasmidique permet la pénétration de l'ADN dans le tissu et l'expression du gène par les cellules de ce tissu.
- Application à la vaccination
Immunogénicité des protéines exprimées in situ
- Délivrance **intra-cellulaire de l'Ag** favorise présentation MHC classe I : + réponses CTL
- Réponses variables selon
 - nature de l'Ag:
 1. Intracytoplasmique
 2. Membranaire
 3. Sécrété
 - Dépend de la nature des cellules transfectées



Modalités d'injection de l'ADN

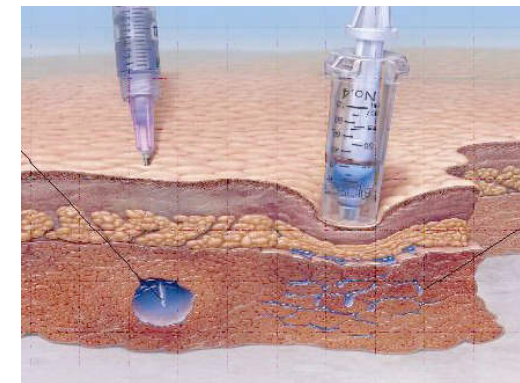
- **ADN nu intramusculaire**
 - Q = 100µg (souris)
 - + Cardiotoxine (modèles animaux)
 - ± adjuvants
- **Electroporation**
 - Après IM
 - Perméabilisation membranes cellulaires
 - Q= 10µg
- **Injection par jet**
 - Biojector-2000 ; Dermojet
 - Injection sous pression sans aiguille
 - Q=10µg
- **Biobalistique**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



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



Biojector
(Bioject)



Gene gun
(Hélios Biorad)



PowderJet
(PowderMed)

- **Vecteurs viraux**

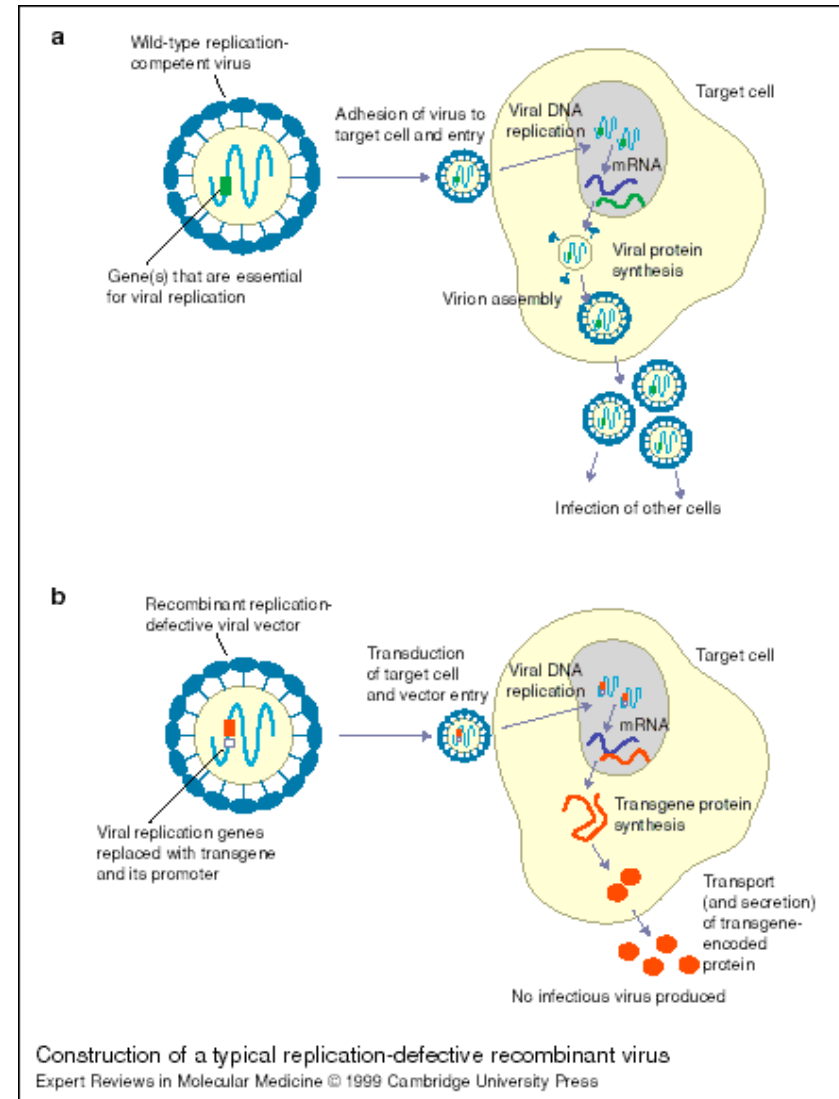
- **Adénovirus**
- Rétrovirus
 - Oncorétrovirus MLV
 - Lentivirus: HIV, SIV, FIV
- Poxvirus
 - **Vaccine : MVA, NYVAC**
 - **Canarypox: ALVAC**
- Parvovirus
 - AAV (dépendant)
 - MVM
- Herpès HSV-1
- Sindbis
- VSV
- Rougeole (MV)
- Sandaï
- Poliovirus

- **Augmente l'efficacité de transduction**

- Permet de diminuer les quantités d'ADN

- **Renforce l'immunogénicité:**

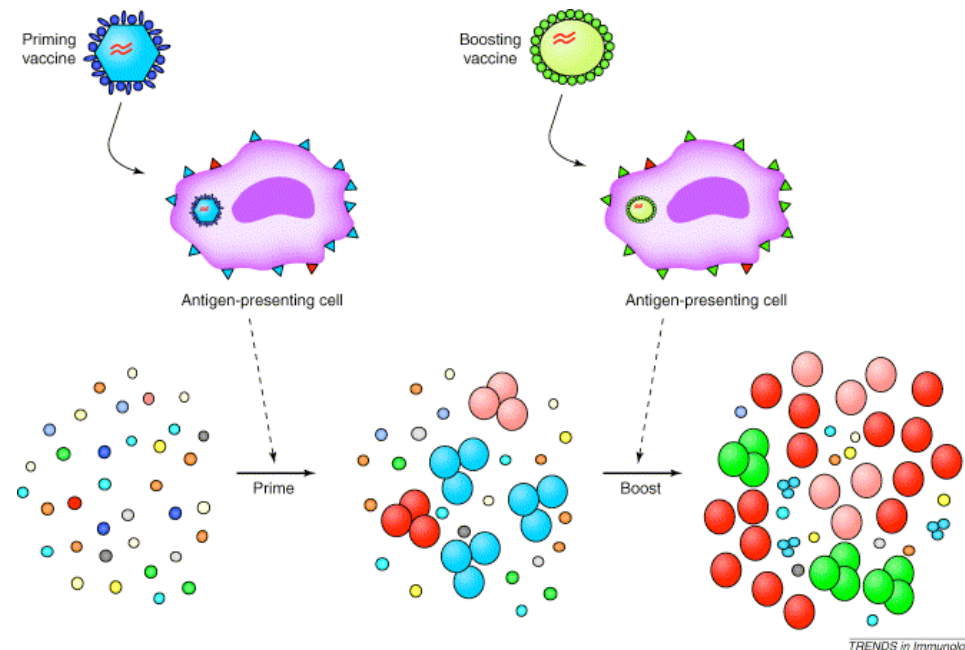
- « visibilité » des complexes ISCOM, des vecteurs viraux ou bactériens
- Prise en charge préférentielle par les APC



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

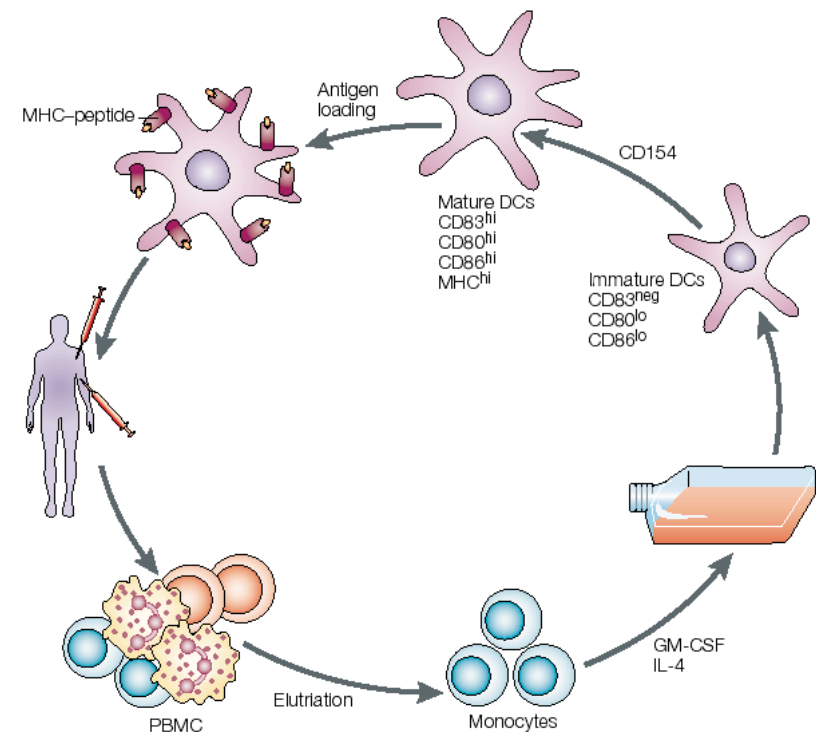
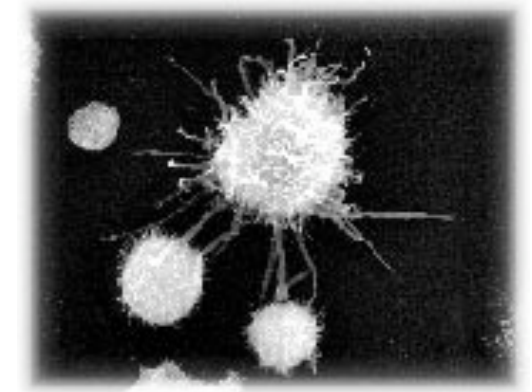
Prime: J0 / Boost J30

Avantages:

Expansion des lymphocytes mémoire à haute affinité

Immunothérapies cellulaires

- Injection de DC préparées ex-vivo
- DC
 - à partir des monocytes du sang périphérique
 - Maturation des DC
 - Chargement antigènes:
 - 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



Les nouveaux vaccins: Comment concilier *Sécurité-Immunogénicité-RIC*

