

Applications vaccinales de la génétique moléculaire

Nouvelles approches vaccinales

1

Types de vaccins

- Vivant atténué
- Inactivé
- Intermédiaire

2

Les stratégies vaccinales

● Vaccins classiques

● Vaccins nouvelle génération

1. Vaccins à agent vivant (atténué)

2. Vaccins à agent inerte (inactivé)

3. Vaccins intermédiaires

3

Vaccins vivants atténués classiques

● Avantages

- Efficacité à faible dose
- nombre limité d'administrations
- réaction équivalente à l'infection naturelle
- nombreuses voies d'administration
- coût réduit

● Inconvénients

- maladie vaccinale
- immunodépression
- contaminations
- dissémination
- instabilité (réversion, recombinaison)
- conservation (risque d'inactivation)

4

Vaccins inactivés classiques

● Avantages

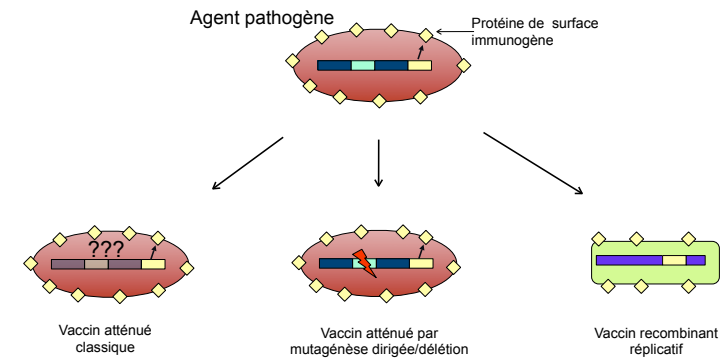
- Innocuité totale
 - Agent vaccinant
 - contaminants
- Stabilité

● Inconvénients

- efficacité moindre
- plusieurs administrations
- adjuvants
- coût supérieur

5

1-Vaccins à agent vivant



6

1-Vaccins à agent vivant

● Atténuation ciblée

- Augmenter la stabilité
- Diminuer les risques de réversion

7

1-Vaccins à agent vivant

● Atténuation ciblée

- mutants métaboliques bactériens
- mutations ponctuelles
- délétion de gènes de virulence par recombinaison homologue
 - choix du/des gènes éliminés
 - possibilité de distinguer animaux vaccinés des animaux infectés par souche virulente = **vaccin marqueur**
 - **Stratégie DIVA (differentiating infected from vaccinated animals)**

8

1-Vaccins à agent vivant

● Atténuation ciblée : exemples

● Maladie d'Aujeszky

- délétion du gène codant pour la glycoprotéine gE : Porcilis Begonia® Intervet, tk-, gE-

● Rhinotrachéite infectieuse bovine

- délétion du gène codant pour la glycoprotéine gE : Ibraxion® Merial, gE-

9

1-Vaccins à agent vivant

● Vaccin à vecteur recombinant réplcatif

- Introduire dans le génome d'un vecteur vivant (virus, bactérie non pathogène) un gène codant pour un antigène contre lequel on veut vacciner

- (existe aussi en non réplcatif (vaccin intermédiaire))

10

1-Vaccins à agent vivant

● Vaccin à vecteur recombinant réplcatif

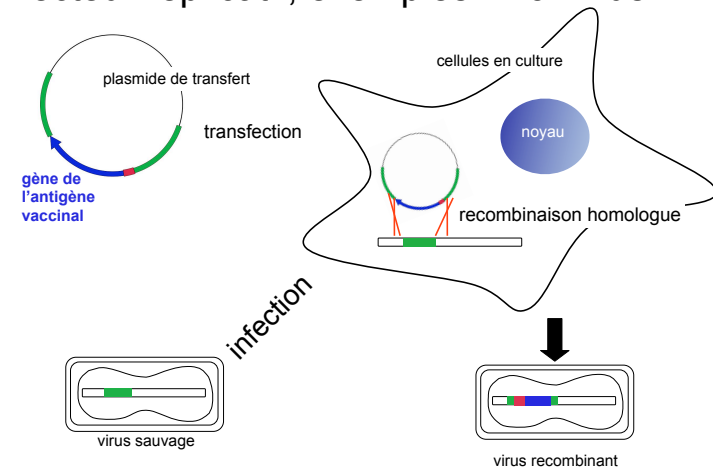
● Vecteur non pathogène (ou atténué)

- Facile à manipuler
- Bonne expression des protéines
- Stabilité génétique

11

1-Vaccins à agent vivant

● Vecteur réplcatif, exemples : Poxvirus



12

1-Vaccins à agent vivant

● Vecteur réplcatif, exemples : Poxvirus

- Appâts pour renards, recombinant Vaccine-Rage Raboral V-RG®, Merial (glycoprot. G)



- Recombinant virus myxomateux-VHD : Gène VP60 du virus de la maladie hémorragique du lapin inséré dans le gène TK (thymidine kinase) du VM : protection des lapins contre les deux maladies. Dossier AMM en cours (intervet)

13

1-Vaccins à agent vivant

● Vecteur réplcatif, exemples : Poxvirus

- Fowlpox-virus influenza :

TROVAC® AI H5 Merial
pour la volaille (poulets),
gène HA



Pb :

- vaccination inefficace si l'animal a été infecté par du fowlpox sauvage
- Pas vaccin marqueur si test hémagglutination uniquement

14

1-Vaccins à agent vivant

● Vecteur réplcatif, exemples :

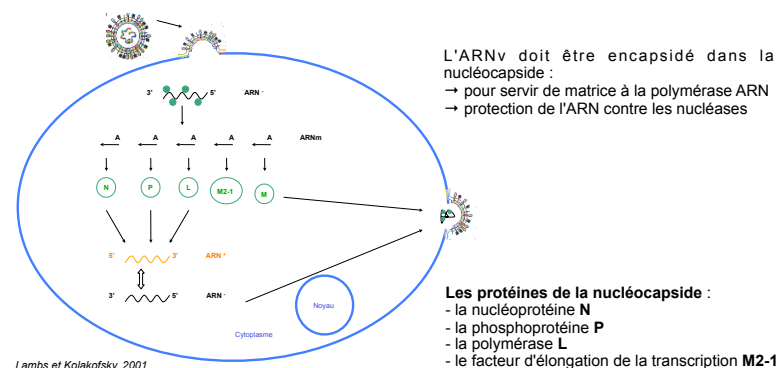
- virus recombinant maladie de Newcastle (NDV) - Influenza (volaille - gène HA virus H5 - en développement Intervet)
- NDV = virus à ARN négatif non segmenté : modification du génome par génétique inverse

15

1-Vaccins à agent vivant

● Vecteur réplcatif, exemples :

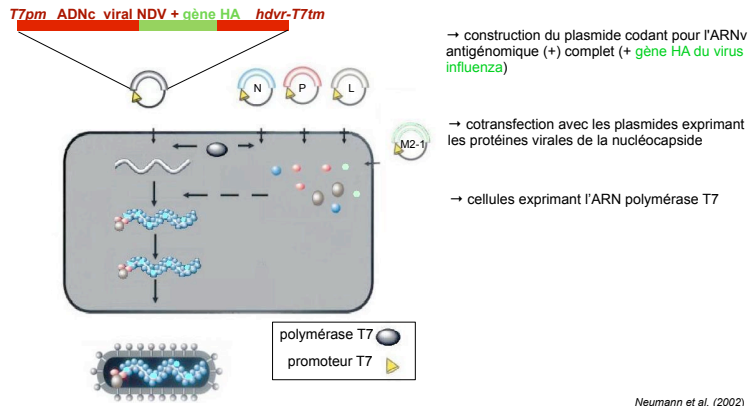
- NDV = virus à ARN négatif non segmenté : modification du génome par génétique inverse



16

1-Vaccins à agent vivant

- NDV = virus à ARN négatif non segmenté : modification du génome par génétique inverse



17

1-Vaccins à agent vivant

- Vecteurs recombinants réplicatifs, intérêts
 - Vaccins marqueurs
 - Pas de manipulation d'agent pathogène
 - Possibilité de vacciner contre des maladies dont l'agent
 - ne peut être cultivé (calicivirus de la VHD, virus de l'hépatite B),
 - est très dangereux ou contagieux
 - Vaccins stables à la chaleur (Poxvirus)

18

1-Vaccins à agent vivant

- Vecteurs recombinants réplicatifs, risques
 - Risques liés au vecteur (chez individus immunodéprimés)
 - Risques liés à la réplication
 - Pour l'instant, AMM exclusivement vétérinaires

19

2-Vaccins à agent inerte

- Vaccins sous-unité et peptidiques
- Antigènes purifiés *in vitro*

20

2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins sous-unité et peptidiques

- Fractions immunogènes isolées à partir de l'agent pathogène ou produites par génie génétique (système procaryote ou eucaryote)
- Innocuité parfaite
- Coût de production réduit (si clonage)
- Vaccins marqueurs
- Nécessité d'adjuvants

21

2-Vaccins à agent inerte

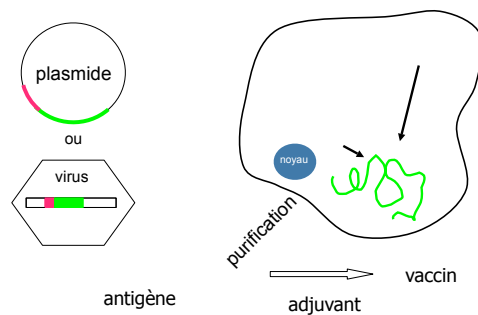
● Vaccins sous-unité : production *in vitro*

- Culture facile
- Production importante de protéines
- Maturation post-traductionnelle si besoin
- Purification facile

22

2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins sous-unité : production *in vitro*



23

2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins sous-unité : exemples

- Systèmes bactériens :
 - Plasmide / *E. coli* : Leucogen™ Virbac, protéine p45 FeLV produite chez *E. coli*
- Systèmes eucaryotes :
 - Plasmide / Levure : Hépatite B (HbSAg, Engerix® B GlaxoSmithKline)
 - Plasmide / Cellules animales (CHO) : Hépatite B (HbSAg, GenHevac® Sanofi Pasteur)

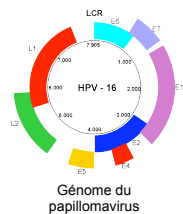
24

2-Vaccins à agent inerte

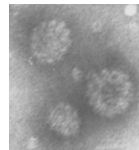
● Vaccins sous-unité : exemples

● Systèmes eucaryotes (suite) :

- Plasmide / Levure : Papillomavirus humain 6, 11, 16 et 18 (VLP L1 Gardasil® Sanofi Pasteur)



VLP (pseudo-particule virale) constituée d'un mélange des protéines L1 de types 6, 11, 16, 18



25

2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins sous-unité : exemples

● Systèmes eucaryotes (suite) :

● Animaux ou plantes transgéniques

- Plantes : essais (PdT, banane), mais rendement médiocre et risques de dissémination mal connus - mal acceptés par l'opinion publique
- Animaux : expression du transgène sous contrôle promoteur spécifique (glande mammaire, vessie, blanc d'œuf). "Bioréacteurs transgéniques" les plus testés : glande mammaire de truie, lapine, chèvre

26

2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins sous-unité : exemples

● Systèmes eucaryotes (suite) :

- Animaux transgéniques, pas encore de vaccin sur le marché mais :



- Première molécule commercialisée début 2007 : antithrombine humaine issue du lait de chèvre (ATryn® GTC Biotherapeutic)

- En développement : Production de VLP (VP2 + VP6) de rotavirus dans le lait de lapines (INRA - vaccination gastro-entérite à rotavirus)

27

2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins peptidiques

- Vaccins épitopiques (10-30 aa)
- Synthèse chimique ou production par génie génétique (épitopes linéaires)
- Faciles à produire
- Stables
- Contrôle qualité
- Faiblement immunogènes (couplage, adjuvants)

28

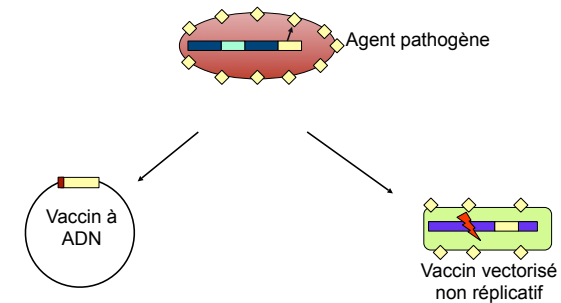
2-Vaccins à agent inerte

● Vaccins peptidiques : essais

- Bovins : fièvre aphteuse
- Chien : parvovirose canine

29

3-Vaccins intermédiaires



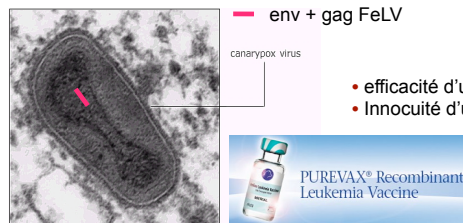
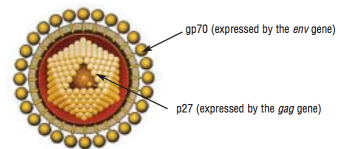
30

3-Vaccins intermédiaires

● Vecteur recombinant non réplcatif

● Canarypox-FeLV :

PureVax Merial (chats),
gènes *env* et *gag* (→ p27)



- efficacité d'un vaccin vivant : pas d'adjuvant
- Innocuité d'un vaccin inactivé

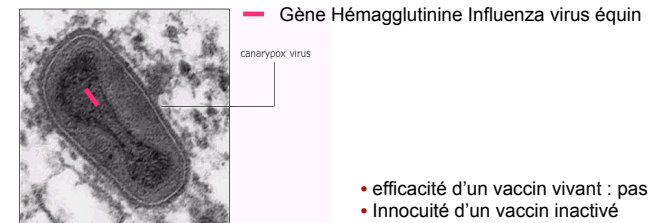
31

3-Vaccins intermédiaires

● Vecteur recombinant non réplcatif

● Canarypox-Influenza équin :

ProteqFlu-Te (Merial)



- efficacité d'un vaccin vivant : pas d'adjuvant
- Innocuité d'un vaccin inactivé

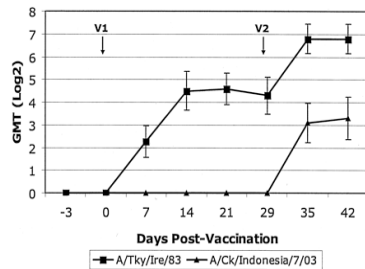
32

3-Vaccins intermédiaires

● Vecteur recombinant non réplcatif

- Utilisation du vaccin Fowlpox-Influenza H5 (TROVAC® AI) chez des espèces autres que les volailles ??

● Essais chez le chat :



Inhibition de l'hémagglutination dirigée contre des antigènes homologues H5N8 AIV (A/Tky/Ire/83 [■]) et hétérologues H5N1 AIV (A/Ck/Indonesia/03 [□]) chez des chats vaccinés avec un fowlpox virus exprimant le gène H5 du virus A/Tky/Ire/83 AI. V1 (J 0) = vaccination primaire, V2 (J 28) = rappel.

Karaca et al., Clin. and Diag. Lab. Imm., 2005, p. 1340-1342, Vol. 12

33

3-Vaccins intermédiaires

● Vaccins à ADN

● Principe

- Utiliser directement les gènes codant pour les antigènes qui sont ensuite exprimés *in vivo*

● Immunisation génétique

- Injection *in vivo* d'ADN plasmidique
- Gène codant pour un antigène, sous contrôle d'un promoteur viral

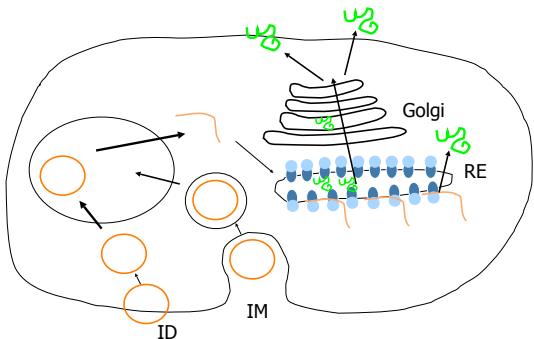
● Administration IM ou ID (canon à gènes)



34

3-Vaccins intermédiaires

● Vaccins à ADN : devenir dans l'organisme



35

3-Vaccins intermédiaires

● Vaccins à ADN

● Avantages

- Expression prolongée
- Efficacité proche vaccin vivant + moins d'interférence avec immunité d'origine maternelle
- Innocuité
- Effet adjuvant de l'ADN
- Facile à manipuler, à produire
- Stables
- Multivalents
- Coût, contrôle qualité

● Inconvénients

- mutagénèse insertionnelle
- Induction d'anticorps anti-ADN
- Tolérance

36

3-Vaccins intermédiaires

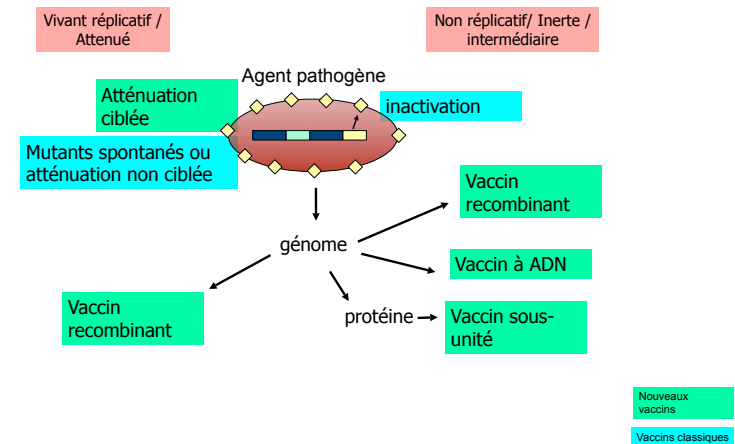
● Vaccins à ADN

● Nombreux vaccins en cours d'essais cliniques

- Virus : parvovirus canin, virus de la maladie des muqueuses (bovins), virus Influenza, Herpesvirus bovin, maladie de Gumboro (poulet)
- bactéries : Chlamydia...
- Parasites : Coccidies, Toxoplasmose...

37

Stratégies vaccinales



38

Conclusions

● Nouvelles approches vaccinales

- Connaissance agent pathogène et pathogénie de la maladie
- Connaissance des mécanismes immunitaires efficaces
- Recherche et caractérisation des antigènes majeurs qui permettent une protection
- Stratégies moins empiriques et plus sûres

39