



MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Cours proposé aux par
José Edmundo NAVA SAUCEDO
aux étudiants de L3S6

Partie 5

LA VACCINATION

DE L'EMPIRISME A L'IMMUNOLOGIE MODERNE



Le 14 mai 1796, un médecin de campagne anglais, le docteur **Edward JENNER** procédait à la première vaccination, découverte qui allait bouleverser la médecine : l'inoculation à des humains d'une maladie de la vache, la vaccine, proche de la variole humaine permettait d'induire un état réfractaire à cette maladie.

Partant de ces observations et de ces pratiques empiriques, **Louis PASTEUR** allait en quelques dizaines d'années créer les bases scientifiques de la vaccination. Fondant la microbiologie moderne, il démontrait la causalité microbienne des maladies. **Louis PASTEUR** réalisait alors le premier vaccin expérimental chez l'homme par atténuation d'un virus, le virus de la rage. A la suite de ses travaux de nombreux vaccins allaient être mis au point.



Les recherches de **PASTEUR** et d'autres scientifiques sur les mécanismes impliqués dans la vaccination, donnaient naissance à l'immunologie.

LA VACCINATION

DE L'EMPIRISME A L'IMMUNOLOGIE MODERNE

L'exemple le plus frappant et illustrant le mieux l'importance de ces découvertes reste certainement la variole. En 1967, la variole tuait encore 2 000 000 d'individus par an sur 10 000 000 de personnes atteintes. En 1977 après 10 ans d'une campagne de vaccination internationale, la variole était éradiquée.

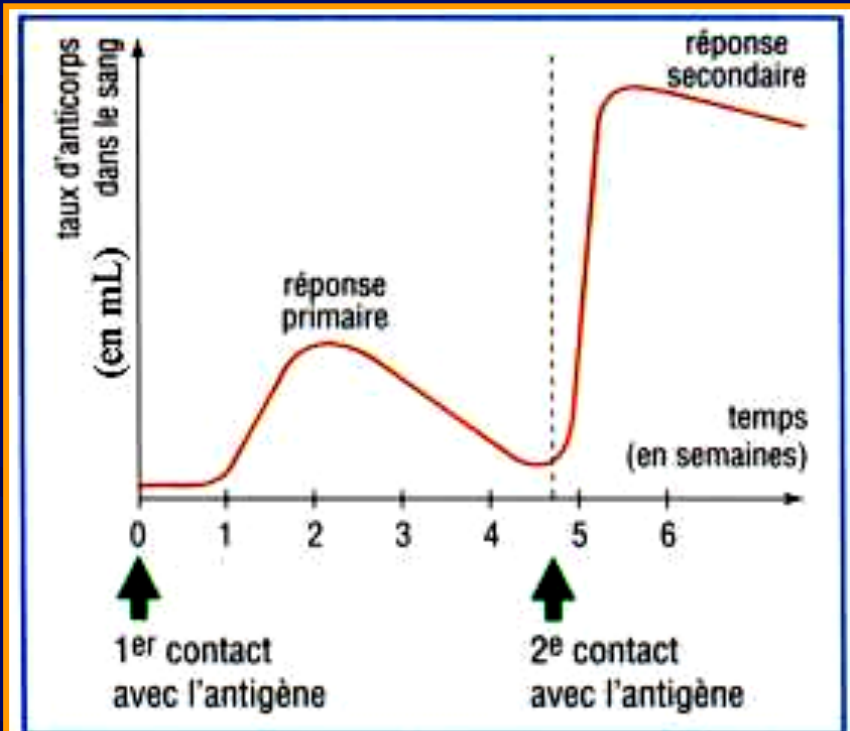


LES BASES IMMUNOLOGIQUES DE LA VACCINATION

Le phénomène de mémoire immunitaire est à la base du principe de la vaccination. L'exemple des épidémies successives de rougeole aux **Iles Faeroe** en est une illustration. La population de ces îles était, au siècle dernier, épargnée par les maladies infectieuses du fait de son isolement. Soixante ans se sont écoulés entre deux épidémies de rougeole. Lors de la deuxième épidémie, celle-ci toucha toutes les personnes qui avaient moins de 60 ans. La population plus âgée, qui avait été immunisée lors de la première épidémie, échappa à la seconde.

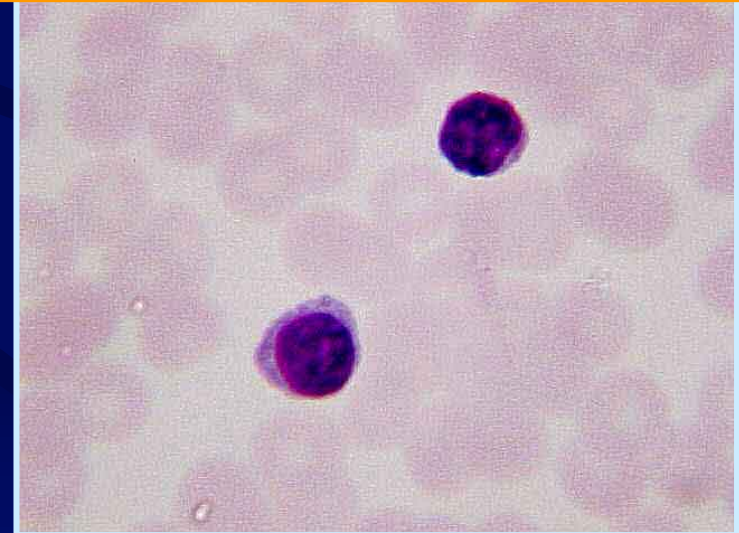
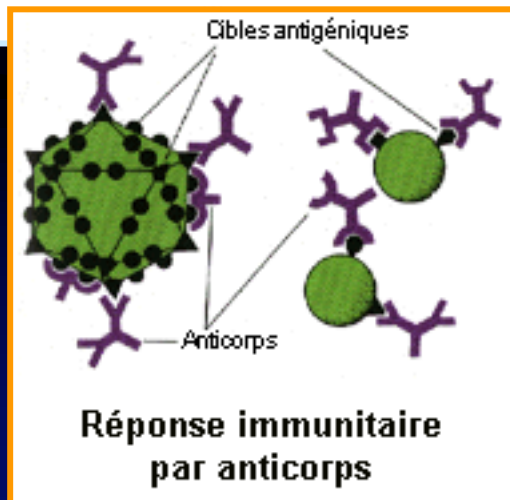
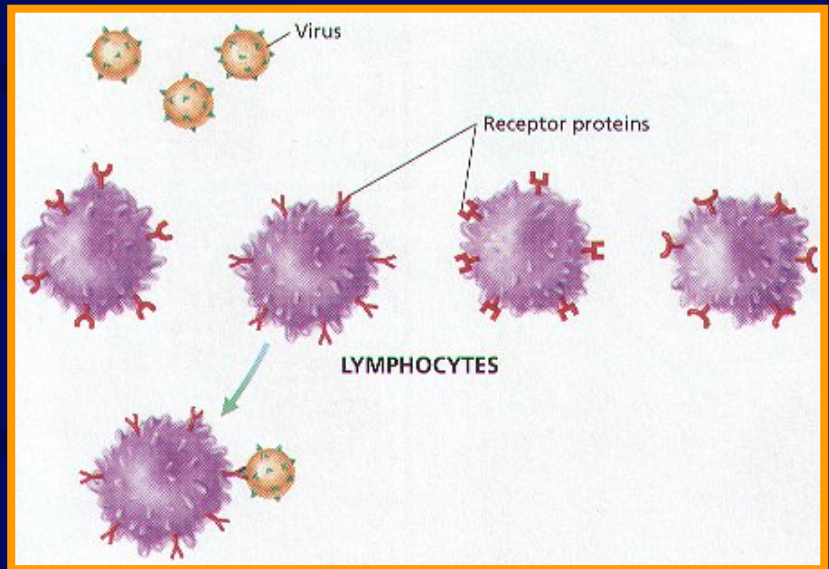
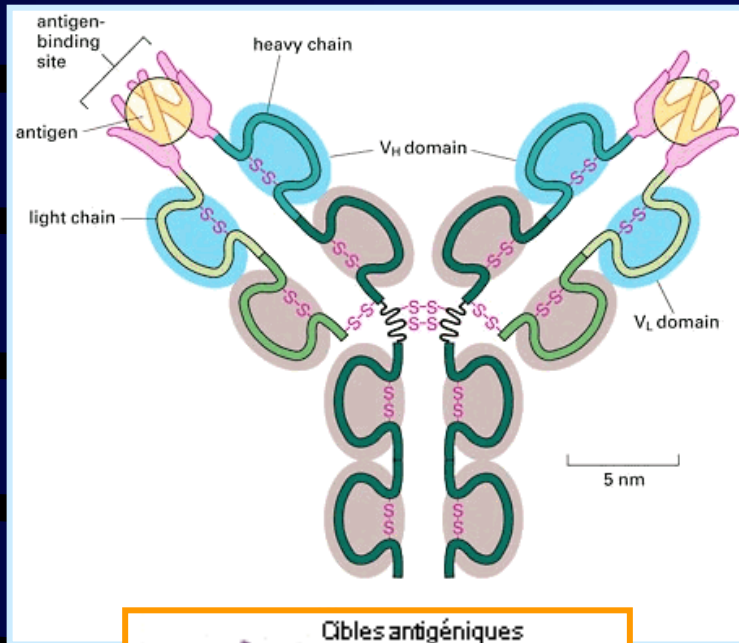
La mémoire immunitaire est la capacité d'un organisme à répondre plus efficacement et plus rapidement lors d'une deuxième rencontre avec un agent pathogène. La réponse de type mémoire est dirigée exclusivement contre l'agent pathogène initial.

Les supports de la mémoire immunitaire sont les **anticorps** et les **lymphocytes**.

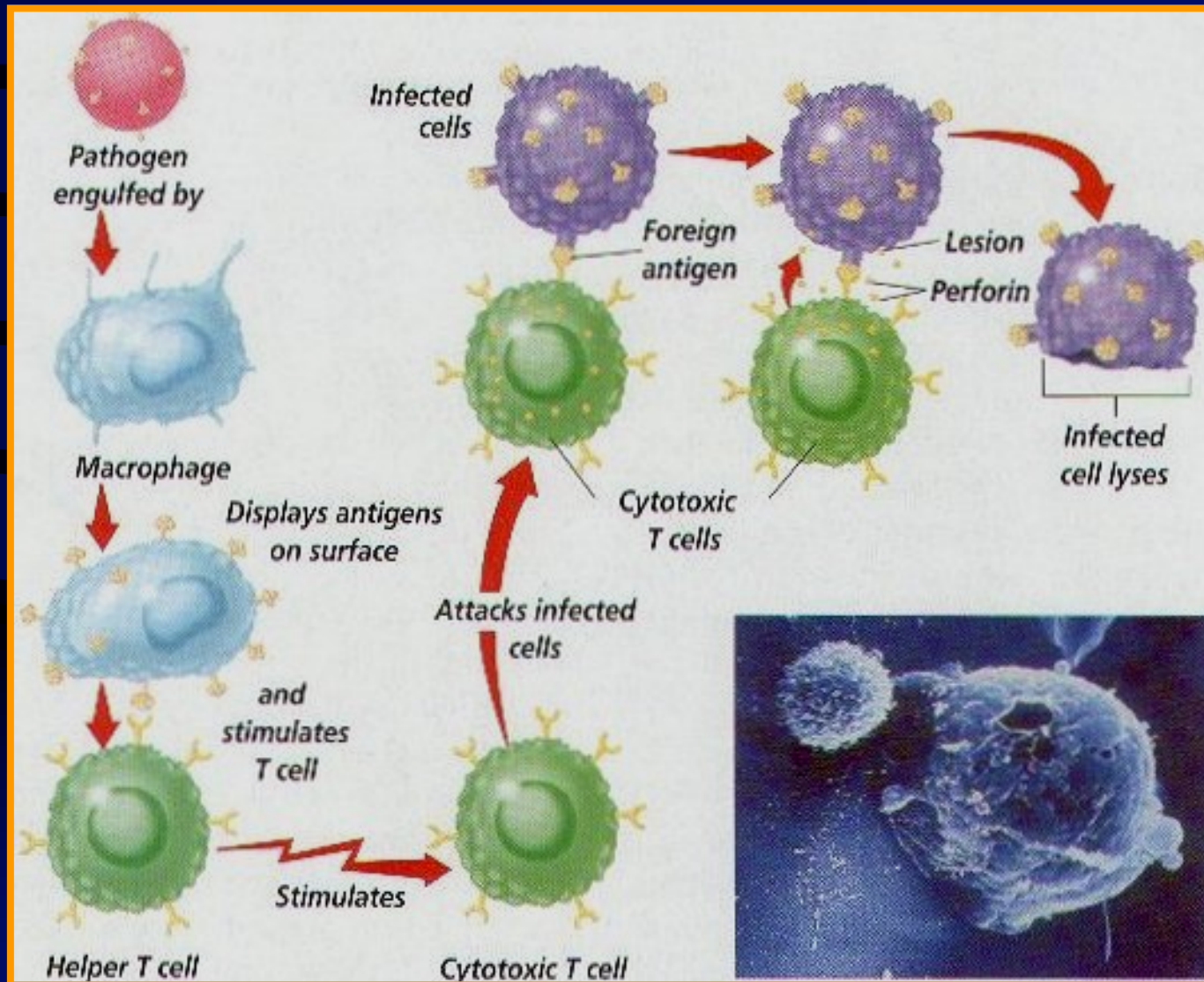


Evolution du taux d'anticorps spécifiques dans le plasma sanguin à la suite de deux contacts successifs avec le même antigène.

LES BASES IMMUNOLOGIQUES DE LA VACCINATION

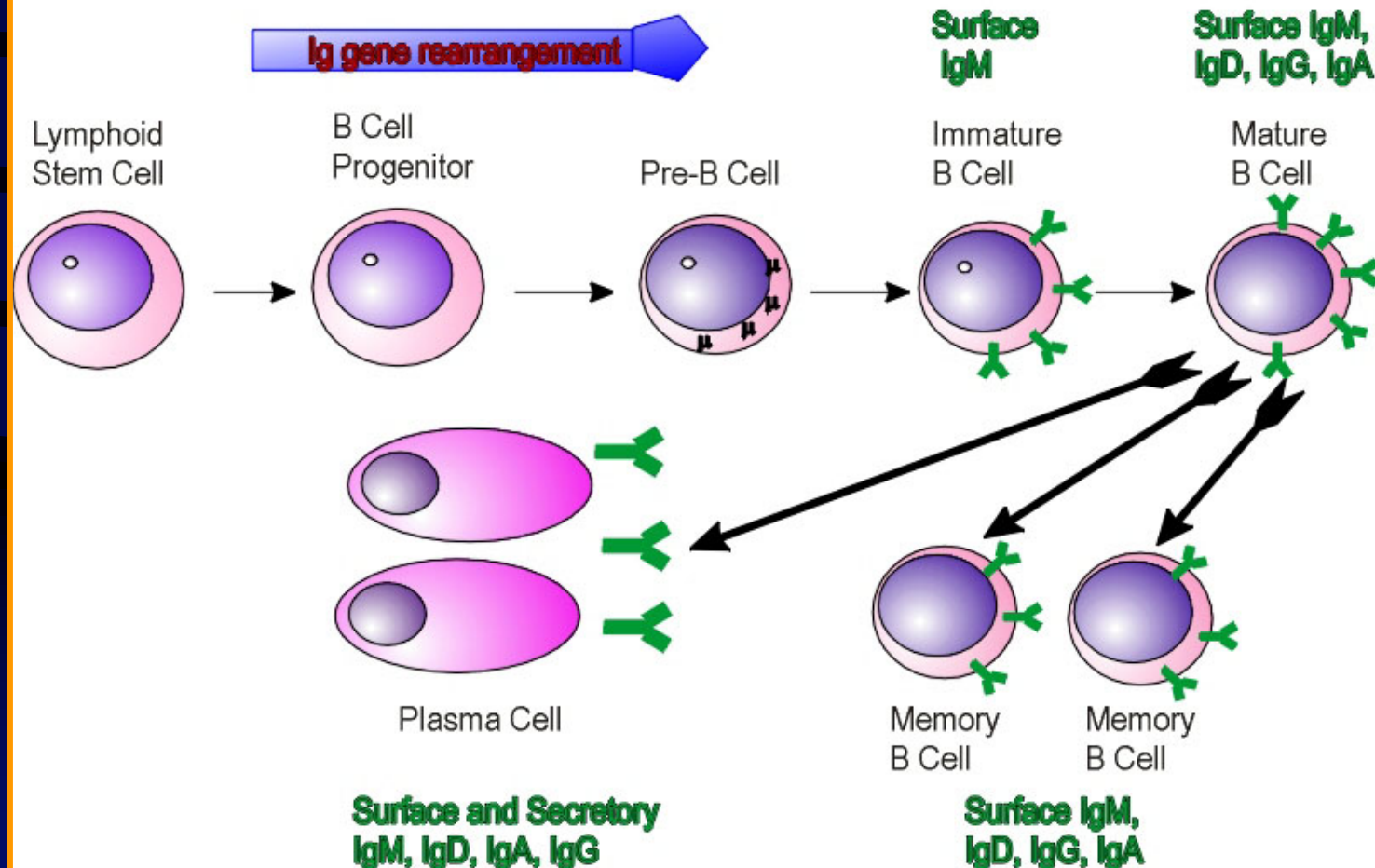


LES BASES IMMUNOLOGIQUES DE LA VACCINATION



LES BASES IMMUNOLOGIQUES DE LA VACCINATION

B Lymphocyte Differentiation



ALBERT CALMETTE ET LE BCG



Avec **Camille Guérin**, **Albert Calmette** étudie le mécanisme de l'infection tuberculeuse chez les bovins.

Ils montrent que l'espèce bovine, soumise à une infection massive, devient résistante aux infections naturelles.

Ils établissent que l'immunité antituberculeuse est liée à la présence, dans l'organisme de quelques bacilles vivant mais peu virulents.

En 1908, ils constatent que des cultures successives de bacilles bovins faites sur milieu bilié perdent progressivement leur virulence, et ils poursuivent sans interruption, par repiquages, ces cultures sur bile.

Après 13 ans de travail inlassable, ils obtiennent un bacille immunogène et parfaitement inoffensif, même à forte dose, qu'ils nomment « **BCG** », **B**acille de **C**almette et **G**uérin.

ALBERT CALMETTE ET LE BCG



En 1921, poussé par le Dr. **Weill-Halle**, **Albert Calmette** applique le BCG pour la première fois à un nourrisson la réussite est complète.

Le 24 juin 1924, **Albert Calmette** présente avec **Guérin**, **Bocquet**, **Nègre** et **Turpin**, devant l'Académie de Médecine, une communication relative aux 317 premiers enfants vaccinés.

A la mort de **Calmette** en 1933, le BCG, reconnu dans le monde entier a déjà sauvé des millions d'enfants.

ANATOXINE

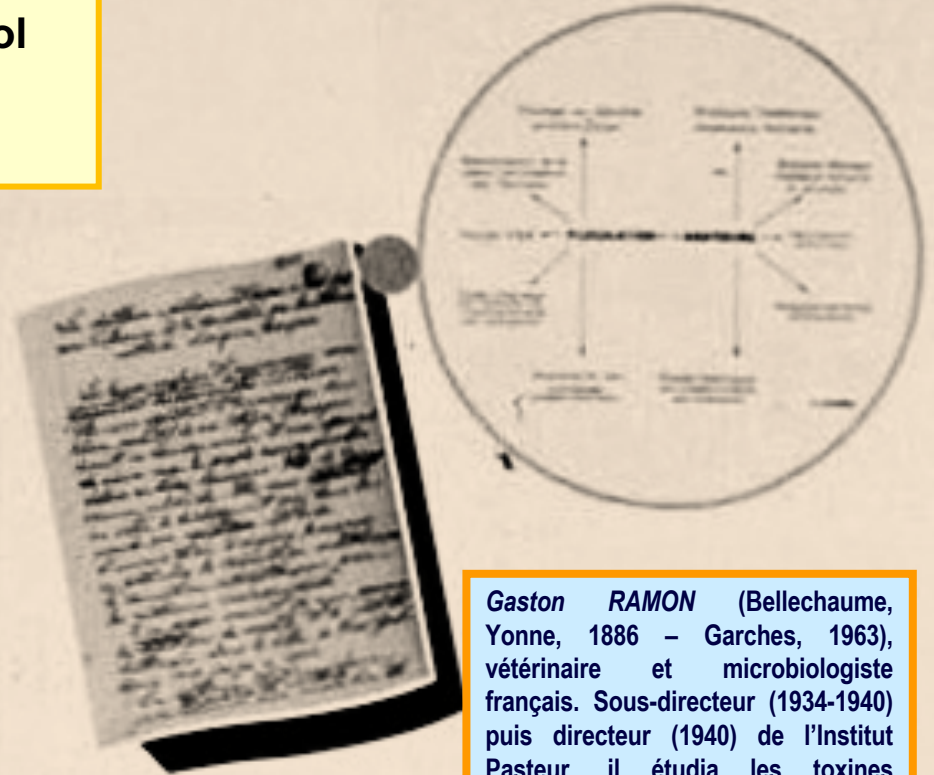
En 1923, **Ramon** constate que l'action combinée de la chaleur et du formol transforme la toxine en un dérivé atoxique.

Il appelle **anatoxine** cette toxine modifiée, aux propriétés caractéristiques

- innocuité totale
- pouvoir flocculant avec les immunsérums
- activité immunogène

Le principe des **anatoxines** est à l'origine des vaccinations antidiphtérique, antitétanique, antistaphylococcique et de bien d'autres.

L'immunité est ainsi obtenue par une substance amicrobienne non toxique capable de déclencher une production d'antitoxine aussi abondante que celle provoquée par la toxine elle-même.



Gaston RAMON (Bellechaume, Yonne, 1886 – Garches, 1963), vétérinaire et microbiologiste français. Sous-directeur (1934-1940) puis directeur (1940) de l'Institut Pasteur, il étudia les toxines diphtériques, tétaniques, etc., et mit au point les vaccins correspondants.

ANATOXINE



Ramon, qui avait pour tâche d'immuniser les chevaux contre la diphtérie et le tétanos et de récolter les sérums, constate la corrélation qui existe entre :

- la réaction inflammatoire au point d'injection de l'antigène
et
- l'augmentation du taux de l'antitoxine dans les sérums des animaux.

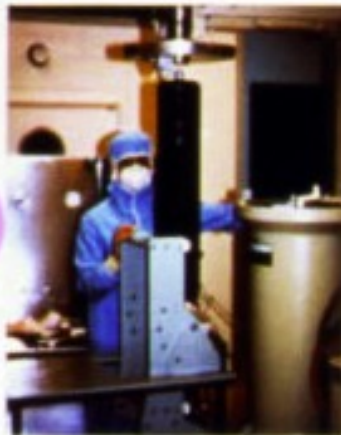
« Cette constatation, dit-il, me conduisit plus tard à l'amélioration de la production des antitoxines par l'emploi de substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité ainsi qu'à la mise au point des procédés d'immunisation active dont celui des vaccinations associées ».

LE VACCIN CONTRE LA GRIPPE

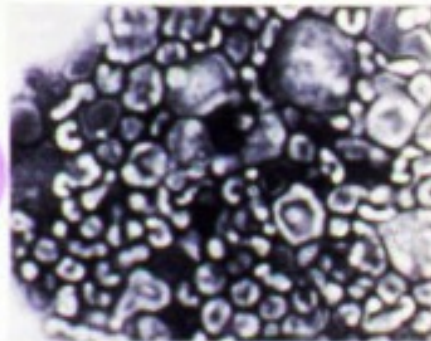
Le virus est
cultivé sur
œuf ...



...
concentré
et purifié ...



... inactivé
et
fractionné



Chaque année, en février :

Les Experts

L'O.M.S.

Le Ministre de la Santé

décident
de la composition du vaccin
de l'hiver suivant,
en fonction
de la situation épidémiologique...

... puis les producteurs le fabriquent

LE VACCIN ANTIGRIPPAL – CHOIX DES SOUCHES



Vaccination

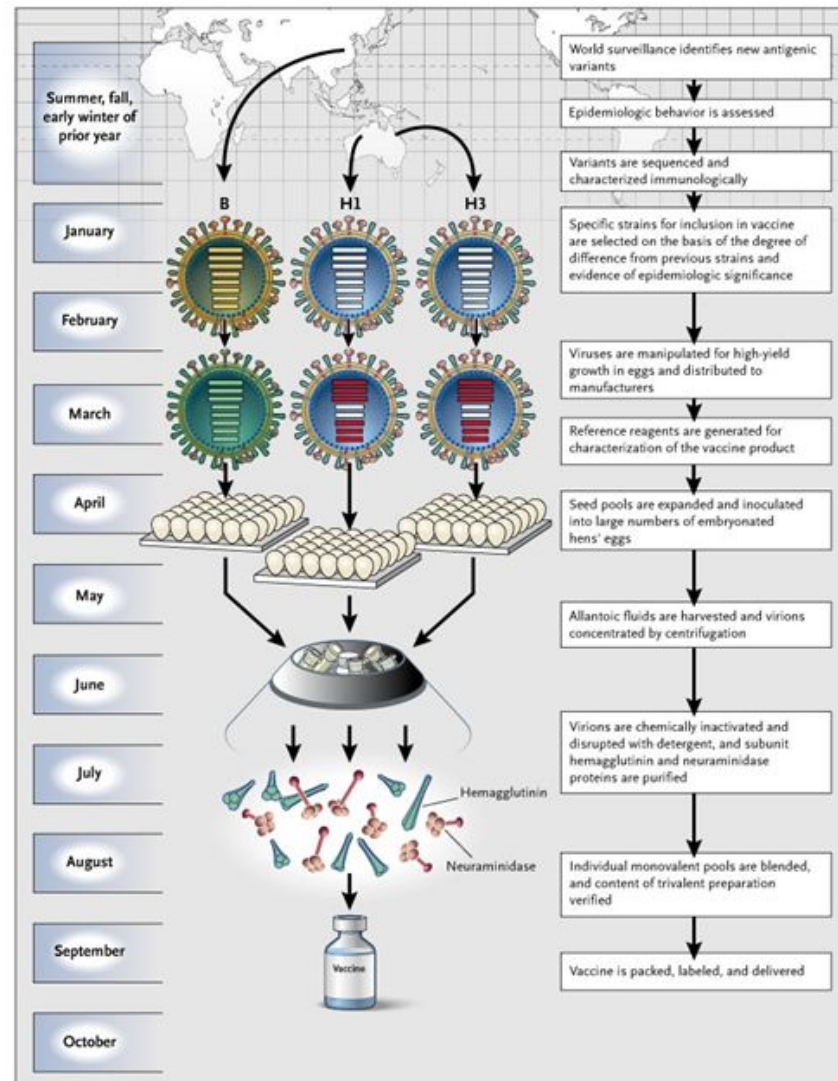
Le vaccin antigrippal est constitué de **fragments** de virus qui ont été cultivés dans des embryons de poulet.



Le vaccin utilisé comprend généralement **trois souches différentes** de virus.

Les souches utilisées pour faire le vaccin sont sélectionnées au début de l'année et le vaccin est administré à l'automne suivant.

20/10/2006



LE VACCIN CONTRE LE VIRUS DE L'HÉPATITE B

Le virus n'a jamais pu être cultivé
Sur des milieux artificiels.

En dehors du chimpanzé (espèce protégée)
Il n'existe pas d'animal sensible au virus.

LE PLASMA

Donc l'homme infecté représente la seule
source possible de virus. Le vaccin est préparé à partir de sujets porteurs sains qui véhiculent l'enveloppe vide de ce virus.

TRAITEMENTS

L'enveloppe doit être séparée de quelques
30 composants protéiques du plasma sanguin (sang dont les globules rouges ont été éliminés) par plusieurs ultracentrifugations.

PURIFICATION

Après purification, on élimine d'éventuels
Agents infectieux contaminants par le formol et une filtration stérilisante.

LE VACCIN CONTRE LE VIRUS DE L'HÉPATITE B

PRODUCTION PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE

L'enveloppe de ce virus peut être produite par le génie génétique. Le chromosome du virus est une molécule d'ADN circulaire qui contient un programme assimilable à 3182 caractères. Toutes les informations génétiques portées par le chromosome peuvent être décodées. C'est ainsi que le gène codant la protéine vaccinnante est connu et peut être introduit dans une cellule qui la fabriquera.

AVANTAGE DU GÉNIE GÉNÉTIQUE

- Purification plus simple.
- Plus grande pureté.
- Remplacement de la source plasmatique du vaccin actuel qui devrait se tarir avec la vaccination.

LES VACCINS VIVANTS ATTENUÉS

EXEMPLES

VACCINS VIRAUX

la Polyomyélite
la Rougeole
les Oreillons
la Fièvre Jaune

VACCINS BACTERIENS

la Tuberculose (B.C.G.)

destinés à prévenir :

LES VACCINS VIVANTS

Les vaccins vivants s'efforcent de reproduire l'immunité acquise à la suite de l'infection naturelle correspondante.

•
Les vaccins vivants dérivent généralement de microbes atténués artificiellement au laboratoire : méthode pasteurienne par excellence.

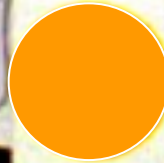
•
Leur inoculation est suivie d'une multiplication dans l'organisme, locale (BCG) ou générale (vaccins viraux), qui entraîne une infection inapparente ou apparente de faible intensité (locale ou générale).

•
Une seule injection (sauf pour le vaccin antipoliomyélique) est en général suffisante pour produire l'immunité fiable et prolongée (comme après la maladie naturelle).

•
Des rappels sont nécessaires (par exemple pour la poliomyélite, la fièvre jaune, ...)

LES VACCINS VIVANTS ATTENUÉS

Albert CALMETTE
et
Camille GUERIN



Le B.C.G.

Photo du bacille

LA TUBERCULOSE DANS LE MONDE ...



Plus de 3 millions
de nouveaux cas
chaque année

SELECTION DE LA SOUCHE ATTENUÉE D'UN MICROBE
EXPERIENCE ORIGINALE DE CALMETTE ET GUERIN

EN FRANCE :
25 000 CAS PAR AN
2 500 MORTS PAR AN



LES VACCINS ACTUELS

LES MICROBES TUÉS OU LEURS PRODUITS

Les microbes possèdent à leur surface ou à l'intérieur de leur cellules des éléments toxiques impliqués dans les maladies qu'ils provoquent.

•

En outre, ils élaborent des substances excrétées dans le milieu environnant, notamment les toxines, qui sont des poisons violents.

•

Les toxines diphtériques et tétaniques, par exemple, sont responsables de la diphtérie et du tétanos.

•

Ces différents composés, associés au microbe ou isolés du microbe peuvent servir à préparer des vaccins. Il faut cependant éliminer les effets toxiques de ces substances.

• VACCINS OBTENUS A PARTIR DE MICROBES TUÉS

Certain vaccins sont préparés à partir de microbes tués par la chaleur ou par d'autres moyens ils perdent ainsi leur nocivité mais peuvent induire une immunité servant de base à la vaccination contre certaines maladies (la coqueluche, la typhoïde)

LES MICROBES TUÉS OU LEUR PRODUITS

VACCINS PREPARES A PARTIR DE PRODUITS MICROBIENS

LE PRINCIPE :



PREPARATION DU VACCIN ANTIDIPHTERIQUE



Ramon est à l'origine de la préparation actuelle de ce vaccin.

Les microbes responsables de la diphtérie sont cultivés en grande quantité dans des fermenteurs. La toxine produite est isolée.



Cette toxine est purifiée et traitée pendant trois semaines par le formol et la chaleur. Cette préparation, l'anatoxine a perdu de son activité toxique, mais reste capable d'induire une immunité contre la diphtérie. Après addition d'adjuvants, contrôles d'efficacité et d'innocuité, le vaccin est mis sur le marché.

COMMENT AUGMENTER L'EFFICACITÉ DES VACCINS

1) AMÉLIORER L'EFFICACITÉ DES VACCINS POUR :

- A) Augmenter la durée de la protection;
- B) Diminuer le nombre d'injections nécessaires à une bonne protection;
- C) Diminuer la quantité d'antigène nécessaire à chaque vaccination, et donc diminuer le prix du vaccin;
- D) Privilégier certains aspects des réponses immunitaires.

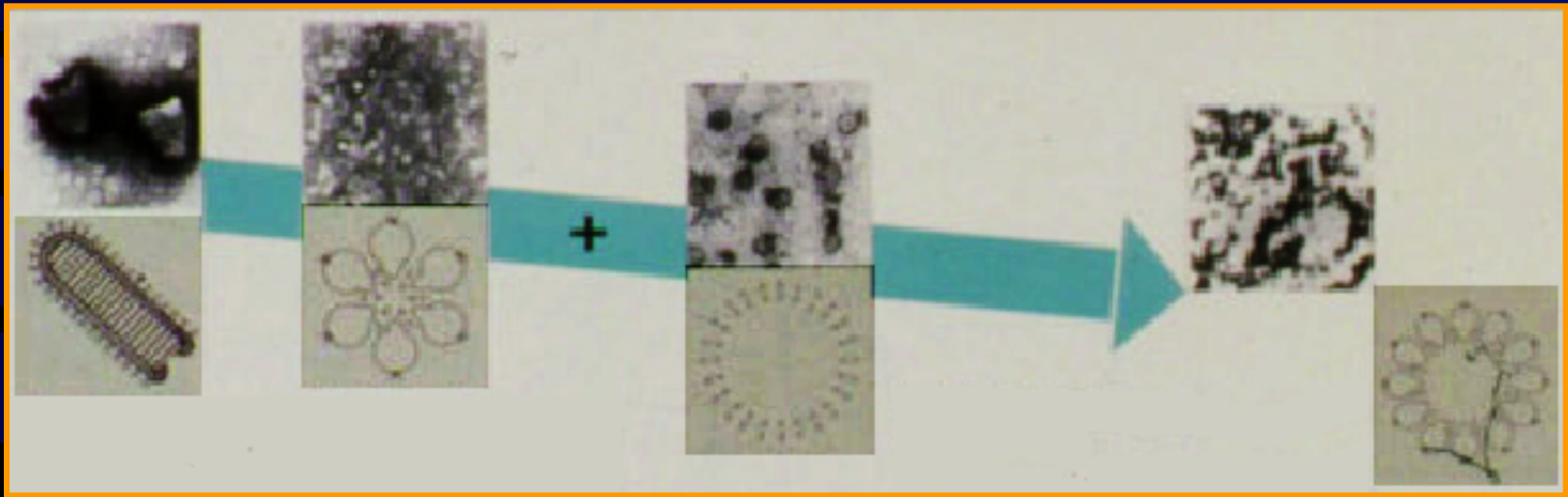
Ceci est particulièrement important pour les nouveaux vaccins basés sur des préparations extrêmement purifiées, et souvent moins aptes à stimuler les réponses immunitaires.

Deux méthodes permettent d'augmenter l'efficacité d'un vaccin :

- a) l'amélioration de la « présentation » de l'antigène vaccinant au système immunitaire,
- b) l'utilisation de substances augmentant les réponses immunitaires : les adjuvants.

COMMENT AUGMENTER L'EFFICACITÉ DES VACCINS

2) MIEUX PRÉSENTER LE VACCIN AU SYSTÈME IMMUNITAIRE : LES IMMUNOSOMES



Le virus rabique contient une glycoprotéine essentielle à l'induction d'une immunité protectrice.

Cette glycoprotéine est purifiée à partir du virus. Seule, elle est peu efficace pour induire une immunité contre la rage.

Elle est alors associée à des micro-gouttelettes lipidiques, les liposomes.

Les immunosomes ainsi formés ont un excellent pouvoir protecteur.

COMMENT AUGMENTER L'EFFICACITÉ DES VACCINS

3) DES MYCOBACTÉRIES AU MURABUTIDE : VERS DE NOUVEAUX ADJUVANTS

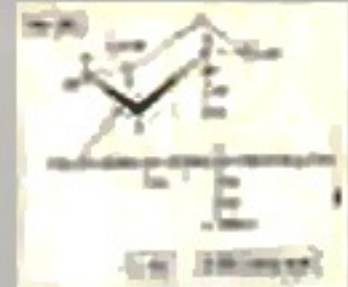
L'efficacité des vaccins est très souvent améliorée par l'utilisation de substances adjuvantes telles que l'hydroxyde d'aluminium et le phosphate de calcium.

De nouveaux adjuvants, obtenus par synthèse chimique, ont été mis au point récemment.

Paroi mycobactérienne



Murabutide MDP (Gln)-OrnBu



Les mycobactéries sont capables de stimuler les réponses immunitaires. Des recherches ont été entreprises depuis de nombreuses années afin d'identifier les éléments responsables de ces effets.

Le MDP est la copie synthétique d'un fragment de cette mycobactérie injecté avec un vaccin. Il augmente les réponses anticorps dirigées contre ce vaccin.

Des molécules proches du MDP ont été synthétisées et testées pour leurs activités sur le système immunitaire. Parmi toutes ces molécules le murabutide a été sélectionné. Des premiers tests ont démontré son activité chez l'homme.

VERS UN NOUVEAU TYPE DE VACCINS BACTÉRIENS VIVANTS

La construction de microbes non pathogènes exprimant des motifs « vaccinaux » d'autres microbes pathogènes (parasites, bactéries, virus) constitue une approche nouvelle en matière de vaccins. Celle-ci combine les avantages respectifs des vaccins vivants classiques et des vaccins synthétiques, et élimine certains de leurs inconvénients.

MISE AU POINT DE VACCINS VIVANTS « RECOMBINANTS »

PRINCIPE

Ce type de vaccins peut être mis au point, par exemple, en construisant des bactéries commensales de l'appareil digestif présentant, à leur surface des motifs (déterminants antigéniques) d'un autre pathogène.

De telles bactéries « recombinantes », inoculées dans l'organisme, entraîneraient alors une réponse protectrice contre le pathogène choisi.

VERS UN NOUVEAU TYPE DE VACCINS BACTÉRIENS VIVANTS

AVANTAGES

Comme les vaccins vivants classiques, les vaccins recombinants, vivants conduiraient à une protection efficace et durable, en un nombre limité d'inoculations. Sur le plan industriel, des quantités importantes pourraient être rapidement disponibles, avec un coût de production peu élevé.

Comme pour les vaccins synthétiques, seul l'élément du pathogène nécessaire à la réponse protectrice serait présent dans le vaccin; ce qui le rendrait sans danger et stable.

De plus, les vaccins bactériens vivants éviteraient certains des inconvénients des deux précédentes méthodes (effets secondaires indésirables, instabilité pour les vaccins vivants, coût élevé de production, efficacité limitée pour les vaccins synthétiques).

ETAPES DE LA MISE AU POINT

Identification du motif du pathogène pouvant entraîner la protection.

Construction, par génie génétique, de protéines hybrides contenant le motif choisi et expression de telles protéines dans des bactéries non pathogènes.

Mises au point des conditions d'administration du vaccin pouvant conduire à une protection durable.

VERS UN NOUVEAU TYPE DE VACCINS BACTÉRIENS VIVANTS



Bactéries *Escherichia coli* exprimant à leur surface un antigène du virus de la poliomyélite.

La photographie montre une coupe de bactéries vues au microscope électronique. Un motif de virus de la poliomyélite a été inséré dans une protéine de membrane de la bactérie (nommée LanB), sa présence est visualisée par les petits points noirs en surface.

A droite est schématisée la protéine recombinante dans laquelle le motif poliomyélite a été intégré.

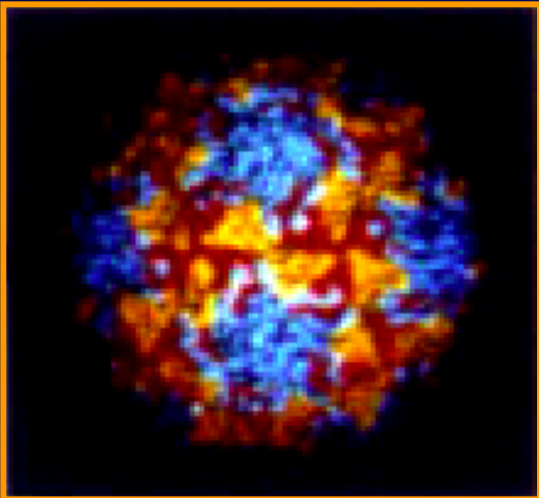
LES VACCINS SYNTHÉTIQUES

Les vaccins naturels comportent de nombreux éléments dont certains sont inutiles, parfois même indésirables.

Dans un vaccin synthétique, au contraire, seuls les éléments responsables de la protection sont reproduits par synthèse chimique.

La mise au point d'un tel vaccin nécessite donc :

- a) d'identifier les éléments du vaccin (épitopes ou déterminants antigéniques) responsables de la protection conférée par le vaccin naturel ;
- b) de reproduire ces éléments par synthèse chimique ;
- c) de mettre au point les conditions d'administration de ces vaccins synthétiques assurant la meilleure efficacité.



1^{er} ETAPE IDENTIFIER

Le virus de la polio est formé d'une enveloppe renfermant le matériel génétique. Cette enveloppe virale est constituée de quatre protéines (VP1 en bleu, VP2 en jaune, VP3 en rouge, VP4 en vert). Chaque protéine est représentée soixante fois.

Les techniques immunologiques modernes permettent d'identifier les zones de ces protéines (épitopes) responsables de l'immunité induite par le virus entier.

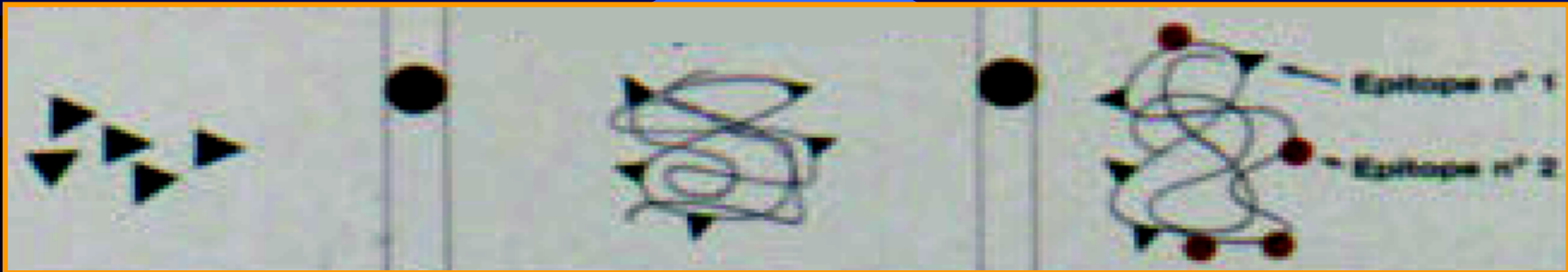
LES VACCINS SYNTHÉTIQUES



2^{ème} ETAPE

REPRODUIRE

L'épitope est identifié. On détermine sa séquence, c'est-à-dire sa composition en acides aminés. On produit une copie de cet épitope par synthèse chimique.



3^{ème} ETAPE

METTRE AU POINT LE VACCIN

Ces molécules artificielles sont souvent peu efficaces si elles sont utilisées seules. Il est souvent nécessaire de fixer ces molécules synthétiques sur de plus grosses molécules, les porteurs. Sur le même porteur, on peut fixer des vaccins synthétiques différents.

MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

À suivre ...

