



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

## Les vaccins de demain

Jean-Daniel Lelièvre<sup>1,2,3,4,\*</sup>

**1** Vaccine Research Institute, CHU Henri Mondor, 51 avenue Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France.

**2** Service d'immunologie clinique et maladies infectieuses, CHU Henri Mondor, APHP, 51 avenue Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France.

**3** IMRB, équipe 16, CHU Henri Mondor, 51 avenue Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, France.

**4** UPEC, 8, rue du Général Sarrail 94010 Créteil Cedex, France.

\*Auteur correspondant : jean-daniel.lelievre@aphp.fr (J-D Lelièvre).

### RÉSUMÉ

La vaccination représente une des avancées majeures dans le domaine de la santé. Les premiers vaccins ont été produits sur un concept assez empirique reposant sur la stratégie des « 3 i » : isolement, inactivation, injection. Plus récemment sont apparus les vaccins protéiques. Cependant l'émergence de nouveaux pathogènes, l'inefficacité des stratégies vaccinales actuelles pour protéger contre certaines infections, la nécessité de pouvoir développer rapidement et à bas coût de revient des vaccins ont conduit à développer de nouveaux types de vaccins. C'est dans ce contexte que se sont développés des vaccins basés sur l'utilisation des séquences codantes d'acides nucléiques des antigènes d'intérêt (vecteurs viraux, vaccins ADN, vaccins ARN) visant à améliorer l'efficacité des vaccins actuellement disponibles et à proposer des plateformes génériques potentiellement utilisables contre un grand nombre de pathogènes différents. Outre l'utilisation de ces nouveaux vaccins, les recherches vaccinales en cours bénéficient d'évolutions technologiques visant à délivrer de manière optimale les vaccins, en ciblant par exemple les cellules dendritiques, et de mieux caractériser les antigènes d'intérêt *via* notamment l'utilisation de la vaccinologie inverse.



© DragonImages/stock.adobe.com

#### MOTS CLÉS

- pathogènes émergents
- vaccin ADN
- vaccin ARN
- vaccinologie inverse
- vecteurs viraux

#### KEY WORDS

- DNA vaccine
- emerging infectious diseases
- reverse vaccinology
- RNA vaccine
- viral vectors

#### ABSTRACT

##### Vaccine of the future

Vaccination represents one of the major advances in the field of health. The first vaccines were produced on a rather empirical concept based on the so-called 3I strategy: isolation, inactivation, injection. More recently, protein vaccines have emerged. However, the emergence of new pathogens, the inefficiency of these vaccine strategies to protect against several infections, the need to be able to develop new vaccines quickly and at low cost have led to the development of new types of vaccines. In this context vaccines based on the use of the nucleic acid coding sequences of the antigens of interest (viral vectors, DNA vaccines, RNA vaccines) have been developed in order to improve the efficiency of the currently available vaccines and to propose generic platforms potentially usable against a large number of different pathogens. In addition to the use of these new vaccines, ongoing vaccine research is benefiting from technological developments aimed at optimally delivering vaccines, targeting, for example, dendritic cells, and better characterizing the antigens of interest through the use of vaccines of reverse vaccinology.

### ► Introduction

## Une avancée majeure mais avec de nombreuses problématiques qui persistent

La vaccination représente une des avancées majeures dans le domaine de la santé. On estime que la mise en place des calendriers vaccinaux a permis dans un pays comme les États-Unis de prévenir plus de 100 millions de décès. À l'échelle planétaire, l'impact de la vaccination est évalué à 2,5 millions de décès évités chaque année. Pour efficace qu'elle soit la vaccination n'a pas résolu toute la problématique des maladies infectieuses.

On peut schématiquement décrire les efforts restant à faire en matière vaccinale, en répartissant les pathologies ciblées de la manière suivante :

- pathologies pour lesquelles un vaccin est disponible et efficace mais pour lesquelles la couverture vaccinale n'est pas optimale. L'exemple type ici est le cas de la rougeole ;
- pathologies pour lesquelles un vaccin est disponible mais pour lesquelles l'efficacité n'est pas optimale. On peut distinguer ici plusieurs cas de figure. Celui des vaccins insuffisamment efficaces en termes de pourcentage de protection. Le vaccin anti typhoïdique qui faisait partie de cette catégorie a vu par exemple son efficacité grandement améliorée récemment [1]. Le deuxième type est celui des vaccins posant des problèmes d'efficacité du fait de l'existence de nombreux variants microbiens. On citera bien évidemment ici le cas du vaccin anti grippal mais également anti-pneumococcique et à une moindre mesure *anti-human papilloma virus* (HPV). Certains vaccins bien évidemment combinent ces deux problématiques, comme celui contre la coqueluche ;
- les pathologies pour lesquelles aucun vaccin n'est disponible ou est peu efficace lorsqu'il existe. La liste est ici très longue incluant la tuberculose, l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et toutes les parasitoses ;
- enfin, sans doute à part car représentant un domaine un peu particulier, les pathologies émergentes ou réémergentes pour lesquelles aucun vaccin n'est disponible à l'exception près de l'infection par le virus Ebola [2].

Pendant très longtemps les stratégies de développement de vaccin se sont basées sur des approches assez empiriques consistant à inactiver ou atténuer les pathogènes ou les protéines responsables de pathologies.

Le développement d'un nouveau vaccin [...] s'étend sur une période de 5 à 18 ans

Pour peu scientifiques qu'elles puissent paraître à l'aune des technologies actuellement disponibles, ces méthodes ont permis le développement de la majorité des vaccins actuellement disponibles sur le marché (**tableau 1**), vaccins dont l'efficacité est pour la plupart d'entre eux très bonne. L'impossibilité de cultiver certains pathogènes (notamment les virus), leur inefficacité, leur dangerosité ou toxicité (ancien vaccin anticoquelucheux cellulaire), la complexité d'avoir des chaînes de production adaptées rapidement efficaces (impliquant l'utilisation de laboratoire BLS3 ou 4 pour certains pathogènes) nécessitent le recours à de nouvelles stratégies vaccinales. Les coûts et durée de développement de nouveaux vaccins sont par ailleurs des freins importants à l'investissement industriel. En effet le développement d'un nouveau vaccin représente un investissement financier compris entre 200 et 500 millions de dollars et s'étend sur une période de 5 à 18 ans [3]. L'évolution dans ce contexte s'est faite à la fois dans le domaine de la caractérisation des antigènes, dans celui de la délivrance de ceux-ci, dans la recherche d'adjuvants plus ciblés quand ceux-ci sont nécessaires pour assurer une bonne immunogénicité du vaccin et de plateformes génériques et/ou de nouveaux modes de production rapide des vaccins.

### ► Vers une meilleure caractérisation des antigènes : le concept de « vaccinologie inverse »

C'est l'incapacité à cultiver certains pathogènes qui a rendu nécessaire des nouvelles techniques de caractérisation des antigènes microbiens d'intérêt. Les techniques de séquençage de l'ADN apparues dans les années 1990 ont permis, à partir des structures fournies par l'analyse des génomes, de découvrir de nouvelles structures antigéniques [4]. Le premier vaccin basé sur ce principe est celui dirigé contre le virus de l'hépatite B (VHB). En effet l'ADN de la protéine de surface du VHB a pu être cloné dans une levure permettant ainsi de produire des VLP (*Virus Like Particles*) contenant ces protéines identiques à celles issues de prélèvements de patients, ces dernières ayant été utilisées comme tel dans un vaccin précédent [5]. Toutefois, le premier vaccin produit *stricto sensu* par une méthodologie de vaccinologie inverse est celui contre le méningocoque B (MenB) [6]. L'idée sous-tendant ce

**Tableau 1. Les différents vaccins disponibles et l'épidémiologie mondiale des pathologies correspondantes.**

Pathogènes/pathologies	Type de vaccin	Efficacité	Incidence estimée	Décès
Anthrax	VVA	93 %		
Choléra	VVA,VI	90 %	1,3 à 4 millions	21 000 à 143 000
Coqueluche	VI	85 - 100 %	145 000	90 000
Dengue	Vaccin recombinant	? <sup>(1)</sup>	390 millions	20 000
Diptérie	Protéine	96 à 98 %	8 800	
Encéphalite à tiques	VI	> 90 %	10 000 à 12 000	
Encéphalite japonaise	VI	95 %	68 000	15 à 20 000
Fièvre typhoïde	Protéine - Protéine conjuguée	90 % <sup>(2)</sup>	17 millions	130 à 160 000
Fièvre jaune	VVA	> 90 %	200 000	30 000
Gastro entérite Rotavirus	VI	85 %		450 000
Grippe	VI,VVA	40 % <sup>(3)</sup>	3 à 5 millions	290 à 650 000
Hépatite A	VI	100 %	1,5 million	
Hépatite B	Protéine VLP	95 %	350 millions <sup>(4)</sup>	600 000
HPV	Protéine VLP	100 % <sup>(5)</sup>	528 000 <sup>(6)</sup>	266 000
Infections invasives à méningocoque	Protéine conjuguée (A, C, W135, Y) VI (B)	90 %	30 000	15 000
Leptospirose	VI	60-100 %	1 à 10/100 000 personnes	
Méningite à Haemophilus B	Protéine conjuguée	100 %	500 000	100 000
Méningites, pneumonies et septicémies à pneumocoque	Protéine conjuguée <sup>(7)</sup>	90 %	14,5 millions <sup>(8)</sup>	826 000 <sup>(8)</sup>
Poliomyélite	VI,VVA	100 %	100	
Rage	VI	88-100 %		59 000
Rougeole	VVA	100 %	173 000	110 000
Rubéole	VVA	100 %	100 000 <sup>(9)</sup>	
Tétanos	Protéine	100 %	1 2476	2 266
Tuberculose	VVA	Faible <sup>(10)</sup>	10,4 millions	1,7 million
Varicelle	VVA	95 %	4,2 millions	4 200
Variole	VVA	100 %	0	0
Zona	VVA	40-65 %	50 % des plus de 85 ans	

1. Vaccin délétère chez le sujet non immun
2. Augmentation de l'efficacité avec le nouveau vaccin conjugué Typbar-TCV<sup>®</sup>
3. Moyenne sur période 2004-2018 ref cdc gov-
4. Prévalence porteurs chroniques
5. Efficacité protection contre souches vaccinales
6. Incidence cancer du col de l'utérus
7. Polyoside conjugué chez l'enfant (Prevenar 13 en France) combinaison Prevenar 13 et Pneumovax (Polyoside non conjugué 23 valences) chez l'adulte

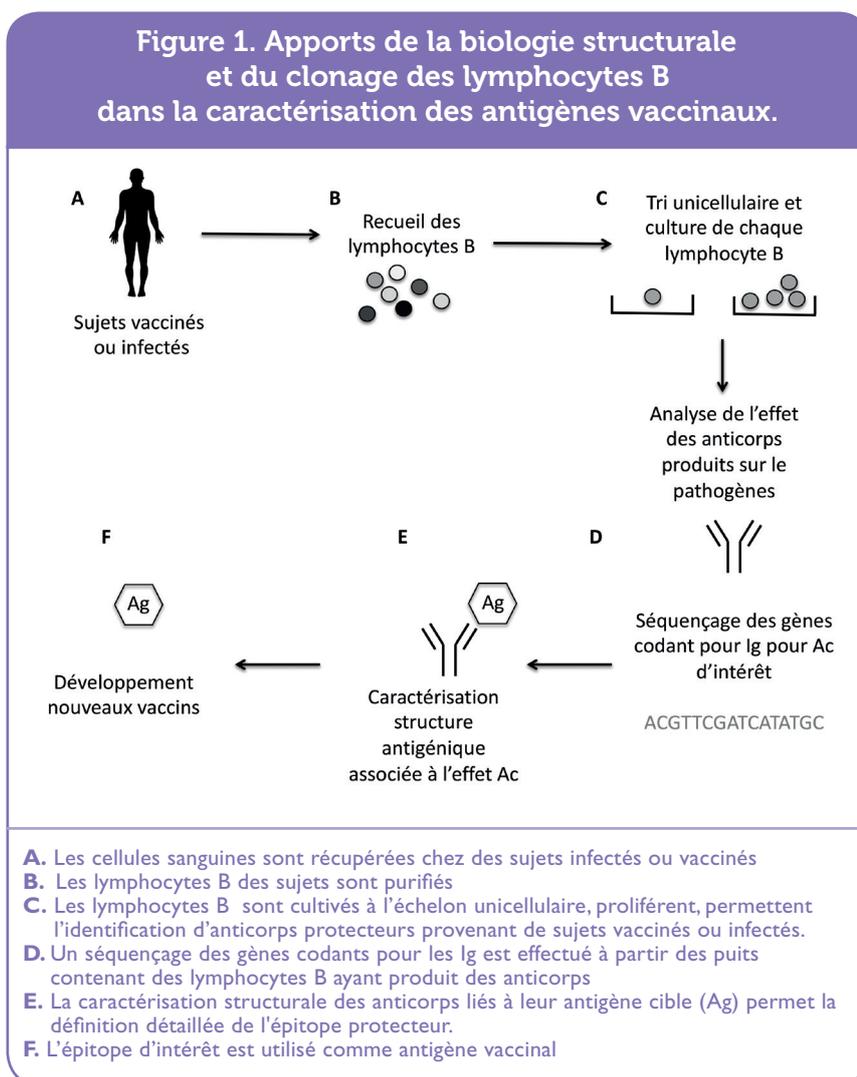
- 8 Chez l'enfant de moins de 5 ans
9. Rubéole congénitale
10. Efficacité démontrée uniquement contre les formes graves de l'enfant

**VI:** Vaccin inactivé  
**VVA:** Vaccin vivant atténué  
**VLP:** Virus like particles (pseudo-particules virales)

D'après [45-47]

concept repose sur le séquençage des acides nucléiques du pathogène dans le but de détecter des structures antigéniques. Contrairement aux autres sérotypes de méningocoques, l'utilisation du polysaccharide de capsule du MenB comme vaccin n'est pas possible du fait d'une homologie de sa structure polysialique avec celle de glycoprotéines humaines telle que la *Neural Cell Adhesion Molecule 1* (NCAM1). Le séquençage du génome de la souche virulente de cette bactérie a ainsi permis d'identifier 570 cadres de lecture ouverte qui ont été clonés dans des *Escherichia Coli*. Cela a permis l'obtention d'un très grand nombre de protéines ayant été utilisées pour immuniser des souris. Les sérums recueillis ont ensuite été testés par des techniques Elisa puis en cytométrie en flux afin de détecter les protéines présentes à la surface d'un ensemble de souches de MenB pendant que l'activité bactéricide de ces sérums sur ces souches était testée en parallèle [7]. Cette technologie a permis d'identifier des protéines d'intérêt qui ont été ensuite couplées à des vésicules de membrane externe (OMV) dont on avait préalablement montré l'intérêt vaccinal mais qui posait le problème d'une grande variabilité entre les différentes souches de MenB.

Au cours de la dernière décennie, l'apparition de nouvelles technologies a permis de renouveler la conception des vaccins conduisant à une approche baptisée « Vaccinologie inverse 2.0 » [8]. La caractérisation des antigènes ne résulte plus ici seulement de l'étude de leur génome mais de celui de la réponse immunitaire. Les avancées technologiques reposent ici sur la capacité à cloner les lymphocytes B et à étudier leur production d'anticorps (figure 1). Cette méthodologie a été utilisée notamment avec un grand succès pour caractériser les anticorps neutralisants large spectre au cours de l'infection par le VIH [9]. Par ailleurs des avancées importantes en biologie structurale, en cartographie expérimentale d'épitopes et en prédiction informatique des épitopes ont permis de mieux définir les déterminants immunogéniques des antigènes et les innovations informatiques ont permis d'intégrer toutes ces données afin d'optimiser les antigènes vaccinaux [10]. Le développement de nouvelles stratégies antigrippales a pu bénéficier de ces technologies. Ainsi, il a pu être mis en évidence dans le sérum de sujets vaccinés contre la grippe, en clonant les lymphocytes B, des anticorps monoclonaux ayant une activité large de



neutralisation hétérosubtypique vis-à-vis des sous-types de virus H1, H2, H5, H6, H8 et H9. Il a pu également être montré que la cible antigénique était une poche hydrophobe conservée dans la tige de l'hémagglutinine donnant ainsi l'impulsion à des stratégies utilisant comme antigène cette seule région conservée [11]. Cette stratégie s'est avérée cependant inefficace ouvrant la question de la vectorisation des antigènes.

## La problématique des antigènes de bactéries commensales devenant pathogènes

La prévalence des bactéries résistantes aux infections est devenue une problématique majeure en infectiologie. L'OMS a publié en 2017 une liste de bactéries pour lesquelles des nouvelles stratégies de prise en

**Tableau 2. Liste OMS des bactéries résistantes nécessitant une recherche urgente R&D pour des nouvelles stratégies de prise en charge.**

Bactéries/Famille	Résistance	Priorité
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapénèmes	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carbapénèmes	1
Enterobacteriaceae	Carbapénèmes	1
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomycine	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	Méthicilline, vancomycine (intermédiaire ou résistant)	2
<i>Helicobacter pylori</i>	Clarithromycine	2
<i>Campylobacter</i> spp	Fluoroquinolone	2
Salmonellae	Fluoroquinolone	2
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Fluoroquinolone, céphalosporine	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pénicilline	3
<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicilline	3
<i>Shigella</i> spp.	Fluoroquinolone	3

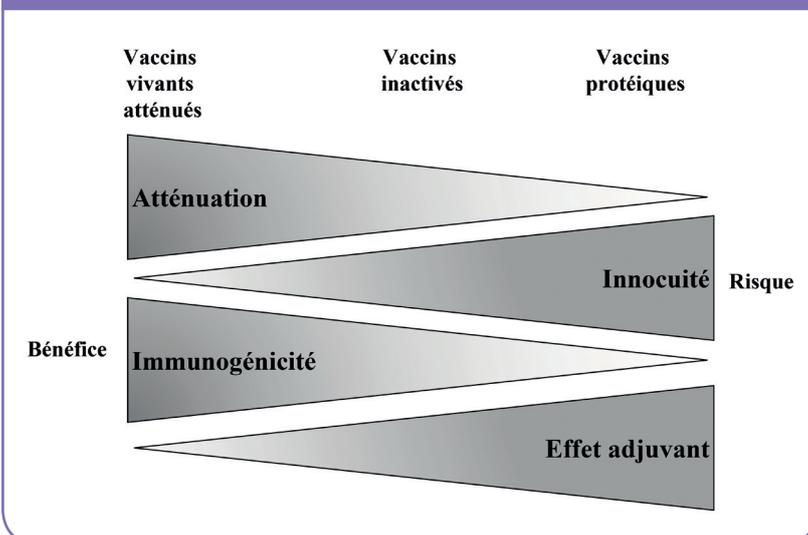
1 : Priorité critique; 2 : Priorité élevée; 3 : Priorité moyenne

Les critères de sélection des agents pathogènes figurant dans la liste étaient les suivants :

- A. Le degré de mortalité des infections qu'ils provoquent;
- B. Si leur traitement nécessite de longs séjours à l'hôpital;
- C. À quelle fréquence ils résistent aux antibiotiques existants lorsque les membres des communautés les attrapent;
- D. Avec quelle facilité ils se transmettent entre animaux, d'animaux à humains, et de personne à personne;
- E. Si elles peuvent être prévenues (par exemple, grâce à une bonne hygiène et à la vaccination);
- F. Combien d'options de traitement restent;
- G. Si de nouveaux antibiotiques pour les traiter font déjà partie des projets de recherche et développement.

D'après [48].

**Figure 2. Relations entre atténuation des pathogènes, tolérance, immunogénicité, nécessité d'adjuvants en fonction des vaccins.**



© J.D. Leclère

charge devaient être rapidement développées (**tableau 2**) Dans ce document l'OMS souligne le rôle important des vaccins pour essayer de gérer la problématique mondiale que représente l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques [12]. Les vaccins peuvent modifier l'évolution de la résistance aux antibiotiques, l'exemple le plus démonstratif étant celui du vaccin anti pneumococcique qui a conduit à une réduction du nombre d'infections résistantes aux antibiotiques de première ligne [13] mais également celui du vaccin contre le MenB qui pourrait s'avérer efficace dans la lutte contre les infections à *Neisseria gonorrhoeae* de plus en plus fréquemment résistantes aux antibiotiques [14]. La vaccination contre des bactéries également présentes au sein du microbiome humain pose cependant le problème de la modification de celui-ci par la vaccination. Plusieurs stratégies ont été envisagées. La première est de se baser sur les différences sérotypiques entre les bactéries pathogènes ou commensales, différences reposant sur leurs polysaccharides de surface, structures ayant montré leur effet immunogène et protecteur dans les modèles animaux [15]. L'antigène O du lipopolysaccharide (LPS) d'*Escherichia Coli* a ainsi été utilisé comme candidat vaccin. S'il existe plus de 180 sérotypes O décrits seuls 10 à 12 d'entre eux sont responsables de la majorité des infections extra intestinales provoquées par cette bactérie [16]. Un vaccin ciblant ces seuls sérotypes n'aurait alors que peu d'impact sur le microbiome intestinal au sein duquel *E coli* représente moins de 1 % de la flore et ces seuls sérotypes un nombre encore plus réduit [17]. La deuxième est de cibler les déterminants de la résistance eux-mêmes, cependant ces cibles sont en nombre limité et ne sont pas toujours immunogéniques.

## La nécessité de recourir à de nouvelles plateformes de production

L'évolution de la recherche vaccinale a conduit, comme on vient de le voir, à définir les meilleures structures antigéniques d'un antigène et ainsi de progresser schématiquement des vaccins vivants atténués vers des vaccins protéiques. Si ces derniers possèdent un profil de sécurité supérieur, leur immunogénicité est cependant diminuée (**figure 2**).

### Difficultés rencontrées

On peut retenir plusieurs difficultés à l'utilisation de protéines purifiées comme vaccins :

- ▶ ces protéines peuvent être rapidement dégradées ;
- ▶ en fonction de leur mode de production elles peuvent ne pas subir les modifications survenant lors de la production des antigènes chez l'homme (glycosylation par exemple) ;
- ▶ elles n'induisent pas de réponse cellulaire, ce qui peut être indispensable contre certains pathogènes ;
- ▶ elles ne ciblent pas directement les cellules présentatrices d'antigène et doivent donc être utilisées en quantité plus importante que leur besoin antigénique réel ;
- ▶ elles n'induisent souvent pas une maturation suffisante des cellules dendritiques (DC) ;
- ▶ leur production en grande quantité peut être longue et fastidieuse. Les points 4 et 5 nécessitent de recourir à des adjuvants, méthodologie traitée dans ce numéro par C. Miot et al. [49].

Ainsi, si d'un côté des progrès ont été faits pour définir au mieux les antigènes d'intérêt, des progrès ont également été apportés pour essayer de vectoriser ou produire de manière optimale ces antigènes. Ce point est particulièrement crucial dans le contexte des pathologies émergentes et/ou réémergentes pour lesquelles il apparaît souhaitable d'avoir des plateformes qui peuvent être facilement utilisées permettant un développement rapide de vaccins permettant d'obtenir des réponses humorale et cellulaire et ne nécessitant pas comme les protéines des doses importantes de vaccins [18].

### Connaître les technologies utilisées

S'agissant de nouvelles plateformes vaccinales il est important de distinguer :

- ▶ les nouveaux systèmes d'expression *in vitro* des antigènes ;
- ▶ des vecteurs d'expression *in vivo*. Beaucoup de nouveaux systèmes d'expression *in vitro* sont des améliorations technologiques de systèmes déjà existants : on citera ainsi les systèmes de levures humanisées à haut rendement, les systèmes d'expression utilisant des baculovirus sur des cellules d'insecte, les OMV [3].

Plusieurs vaccins actuellement disponibles font appel à des technologies de ce type mais sous des formes plus rudimentaires : Gardasil® pour l'expression sur levures, Cervarix® pour celle sur cellules d'insecte, Bexsero® pour les OMV. Les vecteurs d'expression *in vivo* sont basés sur l'utilisation des séquences d'acides nucléiques

correspondant aux structures antigéniques susceptibles de déclencher une réponse immunitaire protectrice. Ils ont l'avantage :

- ▶ d'être spécifiques en n'utilisant comme les protéines que la partie d'intérêt immunogénique des protéines ;
- ▶ de permettre toutes les modifications post traductionnelles des protéines normalement observées *in vivo* ;
- ▶ d'ouvrir à la mise en place de plateforme universelle avec une production standardisée permettant d'exprimer tout type d'antigène et donc de cibler de très nombreux pathogènes.

### ▶ Les vecteurs viraux des vaccins optimaux ?

Les plateformes vaccinales sont représentées ici par des virus (ou des bactéries) utilisés en tant que vecteurs permettant l'intégration de fragments génomiques hétérologues conduisant à l'expression des protéines à l'intérieur des DC. Lors de l'infection les antigènes sont exprimés et l'hôte est capable d'induire des réponses immunitaires contre l'agent pathogène cible. Ces virus sont généralement défectifs et ne font qu'un cycle de répllication cellulaire.

Progresser schématiquement des vaccins vivants atténués vers des vaccins protéiques

### Avantages

Ce type de vaccins comportent plusieurs avantages :

- ▶ ils peuvent transporter plusieurs gènes étrangers ;
- ▶ ils peuvent être modifiés pour ne pas porter de gènes pathogènes ;
- ▶ le taux d'expression des gènes insérés est de bonne qualité ;
- ▶ ces vaccins simulent une infection naturelle et ne nécessitent donc pas d'adjuvants ;
- ▶ ils délivrent l'antigène cible en tant qu'information génétique permettant la génération, le ciblage et le traitement d'antigènes « fidèles », c'est-à-dire comportant un repliement correct des protéines, une éventuelle multimérisation, ou des modifications telles que la glycosylation des protéines avec un ciblage spécifique dans les DC.

### Inconvénients

Ils comportent toutefois un certain nombre d'inconvénients potentiels :

- ▶ un risque d'induction et/ou de préexistence d'une immunité anti vecteur bloquant leur efficacité ;

**Tableau 3. Caractéristiques des principales plateformes vaccinales virales.**

	Types de virus	Capacité Insertion (kb)	Réponses immunitaires prédominantes
Poxvirus	ADN	25	Humorale et cellulaire
Adenovirus	ADN	7	Humorale et T CD8
VSV*	-ssARN	6	Humorale +/- cellulaire
Rougeole	-ssARN	> 6	Humorale et T CD4

\* **VSV**: virus de la stomatite vésiculaire

- ▀ la présentation directe ou croisée des antigènes peut être suboptimale s'agissant de vecteurs non répliquatifs ;
- ▀ pour certains vecteurs la quantité de matériel étranger peut être suboptimale ;
- ▀ il s'agit d'organismes génétiquement modifiés (OGM) impliquant d'exclure d'éventuels contaminants issus de leur modalité de production ;
- ▀ leur fabrication peut être complexe et donc relativement chère. De très nombreux virus différents ont été utilisés [19], cependant, à l'heure actuelle, quatre plateformes vaccinales virales sont plus largement développées : les poxvirus, les adénovirus, le virus de la stomatite vésiculaire (VSV) et le virus de la rougeole (**tableau 3**).

Une capacité d'intégrer de larges fragments d'ADN hétérologue, le contrôle strict de l'expression des gènes recombinants, l'absence de persistance du virus chez l'hôte, le pouvoir immunogène et la facilité de production du vecteur ont largement facilité le développement des vecteurs de type poxvirus. Le virus de la vaccine posant des problèmes évidents de tolérance, des vecteurs viraux non répliquatifs ont été rapidement développés parmi lesquels figurent des virus dérivés de la vaccine comme le NYVAC (issu de la souche Copenhague), mais également des virus provenant de souches aviaires, comme l'ALVAC. Au final le plus étudié a été le MVA (*Modified Ankara Virus*) [20]. Cette souche comporte six délétions totalisant 24,7 Ko ainsi que des mutations moins dramatiques affectant 124 cadres de lecture ouverts résultants de 571 passages en culture sur des cellules CEF. Ce virus atténué a été tout d'abord utilisé comme vaccin contre la variole. À la fin des années 1970, plus de 120 000 personnes avaient reçu ce vaccin sans qu'aucun effet indésirable important n'ait été rapporté [21]. Depuis 2013, un vaccin MVA a par ailleurs été homologué comme vaccin anti variole chez l'adulte dans le cadre du risque

Le virus de la vaccine posant des problèmes évidents de tolérance, des vecteurs viraux non répliquatifs ont été rapidement développés

potentiel de l'utilisation de ce virus à des fins de bio-terrorisme. La capacité d'exprimer efficacement des gènes viraux et sa très bonne tolérance clinique ont conduit à utiliser le MVA comme vecteur viral contre de très nombreux pathogènes (Tuberculose, grippe, HCV, HIV, rage, Ebola, SARS [*Severe Acute Respiratory Syndrome*]...). Les résultats actuellement les plus prometteurs semblent être son utilisation comme vaccin anti Ebola [22] et anti VIH [23]. Il faut noter que si aucun vecteur de type poxvirus n'est disponible en médecine humaine deux vaccins vétérinaires faisant appel à ce type de vecteur sont actuellement utilisés le Raboral® (VACV -rage) et le ProTeq-Flu Te® (canarypox – Grippe équine et tétanos).

Les adénovirus représentent une autre plateforme intéressante. Ces virus sont stables génétiquement, infectent les DC mais également de très nombreuses autres cellules. S'il existe plus de 57 adénovirus humains classifiés en 7 groupes, les efforts de recherche se sont focalisés initialement sur l'adénovirus 5 (Ad5). La délétion des gènes EI étant nécessaire pour rendre ces virus incompetents en termes de réplication, la production de vecteurs viraux est de ce fait un peu plus complexe, requérant l'utilisation de lignées cellulaires complémentaires exprimant ces gènes, tels que HEK-293 ou PERC6 20. Si la grande stabilité thermique de ces vecteurs est clairement en leur avantage, l'existence d'une immunité anti-vecteur induite ou préexistante représente un problème pour leur utilisation à large échelle [24]. Ainsi, on estime que 50 % des adultes ont des taux élevés d'anticorps anti-Ad5.

Cela a naturellement conduit à étudier d'autres sérotypes plus rares tels que Ad11, Ad26, Ad25, Ad49, ou à recourir à des adénovirus simiens ChAd (ChAd3, ChAd63) [25]. Là encore, la liste des vaccins en cours de développement faisant appel à ce type de vecteurs est très longue.

Les deux autres plateformes actuellement privilégiées par les chercheurs font appel à des virus ARN (**tableau 3**) : un avantage évident est d'écartier ainsi tout risque potentiel de recombinaison ou de réassortiment génétique susceptibles de survenir avec des vaccins ADN. Cependant, s'agissant d'ARN, les modifications génétiques à mettre en place sont beaucoup plus complexes. Sa propension à être facilement cultivable sur lignées cellulaires, sa capacité à induire de fortes réponses immunitaires cellulaires et humorales, sa faible séroprévalence chez l'Homme font du virus de la stomatite vésiculaire (VSV) un très bon candidat comme vecteur viral. Si l'Homme n'est pas un hôte naturel de ce virus, des contaminations accidentelles peuvent survenir conduisant à des manifestations le plus



# Dossier scientifique

## Les enjeux des vaccinations

souvent bénignes mais avec toutefois un risque potentiel de complications neurologiques. La neuropathogénicité de ce virus réside essentiellement dans ces protéines d'enveloppe. Dès lors deux types de vecteurs sont utilisés : soit des virus atténués (cf. poxvirus), soit des virus au sein desquels la séquence codante des protéines d'enveloppe du VSG (G protéine) a été remplacée par celle du gène d'intérêt [26]. C'est cette dernière stratégie qui a été utilisée pour mettre au point le vaccin anti-Ebola rVSV-ZEBOV [2]. Le principal inconvénient de ce vecteur est sa faible stabilité à la chaleur. Les différentes souches atténuées du virus de la rougeole disponibles en vaccinologie humaine ont été utilisées comme plateforme vaccinale. Le vecteur vaccinal rougeole a l'avantage d'induire de fortes réponses immunitaires, d'avoir un très bon profil de tolérance clinique et d'induire une réponse antirougeole sans être gêné par une immunité pré existante (**tableau 3**). La limitation potentielle à son utilisation très large est un processus de réalisation du vecteur final complexe nécessitant le recours à des transfections concomitantes de plusieurs plasmides [27]. De nombreuses autres plateformes virales sont développées. Certaines d'entre elles peuvent aboutir à la mise au point de vaccins induisant des réponses immunitaires inattendues. Ainsi le vecteur RhCMV développé par l'équipe de Louis Picker est susceptible d'induire chez les primates non humains des réponses lymphocytaires T CD8+ restreintes par les CMH I E et par les CMH II contre un vaste panel d'épitopes non canoniques, rendant son utilisation très pertinente dans des infections comme le VIH ou la tuberculose [28].

### ► Les vaccins ADN et ARN, l'avantage de la simplicité

Tout comme les vecteurs viraux, les vaccins ADN et ARN vont permettre la production d'antigènes à l'intérieur des cellules et donc fournir des protéines ayant toutes les modifications post-transcriptionnelles requises. Par ailleurs, s'agissant aussi de plateforme générique, les vaccins peuvent être produits à l'aide des mêmes composants de base. La fabrication de plusieurs vaccins peut avoir lieu dans une même structure réduisant de manière drastique à la fois les coûts et le temps de production. Leur fabrication reposant sur des procédés de nature chimique et pas biologique, comme les vecteurs décrits précédemment décrits, leur production à large échelle s'en trouve grandement facilitée.

La mise au point des premiers vaccins ADN remonte au début des années 1990 [29]. Si des évolutions technologiques sont intervenues au cours des années, le principe de production de ce type de vaccin reste le même. Ces vaccins sont fabriqués à partir d'un plasmide bactérien au sein duquel est insérée une cassette d'expression eucaryote – comportant un promoteur CMV et un signal de polyadénylation en 3' – codant pour l'antigène vaccinal. Le plasmide se réplique dans des *Escherichia Coli* et contient donc les éléments favorisant sa production dans cette bactérie. L'insertion de gène de sélection – résistance à la kanamycine – a été abandonnée dans les nouvelles générations de vaccin dans des soucis de sécurité d'emploi. Les vaccins ADN ont l'avantage d'être assez simples à produire, d'induire une réponse humorale et cellulaire, et d'être très stables. Ils sont malheureusement assez peu immunogéniques nécessitant d'être employés souvent dans des stratégies dites de prime-boost, c'est-à-dire en association avec un autre type de vaccin, habituellement un vecteur viral, codant pour le même antigène. Par ailleurs, si le risque d'intégration de l'ADN dans la cellule hôte est faible, celui-ci peut être favorisé par l'utilisation de système de délivrance du vaccin, comme l'électroporation, le recours à ce type de système étant parfois utilisé pour augmenter leur immunogénicité [30]. Ces vaccins, contrairement aux vecteurs viraux ou aux vaccins ARN, mettent assez peu en action le système de sensing de la cellule. Dès lors, différentes technologies ont été mises au point pour renforcer leur pouvoir adjuvant en intégrant par exemple des gènes d'expression des ligands de PPR ou de cytokines comme l'IL12 [31] (**tableau 4**). Les vaccins ARN ont l'avantage d'un profil de sécurité optimal et d'être par essence particulièrement inducteurs de signaux de danger au sein de la cellule hôte.

Tableau 4. Synthèse des principales caractéristiques des vaccins reposant sur l'utilisation d'acides nucléiques.

	Vecteurs viraux	Vaccins ADN	Vaccins ARN
Polyvalence de la plateforme	+	+	+
Induction réponses humorale et cellulaire	+	+	+
Induction réponse immunitaire puissante	++	+/-	+/-
Production de vaccins entièrement synthétiques possible	-	+	+
Délivrance sous forme de vaccin minimal	-	+/-	+
Facilité d'administration	+	+/-	-
Possibilité de répéter les vaccinations	+/-	+	+
Sécurité des vaccins	+/-	+	++
Stabilité des vaccins	+/-	++	++
Immunogénicité démontrée dans des études cliniques	+	+/-	+/-

D'après [44].

**Tableau 5. Vaccins actuellement développés contre les pathologies infectieuses émergentes.**

Pathogènes	Vaccin classique	Vecteurs viraux	ADN	ARN
Fièvre hémorragique Crimée, Congo	VI (C)	Non	Non	Non
Ebola	Non	VSV (Cre) - ChAd3 (C) - Ad26-MVA(C) ChAd3/VSV (C) - MVA/ChAd3 (C) Ad26/ChAd3 (C) Ad5 (C)	(C) x2 (C Ebola + marburg)	Non
Fièvre de Lassa	Non	Non	Non	Non
MERS - SARS <sup>(1)</sup>	Non	MVA (A) ChAd (R)	(C)	Non
Nipah <sup>(2)</sup>	Non	Non	Non	Non
Fièvre de la Vallée du Rift <sup>(3)</sup>	VVA (CRe) VI (C) VI (R)	Non	Non	Non
Zika	VVA (R) VI: (A) x2 (C) x2 (R) x2	Rougeole (C)	(A) x2 (R)	(A)

Phase de l'essai: Phase 1 Phase 2 Phase 3  
 Statut de l'essai: A: active non recruiting, R: recruiting C: completed, Cre: completed + results  
 1. VV pour MERS - ADN pour SARS  
 2. Pas de vaccin testé chez l'homme (vaccin protéique chez l'animal Equivac HeV<sup>®</sup>) nombreux vecteurs testés chez l'animal  
 3. Nombreux vaccins testés en médecine vétérinaire

**VVA**: Vaccin vivant atténué  
**VI**: Vaccin inactivé  
**VSV**: Vecteur viral dérivé du virus de la stomatite vésiculaire  
**MVA**: Vecteur viral provenant d'un poxvirus Modified Vaccine Ankara  
**ChAd**: Vecteur viral dérivé d'un adénovirus simien

En effet, au cours de son auto-amplification intra-cellulaire, l'ARNm imitera une infection virale et potentialisera ainsi la réponse immunitaire contre l'antigène viral exprimé [32]. Il existe deux types de vaccin ARN en cours de développement:

- des petites molécules d'ARNm non amplificatrices qui codent pour l'antigène d'intérêt;
- de plus grandes molécules d'ARNm auto-amplificatrices qui codent pour un réplicon viral d'un alphavirus en plus de l'antigène d'intérêt. Les avantages de ces vaccins sont nombreux, notamment en ce qui concerne leur simplicité, leur stabilité et, comme nous venons de le voir, leur effet de sensing de la cellule hôte. Ces vaccins restent pour l'instant assez peu étudiés chez l'Homme, les seuls résultats publiés, au final décevants, l'ont été dans le domaine de l'infection VIH. L'impossibilité d'envisager leur production à grande échelle a été considérée initialement comme un obstacle insurmontable à leur commercialisation. Si cette perspective a changé, la facilité et l'évolutivité de leur production étant maintenant considérées comme leurs grands atouts, il reste toutefois à améliorer les systèmes de purification et de stabilisation en étant particulièrement attentif aux variables temps et coûts, éléments essentiels pour la mise au point d'un produit GMP. Finalement, leur principal inconvénient reste la sensibilité de ces vaccins aux RNAses, impliquant leur nécessaire vectorisation pour pénétrer dans la cellule.

Les principales caractéristiques des vaccins à base d'acides nucléiques (vecteurs viraux, vaccins ADN ou ARN) sont synthétisées dans le **tableau 4**. Il est difficile de dresser un tableau exhaustif de l'ensemble des pathologies pour lesquels ce type de vaccin est développé, on retrouvera dans le **tableau 5** une vision actuelle de leur développement clinique dans le contexte des pathologies infectieuses émergentes ou réémergentes considérées comme prioritaire par l'OMS.

## ► La vectorisation une étape nécessaire pour certains vaccins

Comme nous venons de le voir, hormis les vecteurs viraux, les autres vaccins basés sur des acides nucléiques posent des problèmes d'adressage et/ou de protection avant d'atteindre leurs cellules cibles que sont les DC. Cette question existe d'ailleurs également pour les vaccins protéiques. C'est dans ce contexte qu'ont été développées les nanoparticules (NP)[33]. Celles-ci ont en fait plusieurs effets: elles protègent les vaccins contre une éventuelle dégradation (cf. vaccin ARN), augmentent leur stabilité, peuvent avoir des effets adjuvants et en adressant le vaccin à la DC permettent de diminuer la quantité de la dose de vaccin utilisé.

Différents types de NP ont été développés.

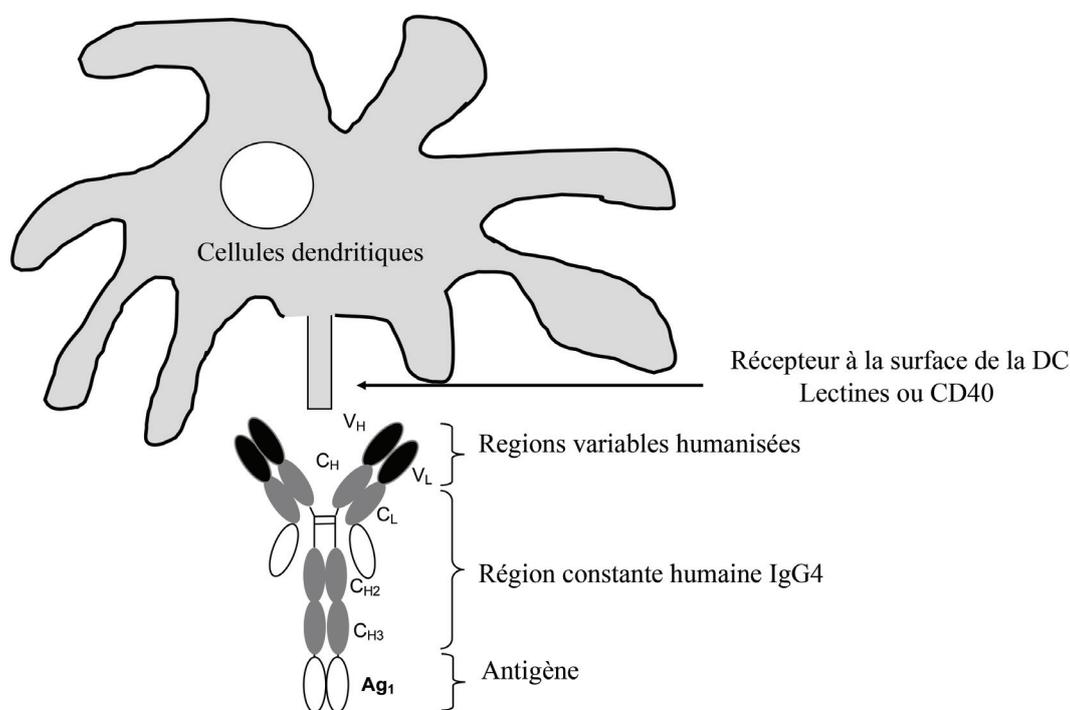
On retrouve ainsi :

- ▶ des NP inorganiques, comme l'or ou la silice ;
- ▶ des NP polymériques, comme le chitosan, les poly(lactide acid) (PLA), les poly(lactide-co-glycolide acid) (PLGA) ;
- ▶ les liposomes composés de phospholipides ;
- ▶ les *vesicle like particule* (VLP) qui sont des composés viraux qui ont des capacités d'auto-assemblage formant un complexe monomérique ayant des capacités importantes de présentation des épitopes antigéniques ;
- ▶ les dendrimères qui sont des nanostructures hyperbranchées faites d'amides et d'amines. La taille, la forme et la composition chimique de ces NP sont déterminantes dans leur effet et le type de NP utilisée va s'avérer différent en fonction du type de vaccin utilisé. Ces NP représentent une innovation clef et indispensable pour des vaccins comme les vaccins ARN. D'autres moyens ont été utilisés pour adresser des antigènes aux DC.

À la fin des années 1980, des chercheurs ont utilisé des lipopeptides afin d'adresser des peptides aux DC et de

les rendre ainsi immunogéniques [33]. Notre équipe développe en collaboration avec les chercheurs du *Baylor Institute* de Dallas une méthode d'adressage plus spécifique des DC [34]. Cette stratégie est basée sur l'utilisation d'anticorps dirigés contre des récepteurs présents à la surface des cellules dendritiques et sur lesquels sont fixés, au niveau de leur partie constante, les antigènes d'intérêt (**figure 3**). Les récepteurs ciblés peuvent être des protéines assez spécifiques des DC comme des lectines Lox-I, dendritic cell immunoreceptor (DCIR) ou la Langerine, ainsi que la molécule CD40. L'anticorps permet d'adresser spécifiquement l'antigène à la DC et a un effet adjuvant du fait d'un possible effet de signalisation agoniste *via* le récepteur. Par ailleurs le ciblage de telle ou telle molécule permettrait d'atteindre différents types de DC et d'induire des réponses immunitaires différentes, cellulaire ou humorale [35]. Ce type de vaccin est actuellement développé contre plusieurs agents infectieux et des résultats intéressants ont été obtenus chez le primate non humain avec un vaccin dirigé contre les protéines d'enveloppe du VIH [36].

**Figure 3 : Nouveaux vaccins ciblant les cellules dendritiques.**



Le vaccin est dans ce contexte un anticorps dirigé contre une protéine présente à la surface de la cellule dendritique (lectine ou CD40 par exemple) sur lequel sont fixés au niveau des régions constantes des épitopes d'intérêt. L'anticorps permet de cibler la cellule dendritique voire d'avoir un effet « adjuvant » *via* la transmission d'un signal à travers le récepteur ciblé. La région constante provient d'une IgG4 afin d'éviter la transmission d'un signal non désiré *via* le récepteur du fragment Fc des immunoglobulines.

© J.D. Leitevre

## ► Les nouvelles méthodes de délivrance des vaccins

Beaucoup de nouvelles technologies de délivrance des vaccins sont développées. Les premières reposent sur des systèmes sans aiguille [37]. Les objectifs de ces nouveaux systèmes sont d'augmenter la couverture vaccinale en diminuant les contraintes et craintes liées à l'utilisation d'aiguilles tout en augmentant l'immunogénicité des vaccins. Certains dispositifs sont utilisables avec les formats de vaccin existants (flacons ou ampoules), d'autres font partie intégrante du vaccin lui-même (vaccins à délivrance muqueuse). Pour les vaccins parentéraux, les systèmes utilisés génèrent un flux de liquide sous pression, qui pénètre à travers la peau introduisant le vaccin dans les tissus en intradermique, sous-cutané ou intra-musculaire. La voie intradermique (ID) semble d'ailleurs être la voie optimale de délivrance des vaccins. C'est en effet dans le derme que sont présentes la majorité des DC [35]. Cette voie d'administration permet par ailleurs de limiter la quantité d'antigène nécessaire pour obtenir une réponse immunitaire similaire à la voie IM, ce qui a pu être constaté dans de nombreuses études menées notamment chez l'enfant [38]. La finesse de la peau peut rendre compliquée l'utilisation de seringues et, dès lors, à côté des systèmes sans aiguille, d'autres dispositifs vaccinaux sont en cours de développement pour permettre de délivrer de manière adéquate le vaccin en ID [39]. Une recherche importante se développe également autour des vaccins muqueux. Les deux voies les plus utilisées étant la voie orale permettant de déclencher une réponse digestive et la voie nasale induisant une réponse au niveau des voies aériennes et du tractus digestif.

## ► Vers la vaccination du futur

De nombreuses technologies se mettent en place pour améliorer les vaccins existants ou découvrir de nouveaux vaccins. L'objectif est de mettre au point des plateformes vaccinales génériques, immunogéniques, permettant d'obtenir rapidement des vaccins et ce à bas coût. L'efficacité de la vaccination ne repose toutefois pas sur les seuls vaccins mais également sur les conditions socio-économiques nécessaires à sa mise en place. À côté du développement de nouveaux vaccins de nombreux

champs de recherche sont en cours pour mieux comprendre les mécanismes susceptibles d'influencer la réponse vaccinale, par exemple le microbiome [40] mais également leurs possibles effets secondaires qu'ils soient non spécifiques ou liés à la spécificité de la réponse immunitaire induite, comme c'est le cas pour les flavivirus [41]. Il reste également à intensifier les recherches sur l'immunité de groupe afin d'estimer son impact sur les calendriers vaccinaux afin de voir s'il convient de cibler les classes d'âge chez lesquelles la réponse immunitaire est la plus optimale [42]. L'ensemble de ces recherches combinées avec la mise au point de nouveaux vaccins plus efficaces, adaptés à chaque classe d'individu, dont on comprendra les mécanismes d'efficacité et de tolérance permettant de restaurer la confiance de la population dans la vaccination, outil indispensable pour lutter contre les agents infectieux actuels mais également contre les futures épidémies avec de nouveaux pathogènes [43]. ■■

De nombreuses technologies se mettent en place pour améliorer les vaccins existants ou en découvrir de nouveaux

Liens d'intérêt: le Pr Lelièvre a reçu des honoraires du laboratoire Gilead pour des activités de conseil et d'enseignement. Il a été co-investigateur coordonnateur d'un essai de vaccination anti Ebola faisant appel à des vaccins développés par le laboratoire Janssen dans le cadre du projet européen H2020 EBOVAC2.

### Points à retenir

- Les nouvelles approches de caractérisation des antigènes vaccinaux d'intérêt reposent sur le clonage des lymphocytes B de sujets infectés, selon une technologie baptisée vaccinologie inverse.
- Le développement technologique se centre sur le développement de plateforme vaccinale basée sur l'utilisation de vecteurs viraux, d'ADN ou d'ARN incluant des séquences d'acides nucléiques codant pour les antigènes d'intérêt.
- Plusieurs techniques sont développées pour vectoriser les vaccins ADN, ARN ou protéiques afin de les stabiliser et de les adresser spécifiquement aux cellules dendritiques.
- Un des éléments déterminants du choix des futurs vaccins, outre évidemment leur efficacité, sera leur capacité à être produits rapidement et à bas coût.

## Références

- [1] World Health O. Typhoid vaccines: WHO position paper, March 2018 - Recommendations. *Vaccine*. 2019;37(2):214-6.
- [2] Henao-Restrepo AM, Camacho A, et al. Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial (Ebola ça suffit!). *Lancet*. 2017;389(10068):505-18.
- [3] Kis Z, Shattock R, Shah N, et al. Emerging Technologies for Low-Cost, Rapid Vaccine Manufacture. *Biotechnol J*. 2019;14(1):e1800376.
- [4] Rappuoli R. Reverse vaccinology. *Curr Opin Microbiol*. 2000;3(5):445-50.
- [5] Buynak EB, Roehm RR, Tytell AA, et al. Development and chimpanzee testing of a vaccine against human hepatitis B. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1976;151(4):694-700.
- [6] Serruto D, Bottomley MJ, Ram S, et al. The new multicomponent vaccine against meningococcal serogroup B, 4CMenB: immunological, functional and structural characterization of the antigens. *Vaccine*. 2012;30 Suppl 2:B87-97.
- [7] Pizza M, Scarlato V, Maignani V, et al. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. *Science*. 2000;287(5459):1816-20.
- [8] Rappuoli R, Bottomley MJ, D'Oro U, et al. Reverse vaccinology 2.0: Human immunology instructs vaccine antigen design. *J Exp Med*. 2016;213(4):469-81.
- [9] Scheid JF, Mouquet H, Feldhahn N, et al. A method for identification of HIV gp140 binding memory B cells in human blood. *J Immunol Methods*. 2009;343(2):65-7.
- [10] Liljeroos L, Malito E, Ferlenghi I, et al. Structural and Computational Biology in the Design of Immunogenic Vaccine Antigens. *J Immunol Res*. 2015;2015:156241.
- [11] Schneemann A, Speir JA, Tan GS, et al. A virus-like particle that elicits cross-reactive antibodies to the conserved stem of influenza virus hemagglutinin. *J Virol*. 2012;86(21):11686-97.
- [12] Tagliabue A, Rappuoli R. Changing Priorities in Vaccinology: Antibiotic Resistance Moving to the Top. *Front Immunol*. 2018;9:1068.
- [13] Hampton LM, Farley MM, Schaffner W, et al. Prevention of antibiotic-nonsusceptible *Streptococcus pneumoniae* with conjugate vaccines. *J Infect Dis*. 2012;205(3):401-11.
- [14] Petousis-Harris H, Paynter J, Morgan J, et al. Effectiveness of a group B outer membrane vesicle meningococcal vaccine against gonorrhoea in New Zealand: a retrospective case-control study. *Lancet*. 2017;390(10102):1603-10.
- [15] Lipsitch M, Siber GR. How Can Vaccines Contribute to Solving the Antimicrobial Resistance Problem? *MBio*. 2016;7(3).
- [16] Poolman JT, Wacker M. Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*, a Common Human Pathogen: Challenges for Vaccine Development and Progress in the Field. *J Infect Dis*. 2016;213(1):6-13.
- [17] Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005;308(5728):1635-8.
- [18] Plotkin SA. Vaccines for epidemic infections and the role of CEPI. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(12):2755-62.
- [19] Parks CL, Picker LJ, King CR. Development of replication-competent viral vectors for HIV vaccine delivery. *Curr Opin HIV AIDS*. 2013;8(5):402-11.
- [20] Volz A, Sutter G. Modified Vaccinia Virus Ankara: History, Value in Basic Research, and Current Perspectives for Vaccine Development. *Adv Virus Res*. 2017;97:187-243.
- [21] Mahnel H, Mayr A. [Experiences with immunization against orthopox viruses of humans and animals using vaccine strain MVA]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 1994;107(8):253-6.
- [22] Levy Y, Lane C, Piot P, et al. Prevention of Ebola virus disease through vaccination: where we are in 2018. *Lancet*. 2018;392(10149):787-90.
- [23] Barouch DH, Tomaka FL, Wegmann F, et al. Evaluation of a mosaic HIV-1 vaccine in a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2a clinical trial (APPROACH) and in rhesus monkeys (NHP 13-19). *Lancet*. 2018;392(10143):232-43.
- [24] Zak DE, Andersen-Nissen E, Peterson ER, et al. Merck Ad5/HIV induces broad innate immune activation that predicts CD8(+) T-cell responses but is attenuated by preexisting Ad5 immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(50):E3503-12.
- [25] Ewer K, Sebastian S, Spencer AJ, et al. Chimpanzee adenoviral vectors as vaccines for outbreak pathogens. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(12):3020-32.
- [26] Clarke DK, Hendry RM, Singh V, et al. Live virus vaccines based on a vesicular stomatitis virus (VSV) backbone: Standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine*. 2016;34(51):6597-609.
- [27] Muhlebach MD. Vaccine platform recombinant measles virus. *Virus Genes*. 2017;53(5):733-40.
- [28] McMichael AJ, Picker LJ. Unusual antigen presentation offers new insight into HIV vaccine design. *Curr Opin Immunol*. 2017;46:75-81.
- [29] Kutzler MA, Weiner DB. DNA vaccines: ready for prime time? *Nat Rev Genet*. 2008;9(10):776-88.
- [30] Lambricht L, Lopes A, Kos S, et al. Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. 2016;13(2):295-310.
- [31] Li L, Petrovsky N. Molecular mechanisms for enhanced DNA vaccine immunogenicity. *Expert Rev Vaccines*. 2016;15(3):313-29.
- [32] Pollard C, De Koker S, Saelens X, et al. Challenges and advances towards the rational design of mRNA vaccines. *Trends Mol Med*. 2013;19(12):705-13.
- [33] Pati R, Shevtsov M, Sonawane A. Nanoparticle Vaccines Against Infectious Diseases. *Front Immunol*. 2018;9:2224.
- [34] Surenaud M, Lacabaratz C, Zurawski G, et al. Development of an epitope-based HIV-1 vaccine strategy from HIV-1 lipopeptide to dendritic-based vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16(10):955-72.
- [35] Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, et al. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine. *Immunol Rev*. 2010;234(1):199-212.
- [36] Zurawski G, Zurawski S, Flamar AL, et al. Targeting HIV-1 Env gp140 to LOX-1 Elicits Immune Responses in Rhesus Macaques. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153484.
- [37] Hogan NC, Taberner AJ, Jones LA, et al. Needle-free delivery of macromolecules through the skin using controllable jet injectors. *Expert Opin Drug Deliv*. 2015;12(10):1637-48.
- [38] Saitoh A, Aizawa Y. Intradermal vaccination for infants and children. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(9):2447-55.
- [39] Waghule T, Singhvi G, Dubey SK, et al. Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system. *Biomed Pharmacother*. 2019;109:1249-58.
- [40] Zimmermann P, Curtis N. The influence of the intestinal microbiome on vaccine responses. *Vaccine*. 2018;36(30):4433-9.
- [41] Rey FA, Stiasny K, Vaney MC, et al. The bright and the dark side of human antibody responses to flaviviruses: lessons for vaccine design. *EMBO Rep*. 2018;19(2):206-24.
- [42] Pitman RJ, White LJ, Sculpher M. Estimating the clinical impact of introducing paediatric influenza vaccination in England and Wales. *Vaccine*. 2012;30(6):1208-24.
- [43] Grubaugh ND, Ladner JT, Lemey P, et al. Tracking virus outbreaks in the twenty-first century. *Nat Microbiol*. 2019;4(1):10-9.
- [44] Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, et al. New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. *Front Immunol*. 2018 Sep 19;9:1963.
- [45] <https://www.who.int/immunization/diseases/>
- [46] <https://vaccination-info-service.fr/>
- [47] <https://www.cdc.gov/vaccines/vpd/vaccines-list.html>
- [48] <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- [49] Miot C, Poli C, Vinatier E, et al. Vaccins, adjuvants et réponse immunitaire post-vaccinale: bases immunologiques. *Rev Franc Lab*. 2019;512: 42-51.